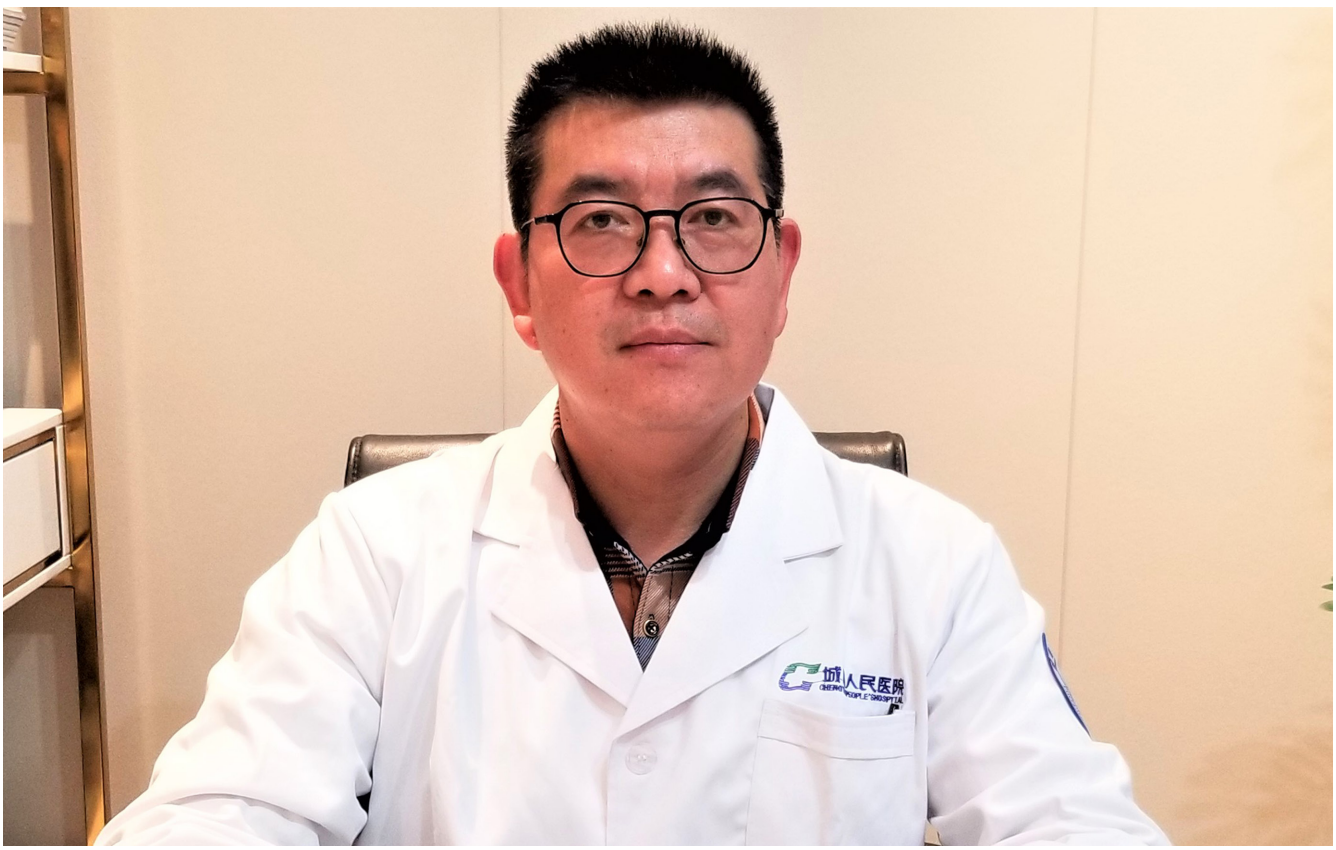
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2022 年 1 月 28 日　　第 30 卷　　第 2 期　　(Volume 30 Number 2)



2/2022

《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.

ISSN 1009-3079
02>
9 771009 307056

世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二二年一月二十八日 第三十卷 第二期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2022年1月28日 第30卷 第2期 (总第694期)

述评

61 浅谈泄泻五脏论之从脾论治
李翠茹, 肖嫩群, 谭周进

基础研究

69 丹酚酸B对NASH细胞焦亡通路NLRP3/Caspase-1/GSDMD的影响
陈小青, 彭波, 姜红梅, 张昌敏, 李海燕, 李子银

临床研究

77 白果内酯通过NLRP3相关通路发挥对乙醇致大鼠胃溃疡的保护作用
刘广宁, 门炜

文献综述

88 卷曲螺旋蛋白在胃癌发生发展中的研究进展
王启吉, 袁学敏
92 胃癌术前贫血治疗选择中的两难困境
况小红, 李建
100 菌-肠-脑轴与血脑屏障通透性的相关性研究进展
华嵘暄, 高晗, 王博雅, 郭玥昕, 梁宸, 高磊, 尚宏伟, 徐敬东
109 肠道菌群与脓毒症相互关系的研究进展
张悦, 王玉莹, 罗海燕, 廖红伍, 周克兵, 颜波, 阳学凤

病例报告

114 Gardner综合征1例报道
黄艳齐, 陈柯豫, 张玲利

消　　息

68　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
76　《世界华人消化杂志》修回稿须知
87　《世界华人消化杂志》参考文献要求
113　《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

孙维会, 主任医师, 青岛市城阳人民医院感染科, 青岛大学医学院传染病硕士研究生导师, 擅长肝脏病的诊断与治疗, 各种感染病的诊断与治疗. 青岛医学会肝病学专科分会副主任委员, 山东省医学会肝病学专科分会委员, 山东省医学会肝病学专科分会脂肪肝学组副组长. 山东省医师协会感染病分会专业委员会常务委员. 获国家发明专利1项, 获国家实用新型专利3项, 在国家及国际级杂志第一作者发表论文十余篇, 主编著作两部.

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 郭旭; 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 2022-01-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编
党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 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
郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科
霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科
江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心
田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科
王小众, 博士, 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, 博士, 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, 博士, 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: wcjd@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: +86-10-85381901

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

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

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

定价
每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2022 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 30 Number 2 January 28, 2022

EDITORIAL

61 Discussion on treatment from the spleen in the theory of treating diarrhea from five Zang organs
Li CR, Xiao NQ, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

69 Effect of salvianolic acid B on NLRP3/caspase-1/GSDMD pyrolysis pathway in NASH cells
Chen XQ, Peng B, Jiang HM, Zhang CX, Li HY, Li ZY

CLINICAL RESEARCH

77 Ginkgolide protects against ethanol-induced gastric ulcer in rats through NLRP3 related pathway
Liu GN, Men W

REVIEW

88 Role of coiled-coil domain containing proteins in development of gastric cancer
Wang QJ, Yuan XM

92 Dilemma in selection of treatment for preoperative anemia in patients with gastric cancer
Kuang XH, Li J

100 Insights into correlation between intestinal flora-gut-brain axis and blood-brain barrier permeability
Hua RX, Gao H, Wang BY, Guo YX, Liang C, Gao L, Shang HW, Xu JD

109 Interrelationship between gut microbiota and sepsis
Zhang Y, Wang YY, Luo HY, Liao HW, Zhou KB, Yan B, Yang XF

CASE REPORT

114 Gardner syndrome: A case report
Huang YQ, Chen KY, Zhang LL

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wei-Hui Sun, Chief Physician, Department of Infection, Qingdao Chengyang People's Hospital, No. 600 Changcheng Road, Chengyang District, Qingdao 266109, Shandong Province, China. sunty2009@126.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: *Xu Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date January 28, 2022

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

CO-EDITORS-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

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, 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: wcjd@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: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2022 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 61-68

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.61

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

述评 EDITORIAL

浅谈泄泻五脏论之从脾论治

李翠茹, 肖嫩群, 谭周进

李翠茹, 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

李翠茹, 硕士研究生, 主要从事中医药对脾胃病疗效的微生态机制的研究.

基金项目: 湖南省自然科学基金, No. 2020JJ4468.

作者贡献分布: 本文综述由李翠茹完成; 谭周进和肖嫩群审校.

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: 2021-12-23
修回日期: 2022-01-12
接受日期: 2022-01-20
在线出版日期: 2022-01-28

Discussion on treatment from the spleen in the theory of treating diarrhea from five Zang organs

Cui-Ru Li, Nen-Qun Xiao, Zhou-Jin Tan

Cui-Ru Li, 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: 2021-12-23
Revised: 2022-01-12
Accepted: 2022-01-20
Published online: 2022-01-28

Abstract

Diarrhea is caused by the feeling of external evil, internal diet injury, emotional disorders, or insufficient endowments, resulting in the loss of spleen health and the retention of moisture, with increased stool number, loose mass, or retention of grain, such as watery stool as the main manifestation of the disease. Traditional Chinese medicine (TCM) was first recorded in Huangdi Neijing. Although there is no special description on diarrhea in Huangdi Neijing, it put forward the theory of purging the five Zang organs (liver, heart, spleen, lung, and kidney) to treat diarrhea. Since then, there has been a special discussion in "Three causes and one disease and syndrome fang". According to the TCM theory, the spleen and stomach are the root of the acquired nature, the main transport of the essence of water and grain, and the source of Qi and blood biochemistry. The weakness of the spleen and stomach easily leads to the following: The water and grain do not change, the internal water is wet, the rise and fall disorder occurs, and the turbidity is mixed up and down. As a result, diarrhea occurs. Therefore, diarrhea is closely related to the spleen. In modern studies, intestinal dysbiosis has been proved to be an important factor for the development of intestinal diseases. The homeostasis of the intestinal microbiota maintains various functions that are crucial to human health. When this homeostasis is destroyed, it will lead to dysregulation of the intestinal microbiota, which is often manifested as diarrhea. Therefore, the dysregulation of the intestinal microbiota also has an inseparable relationship with diarrhea. This paper discusses the origin, etiology, pathogenesis, and clinical treatment of diarrhea treated from the spleen by referring to the relevant literature, and summarizes the principles and methods of prescription and clinical research of diarrhea treated from the spleen.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea; Spleen deficiency and dampness;

Treatment from the spleen; Intestinal flora

Citation: Li CR, Xiao NQ, Tan ZJ. Discussion on treatment from the spleen in the theory of treating diarrhea from five Zang organs. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 61-68
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/61.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.61

摘要

泄泻是因感受外邪, 或饮食内伤, 或情志失调, 或禀赋不足, 从而致脾失健运而水湿不化, 以大便数增多, 质稀溏或完谷不化, 甚如水样为主要表现的病症. 中医最早记载于《黄帝内经》, 论其治法, 《黄帝内经》虽无专篇论述泄泻, 但提出了从“肝、心、脾、肺、肾”五脏治泄泻的泄泻五脏论思想. 此后, 在《三因极一病证方论》有专门论述. 中医认为脾胃为后天之本, 主运化水谷精微, 为气血生化之源, 脾胃虚弱则易导致水谷不化, 内生水湿, 升降失调, 清浊夹杂而下, 而为泄泻, 故泄泻与脾密切相关. 现代研究中, 肠道菌群失调已被证实是肠道疾病的一个重要因素. 肠道微生物群的内稳态维持着对人体健康至关重要的各种功能, 当该稳态遭到破坏, 则导致菌群失调, 胃肠道功能紊乱, 多表现为泄泻, 故而肠道菌群失调与泄泻也有着密不可分的关系. 本文通过查阅相关文献, 对泄泻从脾论治的源起、病因病机、临床施治等方面进行论述, 并着重对泄泻从脾论治的理法方药与临床研究进行归纳总结.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 泄泻; 脾虚湿盛; 从脾论治; 肠道菌群

核心提要: 近年来的研究已证实了菌群、脾、泄泻三者密切相关. 泄泻从脾论治的理法方药以及临床运用在近年广泛受到各位学者的重视. 通过不断总结归纳, 结合临床实际情况, 辨证施治, 对症用方, 对泄泻从脾论治的进一步研究发展具有重要意义.

文献来源: 李翠茹, 肖嫩群, 谭周进. 浅谈泄泻五脏论之从脾论治. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 61-68
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/61.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.61

0 引言

泄泻(西医称腹泻)是以排便次数增多、粪便稀溏, 甚至泻出如水样为主要表现的病证. 古代将大便溏薄而势缓者称为泄, 大便清稀如水而势急者称为泻, 现统称为“泄泻”[1]. 泄泻一年四季均可发生, 但以夏秋两季多见. 据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计, 全世界每年发生腹泻病例达30亿-50亿例次, 特别是婴幼儿, 腹泻病是全球五岁以下儿童的第二大死因, 每年约有160万5岁以下儿童死于此病. 美国胃肠协会2001年估计人群中持续腹泻4周以上的发生率为1%左右. 此外, 老年人群、免疫抑制患者及旅游者亦为腹泻的高危人群[2]. 腹泻的病因众多, 大量的研究表明, 肠道菌群失调已成为腹泻的主要致病因素之一. 从近年有关腹泻型肠易激综合征[(diarrhea irritable bowel syndrome, D-IBS), 中医无“肠易激综合征”之名, 属中医“腹痛”“腹泻”范畴]的研究文献可知, 中医药治疗D-IBS多用汤剂, 且已取得较为满意的疗效. 张煜等[3]对中医药(包括中西医结合)治疗IBS的报道统计了其中23篇, 共1269例, 总有效率达94.46%.

1 泄泻的病因病机

就病因病机而言, 《内经》所论主要责之于风、寒、湿、热等外邪; 或内伤情志、饮食不节而致脾、胃、大小肠、肝肾等功能失调饮食物的消化、吸收、转输等机能障碍所致[4].

1.1 病因

1.1.1 感受外邪: 外感风、寒、湿、热等邪, 如《素问·脉要精微论篇》曰: “久风为飧泄”; 《灵枢·师传》曰: “肠中寒, 则肠鸣飧泄”; 《素问·六元正纪大论》曰: “湿胜则濡泻, 甚则水闭胕肿”; 《素问·至真要大论篇》所说的“暴注下迫, 皆属于热”等, 从而伤及脾胃, 进而使脾胃失司, 导致脾不升清而泄泻; 或直接损伤脾胃, 脾失健运而水湿不化, 进而导致泄泻. 其中脾主湿, 湿邪易困脾土, 故以湿邪致病最为多见. 寒湿内侵, 湿困脾阳, 脾失健运; 湿热、暑湿侵袭, 壅遏脾胃, 下迫大肠, 均可导致脾胃升降失常, 小肠泌别失司, 大肠传导功能紊乱, 进而导致清浊不分, 夹杂而下, 并入大肠, 发为泄泻. 故言“湿多成五泄”“无湿不成泻”.

1.1.2 饮食所伤: 饮食不洁, 以致脾胃内伤; 或饮食不节, 摄入过量, 致使饮食物积滞不化, 宿食内停, 损伤脾胃之气; 或恣食肥腻甘厚味、饮酒无度、嗜食辛辣之物, 以致湿热内蕴脾胃; 或恣食生冷之物, 寒气客于胃肠, 以上皆可导致脾失健运, 升降失调, 大小肠泌别传导失司, 清浊不分, 混杂而下, 形成泄泻. 《景岳全书·泄泻》曰: “若饮食不节, 起居不时, 以致脾胃受伤, 则水反为湿, 谷反为滞, 精华之气不能输化, 乃至合污下降而泻痢作矣.”

1.1.3 情志失调: 肝为刚脏, 喜条达而恶抑郁, 若愤怒, 易致肝气郁结, 横逆犯胃. 《景岳全书·泄泻》曰: “凡遇怒气便作泄泻者, 必先以怒时夹食, 致伤脾胃”; 或忧思过度, 伤及脾气, 以上均可致使脾运失职, 清阳不

升, 水谷不化, 发生泄泻.

1.1.4 禀赋不足, 病后体虚: 年老体弱、脏腑虚衰、大病久病或先天禀赋不足等, 均可导致脾胃虚弱或命门火衰. 脾胃虚弱, 不能腐熟水谷、运化水湿, 水谷不化, 湿滞内生, 清浊混杂而下, 故成泄泻. 命门火衰, 则脾失温煦, 运化失职, 水谷不化, 致水反为湿, 谷反为滞, 遂成久泻, 甚至是五更泻. 《景岳全书·泄泻》曰: “肾为胃关, 开窍于二阴, 所以二便之开闭, 皆肾脏之所主, 今肾中阳气不足, 则命门火衰, 而阴寒独盛, 故于子丑五更之后, 当阳气未复, 阴气盛极之时, 即令人洞泄不止也. ”

1.2 病机 泄泻病变脏腑主要在脾、胃及大小肠, 与肝、肾关系密切. 《景岳全书·泄泻》曰: “泄泻之本, 无不由于脾胃. ”基本病机为脾虚湿盛, 脾运失职, 升降失调, 肠道清浊不分, 合污而下. 《素问·经脉别论》曰: “饮入于胃, 游溢精气, 上输于脾, 脾气散精, 上归于肺, 通调水道, 下输膀胱, 水精四布, 五经并行. ”说明脾对运化饮食水谷精微和水液有重要作用, 若脾的功能失常, 则容易通过直接影响脾脏或间接影响他脏从而形成以脾虚为主的泄泻[5].

1.3 现代医学对泄泻发生机制的认识 肠道微生态系统是存在于肠道内与宿主相互影响的微生物生态群落, 是最为主要, 最为复杂的微生态系统. 肠道微生物群是肠道微生态系统的重要组成部分. 人类肠道菌群代表了我们肠道内的数万亿微生物, 肠道微生物细胞的总数约是人体细胞总数的10倍[6]. 现代医学认为, 肠道微生物群的建立是一个复杂的过程, 受宿主和微生物自身水平的因素影响. 菌群、宿主与肠道环境之间处于动态平衡状态, 形成一个相互依存, 相互制约的有机整体. 人体在正常情况下, 菌群结构相对稳定, 对宿主表现为不致病. 肠道微生物群的内稳态维持着对人体健康至关重要的各种功能. 当遭受外来因素影响时, 这一稳态被打破, 宿主即会出现病理变化或患病, 肠道菌群便会在种类、数量和定位上出现异常改变[7]. 泄泻以肠道菌群中有益菌相对丰度减少, 有害菌相对丰度增加为主要特征[8], 如抗生素相关性腹泻(Antibiotic-associated diarrhea, AAD)患者肠道菌群中拟杆菌和硬生菌种群减少, *Porphyromonadaceae*、乳杆菌和*Alistipes*等肠道有益菌数量下降, 大肠埃希菌和链球菌等有害菌增多, 促进艰难梭菌(*Clostridium difficile*, CD)的定植[9]. 长期腹泻又会加重肠道菌群失调, 循环往复. 有研究表明, 肠道菌群维持着正常的胃肠功能, 肠道菌群的改变是胃肠道症状的原因之一[10-14]. 多年来肠道菌群的紊乱一直与肠易激综合征的病理生理学有关[15]. 罗马工作组在一篇文章[16]中得出结论, 有充分的证据支持肠易激综合征肠道菌群改变的事实. 肠道菌群失调致泻的机制较为复杂, 主要有[17]: (1)以革兰阳性杆菌如双歧杆菌为主的某些肠菌可与肠粘膜细胞结合而形成一层生物学屏障阻止致病菌和条件致病菌的侵害如因肠道内此类细菌减少则可由致病菌的作用而引起腹泻; (2)某些原因如胃酸过低如萎缩性胃炎、长期应用抑酸剂均可致结肠内菌群上移至小肠定植主要为类杆菌、双歧杆菌、韦荣球菌、肠球菌及梭菌等厌氧菌.

2 泄泻从脾论治的源起与发展

泄泻作为一种疾病论述, 见于我国最早有文字记载的殷商甲骨文, 在卜辞篇内有“腹不安”句. 腹不安即指腹胀、腹泻、腹痛等症状[18]. 《内经》中无“泄泻”名称, 多以“泄”称之, 《素问·气交变大论篇》中有“鹜溏”“飧泄”“注下”等病名. 东汉张仲景在《金匮要略·呕吐哕下利病脉证治》中将泄泻与痢疾统称为“下利”. 至隋巢元方《诸病源候论》开始, 明确将泄泻与痢疾分开论述, 宋代以后才统称为“泄泻”.

脾为后天之本, 为气血生化之源, 与机体的免疫功能和营养状况密切相关. 现代研究发现, 肠道内环境的改变可能会引起肠道菌群结构和功能失调, 从而导致大便稀溏、便次增加、食少纳呆、腹胀等一系列中医“脾虚证”的表现, 肠道菌群失调, 被认为可能是中医学“脾虚”重要的生物学基础[19]. 脾虚使机体各脏器间的平衡遭到破坏, 导致肠道菌群失调, 而菌群失调又会加重脾虚, 二者互为因果, 相互影响[20]. 卢林等[21]对脾虚湿盛泄泻患者肠道微生态及舌部菌群变化进行临床观察, 得出泄泻患者粪便中的4种菌群(肠杆菌、肠球菌、乳杆菌、双歧杆菌)与健康人有显著差异, 说明脾虚湿盛泄泻患者存在肠道菌群失调. 故泄泻脾气虚弱证与肠道菌群的变化密切相关(图1).

3 泄泻从脾论治的临床运用

中医学认为泄泻与脾虚关系密切, 泄泻因脾病而生, 故治疗上应着重从脾论治. 李中梓在《医宗必读》提出治泄九法, 即淡渗、升提、清凉、疏利、甘缓、酸收、燥脾、温肾、固涩. 王杏伯[22]、胡佳婷[23]二人均在临床实践中总结出从脾论治之12法, 均取得较好疗效. 以下对三人提出的理法方药进行分析归纳总结, 并通过查阅大量文献, 总结各方药临床研究.

3.1 芳香醒脾法 本法适用于寒湿困脾所致泄泻. 寒湿困脾, 脾失健运, 气机升降失调, 肠道功能失职, 使饮食物清浊不分, 相杂而下, 故致泄泻. 症见大便清稀或如水样, 腹痛肠鸣, 食少畏寒, 或兼见头痛恶寒、肢体疼痛等表证, 舌苔白滑, 脉濡缓. 本证患者即有形寒之表证, 又有腹痛泄泻之里证, 用该法可“逆流以挽舟”, 里证可从表而

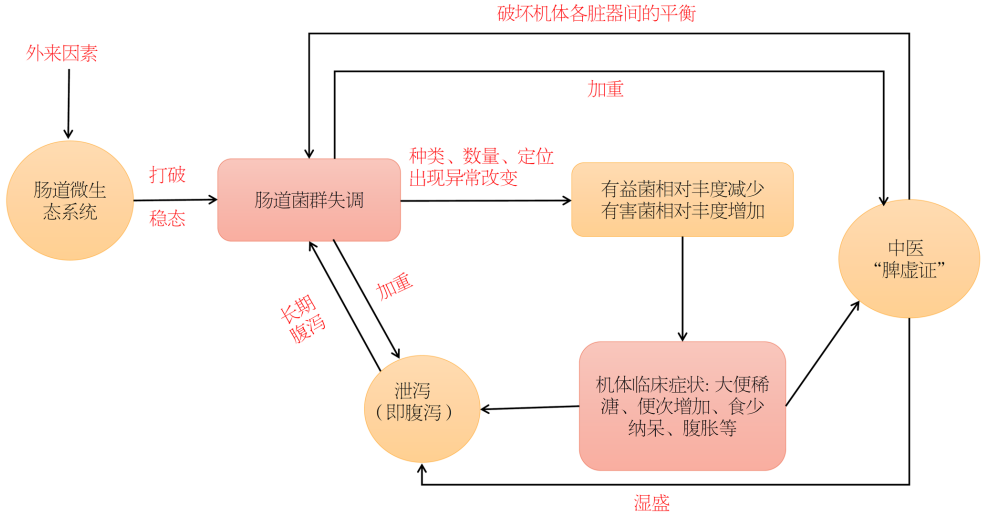


图 1　菌群、脾、泄泻的关系.

解[22]. 治法选以芳香醒脾, 解表化湿. 药后身微汗, 表解里和. 方用藿香正气散加减(藿香、白芷、白术、茯苓、橘皮、半夏、大腹皮、厚朴、苏叶、桔梗、炙甘草)[23]. 临证加减: 畏寒明显者, 加吴茱萸、草豆蔻、砂仁; 有发热恶寒表证者, 加防风、荆芥; 便如泻水、次数多、小便不利者, 加车前子、薏苡仁、砂仁[24].

罗尧岳等[25]通过研究表明: 藿香正气超微粉、藿香正气细粉、藿香正气口服液均能不同程度调节急性腹泻大鼠水电解质平衡, 对肠黏膜有一定保护作用. 张玲[26]以藿香正气散加减治疗小儿秋季腹泻, 总有效率达97.78%, 与采用思密达、金双歧联合治疗的对照组比较, 差异有统计学意义. 现代药理学显示, 藿香正气散能抑制胃肠蠕动, 调节肠道菌群, 对各种致病菌都有明显的抑制作用, 并能起到镇痛的作用. 时培明等[27]通过临床实验研究表明, 急性肠胃炎患者以藿香正气散加减治疗后粘液便、水样便体征比例明显减少, 联合组与对照组差异有统计学意义. 现代药理学研究表明[28], 藿香正气散能有效抑制细菌、解除肠管痉挛、修复受损肠段.

3.2 解毒清脾法(清凉法)　《医宗必读》曰: “一曰清凉, 热淫所至, 暴注下迫, 苦寒诸剂, 用涤燔蒸, 犹当溽暑伊郁之时, 而商飚飒然倏动, 则炎火高如失矣, 所谓热者清之是也.” 本法适用于热淫湿邪, 夏令暑湿或食滞化热所致泄泻. 湿热侵袭, 热迫胃肠, 阻滞气机而致传化失常, 故而热泻. 症见腹痛即泻, 泻下急迫, 粪色黄褐而臭秽, 肛门灼热, 小便短赤, 舌红, 苔黄腻, 脉濡数. 治法选以清热化湿, 药用苦寒, 取其苦能燥湿, 寒能清热. 方用葛根黄芩黄连汤加味(葛根、黄芩、黄连、炙甘草、青皮、白头翁、马齿苋)[23]. 临证加减: 有发热、头痛等风热表证者, 加金银花、连翘、薄荷; 热偏盛者, 伴身热口苦, 加白头翁、黄柏、马齿苋、秦皮、连翘以清热解毒燥湿; 湿偏盛者, 加苍术、厚朴、滑石、车前子、薏苡仁; 病发于炎暑盛夏之时, 夹暑湿者, 加藿香、荷叶、青蒿、香薷、佩兰、扁豆等清暑化湿之品; 兼食滞者, 加神曲、山楂、麦芽; 腹痛腹胀者, 加白芍、木香以理气缓急; 恶心呕吐者, 加半夏、枳壳、竹茹以和胃降逆; 苔黄厚腻, 泻下垢浊, 口臭甚者, 加枳实、大黄通因通用[24].

刘茜明等[29-31]在葛根芩连汤对抗生素相关性腹泻模型肠道微生物群的研究中得出, 葛根芩连汤可以促进抗生素相关性腹泻乳酸杆菌、肠道肠球菌及肠道双歧杆菌的增殖. 肖嫩群等[32]研究表明, 葛根芩连汤促进了双歧杆菌和乳杆菌的增殖, 与刘茜明等[29,31]的研究结果相一致.

3.3 燥脾法　《医宗必读》云: “一曰燥脾, 土德无惭, 水邪不滥, 故泻皆成于土湿, 湿皆本于脾虚, 仓廪得职, 水谷善分, 虚而不培, 湿淫转甚. 经云: 虚者补之是也.”

3.3.1 湿盛困脾型(化湿燥脾法): 本法适用于湿盛困脾所致泄泻. 脾喜燥恶湿, 遇湿则困, 湿为阴邪, 易伤阳, 阻滞气机. 湿邪既是脾虚泄泻的致病原因, 又是本病的病理产物. 感受外邪或饮食、情志所伤, 常易累及脾胃, 脾阳不振, 胃则不能腐熟水谷, 水反成湿, 谷反成滞, 均可引起腹泻. 症见泄泻大便稀溏、肠鸣腹胀、四肢困重、神疲乏力、纳呆、口淡欲饮但饮入不多、苔白厚腻、脉濡. 治法选以健脾燥湿, 用药偏温燥. 方用平胃散加减(苍白术、砂蔻仁、厚朴、橘皮、干姜)[23].

大鼠湿困脾胃证模型经平胃散治疗后[33]乳酸杆菌数明显增多, 大肠杆菌数明显减少, 效果优于自然恢复组. 说明平胃散对肠道微生态环境失调有改善、调节作用, 通过改善肠道功能状态进而调节紊乱的肠道微生态环境, 使致病菌数量减少, 益生菌数量增多.

3.3.2 脾胃虚弱型(益气健脾法): 本法适用于久泻伤脾,

中气不足, 运化无权之证. 脾气亏虚则不能升发, 水谷不化, 清阳下陷, 升降失调, 清浊混杂而下, 故而泄泻. 症见大便溏薄, 夹有不消化食物, 稍进油腻则便次增多, 神疲乏力, 纳差食少, 食后胀闷不舒, 舌质淡, 苔薄白, 脉细弱. 治法选以补气益胃、健脾止泻. 方用参苓白术散加减(党参、茯苓、白术、甘草、山药、扁豆、莲子肉、薏苡仁、砂仁、桔梗)[22]. 临证加减: 夹湿热者, 加黄连、连翘、马齿苋、厚朴以清化湿热; 夹食滞者, 加焦三仙以消食导滞; 脘腹胀痛嗳气者, 加木香、乌药以理气温中; 夹湿者, 加苍术、厚朴、防风以升阳燥湿[24].

现代药理研究表明, 参苓白术散具有调节胃肠运动的功能, 小剂量时对肠道蠕动有兴奋作用, 大剂量则有抑制作用, 可解除肠道痉挛, 增强肠道对水的吸收, 从而缓解腹泻[34]. 张仲林等通过动物实验研究表明, 参苓白术散能缓解亢进的胃肠运动, 明显改善胃肠动力, 具有双向调节作用[35]. 参苓白术散治疗脾虚湿困证溃疡性结肠炎大鼠结肠菌群失衡[36], 可使优势菌增加, 恢复菌群平衡, 从而修复肠组织损伤.

3.4 淡渗利脾法(渗利法) 《医宗必读》曰: “一曰淡渗, 使湿从小便而去, 如农人治涝, 导其下流, 虽处卑监, 不忧巨浸. 经云: 治湿不利小便, 非其治也. 又云: 在下者, 引而竭之是也.”本法适用于脾阳虚弱, 水湿壅盛, 湿困于脾之证. 症见泻下稀水便, 便次频繁, 小便不利, 神倦, 纳呆, 面色㿠白, 舌淡胖, 脉沉无力. 中医学认为水与湿异名而同病, 以五苓散加味(猪茯苓、苍白术、泽泻、车前子、桂枝、吴茱萸)[23]治疗泄泻, 含“利小便实大便”之意. 临证加减: 发热者去桂枝, 热甚者加黄芩、黄连, 脾虚汗出者去猪苓, 加党参、黄芪, 兼食积者加焦三仙、炒莱菔子.

向丽华等[37]研究表明, 五苓散对腹泻模型大鼠的止泻作用可能与利尿作用有关, 证实五苓散“利小便实大便”治疗腹泻的观点. 实验研究表明[38], 五苓散加味方治疗腹泻型肠易激综合征脾虚湿阻证总有效率达90.9%, 且治疗时更侧重于改善排便频率和大便性状. 张建[39]以加味五苓散治疗小儿秋季腹泻32例, 总有效率为93.8%, 与使用蒙脱石混悬液和凝结芽孢杆菌活菌片的对照组对比, 差异具有统计学意义.

3.5 疏利法 《医宗必读》载: “一曰疏利, 痰凝气滞; 食积水停, 皆令人泻, 随证祛逐, 勿使稽留, 经云: 实者泻之. 又云: 通因通用是也.”

3.5.1 食滞肠胃型(消积运脾法): 本法适用于食滞中焦, 运化失常所致泄泻. 食滞胃肠, 导致脾胃运化失常, 传化失司, 气机阻滞, 水谷停为湿滞, 形成泄泻. 症见腹满胀痛, 泻后痛减, 泻下粪便丑如败卵, 伴不消化食物, 纳呆, 嗳腐吞酸, 舌苔垢浊或厚腻, 脉滑. 治法选以消食导滞. 方用香砂枳术丸加减[22]或保和丸加减(神曲、焦山楂、谷麦芽、鸡内金、莱菔子、茯苓、陈皮、半夏、生大黄)[23]. 临证加减: 有呕吐者, 加半夏、白蔻仁以和胃降逆化浊; 恶寒发热者, 加苏叶、藿梗以解表畅中; 伤酒食者, 加葛花、枳椇子[24].

金翠英等[40]对加味保和丸的药理作用进行实验研究得出, 本方在试验剂量下对腹泻模型小鼠2, 3 h内的腹泻指数有明显的抑制作用, 与模型组比较, 差异有显著性意义. 胡巍鹏等[41]以保和丸治疗伤食型小儿腹泻40例, 总有效率达90%, 与使用西药蒙脱石散的40例患儿比较, 差异有统计学意义. 何云山等[42]通过实验构建高脂、高蛋白饮食基础的泄泻食滞胃肠证小鼠模型, 并以保和丸水煎液进行治疗: 经造模的小鼠中的多种条件致病菌均被较好的抑制, 乳酸菌属(*Lactobacillus*)的丰度和下属种类明显增加.

3.5.2 肝气犯脾型(泻肝补脾法): 本法适用于肝失条达, 横逆侮脾所致泄泻. 忧思恼怒, 气机郁结, 肝气横逆乘脾犯胃, 脾胃气机失调, 运化失常, 升降失常, 故而泄泻. 症见腹痛肠鸣, 泻后痛减, 胸闷胁胀, 嗳气食少, 舌质红, 苔薄白, 脉弦. 治法选以抑肝扶脾. 方用痛泻要方加味(白术、白芍、防风、陈皮、合欢皮、玫瑰花)[23]. 临证加减: 胸胁胀满者, 加川楝子、青皮以疏肝止痛; 腹胀腹痛甚者, 加厚朴、枳实; 胃中嘈杂吞酸者, 加黄连、吴茱萸; 久泻者, 加少许升麻炒之, 以升提脾胃下陷之阳气; 脾虚食少者, 加党参、山药以补脾气[24].

李耿诚[43]通过临床研究证实, 加味痛泻要方治疗肠易激综合征的效果优于西药得舒特与成方痛泻要方, 具有统计学意义. 陈苑玲等[44]以痛泻要方加味治疗腹泻型肠易激综合征, 其中痛泻要方辨证加味组的总有效率达88.9%, 较痛泻要方固定加味组、得舒特西药组有显著性差异. 陈境烨等[45]通过现代药理研究推测痛泻药方主要通过对抗平滑肌痉挛进而纠正小肠紊乱, 改善小肠吸收功能, 从而缓解肠易激综合征患者症状, 并通过实验研究发现在常规治疗基础上加以痛泻药方能进一步提高临床疗效.

3.6 举陷升脾法(升提法) 《医宗必读》云: “一曰升提, 气属于阳, 性本上升, 胃气注迫, 辄尔下陷, 升柴羌葛之类, 鼓舞胃气上腾, 则注下自止. 又如地上淖泽, 风之即干, 故风药多燥, 且湿为土病, 风为木药, 木可胜土, 风亦胜湿, 所谓下者举之是也. ”脾主运化升清, 脾气虚弱, 内生湿邪, 清气不升反降, 则生泄泻. 本法对于实证致泻适用于湿盛气陷所致泄泻, 症见泄泻脱肛, 腹痛肠鸣, 脘腹满闷, 纳少, 舌苔白腻, 脉濡缓. 治法选以升阳除湿, 方用升阳除湿汤. 本法对于虚证致泻适用于中气下陷所致泄泻. 症见

久泻不止, 大便时溏时泻, 多食油腻则大便次数增多, 伴食之无味, 少气懒言, 四肢倦怠, 脉虚软无力. 治法选以益气升阳, 方用补中益气汤加减(党参、白术、黄芪、升麻、柴胡、枳壳、枳实、炙甘草)[23]. 临证加减: 若胸脘痞闷甚者, 去党参加木香; 若四肢酸软无力甚者, 加菟丝子; 若腹痛肠鸣泄泻, 得温痛减者, 加炮姜、防风、白芍、肉豆蔻; 中焦虚寒者, 可酌加炮附子、干姜; 饮食呆滞者, 加神曲、麦芽.

通过动物实验研究发现[46], 补中益气汤对脾虚泄泻大鼠小肠黏膜损伤具有修复及促进黏膜生长的作用. 周丽娜[47]以补中益气汤合四君子汤治疗慢性腹泻, 研究显示观察组总有效率达95.0%, 且腹泻症状、停止及住院时间均短于服用蒙脱石散的对照组, 差异有统计学意义. 李燕舞等[48]通过实验研究得出, 补脾方药党参、白术、补中益气汤等对脾虚大鼠壁细胞超微结构的异常变化有所改善.

3.7 酸涩敛脾法(酸收法) 《医宗必读》载: “一曰酸收. 泻下有日, 则气散而不收, 无能统摄, 注泄何时而已? 酸之一味, 能助收肃之权. 经云: 散者收之是也.” 本法适用于久泻邪少虚多, 经治不愈, 大便滑脱不禁之证. 症见泻下无度, 形体消瘦, 皮肤干枯无光泽, 五心烦热, 舌红干燥, 脉细数. 治法选以酸收止泻, 常与益气健脾法及升陷法同用. 方用乌梅丸加减(乌梅、党参、石榴皮、诃子肉、罂粟壳、五倍子)[23]. 临证加减: 偏阳虚者加肉桂; 偏气滞者加川朴、木香; 偏湿盛者加白术、川朴; 偏肝旺者加白芍、炙甘草.

实验研究表明[49], 乌梅汤对实验性溃疡性结肠炎的治疗作用显著, 其机制可能与通过上调IL-10和T调节细胞的表达降低肠黏膜免疫应答有关, 并发挥黏膜修复作用. 高新建[50]以乌梅丸治疗慢性腹泻32例, 总有效率达90.6%, 与使用思密达粉治疗的32例患者对比, 差异有统计学意义. 陈伟斌[51]应用乌梅丸治疗腹泻型肠易激综合征, 试验组总有效率达96%, 远高于对照组, 差异有统计学意义.

3.8 缓急止痛法(甘缓法) 《医宗必读》载: “一曰甘缓, 泻利不已, 急而下趋, 愈趋愈下, 泄何由止? 甘能缓中, 善禁急速, 且稼穑作甘, 甘为土味, 所谓急者缓之是也.” 本法适用于久泻暴泻伤阴之证. 症见泄泻急迫且不止, 腹痛明显, 低热口渴, 形瘦尿少, 舌红, 苔薄或薄黄, 脉细数. 治法选以酸甘化阴、缓中培土, 以甘味之品缓暴泻之势. 方用芍药甘草汤(白芍、甘草)[52].

蒋美荣等[53]以芍药甘草汤治疗小儿秋季腹泻后, 在缓解腹泻量与次数, 预防脱水症状方面总有效率达94.1%, 临床效果较好.

3.9 补火暖脾法(温肾法) 《医宗必读》载: “一曰温肾, 肾主二便, 封藏之本, 况虽属水, 真阳寓焉! 少火生气, 火为土母, 此火一衰, 何以运行三焦, 熟腐五谷乎? 故积虚者必挟寒, 脾虚者必补肾. 经云: 寒者温之是也.” 本法适用于脾肾虚寒所致泄泻. 久泻中阳不运, 脾病及肾, 命门火衰, 火不生土, 脾肾皆虚. 症见腹痛肠鸣, 泻后痛减, 形寒肢冷, 腰膝酸软, 舌淡苔白, 脉沉细. 治法选以温肾健脾, 方用附子理中汤加味或四神丸[22,23].

喻灿等[54]将子午流注、肠道微生态与五更泄三者进行讨论: 泄泻由肠道微生态失调所致, 而五更时分发病, 按中医子午流注理论, 五更之时阴阳交替, 大肠经开阖, 肝气旺而土虚不耐木乘, 糟粕不化而为泄泻, 故而三者密切相关. 中医多以四神丸温补肾阳以治五更泄. 刘佳星等[55]通过动物实验研究发现四神丸可能通过调节肠道菌群的结构而发挥治疗腹泻型肠易激综合征的作用, 能有效减小腹泻型肠易激综合征大鼠腹泻指数及降低肠道高敏感性. 蔺晓源等[56]在大鼠实验中发现四神丸组大鼠的体质量增加、腹泻指数降低, 各脏器指数也明显改善, 通过实验研究得出四神丸能有效缓解脾肾阳虚泄泻模型大鼠症状, 具有良好的止泻作用. 动物实验研究表明[57], 附子理中汤治疗脾肾阳虚腹泻型肠易激综合征的作用机理可能与其减轻炎症反应、降低内脏敏感性、减少免疫应答、恢复水液代谢等因素有关.

3.10 固涩止泻法(固涩法) 《医宗必读》曰: “一曰固涩, 注泄日久, 幽门道滑, 虽投温补, 未克奏功, 须行涩剂, 则变化不愈, 揆度合节, 所谓滑者涩之是也.” 本证适用于泄泻日久, 脾肾虚寒, 滑泄无度之证. 治法选以固涩止泻, 常与温肾法、燥脾法配合运用. 方用赤石脂禹余粮丸、桃花汤、真人养脏汤等. 临证加减: 滑泄不禁者, 酌加肉豆蔻、诃子肉、乌梅、五倍子; 久痢而脾肾虚寒甚之证, 加人参、附子[58].

现代药理研究表明[59], 桃花汤粉剂对大肠性腹泻和小肠性腹泻都有明显的止泻作用, 能显著抑制新斯的明所致小鼠小肠运动亢进、有效保护小鼠肠道粘膜, 维护消化道正常的生理功能. 杨晓锋[60]以真人养脏汤治疗小儿秋季腹泻的疗效观察, 总有效率达92%, 对比使用蒙脱石的23例患者, 疗效差异有统计学意义.

3.11 活血畅脾法 久病不愈, 必入肠络、瘀阻于内, 故临床上慢性泄泻患者常伴有血瘀证. 症见泻下黑便、血便, 腹痛或胃脘痛, 肌肤甲错, 舌紫有瘀斑, 脉细涩. 久病则气虚, 血瘀多为气虚血瘀, 故不宜选用具有润肠功能的活血药, 而是应该选用不润滑的川芎、参三七、三棱、莪术、丹参以活血化瘀畅脾[22].

4 结论

“湿”为泄泻最主要病理因素, 《素问·至真要大论篇》曰: “诸湿肿满, 皆属于脾. ”脾、湿、泄泻三者密切相关, 脾虚则湿盛, 湿盛则濡泻. 故临床泄泻主要应从脾论治, 治法各异, 但大都强调补脾、祛湿, 即“无湿则不泻”“脾土强者, 自能胜湿”. 临床研究从脾论治泄泻之方药众多, 疗效大多显著. 临床治疗泄泻时, 不应局限于上文提及之理法方药, 应根据具体病症辨证施治, 以基本方为基础进行临证加减, 疗效更佳. 近年来, 胃肠道微生态的研究取得了引人注目的成绩, 众多研究也已证实了菌群、脾、泄泻三者密切相关. 发掘更多调节菌群的措施, 为未来预防泄泻及其他疾病乃至改善健康状况之新策略, 且有助于新型的生物治疗药物的开发.

5 参考文献

1 张伯礼, 吴勉华. 中医内科学. 北京: 中国中医药出版社 2017; 194
2 张军, 刘冬. 慢性腹泻. 中国实用内科杂志 2010; 30: 862-863
3 张煜, 彭荣翠. 肠易激综合征中医药治疗前景展望. 国医论坛 2002; 17: 17
4 倪红梅, 方盛泉. 《内经》“泄泻”病因病机及辨证治疗之探析及发挥. 四川中医 2008; 26: 34-36
5 吴秋玲. 《内经》泄泻理论与临床应用研究. 山西中医学院学报 2009; 10: 32-33
6 Prakash S, Rodes L, Coussa-Charley M, Tomaro-Duchesneau C. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. *Biologics* 2011; 5: 71-86 [PMID: 21847343 DOI: 10.2147/BTT.S19099]
7 康白. 人体正常微生物群研究的近年进展. 流行病学杂志 1980; 1: 126
8 Li YD, Liu BN, Zhao SH, Zhou YL, Bai L, Liu EQ. Changes in gut microbiota composition and diversity associated with post-cholecystectomy diarrhea. *World J Gastroenterol* 2021; 27: 391-403 [PMID: 33584071 DOI: 10.3748/wjg.v27.i5.391]
9 朱佳源, 谭周进, 郑洵, 肖嫩群. 艰难梭菌与抗生素相关腹泻的研究进展. 中国感染控制杂志 2021; 20: 1168-1173
10 Caenepeel P, Janssens J, Vantrappen G, Eyssen H, Coremans G. Interdigestive myoelectric complex in germ-free rats. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 1180-1184 [PMID: 2752868 DOI: 10.1007/bf01537265]
11 Husebye E, Hellström PM, Sundler F, Chen J, Midtvedt T. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G368-G380 [PMID: 11171619 DOI: 10.1152/ajpgi.2001.280.3.G368]
12 Arebi N, Gurmany S, Bullas D, Hobson A, Stagg A, Kamm M. Review article: the psychoneuroimmunology of irritable bowel syndrome--an exploration of interactions between psychological, neurological and immunological observations. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 830-840 [PMID: 18637004 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03801.x]
13 Ringel Y, Carroll IM. Alterations in the intestinal microbiota and functional bowel symptoms. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2009; 19: 141-150, vii [PMID: 19232285 DOI: 10.1016/j.giec.2008.12.004]
14 Lesniewska V, Rowland I, Laerke HN, Grant G, Naughton PJ. Relationship between dietary-induced changes in intestinal commensal microflora and duodenojejunal myoelectric activity monitored by radiotelemetry in the rat in vivo. *Exp Physiol* 2006; 91: 229-237 [PMID: 16263800 DOI: 10.1113/expphysiol.2005.031708]
15 Sebastián Domingo JJ, Sánchez Sánchez C. From the intestinal flora to the microbiome. *Rev Esp Enferm Dig* 2018; 110: 51-56 [PMID: 29271225 DOI: 10.17235/reed.2017.4947/2017.]
16 Simrén M, Barbara G, Flint HJ, Spiegel BM, Spiller RC, Vanner S, Verdu EF, Whorwell PJ, Zoetendal EG; Rome Foundation Committee. Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut* 2013; 62: 159-176 [PMID: 22730468 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302167]
17 李岩. 慢性腹泻与肠道菌群失调. 中国实用内科杂志 2003; 23: 584-586
18 陈悦泰, 张丽丽. 泄泻的定义病名和分类. 时珍国医国药 2001; 12: 459
19 刘晴, 王垂杰. 肠道菌群失调致慢性腹泻的“脾虚”论治. 中医药临床杂志 2017; 29: 2032-2034 [DOI:10.16448/j.cjtcm.2017.0671]
20 任平, 夏天, 李平, 丁振若, 黄熙, 杨少文, 胡家露, 苗继延. 脾虚腹泻患者肠道菌群的研究. 中医杂志 1992; 6: 33-34 [DOI:10.13288/j.11-2166/r.1992.06.018]
21 卢林, 杨景云, 李丹红. 脾虚湿盛泄泻患者肠道微生态及舌部菌群变化的临床观察. 中国微生态学杂志 2007; 19: 333-334 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.2007.04.004]
22 王杏伯. 泄泻从脾论治12法. 山西中医 1995; 11: 19-21
23 胡佳婷. 泄泻的从脾论治12法. 现代中西医结合杂志 2002; 11: 1469-1470
24 王永炎, 鲁兆麟. 中医内科学. 北京: 人民卫生出版社 1999; 487-490
25 罗尧岳, 龙景文, 王宇星, 谢谨光, 邓宁昆, 伍参荣, 李雅. 超微藿香正气散对急性腹泻大鼠肠黏膜保护及水电解质的调节作用研究. 湖南中医药大学学报 2011; 31: 16-19
26 张玲. 藿香正气散加减治疗小儿秋季腹泻疗效观察. 山西中医 2016; 32: 21-22
27 时培明, 李萍, 安文秀. 藿香正气散加减对急性肠胃炎患者康复效果的影响研究. 反射疗法与康复医学 2020; 1: 67-69
28 王连荣, 杜焕社. 加味藿香正气丸联合诺氟沙星治疗急性肠胃炎的应用价值分析. 四川解剖学杂志 2020; 28: 83-84
29 刘茜明, 杨光勇, 何光志, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东, 王文佳. 葛根芩连汤对抗生素相关腹泻肠道乳酸杆菌属的影响研究. 家畜生态学报 2016; 37: 74-78
30 刘茜明, 杨光勇, 何光志, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东, 王文佳. FQ-PCR法分析葛根芩连汤对抗生素相关性腹泻模型肠道肠球菌数量的改变. 黑龙江畜牧兽医 2016; 59: 19-22+28+287 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2016.1671]
31 刘茜明, 杨光勇, 何光志, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东, 王文佳. FQ-PCR技术分析葛根芩连汤对抗生素相关性腹泻模型肠道双歧杆菌属的影响. 时珍国医国药 2016; 27: 1820-1823
32 肖嫩群, 何云山, 张晨阳, 惠华英. 葛根芩连汤对肠道湿热证泄泻小鼠肠道微生物的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 1140-1144 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202010006]
33 周艳霞. 平胃散修复湿困脾胃证大鼠肠道屏障功能障碍作用机理的实验探究. 成都中医药大学 2009
34 樊兰艳. 参苓白术散加减治疗腹泻型肠易激综合征. 广州中医药大学 2008
35 张仲林, 钟玲, 臧志和, 辛志伟. 参苓白术散对动物胃肠动力影响的实验研究. 时珍国医国药 2009; 20: 3151-3152
36 孙娟, 王键, 胡建鹏, 李姿慧, 叶铭钢, 徐伟. 参苓白术散对脾虚湿困证溃疡性结肠炎大鼠结肠菌群的影响. 云南中医学院学报 2013; 36: 1-4 [DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2013.04.001]
37 向丽华, 张治国, 王震, 孙刚, 王笑红, 李媛媛, 刘洋. 五苓散对腹泻模型大鼠体重及血清、尿渗透压的影响. 中国中医基础学杂志 2012; 18: 626-628
38 高双静. 五苓散加味治疗腹泻型肠易激综合征脾虚湿阻证的临床疗效观察. 福建中医药大学 2019
39 张建. 加味五苓散治疗小儿秋季腹泻32例疗效观察. 保健医学研究与实践 2014; 11: 48-49
40 金翠英, 周建平, 王焕秀. 加味保和丸主要药理作用研究. 中国实验方剂学杂志 2006; 12: 53-57 [DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2006.07.023]
41 胡巍鹏, 蒋芸, 宋启劳. 保和丸治疗伤食型小儿腹泻40例. 国医论坛 2010; 25: 27
42 何云山. 保和丸水煎液对泄泻食滞胃肠证小鼠肠道菌群的影响

研究. 湖南中医药大学 2021
43 李耿诚. 加味痛泻要方治疗肝郁脾虚型肠易激综合征临床研究. 广州中医药大学 2006
44 陈苑玲, 张正利. 痛泻要方加味治疗腹泻型肠易激综合征的临床观察. 河北中医 2002; 24: 408-410
45 陈境烨, 刁沛思. 痛泻药方治疗肠易激综合征的中医证候疗效及安全性观察. 中医临床研究 2019; 11: 59-61
46 刘海涛, 施家希, 黄娟, 罗丹, 张嘉骏, 施旭光. 补中益气汤对脾虚泄泻大鼠小肠黏膜修复及葡萄糖吸收相关转运体的影响. 中药材 2017; 40: 1178-1183 [DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2017.05.041]
47 周丽娜, 朱涛. 补中益气汤合四君子汤治疗慢性腹泻的临床疗效. 内蒙古中医药 2020; 39: 25-26 [DOI: 10.16040/j.cnki.cn15-1101.2020.07.015]
48 李燕舞, 王汝俊, 王建华. 补脾方药对脾虚大鼠壁细胞超微结构的影响. 中药药理与临床 2006; 22: 3-5
49 Tao M, Wang X, Wang A, Gao N, Pan J, Liu X, Wang X. Effect of jiaweiwumel decoction on regulatory T cells and interleukin-10 in a rat model of ulcerative colitis. *J Tradit Chin Med* 2015; 35: 312-315 [PMID: 26237836 DOI: 10.1016/s0254-6272(15)30103-5.]
50 高新建. 乌梅丸治疗慢性腹泻32例. 中国医药科学 2013; 3: 82-83
51 陈伟斌. 腹泻型肠易激综合征应用乌梅丸治疗的效果分析. 中外医学研究 2021; 19: 118-120 [DOI: 10.14033/j.cnki.cfmr.2021.08.043]
52 彭计红, 杜斌, 梅晓云. 读《医宗必读》治泄九法体会. 吉林中医药 2003; 23: 10-11 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2003.06.006]
53 蒋美荣, 于红亮, 白学斌. 芍药甘草汤治疗小儿秋季腹泻68例. 现代中医药 2009; 29: 13-14
54 喻灿, 李瀚旻, 崔金涛, 李旭成, 王凌. 从子午流注理论及肠道微生态分析五更泄. 辽宁中医杂志 2020; 47: 69-71 [DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2020.11.019]
55 刘佳星, 王彦礼, 李彧, 邹迪新, 王敦方, 马旭冉, 宋红新, 杨伟鹏, 王海南. 四神丸对腹泻型肠易激综合征大鼠肠道菌群影响的实验研究. 药学学报 2019; 54: 670-677 [DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0920]
56 蔺晓源, 邓娜, 李霞, 刘富林. 四神丸对脾肾阳虚泄泻模型大鼠实验研究. 中国中医急症 2016; 25: 756-758
57 武志娟. 附子理中汤治疗腹泻型肠易激综合征的临床与实验研究. 广州中医药大学 2013
58 王帅, 陈詰. 读《医宗必读》学习李中梓治泄九法. 北京中医药 2011; 30: 30-31 [DOI: 10.16025/j.1674-1307.2011.01.021]
59 王留兴. 桃花汤粉剂对小鼠腹泻和小肠运动功能的影响. 长春中医药大学学报 2008; 24: 140-141 [DOI: 10.13463/j.cnki.cczyy.2008.02.057]
60 杨晓锋. 真人养脏汤治疗小儿秋季腹泻的疗效观察. 中国实用医药 2010; 5: 32-33 [DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2010.21.156]

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 © 2022 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 69-76

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.69

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

基础研究 BASIC RESEARCH

丹酚酸B对NASH细胞焦亡通路NLRP3/Caspase-1/GSDMD的影响

陈小青, 彭 波, 姜红梅, 张昌敏, 李海燕, 李子银

陈小青, 彭波, 姜红梅, 张昌敏, 李海燕, 李子银, 武汉市第三医院光谷院区消化内科 湖北省武汉市 430000

陈小青, 住院医师, 医学硕士, 主要从事非酒精性脂肪性肝病的研究.

基金项目: 武汉市卫生计生委科研计划资助项目, No. WZ20Z04.

作者贡献分布: 此课题由陈小青设计; 研究过程由陈小青, 彭波, 姜红梅, 张昌敏, 李海燕及李子银共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈小青、彭波提供; 数据分析由李海燕及李子银完成; 本论文写作由陈小青完成.

通讯作者: 彭波, 主任医师, 430000, 武汉市洪山区关山大道216号, 武汉市第三医院光谷院区消化内科. 1530424244@qq.com

收稿日期: 2021-08-26
修回日期: 2021-10-23
接受日期: 2022-01-12
在线出版日期: 2022-01-28

Effect of salvianolic acid B on NLRP3/caspase-1/GSDMD pyrolysis pathway in NASH cells

Xiao-Qing Chen, Bo Peng, Hong-Mei Jiang, Chang-Xu Zhang, Hai-Yan Li, Zi-Yin Li

Xiao-Qing Chen, Bo Peng, Hong-Mei Jiang, Chang-Xu Zhang, Hai-Yan Li, Zi-Yin Li, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430000, Hubei Province, China

Supported by: Medical Research Funding Project of Wuhan Municipal Health Commission, No. WZ20Z04.

Corresponding author: Bo Peng, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Wuhan Third Hospital, No. 216 Guanshan Avenue, Hongshan District, Wuhan 430000, Hubei Province, China. 1530424244@qq.com

Received: 2021-08-26
Revised: 2021-10-23
Accepted: 2022-01-12

Published online: 2022-01-28

Abstract

BACKGROUND

Numerous studies have proved that salvianolic acid B (Sal B) has a therapeutic effect on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Cell pyrolysis plays an important role in the onset of NAFLD and its progression to NASH. By studying the regulatory effect of Sal B on the main proteins related to cell pyrolysis in NASH, it was found that Sal B has the advantages of multiple approaches and multiple targets in the treatment of NAFLD.

AIM

To establish a non-alcoholic steatohepatitis (NASH) cell model by treating HepG2 cells with palmitic acid (PA), and explore the effect of Sal B on cell pyrolysis and the pyrolysis-related GSDMD/NLRP3/caspase-1 pathway.

METHODS

HepG2 cells in logarithmic growth phase were collected, and the optimal drug intervention concentration and intervention time for PA were assessed by MTT assay. The cells were randomly divided into a control group, a model group (PA), a treatment group (Sal B + PA), and a pyrolysis inhibitor group (VX-765 + PA). The cells of each group were stained with oil red O to observe the lipid accumulation in the cells under an inverted phase-contrast microscope. The cell supernatant was collected to measure the OD value with a microplate reader. The immunofluorescence probe DCFH-DA was used to determine the intracellular ROS content. The expression of interleukin 18 (IL-18) and interleukin 1β (IL-1β) in cell supernatant was determined by ELISA. The expression of NLRP3 and pyrolysis-related proteins caspase-1, GSDMD,

and GSDMD-N was detected by Western blot.

RESULTS

Compared with the control group, the model group had obvious accumulation of lipids and ROS, increased secretion of inflammatory factors IL-1β and IL-18 ($P < 0.05$), and increased protein expression of NLRP3, caspase-1, GSDMD, and GSDMD-N ($P < 0.05$). Sal B or VX-765 inhibitor treatment can reverse the accumulation of lipids and ROS caused by PA, decreased the secretion of IL-1β and IL-18, and down-regulated the protein expression of NLRP3, caspase-1, GSDMD, and GSDMD-N ($P < 0.05$).

CONCLUSION

PA can induce pyrolysis of liver cells. Sal B can reduce inflammation and alleviate the progression of NASH by inhibiting the NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cell pyrolysis; Caspase-1; Non-alcoholic steatohepatitis; Salvianolic acid B; NLRP3; Cell model

Citation: Chen XQ, Peng B, Jiang HM, Zhang CX, Li HY, Li ZY. Effect of salvianolic acid B on NLRP3/caspase-1/GSDMD pyrolysis pathway in NASH cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 69-76

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/69.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.69

摘要

背景

大量实验证明丹酚酸B(salvianolic acid B, Sal B)对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)有治疗作用, 细胞焦亡在NAFLD发病及其向非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)进展的过程中起了重要作用, 通过研究Sal B对NASH细胞焦亡主要相关蛋白的调节, 发觉Sal B在NAFLD中多途径、多靶点的治疗作用及优势.

目的

建立NASH体外细胞模型, 并用Sal B及焦亡抑制剂(VX-765)干预, 探讨Sal B对细胞焦亡的影响及对焦亡通路GSDMD/NLRP3/Caspase-1的调节机制.

方法

取对数生长期HepG2细胞, MTT法检测筛选棕榈酸(palmitic acid, PA)最佳的药物干预浓度及干预时间; 将细胞随机分为对照组、模型组(PA), 治疗组(Sal B+PA)及抑制剂组(VX-765+PA). 取各组细胞分别经油红O染色在光学显微镜观察细胞内脂质蓄积情况, 收集细胞上清液酶标仪下测定光密度(optical density, OD)值; 免疫荧光H2DCFH探针测定细胞内活性氧含量; 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)检测各组细胞上清液白细胞介素-18(interleukin 18, IL-18)、白细胞介素1β(interleukin 1β, IL-1β) 表达量; Western Blot检测炎性小体核苷酸寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)及焦亡相关蛋白半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、消皮素(gasdermin D, GSDMD)、GSDMD的N端结构域(GSDMD-N)的表达, 并检测各种蛋白的相对表达量变化.

结果

模型组细胞内脂质小体及活性氧(reactive oxygen species, ROS)蓄积明显, IL-1β、IL-18等促炎因子分泌增多(P值<0.05), 炎症小体NLRP3、焦亡相关蛋白Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N表达均升高(P值均<0.05). 使用Sal B干预治疗或VX-765抑制剂处理后可逆转PA造成的脂质及ROS蓄积, IL-1β及IL-18炎症因子的分泌, 同时可下调NLRP3、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N等焦亡相关蛋白表达(P值均<0.05).

结论

PA可诱导肝脏细胞焦亡发生, 丹酚酸B通过对焦亡通路NLRP3/Caspase-1/GSDMD的抑制作用减轻炎症反应, 缓解NASH进展.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 细胞焦亡; Caspase-1; 非酒精性脂肪性肝炎; 丹酚酸B; NLRP3; 细胞模型

核心提要: 丹酚酸B通过抑制焦亡效应分子消皮素(gasdermin D, GSDMD)蛋白、焦亡启动分子NLRP3蛋白及焦亡相关的半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)蛋白的表达, 进一步减轻促炎因子IL-1β和TNF-α的释放, 进而减轻细胞内炎症反应, 缓解非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)发展.

文献来源: 陈小青, 彭波, 姜红梅, 张昌敏, 李海燕, 李子银. 丹酚酸B对NASH细胞焦亡通路NLRP3/Caspase-1/GSDMD的影响. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 69-76

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/69.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.69

0 引言

流行病学显示亚太地区非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率为2%-35%[1]. 单纯性脂肪肝向非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)发展是NAFLD病理发展最为关键的一步, 若不进行及时的干预和治疗, 最终均有很大概

率发展为肝硬化及肝癌[2,3]. 然而对该病的病理机制和临床治疗管理仍存在局限性. 因此, 如果能在分子层面探索和筛选新的药物靶点, 将能够为NASH治疗提供新的策略.

焦亡是程序性细胞死亡的新形式, 细胞内炎症小体引起下游半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)激活, 后者通过切割消皮素(gasdermin D, GSDMD)的N端结构阈介导膜孔形成, 胞质内容物泄露并引起强烈的炎症反应[4]. 有相关文献研究证明非酒精性肝病中GSDMD能诱导炎症因子外泄、激活NF-κB信号通路、促进脂质生成,推动肝脂肪变性向肝炎的转化[5].

Sal B是活血化瘀要药丹参主要水溶性活性成分, 可以通过调节肝癌细胞AKT/mTOR信号通路, 诱导细胞自噬, 促进细胞凋亡[6]. Sal B通过减少肝脏氧化应激反应改善肥胖症小鼠的胰岛素抵抗[7]. 大量研究显示Sal B具有抗炎、抗氧化、抗凋亡及清除氧自由基的作用[8-10], 可能是对NASH一个潜在治疗药物.

本实验通过应用Caspase抑制剂(VX-765)与Sal B共同干预NASH模型细胞, 观察Sal B对NASH治疗效果及对细胞焦亡的影响, 并进一步研究其分子机制, 为NASH在中医药治疗方法中扩展新研究领域和理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 细胞与试剂: HepG2细胞(武汉大学细胞库); Sal B溶液(美仑生物); 棕榈酸(palmitic acid, PA)(美国Sigma-Aldrich); VX-765抑制剂(APExBIO); 牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)、油红O染色剂、活性氧ROS荧光探针及MTT试剂盒(南京凯基生物); 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)试剂盒(上海碧云天); NLRP3抗体、caspase-1抗体、GSDMD抗体、GSDMD-N抗体、Actin抗体(Cell Signaling Technology); BCA蛋白定量试剂盒(南京凯基生物); Prestained Protein Ladder、HRP标记山羊抗兔IgG、ECL显影液(ThermoFisher Scientific).

1.2 方法

1.2.1 MTT法筛选PA最佳干预浓度: 将细胞悬液接种于96孔培养板, 每组细胞设置5个副孔, 在细胞培养箱下培养24 h, 分别加入终浓度为0.25、0.5、1.0及2.0 mmol/L的PA溶液培养24 h, 干预完成后弃上清液, 加入20 μL无血清MTT试剂(5 mg/mL)避光孵育4 h, 加入150 μL/孔二甲基亚砜溶液, 充分震荡混匀使结晶溶解后于酶标仪光密度(optical density, OD)值570 nm处测定其吸光度值, 根据标准公式计算细胞存活率.

1.2.2 细胞分组: 将细胞随机分为4组: 对照组细胞使用完全培养基培养; 模型组细胞使用终浓度为1.0 mmol/L PA溶液培养24 h; 治疗组细胞给与5 μmol/L Sal B预处理24 h, 再使用1.0 mmol/L PA溶液继续培养24 h; 抑制剂组细胞给与50 μmol/L VX-765预处理4 h后再加入1 mmol/L PA继续培养24 h.

1.2.3 油红O染色: 将细胞接种于24孔培养板, 磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline solution, PBS)漂洗后弃上清液, 4%多聚甲醛避光固定; PBS 漂洗去除多聚甲醛, 用油红O试剂(500 μL/孔) 室温避光染色30 min; 60%异丙醇洗10 s, 于倒置显微镜下观察. 60%异丙醇溶解细胞10 min, 于酶标仪510 nm波长处测定各组OD值.

1.2.4 免疫荧光: 以1×10^6/孔将细胞接种于6孔培养板, 药物干预后PBS漂洗3次, 加入终浓度 10 μmol/L的2', 7'-二氯荧光素二乙酸酯(H2DCFH)探针, 于恒温培养箱中避光静置1 h, PBS漂洗3次除去多余未进入细胞的探针, 荧光显微镜拍摄观察.

1.2.5 ELISA: 收集各组细胞上清液, 4 ℃低速离心, 将收集上清液于-80 ℃储存. 按照试剂盒说明进行实验操作, 测定吸光度值, 计算白细胞介素1β(interleukin 1β, IL-1β)和白细胞介素-18(interleukin 18, IL-18)浓度.

1.2.6 Western blot: 提取各组细胞内全部蛋白后检测蛋白含量; 待蛋白质样品变性后, 加样至泳道, 恒压120 V电泳60 min;将PVDF膜置于电转槽中进行转膜; 移膜至封闭液中1 h; 加配制好的一抗溶液覆盖PVDF膜, 4 ℃冰箱内放置12 h; 洗涤多余一抗上清液后加配置好的二抗溶液, 室温孵育1 h; 洗膜后加入显色试剂, 于成像系统中拍摄成像.

统计学处理 SPSS 25.0软件进行数据分析. 各组实验结果用mean±SD表示, 采用单因素方差分析进行多组间比较, 进一步两两比较采用LSD-*t*检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MTT实验 实验结果显示0.25-1.0 mmol/L浓度的PA溶液对HepG2细胞的生长具有促进作用, 差异有统计学意义(P值＜0. 01), 2.0 mmol/L PA对HepG2细胞的生长具有明显抑制作用. 因此选择1.0 mmol/L浓度的PA溶液进行造模实验(表1).

2.2 油红O染色 结果显示对照组细胞内无明显红染, 模型组细胞可见胞质内有大量脂滴蓄积, 与油红O试剂反应后显示明显红染, 治疗组及抑制剂组较模型组内脂滴明显减少(图1). 三组细胞脂滴表达量均不同, 差异有统计学意义(F = 114.94, $P<0.05$), 模型组OD值(0.81±0.04)较对照组(0.39±0.02)升高, 治疗组 (0.53±0.05)较模型组降低. 而抑制剂组OD值(0.51±0.03)较模型组降低($P<0.05$), 抑制剂组与治疗组OD值无明显差异. 结果显示

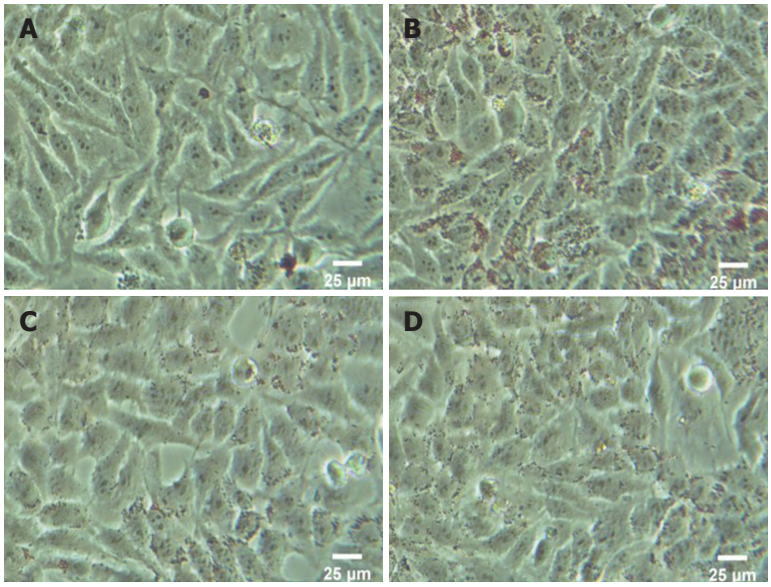


图 1　光镜下观察各组细胞滴形成情况(油红O染色, ×40). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组; D: 抑制剂组.

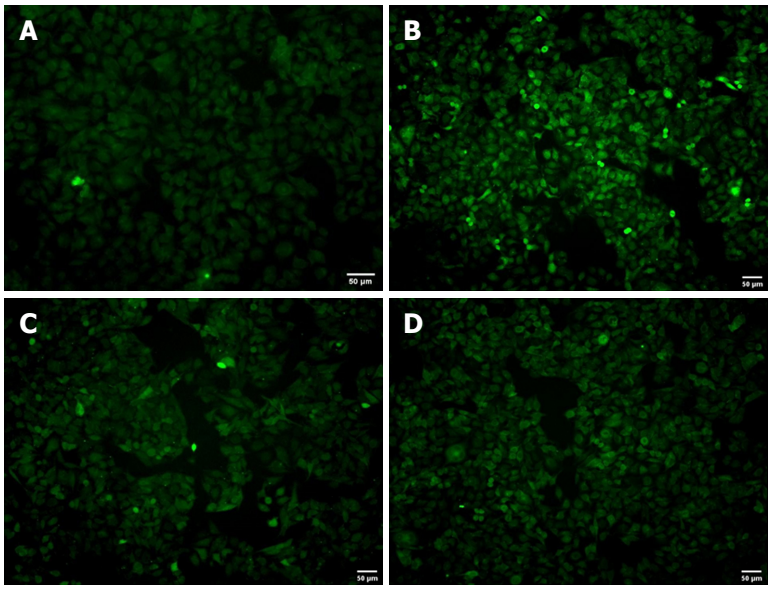


图 2　荧光显微镜下观察各组细胞ROS荧光强度(油红O染色, ×40). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组; D: 抑制剂组.

1.0 mmol/L PA给药24 h后可成功诱导HepG2细胞内脂质蓄积, Sal B治疗及抑制剂干预后均可明显缓解由PA引起的细胞内脂质蓄积现象.

2.3 免疫荧光探针测定细胞内ROS含量　荧光显微镜下观察H2DCFH探针孵育各组细胞后的活性氧(reactive oxygen species, ROS)的荧光强度, 荧光图显示模型组荧光强度较正常对照组明显增多, 治疗组及抑制剂组较模型组荧光强度明显降低(图2). 结果显示NASH细胞内存在明显的过氧化物蓄积, Sal B治疗后可明显减轻细胞内氧化应激, 对NASH具有治疗作用.

2.4 ELISA法检测IL-1β和IL-18表达量　实验结果显示, 各组细胞上清液中IL-1β蛋白表达量不同, 差异有统计学意义(F = 522.35, P<0.01), 模型组IL-1β相对表达量(18.46±0.48)较对照组(7.24±0.48)升高(P<0.01), 治疗组(10.38±0.41)较模型组降低(P<0.01), 抑制剂组(11.81±0.62)较模型组降低(P<0.01). 各组细胞上清液IL-18表达量不同, 差异有统计学意义(F = 182.7, P<0.05), 模型组IL-18(15.56±0.44)较对照组(7.38±0.69)升高(P<0.01), 治疗组(10.31±0.68)较模型组降低(P<0.01), 抑制剂组(11.25±0.59)较模型组升高(P<0.01)(表2).

2.5 Western blot检测NLRP3、Caspase-1、GSDMD和GSDMD-N蛋白表达　实验结果显示, 模型组较对照组细胞内焦亡相关蛋白NLRP3、Caspase-1、GSDMD和GSDMD-N的表达上调(P<0.01); 使用丹酚酸B治疗后,

表 1 MTT检测不同浓度PA对HepG2细胞活性的影响(mean ± SD, %)

PA浓度组别	OD值
0.25 mmol/L组	1.179 ± 0.099
0.5 mmol/L组	1.218 ± 0.118
1.0 mmol/L组	1.396 ± 0.181
2.0 mmol/L组	0.427 ± 0.149
*F*值	46.99
*P*值	< 0.01

PA: 棕榈酸; OD: 光密度值.

表 2 ELISA法检测组间IL-1β和IL-18表达水平

组别	IL-1β含量(ng/L)	IL-18含量(ng/L)
对照组	7.24 ± 0.48	7.38 ± 0.69
模型组	18.46 ± 0.48	15.56 ± 0.44
治疗组	10.38 ± 0.41	10.31 ± 0.68
抑制剂组	11.81 ± 0.62	11.25 ± 0.59
*F*值	522.35	182.7
*P*值	< 0.01	< 0.05

IL-18: 白细胞介素-18; IL-1β: 白细胞介素1β.

表 3 各组间NLRP3、Caspase-1、GSDMD和GSDMD-N蛋白表达水平比较

组别	NLRP3	Caspase-1	GSDMD	GSDMD-N
对照组	0.89 ± 0.02	0.44 ± 0.03	1.67 ± 0.03	0.35 ± 0.08
模型组	1.36 ± 0.04	1.91 ± 0.18	2.93 ± 0.41	2.05 ± 0.08
治疗组	0.71 ± 0.02	0.69 ± 0.04	1.88 ± 0.03	1.03 ± 0.08
抑制剂组	1.21 ± 0.04	0.28 ± 0.04	1.38 ± 0.04	0.60 ± 0.05
*F*值	260.08	178.34	31.55	245.09
*P*值	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

NLRP3: 核苷酸寡聚化结构域样受体家族3; Caspase-1: 半胱氨酸蛋白酶-1; GSDMD: 消皮素; GSDMD-N: GSDMD的N端结构域.

PA引起的炎性小体NLRP3及焦亡相关蛋白表达上调均被抑制(P<0.01); 使用VX-765抑制剂处理后, 焦亡相关蛋白表达抑制较治疗组更明显(P<0.01), 但对炎性小体NLRP3上调无明显抑制作用(图3, 表3).

3 讨论

近年来非酒精性脂肪性肝炎的发生机制及治疗方法一直是研究热点, HepG2细胞经PA诱导形成非酒精性脂肪性肝炎的细胞模型也已被广泛应用[11]. 丹参是我国传统中医药中应用最早和最广的药物之一, 前期大量研究发现丹参酚酸类水溶性提取物Sal B具有明显抗炎、抗氧化、抗凋亡的活性, 且含有多种药理活性,如抗肝纤维化、减少肾脏损伤、降低心肌耗氧量、保护神经系统等[12-15]. 本研究主要通过建立体外模型细胞, 在细胞及分子层面上探究Sal B对NASH细胞焦亡的影响, 并对其机制进行进一步研究.

目前关于细胞程序性死亡方式主要有凋亡、自噬及焦亡3种, 在细胞生命各项活动中发挥重要的作用. 焦亡是由Cookson和Brennan在2001年首次提出[16], 即在胱天蛋白酶切割消皮素GSDMD介导下, 引起细胞膜发生破裂, 细胞内容物、促炎因子及大量炎症介质泄露释放, 进而导致细胞严重的炎症反应及死亡. 大量研究结果证实细胞焦亡发生在肝炎、肝硬化、肝癌、胰腺炎、结肠癌及炎症性肠病等各种消化道系统疾病中[17,18]. 细

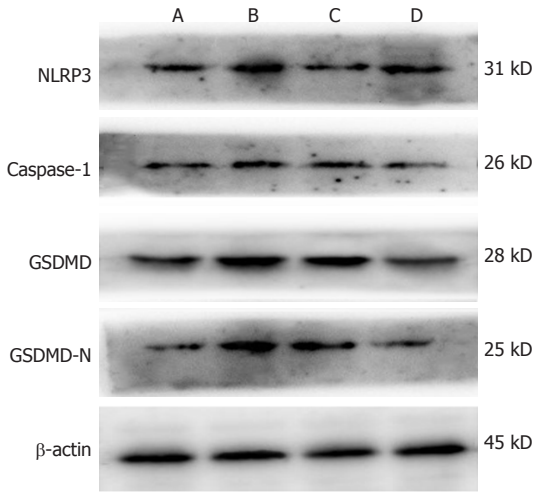


图 3　各组间NLRP3、Caspase-1、GSDMD和GSDMD-N蛋白表达. A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组; D: 抑制剂组. GSDMD: 消皮素; GSDMD-N: GSDMD的N端结构域; NLRP3: 核苷酸寡聚化结构域样受体家族3; Caspase-1: 半胱氨酸蛋白酶-1.

胞焦亡可由两种途径触发即由Caspase-1介导的经典途径和Caspase-4/5/11介导的非经典途径[19]. 刺激因素不同途径激活AIM2、NLRP1b、NLRP3等炎性小体, 炎症小体与ASC相连从而活化Caspase-1, 进一步促使前细胞因子IL-1β和IL-18的活化, 促进GSDMD的裂解, 释放的GSDMD-N端结构域破坏细胞膜完整性, 使细胞内炎性物质大量释放导致细胞焦亡[20]. Caspase-1是焦亡最主要的信号分子之一, VX-765是其选择性抑制剂, 可抑制其表达和活性[21]. 本研究通过检测NLRP3为代表的炎症小体、IL-1β和IL-18为代表的炎性因子、Caspase-1为代表的Caspase家族、以及GSDMD蛋白、GSDMD-N蛋白等作为焦亡发生的指标.

NASH的组织病理学特征在于脂质蓄积及脂毒性损伤和炎症小体激活诱导线粒体损伤[22,23]. 研究结果提示, 当前实验环境下1 mmol PA可诱导HepG2形成NASH模型细胞, 生化检测、油红O染色及免疫荧光染色结果均提示NASH细胞内有明显的脂质、过氧化物及脂氧化物蓄积, ELISA结果提示NASH细胞内炎症因子显著激活, 对NLRP3、Caspase-1、GSDMD蛋白及GSDMD-N蛋白检测证实NASH细胞内焦亡相关蛋白明显升高, 这些结果提示PA可诱导的NASH模型细胞内发生了焦亡.

实验结果提示Sal B可逆转NASH细胞内焦亡的发生, 减轻细胞内炎症反应, 从而减轻NASH细胞的损伤及病变的进一步进展. Sal B对HepG2预处理24 h后, 可显著减少细胞内脂滴及过氧化物的蓄积, 抑制炎性因子释放, 有效降低NLRP3、Caspase-1、GSDMD蛋白及GSDMD-N蛋白的表达, 从而抑制细胞焦亡. 通VX-765抑制剂预处理HepG2细胞, 阻断Caspase-1的活化, 细胞焦亡的进展过程可有效被抑制, NASH细胞病理进展得到有效缓解, 但与治疗组相比, 抑制剂组对NASH细胞炎症因子的抑制作用较差. 结果进一步证实Sal B对肝脏细胞的保护作用与抑制细胞焦亡有关, 但不仅限于此.

4 结论

综上所述, 本研究深入细胞水平证实Sal B抑制NASH细胞发生细胞焦亡的作用机制, 改善减轻NASH细胞脂质蓄积和炎性病变, 缓解NASH病变进展, 其机制与对NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号途径抑制作用有关. 目前细胞焦亡在肝脏疾病中的影响及具体机制还存在很多关键科学问题尚未阐明, 焦亡在消化道相关疾病的调节机制仍需不断地完善和补充. 本研究为确定Sal B预对NASH治疗及保护作用方面的应用提供更加有利的理论依据, 也为中药在NASH细胞病变机制中寻求更多可能的治疗靶点提供新思路.

文章亮点

实验背景

大量实验证实丹酚酸B(salvianolic acid B, Sal B)在人体、动物的多个系统及细胞中具有抗炎、抗氧化、清除氧自由基的作用, 前期我们已经初步证实其可通过多种机制对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)起治疗作用. 已有研究证实细胞焦亡在NAFLD发病及其向非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)进展的过程中起了重要的作用, 细胞焦亡通过调控打孔蛋白GSDMD(gasdermin D)的表达, 抑制NAFLD模型中的细胞焦亡过程可以保肝抗炎, 延缓病情的进展.

实验动机

通过观察Sal B对NASH大鼠肝脏氧化物蓄积及脂质过氧化程度的影响, 证实其对NASH的治疗效果. 检测炎症因子及焦亡相关蛋白表达水平, 证实Sal B可减轻NASH细胞内的焦亡反应.

实验目标

验证Sal B可否有效减轻NASH细胞内过氧化物活性氧(reactive oxygen species, ROS)、脂氧化物含量, 以及油红O染色验证治疗组细胞内脂滴变化来证实抑制剂组和治疗组都可有效减少焦亡相关蛋白表达, 减轻炎症反应, 缓解NASH发展.

实验方法

通过棕榈酸(palmitic acid, PA)干预HepG2细胞建立NASH

模型, 使用Sal B溶液、Caspase抑制剂干预, 建立对照组、NASH模型组、Sal B治疗组及抑制组. 通过生化指标、油红O染色观察细胞病理变化及脂滴聚集. 免疫荧光探针测定细胞内POS含量; 酶联免疫吸附试验检测各组细胞上清液白细胞介素-18(interleukin 18, IL-18)、白细胞介素1β(interleukin 1β, IL-1β)表达量; Western Blot检测消皮素(gasdermin D, GSDMD)、GSDMD的N端结构域(GSDMD-N)、核苷酸寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)和半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)焦亡相关蛋白.

实验结果

模型组细胞内脂质小体及活性氧(reactive oxygen species, ROS)蓄积明显, IL-1β、IL-18等促炎因子分泌增多, 炎症小体NLRP3、焦亡相关蛋白Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N表达均升高. 使用Sal B干预治疗或VX-765抑制剂处理后可逆转PA造成的脂质及ROS蓄积, IL-1β及IL-18炎症因子的分泌, 同时可下调NLRP3、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N等焦亡相关蛋白表达.

实验结论

PA可诱导肝脏细胞焦亡发生, 丹酚酸B通过对焦亡通路NLRP3/Caspase-1/GSDMD的抑制作用减轻炎症反应, 缓解NASH进展.

展望前景

通过研究Sal B对NASH细胞焦亡主要相关蛋白的调节, 发觉Sal B在NAFLD中多途径、多靶点的治疗优势, 为探索NAFLD新型治疗药物提供新的研究领域.

5 参考文献

1 Lee SB, Kim KM, An J, Lee D, Shim JH, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS. Clinical characteristics and potential aetiologies of non-B non-C hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus endemic area. *Liver Int* 2016; 36: 1351-1361 [PMID: 26913702 DOI: 10.1111/liv.13099]

2 Athyros VG, Boutari C, Stavropoulos K, Anagnostis P, Imprialos KP, Doumas M, Karagiannis A. Statins: An Under-Appreciated Asset for the Prevention and the Treatment of NAFLD or NASH and the Related Cardiovascular Risk. *Curr Vasc Pharmacol* 2018; 16: 246-253 [PMID: 28676019 DOI: 10.2174/1570161115666617]

3 Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016; 64: 73-84 [PMID: 26707365 DOI: 10.1002/hep.28431]

4 Amarante-Mendes GP, Adjemian S, Branco LM, Zanetti LC, Weinlich R, Bortoluci KR. Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. *Front Immunol* 2018; 9: 2379 [PMID: 30459758 DOI: 10.3389/fimmu.2018.02379]

5 Wree A, McGeough MD, Peña CA, Schlattjan M, Li H, Inzaugarat ME, Messer K, Canbay A, Hoffman HM, Feldstein AE. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD. *J Mol Med (Berl)* 2014; 92: 1069-1082 [PMID: 24861026 DOI: 10.1007/s00109-014-1170-1]

6 Gong L, Di C, Xia X, Wang J, Chen G, Shi J, Chen P, Xu H, Zhang W. AKT/mTOR signaling pathway is involved in salvianolic acid B-induced autophagy and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2016; 49: 2538-2548 [PMID: 27779641 DOI: 10.3892/ijo.2016.3748]

7 Shi Y, Pan D, Yan L, Chen H, Zhang X, Yuan J, Mu B. Salvianolic acid B improved insulin resistance through suppression of hepatic ER stress in ob/ob mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 526: 733-737 [PMID: 32265029 DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.03.124]

8 Jiang P, Guo Y, Dang R, Yang M, Liao D, Li H, Sun Z, Feng Q, Xu P. Salvianolic acid B protects against lipopolysaccharide-induced behavioral deficits and neuroinflammatory response: involvement of autophagy and NLRP3 inflammasome. *J Neuroinflammation* 2017; 14: 239 [PMID: 29212498 DOI: 10.1186/s12974-017-1013-4]

9 Wang W, Hu W. Salvianolic acid B recovers cognitive deficits and angiogenesis in a cerebral small vessel disease rat model via the STAT3/VEGF signaling pathway. *Mol Med Rep* 2018; 17: 3146-3151 [PMID: 29257241 DOI: 10.3892/mmr.2017.8203]

10 Zeng Z, Zhang H, Wang X, Liu K, Li T, Sun S, Li H. Salvianolic acid B suppresses cell proliferation and induces apoptosis in osteosarcoma through p38-mediated reactive oxygen species generation. *Oncol Lett* 2018; 15: 2679-2685 [PMID: 29434992 DOI: 10.3892/ol.2017.7609]

11 Xiao Q, Zhang S, Yang C, Du R, Zhao J, Li J, Xu Y, Qin Y, Gao Y, Huang W. Ginsenoside Rg1 Ameliorates Palmitic Acid-Induced Hepatic Steatosis and Inflammation in HepG2 Cells via the AMPK/NF-κB Pathway. *Int J Endocrinol* 2019; 2019: 7514802 [PMID: 31467529 DOI: 10.1155/2019/7514802]

12 Zeng W, Shan W, Gao L, Gao D, Hu Y, Wang G, Zhang N, Li Z, Tian X, Xu W, Peng J, Ma X, Yao J. Inhibition of HMGB1 release via salvianolic acid B-mediated SIRT1 up-regulation protects rats against non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep* 2015; 5: 16013 [PMID: 26525891 DOI: 10.1038/srep16013]

13 Hu Y, Wang M, Pan Y, Li Q, Xu L. Salvianolic acid B attenuates renal interstitial fibrosis by regulating the HPSE/SDC1 axis. *Mol Med Rep* 2020; 22: 1325-1334 [PMID: 32626974 DOI: 10.3892/mmr.2020.11229]

14 Deng Y, Zhang T, Teng F, Li D, Xu F, Cho K, Xu J, Yin J, Zhang L, Liu Q, Yang M, Wu W, Liu X, Guo DA, Jiang B. Ginsenoside Rg1 and Rb1, in combination with salvianolic acid B, play different roles in myocardial infarction in rats. *J Chin Med Assoc* 2015; 78: 114-120 [PMID: 25476150 DOI: 10.1016/j.jcma.2014.10.001]

15 Chen T, Liu W, Chao X, Zhang L, Qu Y, Huo J, Fei Z. Salvianolic acid B attenuates brain damage and inflammation after traumatic brain injury in mice. *Brain Res Bull* 2011; 84: 163-168 [PMID: 21134421 DOI: 10.1016/j.brainresbull.2010.11.015]

16 Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol* 2001; 9: 113-114 [PMID: 11303500 DOI: 10.1016/s0966-842x(00)01936]

17 Zheng T, Yang X, Li W, Wang Q, Chen L, Wu D, Bian F, Xing S, Jin S. Salidroside Attenuates High-Fat Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease via AMPK-Dependent TXNIP/NLRP3 Pathway. *Oxid Med Cell Longev* 2018; 2018: 8597897 [PMID: 30140371 DOI: 10.1155/2018/8597897]

18 金相任, 孙备, 白雪巍. 焦亡的研究进展及胰腺腺泡细胞焦亡的研究现状. 世界华人消化杂志 2017; 25: 2798-2804 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i31.2798]

19 Huang X, Feng Y, Xiong G, Whyte S, Duan J, Yang Y, Wang K, Yang S, Geng Y, Ou Y, Chen D. Caspase-11, a specific sensor for intracellular lipopolysaccharide recognition, mediates the non-canonical inflammatory pathway of pyroptosis. *Cell Biosci* 2019; 9: 31 [PMID: 30962873 DOI: 10.1186/s13578-019-0292-0]

20 Xia X, Wang X, Zheng Y, Jiang J, Hu J. What role does pyroptosis play in microbial infection? *J Cell Physiol* 2019; 234: 7885-7892 [PMID: 30537070 DOI: 10.1002/jcp.27909.]
21 Flores J, Noël A, Foveau B, Beauchet O, LeBlanc AC. Pre-symptomatic Caspase-1 inhibitor delays cognitive decline in a mouse model of Alzheimer disease and aging. *Nat Commun* 2020; 11: 4571 [PMID: 32917871 DOI: 10.1038/s41467-020-18405-9]
22 Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2016; 65: 1049-1061 [PMID: 26997538 DOI: 10.1016/j.metabol.2016.02.014]
23 Yu J, Nagasu H, Murakami T, Hoang H, Broderick L, Hoffman HM, Horng T. Inflammasome activation leads to Caspase-1-dependent mitochondrial damage and block of mitophagy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 15514-15519 [PMID: 25313054 DOI: 10.1073/pnas.1414859111]

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 © 2022 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 77-87

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.77

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

白果内酯通过NLRP3相关通路发挥对乙醇致大鼠胃溃疡的保护作用

刘广宁, 门 炜

刘广宁, 南开大学附属医院(天津市第四医院)消化科 天津市 300000

门炜, 天津大学北洋门诊部 天津市 300000

刘广宁, 主治医师, 研究方向为中西医结合消化疾病的诊疗.

作者贡献分布: 此课题由刘广宁医师设计; 研究过程及文章初稿写作由门炜完成; 文章修订由刘广宁医师完成.

通讯作者: 刘广宁, 研究生, 主治医师, 300000, 天津市河西区小海地微山路4号南开大学附属医院(天津市第四医院). liudaping007@163.com

收稿日期: 2021-09-14
修回日期: 2021-10-21
接受日期: 2022-01-12
在线出版日期: 2022-01-28

Ginkgolide protects against ethanol-induced gastric ulcer in rats through NLRP3 related pathway

Guang-Ning Liu, Wei Men

Guang-Ning Liu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nankai University (Tianjin Fourth Hospital), Tianjin 300000, China

Wei Men, Beiyang Outpatient Department of Tianjin University, Tianjin 300000, China

Corresponding author: Guang-Ning Liu, Postgraduate, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nankai University (Tianjin Fourth Hospital), No. 4 Xiaohaidiweishan Road, Hexi District, Tianjin 300000, China. liudaping007@163.com

Received: 2021-09-14
Revised: 2021-10-21
Accepted: 2022-01-12
Published online: 2022-01-28

Abstract

BACKGROUND

Ginkgolide has a protective effect on gastric ulcer gastric mucosa damage, but the exact mechanism involved is still not clear.

AIM

To investigate the molecular mechanism of ginkgolide for protecting against ethanol-induced gastric ulcer by detecting the expression of proteins related to the nod-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) pathway.

METHODS

Sixty SD rats were randomly divided into a blank group (group A, rats with no treatment), a model group (group B, rats treated with ethanol), control group (group C, rats treated with ethanol and 20 mg/ mL omeprazole), low-dose ginkgolide group (group D, rats treated with ethanol and 1 mg/mL ginkgolide), medium-dose ginkgolide group (group E, rats treated with ethanol and 2.5 mg/mL ginkgolide), and high-dose ginkgolide group (group F, rats treated with ethanol and 5 mg/mL ginkgolide), with ten rats in each group. Gastric pH, gastrin, pepsin, and ulcer index (UI) of rats in different groups were compared. The contents of NLRP3, caspase-1, IL-18, IL-1β, superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and reduced glutathione (GSH) in serum were determined by ELISA. The expression levels of NLRP3, interleukin (IL)-18, IL-1β, caspase-1, and apoptosis associated blotch-like protein (ASC) in gastric tissues were detected by real-time fluorescence quantitative PCR, Western blot (WB), and immunofluorescence assay.

RESULTS

UI, gastrin, total acidity, and total pepsin activity in group B were significantly higher than those in group A ($P < 0.01$), while UI, total acidity, and total pepsin activity in groups C, E, and F were significantly lower than those in group B ($P < 0.01$). Serum levels of SOD and GSH in groups C, D, E, and F were significantly higher than those in group B ($P <$

0.01). Serum MDA and the mRNA and protein expression of NLRP3, caspase-1, IL-18, IL-1β, and ASC in gastric tissue in group B were significantly higher than those in group A ($P < 0.01$). Serum MDA and the mRNA and protein expression of NLRP3, caspase-1, IL-18, IL-1β, and ASC in gastric tissue of rats in groups C, D, E, and F were significantly lower than those in group B ($P < 0.01$).

CONCLUSION

Ginkgolide protects against ethanol-induced gastric ulcer through the NLRP3 pathway.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ginkgolide; Gastric ulcer; Nod-like receptor protein 3; Ethanol; Anti-inflammatory effect; Protection mechanism

Citation: Liu GN, Men W. Ginkgolide protects against ethanol-induced gastric ulcer in rats through NLRP3 related pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 77-87
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/77.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.77

摘要

背景

白果内酯对胃溃疡胃黏膜损伤有一定的保护作用, 但其具体的作用机制尚不清楚.

目的

探讨白果内脂通过NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)通路改善乙醇诱导胃溃疡的分子机制.

方法

将60只SD大鼠随机分为空白组(A组, 不做处理), 模型组(B组, 乙醇诱导的急性胃溃疡模型), 对照组(C组, 20 mg/ mL奥美拉唑), 低剂量组(D组, 1 mg/mL 白果内酯)、中剂量组(E组, 2.5 mg/mL 白果内酯)和高剂量组(F组, 5 mg/mL 白果内酯), 每组10只, 比较不同组别大鼠的胃液pH值、胃泌素、胃蛋白酶以及溃疡指数(ulcer index, UI)等, 采用Elisa方法检测大鼠腹主动脉血清以及眼眶血清中的NLRP3、半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、IL-18和IL-1β、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)含量. 采用实时荧光定量PCR、免疫印迹(WB)法以及免疫荧光法检测胃组织中NLRP3相关通路中NLRP3、白介素-18(IL-1β)、IL-1β、Caspase-1和调亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated blotch-like protein, ASC)的表达量变化.

结果

B组UI、胃泌素、总酸度和胃蛋白酶总活性均明显高于A组($P<0.01$), C组, E组和F组的UI、总酸度和胃蛋白酶总活性均低于B组($P<0.01$). C组, D组, E组和F组大鼠血清中SOD值和GSH值较B组明显升高($P<0.01$). B组大鼠MDA值、NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β、Caspase-1和ASC蛋白的mRNA水平和蛋白表达量均明显高于A组($P<0.01$). C组, D组, E组和F组大鼠胃组织中MDA值、NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β、Caspase-1和ASC蛋白的mRNA水平和蛋白表达量均低于B组($P<0.01$).

结论

白果内脂可通过NLRP3通路抗炎机制达到胃溃疡的保护作用.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 白果内脂; 胃溃疡; NOD样受体蛋白3; 乙醇; 抗炎作用; 保护机制

核心提要: 乙醇诱导的胃溃疡溃疡指数胃泌素、总酸度和胃蛋白酶总活性、MDA值、NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、Caspase-1、IL-18、IL-1β、Caspase-1和调亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated blotch-like protein, ASC)蛋白的mRNA水平和蛋白表达量均明显较正常大鼠升高. 表明, 胃溃疡会引起胃蛋白酶总活性和炎性因子分泌量增加. 经不同剂量白果内酯治疗后的乙醇诱导胃溃疡大鼠胃泌素、总酸度、胃蛋白酶总活性、MDA值、NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β、Caspase-1和ASC蛋白的mRNA水平和蛋白表达量均明显较未治疗模型组降低. 说明剂量白果内酯可使乙醇诱导的胃溃疡胃蛋白酶总活性降低, 炎性因子分泌量降低, 进而达到胃溃疡的保护作用.

文献来源: 刘广宁, 门炜. 白果内酯通过NLRP3相关通路发挥对乙醇致大鼠胃溃疡的保护作用. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 77-87
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/77.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.77

0 引言

胃溃疡(gastric ulcer, GU)是常见的慢性消化系统疾病, 由于胃黏膜被消化液消化引起的黏膜肌层组织损伤现象[1]. 过量饮酒会引起腹部烧灼样疼痛, 呕吐及呕血等急性胃溃疡临床症状[2]. 几年来随着生活水平的提高, 饮酒人数逐年增加, 导致胃溃疡患者的新发病例也明显上升[3]. 目前研究结果表明, 胃溃疡患者的胃黏膜的

防御系统遭到破坏后会引发机体内发生溃疡相关的炎症反应, 使得核转录因子NF-κB表达量明显升高, 同时血清中会释放大量促炎性细胞因子[4]. 胃溃疡的发生主要与MAPK通路、ERK通路、EGFR/ERK信号转导途径以及bFGF因子活化等有关[5-7]. NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)是机体免疫系统的重要组成部分, 在机体发生病变或应激刺激后在炎症反应和细胞死亡过程中发挥着重要的作用[8]. NLRP3炎症体复合物主要由NOD样受体(NOD-like receptor, NLRs)家族成员NLRP3、接头蛋白ASC和效应蛋白半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)组成, 当机体受到外界刺激时, CARD(caspase-activating and recruitment domain)感受器信号传递给ASC蛋白, 激活Caspase-1, 进而活化的IL-1β, 最终使上皮细胞释放大量炎症因子[9]. 有研究指出, NLRP3相关通路在肠道菌群平衡, 肠炎及肠道肿瘤等肠道疾病的发生发展中发挥着重要的作用[10]. 但目前关于NLRP3相关通路在胃溃疡中的相关作用及其机制研究较少.

目前主要采用药物对胃溃疡患者进行治疗, 常用的药物有奥美拉唑和兰索拉唑等质子泵抑制剂、H2受体拮抗剂、幽门螺旋杆菌抗生素等[11]. 但这些药物对胃溃疡的治疗效果有限, 还存在明显的副作用. 白果内酯(bilobalide, BI)是提取自银杏叶的萜内酯类化合物, 白果内酯对精神病和神经系统疾病的治疗具有显著的作用, 同时还可降低脑出血及脑水肿发生的概率[12]. 同时有研究指出, 白果内酯通过抑制活性氧和含氮物质的表达量使得结肠炎大鼠血清中的TNF-α明显降低, 最终使炎症反应受到抑制, 对结肠黏膜具有一定的保护作用[13]. 胃溃疡胃黏膜损伤主要是通过炎症因子及氧化应激途径进行调控的, 白果内酯对胃溃疡胃黏膜损伤有一定的保护作用[14], 但其具体作用机制还有待进一步研究.

综上所述, 我们推测在肠道疾病中发挥重要作用的NLRP3相关通路在胃溃疡中发挥着重要的作用, 且白果内酯对炎症因子的调控可能与胃溃疡的保护作用具有一定的相关性. 基于这种推测, 本文以60只SD大鼠为研究对象, 构建了乙醇诱导的急性胃溃疡模型, 研究白果内脂通过NLRP3相关通路对乙醇诱导的急性胃溃疡的作用及其具体的分子机制, 以为胃溃疡的治疗提供可参考的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组: 选择60只6-7周龄的健康SD大鼠, 体重208-254 g, 雌雄各半; 每笼5只饲养于SPF级实验动物房, 室温25 ℃±2 ℃, 相对湿度55%左右, 12昼夜交替, 自由饮水和饮食. 所有大鼠适应性饲养1 wk后进行试验. 随机分为六组: 空白组(A组), 模型组(B组), 对照组(C组), 低剂量组(D组)、中剂量组(E组)和高剂量组(F组), 每组10只, A组大鼠不作任何处理, B组建立乙醇诱导的急性胃溃疡模型, C组大鼠造模后采用奥美拉唑进行治疗, D组、E组和F组大鼠均在造模后采用不同剂量的白果内酯进行治疗. 本试验所有动物程序均经实验动物管理委员会批准, 实验方法均按照批准指南进行.

1.2 方法 乙醇诱导的急性胃溃疡模型建立及试验动物处理方法: 实验前对所有大鼠禁食24 h, 禁水4 h. 以0.2 mL/kg的剂量对大鼠进行灌胃, 灌胃成功5 min内可见大鼠出现全身瘫软、精神紧张、呼吸心跳加速等症状. 灌胃4 h内禁食禁水, 4 h后可见大鼠出现身体瘫软症状, 则表明急性胃溃疡模型构建成功.

术后常规饲养1 d后开始给药, C组以灌胃的方式给予浓度为20 mg/mL 的奥美拉唑(omeprazole, OME)进行治疗. BI注射液临床成人用量为 30-50 mg/(人d), 按50 mg/(人d)计算, 分别对大鼠给与临床成人用量的2倍(1 mg/mL), 5倍(2.5 mg/mL)和10倍(5 mg/mL)进行试验. D组给予浓度为1 mg/mL的BI进行治疗, E组给予浓度为2.5 mg/mL的BI进行治疗; F组给予浓度为5 mg/mL的BI进行治疗. 所有动物均为每日给药1次, 连续给药14 d.

溃疡指数计算及生化指标检测: 造模成功3 h后, 用3%的戊巴比妥以1 g/kg剂量经腹腔注射麻醉处死大鼠, 腹正中切口进入腹腔分离胃, 用注射器将胃液吸出, 采用0.5-5.0的精密pH试纸测定胃酸pH值. 以放射免疫分析法采用胃泌素检测试剂盒(上海抚生实业有限公司)对不同组别大鼠胃泌素进行检测. 采用胃蛋白酶检测试剂盒(上海信裕生物科技有限公司)检测胃蛋白酶活性.

造模成功后4 h, 采用眼眶取血的方法收集标本, 于4 ℃, 于 4 摄氏度, 3500 rpm条件下离心20 min, 收集上清, 分别采用不同的试剂盒根据具体操作步骤检测血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(monochrome display adapter, MDA)和还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量. SOD、MDA和GSH检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所. 采用无菌采血管取不同组别大鼠腹主动脉血约5 mL, 于室温条件下放置20 min使血液自然凝固, 于3000 rpm/min条件下20 min取血清, 依据Elisa检测试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司)于450 nm波长下分别检测血清中NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β的表达量.

分离胃后用生理盐水冲洗胃腔内及粘膜上的血迹, 将胃平铺于滤纸上, 观察胃黏膜溃疡、糜烂及出血点发生的部位. 参考Wang等(2020)[15]方法按照溃疡或糜烂面

积大小计算溃疡指数(ulcer index, UI), 3个点状溃疡(粘膜缺损小于1 mm)计1分; 游标卡尺测量条状出血溃疡面宽为1 mm者计1分, 2 mm者计2分, 3 mm者计3分. 点状溃疡和条状出血溃疡面之和即为UI.

大鼠胃组织病理学观察: 收集部分胃组织采用HE染色法其进行形态观察. 将胃组织采用福尔马林进行固定, 石蜡包埋, 连续切片4 um, 置于二甲苯30 min脱蜡-不同梯度酒精水化50 min-苏木精冲洗20 min-水洗后伊红染色2 min-梯度酒精脱水30 min-二甲苯透明20 min后, 采用中性树胶封片, 在光镜下观察卫组织病理改变. 采用经典的病理炎症细胞评分[16]对胃组织白细胞浸润程度进行评价, 白细胞浸润程度分为5个等级, 0-1为无细胞或少数细胞, 2为一环 1 个细胞, 3为一环2-4个细胞, 4为一圈细胞超过4个细胞层.

NLRP3相关通路因子实时荧光定量PCR检测: 取约20 g的胃组织, 放入匀浆器中, 尽量剪碎, 采用TRIzol法提取胃组织中的总RNA, 对提取的总RNA进行琼脂糖凝胶电泳检测后, 采用Hifair® III 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR反转录试剂盒(Takara公司)进行反转录. 依据NCBI中各基因的mRNA序列合成不同因子的引物序列. NLRP3基因实时荧光定量PCR引物: NL-F: 5'-CTGCATGCCGTATCTGGTTG-3'; NL-R: 5'-GGTACCCCATAGACTGGCAC-3'. IL-1β基因实时荧光定量PCR引物. IL-F: 5'-AGGCTGACAGACCCCAAAAG-3'; IL-R: 5'-CTCCACGGGCAAGACATAGG-3'. 以β-actin作为内参, β-actin基因的引物Fa: 5'-ACAACCTTCTTGCAGCTCCTC-3'; Ra: 5'-CTGACCCATACCCACCATCAC-3'. 每个样品作三个复孔, 退火温度为60 ℃, 退火时间15 s, 30个循环. 采用$2^{-\Delta\Delta ct}$法计算各因子的相对表达量.

免疫印迹(western blot, WB)法检测NLRP3相关通路因子表达量: 取收集的胃组织放入匀浆器中, 尽量剪碎, 加入1 mL提前配置好的裂解液(RIPA蛋白裂解液:蛋白酶抑制剂PMSF = 1:100)进行研磨, 使组织充分裂解以提取总蛋白. 提取的总蛋白采用比辛尼酸法测定蛋白含量. 采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离细胞蛋白, 采用湿转法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜上, 然后用5%的脱脂牛奶进行封闭. 分别加入以1:1000比例稀释好的NLRP3、白介素-18(IL-1β)、Caspase-1、调亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein, ASC)和β-actin的抗体, 于4 ℃孵育过夜. 用TBST彻底洗涤3次, 10 min/次, 加入辣根过氧化物酶偶联的二抗室温下孵育2 h; 用TBST彻底洗涤3次, 10 min/次, 加入显色液, 在显影仪上自动曝光, 拍照进行灰度扫描. 根据灰度值分析蛋白表达量.

免疫荧光法检测NLRP3蛋白表达量: 将不同组别大鼠胃组织, 依次用预冷的PBS和预冷的4%多聚甲醛进行灌注, 固定胃组织脱水并切片(约5-7 μm). 室温下干燥30 min, 用PBS洗涤3次后用5%牛血清(含0.3%Triton X-100)进行1 h封闭. 加入FITC标记的羊抗小鼠抗IgG荧光抗体, 低温孵育过夜. 用PBS洗涤3次, 加入荧光标记的二抗在室温下孵育2 h. Iba-1染色10 min, 封片. 采用激光扫描共焦显微镜拍照.

统计学处理 采用SPSS 19.0进行数据统计与分析, 计量资料以均数±标准差(mean±SD)表示, 服从正态分布的计量资料采用单因素方差分析法(ANOVA), 差齐时两组间比较采用LSD法, 方差不齐则采用Dunnett T3法检验; 不服从正态分布的计量资料采用秩和检验. 计数资料采用百分率表示, $P<0.05$为差别有统计学意义.

2 结果

2.1 不同组别大鼠胃黏膜溃疡指数和胃液指标比较 对不同组别大鼠UI进行比较分析(图1A), B组UI与A组相比具有极显著性差异($P<0.001$), C组, D组, E组和F组的UI与A组相比具有统计学差异($P<0.05$), 与B组相比具有显著性差异($P<0.01$). B组, C组, D组, E组和F组大鼠的胃液pH值与A组相比具有统计学差异($P<0.05$).

进一步对不同组别大鼠的胃泌素、总酸度以及胃蛋白酶活性进行检测与分析(图1B), A组胃泌素高于B组异($P<0.05$). C组, D组, E组和F组大鼠的胃泌素明显低于B组, 组间相比具有统计学差异($P<0.05$). B组大鼠的总酸度和胃蛋白酶总活性均明显高于A组, 二者相比均具有显著性差异($P<0.01$). C组和E组和F组大鼠的总酸度和胃蛋白酶总活性与B组相比均具有显著性差异($P<0.01$). D组大鼠的总酸度和胃蛋白酶总活性与B组相比具有统计学差异($P<0.05$).

2.2 不同组别大鼠血清生化指标检测结果分析 对不同组大鼠血清中SOD、MDA和GSH含量进行检测, 结果如图2所示, A组的SOD值明显高于B组, 二者相比具有显著性差异($P<0.01$), 经给药治疗后, C组, D组, E组和F组大鼠血清中SOD值较B组明显升高($P<0.01$). A组的GSH值明显高于B组, 二者相比具有显著性差异($P<0.01$), 经给药治疗后的C组, D组, E组和F组大鼠血清中GSH值较B组明显升高, 组间相比均具有显著性差异($P<0.01$). B组大鼠MDA值明显高于A组, 二者相比具有显著性差异($P<0.01$), C组, D组, E组和F组大鼠血清中MDA与B组相比明显降低($P<0.01$).

2.3 血清中NLRP3相关通路因子表达量分析 对不同组大鼠血清中NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β含量检测结果进行分析(图3), B组大鼠血清中NLRP3的含量明显

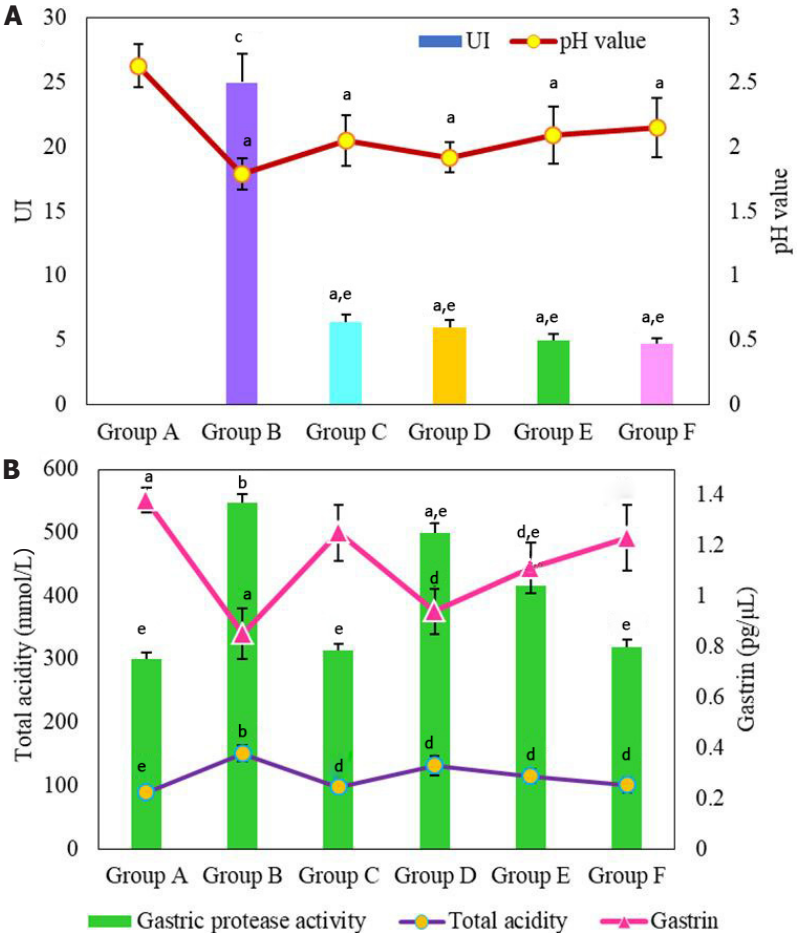


图 1　不同组别大鼠胃黏膜溃疡指数和胃液指标比较. A: 不同组别大鼠胃黏膜溃疡指数及胃液pH值比较; B: 不同组别大鼠胃泌素、总酸度以及胃蛋白酶活性比较. (^{a}P<0.05; ^{b}P<0.01; ^{d}P<0.05; ^{c}P<0.01). UI: 溃疡指数.

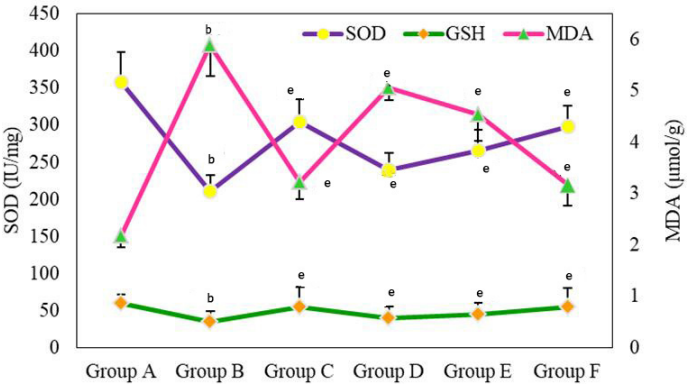


图 2　不同组别大鼠血清中超氧化物歧化酶、丙二醛和还原型谷胱甘肽含量比较. ^{b}P<0.01; ^{c}P<0.01. SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛; GSH: 还原型谷胱甘肽.

高于A组, 二者相比具有极显著性差异(P<0.001). C组, D组, E组和F组大鼠血清中NLRP3含量均低于B组相比均明显降低(P<0.01). D组和E组大鼠血清中NLRP3含量与C组相比均具有统计学差异(P<0.05). B组大鼠血清中Caspase-1的含量明显高于A组(P<0.001). C组, D组, E组和F组大鼠血清中Caspase-1含量均低于B组相比均明显降低(P<0.01). D组, E组大鼠血清中Caspase-1含量与F组和C组相比均具有统计学差异(P<0.05), C组和F组大鼠血清中Caspase-1含量相比无统计学差异. B组大鼠血清中IL-18及IL-1β含量均高于A组(P<0.001). C组, D组, E组和F组大鼠血清中IL-18及IL-1β含量均低于B组(P<0.01). D组, E组大鼠血清中IL-18及IL-1β含量与F组和C组相比均

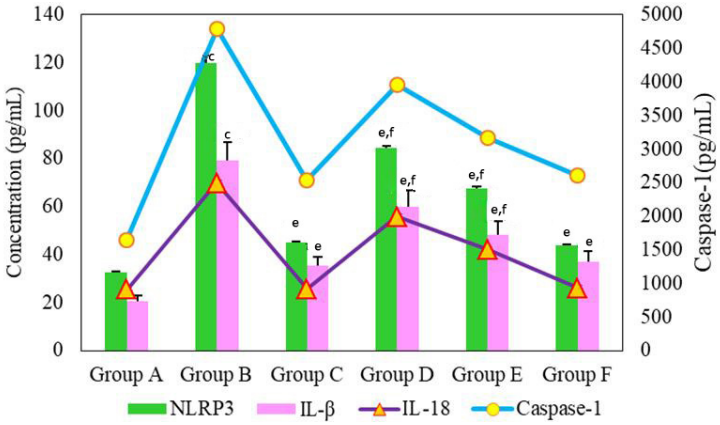


图 3　不同组别大鼠血清中NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3、Caspase-1、IL-18及IL-1β含量比较. $^{c}P<0.001$; $^{e}P<0.01$; $^{f}P<0.05$.

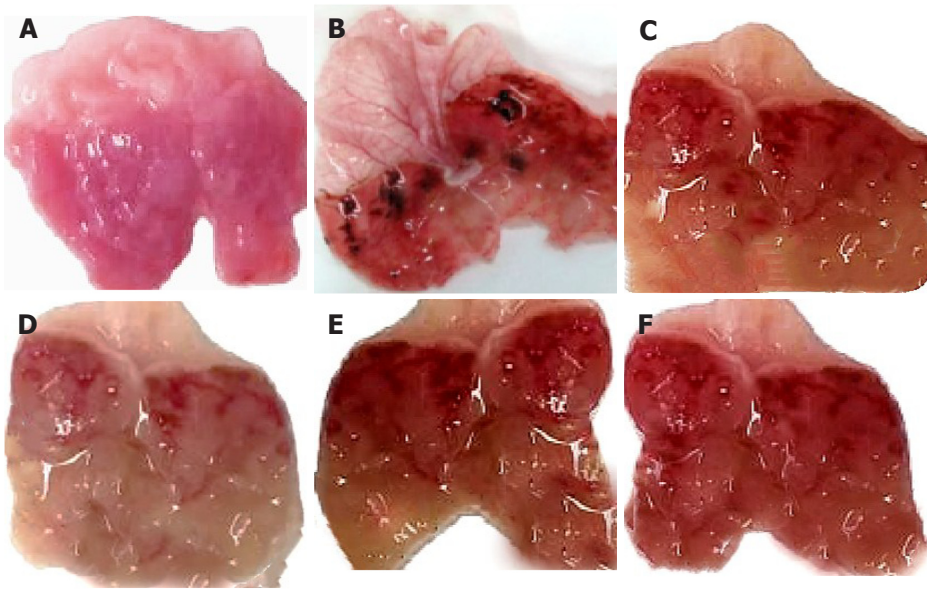


图 4　不同组别大鼠胃黏膜组织形态. A: A组胃黏膜组织形态; B: B组胃黏膜组织形态; C: C组胃黏膜组织形态; D: D组胃黏膜组织形态; E: E组胃黏膜组织形态; F: F组胃黏膜组织形态.

具有统计学差异($P<0.05$), C组和F组大鼠血清中IL-18及IL-1β含量相比无统计学差异.

2.4 大鼠胃黏膜组织形态观察　对不同组大鼠的胃黏膜组织形态进行观察(图4), A组大鼠胃壁完整、未见明显损伤, B组大鼠胃部可见明显的充血肿胀, C组, D组, E组和F组大鼠损伤程度明显较B组减轻.

对不同组大鼠胃组织病理学检测结果进行分析(图5), A组大鼠胃组织HE染色后可见胃黏膜结构整齐, 未见炎细胞浸润; B组大鼠胃组织HE染色可见胃黏膜上皮层缺失, 部分胃上皮细胞脱落, 出现明显的炎症细胞浸润现象, C组, D组, E组和F组大鼠经治疗后胃上皮细胞脱落数量及炎症细胞浸润均减少. 对不同组别大鼠炎症细胞评分结果进行分析, B组大鼠炎症细胞评分值明显高于A组, 二者相比具有极显著性差异($P<0.001$), C组, D组, E组和F组大鼠炎症细胞评分值明显低于B组, 组间相比均具有显著性差异($P<0.01$).

2.5 NLRP3相关通路因子RT-PCR检测结果分析　对提取的RNA进行电泳检测与分析(图6A), 提取的RNA均有明显的28S和18S RNA条带, 条带清晰可见未见明显的降解, 表明提取的RNA完整, 进一步对不同组别大鼠组织中NLRP3和IL-1β的表达量进行比较分析(图5B), B组大鼠胃组织中NLRP3的mRNA相对表达量明显高于A组($P<0.01$). C组, D组, E组和F组大鼠胃组织中NLRP3的mRNA相对表达量与B组相比均明显降低($P<0.01$). B组大鼠胃组织中IL-1β的mRNA相对表达量明显高于A组($P<0.001$). C组, D组, E组和F组大鼠胃组织中IL-1β的mRNA相对表达量与B组相比均明显降低($P<0.01$), D组, E组和F组大鼠胃组织中IL-1β的mRNA相对表达量与C组相比具有统计学差异($P<0.05$).

2.6 NLRP3相关通路因子表达量分析　采用WB对不同

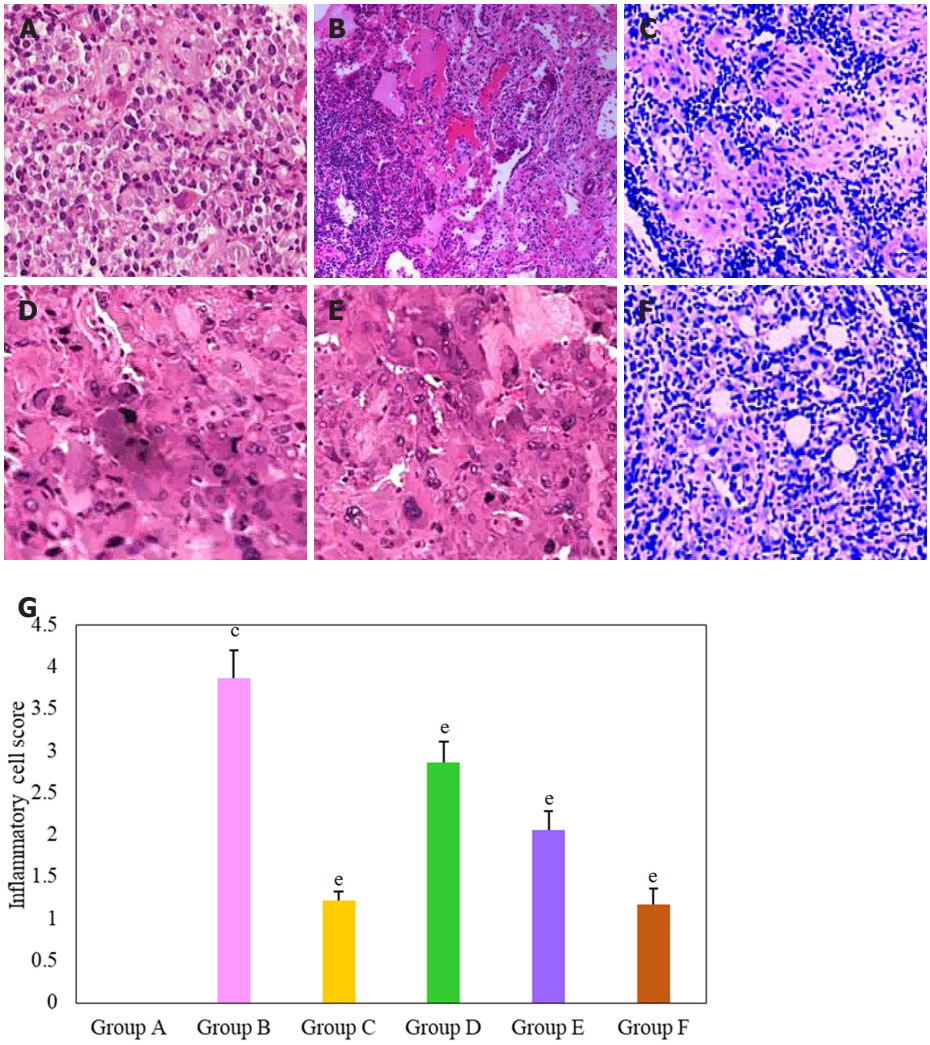


图 5　不同组别大鼠胃黏膜组织形态. A: A组胃黏膜组织HE染色; B: B组胃黏膜组织HE染色; C: C组胃黏膜组织HE染色; D: D组胃黏膜组织HE染色; E: E组胃黏膜组织HE染色; F: F组胃黏膜组织HE染色; G: 不同组别大鼠胃黏膜组织炎症细胞评分结果比较. (^{c}P<0.001; ^{e}P<0.01).

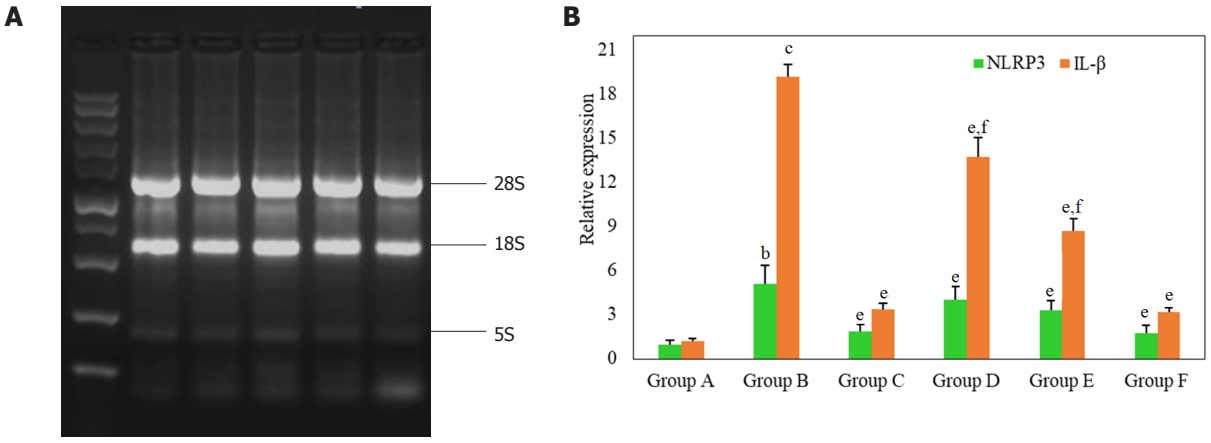


图 6　不同组别大鼠胃组织中NLRP3和IL-1β的表达量比较. A: 胃组织RNA电泳图; B: 不同组别大鼠胃组织中NLRP3和IL-1β的表达量比较. (^{c}P<0.001; ^{e}P<0.01; ^{f}P<0.05). NLRP3: NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3.

组别大鼠胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达量进行分析(图7), A组大鼠胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达量均明显低于B组(P<0.001). 经治疗后C组, D组, E组和F组大鼠胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达量均明显低于B组(P<0.01). D组, E组大鼠胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达

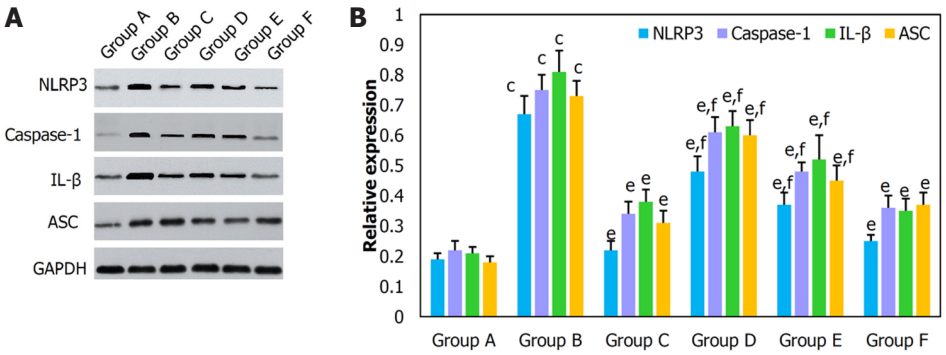


图 7　不同组别大鼠胃组织中NLRP3相关通路蛋白表达量比较. A:不同蛋白免疫印迹电泳图; B: 不同组别大鼠胃组织中NLRP3相关通路蛋白表达量比较. (^{c}P<0.001; ^{e}P<0.01; ^{f}P<0.05). NLRP3: NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3; ASC: 调亡相关斑点样蛋白. NLRP3: NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3.

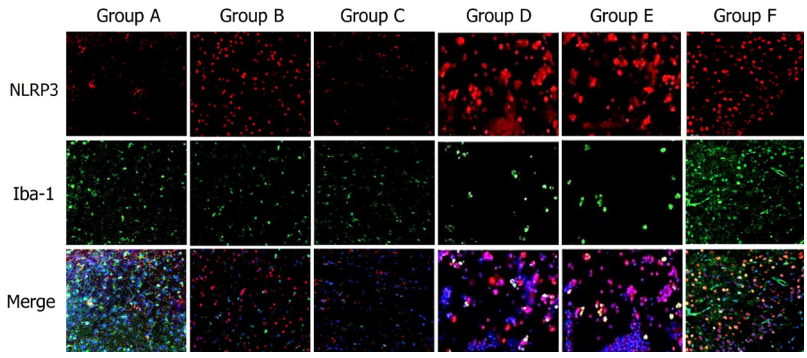


图 8　不同组别大鼠胃组织中NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3表达免疫荧光图.

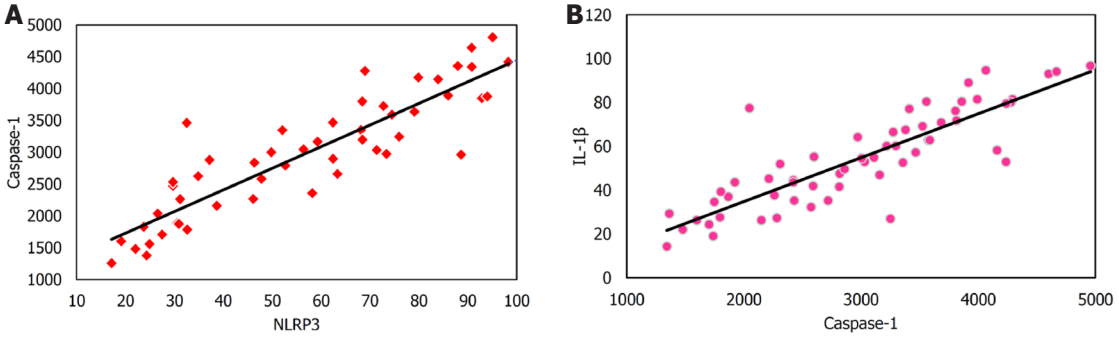


图 9　NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3相关通路因子间相关性分析. A: Caspase−1与NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3表达量相关性分析; B: IL−1β和Caspase−1表达量相关性分析. NLRP3: NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3.

量与F组和C组相比具有统计学差异(P<0.05), F组和C组胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达量与F组和C组相比无统计学差异(P>0.05).

2.7 免疫荧光检测胃组织中NLRP3表达量　采用免疫荧光染色法对不同组别大鼠胃组织中NLRP3表达量进行分析(图8), A组大鼠胃组织中几乎没有NLRP3表达, B组大鼠胃组织可见大量NLRP3表达, 经给药后的D组和E组大鼠胃组织中NLRP3表达量明显降低, C组和F组大鼠胃组织中NLRP3表达量与A组相似, 表达量较低.

2.8 NLRP3 相关通路因子间相关性分析　不同组别大鼠的NLRP3 相关通路因子间相关性进行分析(图9), Caspase-1表达量对着NLRP3表达量的增加而增加, 即Caspase-1表达量与NLRP3表达量呈明显正相关(R = 0.845, P<0.01); IL-1β表达量随着 Caspase-1 表达量的增加而增加, 即IL-1β表达量与Caspase-1表达量呈明显正相关(R = 0.903, P<0.01).

3 讨论

胃溃疡是由氧自由基等多种因素引发的一种常见胃肠道疾病[17]. 大量乙醇摄入是引发胃溃疡的原因之一[18],

乙醇对胃黏膜的损伤是一个复杂的过程, 大量摄入乙醇会使胃黏膜上皮细胞和粘液层受损[19], 胃黏膜血流动力学的改变[20], 同时还可诱导胃黏膜合成和分泌多种炎症及氧化应激等细胞因子, 进一步加剧胃黏膜的损伤[21]. 本文采用白果内脂对乙醇有道的大鼠胃溃疡进行治疗, 研究结果发现, B组UI与A组相比具有极显著性差异(P<0.001), C组, D组, E组和F组的UI与B组相比具有显著性差异P<0.01). B组, C组, D组, E组和F组大鼠的胃液pH值与A组相比具有统计学差异(P<0.05). A组胃泌素明显低于B组(P<0.05). B组大鼠的总酸度和胃蛋白酶总活性均明显高于A组(P<0.01). C组和E组和F组大鼠的总酸度和胃蛋白酶总活性与B组相比均具有显著性差异(P<0.01). 这些结果表明, 经乙醇诱导胃溃疡大鼠胃黏膜指数、总酸度以及胃蛋白酶活性明显升高, 胃液pH值和胃泌素明显降低. 表明灌入的乙醇直接破坏了大鼠胃表面的保护屏障, 导致胃黏膜损伤[22]. 乙醇诱导的胃溃疡粘膜损伤病理特点与人体大量摄入酒精导致的胃黏膜损伤相似[23], 且这种造模方法简便, 速度快, 重复性好[24]. 同时可以看出, C组, D组, E组和F组的UI和胃液pH值与B组相比均有明显的改善, 表明采用不同的药物治疗后可改善乙醇诱导胃溃疡引发的胃黏膜指数、总酸度以及胃蛋白酶活性升高, 胃液pH值和胃泌素降低现象.

NLRP3炎症体复合体由NLRP3、ASC和Caspase-1组成, NLRP3主要作为感受器发挥作用[25], 将信号传递给效应蛋白Caspase-1, 活化的IL-1β和IL-18, 进而调控慢性炎症[26]. ASC接头蛋白促进NLRP3炎症体的激活[27]. 而且IL-1β和IL-18的表达与免疫调节具有相关性[28], IL-1β和IL-18等炎症因子的过量表达, 会引起机体免疫调节紊乱[29]. 文中进一步对BI对问溃疡的治疗效果及其对应的分子机制进行探讨, 研究结果发现, B组大鼠血清中NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β含量均高于A组(P<0.01). D组, E组大鼠血清中NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β含量与F组和C组相比均具有统计学差异(P<0.05). B组大鼠胃组织中NLRP3和IL-1β的mRNA相对表达量明显高于A组(P<0.01). C组, D组, E组和F组大鼠胃组织中NLRP和IL-1β的mRNA相对表达量与B组相比均明显降低(P<0.01). 这些结果表明乙醇的摄入使大鼠血清及胃组织中的NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β表达均明显升高, 经白果内脂治疗后, 大鼠血清及胃组织中的NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β表达量下调. 说明白果内脂通过调控炎症反应相关分子NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β的表达量对对乙醇诱导的胃溃疡发挥了保护作用. Abdellatif等(2019)[30]研究指出, 罗格列酮通过炎症因子的调控参与了乙醇引发的胃溃疡的调控过程, 本文研究结果与其相似. Caspase-1蛋白是NLRP3相关通路中促炎性细胞因子的调控因子[31]. 同时有研究指出炎症因子的表达量与溃疡的严重程度呈正相关性[32]. 文中结果发现, 乙醇诱导胃溃疡大鼠胃黏膜指数升高, 炎症因子NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β的表达量升高, 而经BI和OME治疗的大鼠胃黏膜指数下降, 且其NLRP3、Caspase-1、IL-18及IL-1β表达量较B组明显下降, 这与目前炎症因子的表达量与溃疡的相关性结果一致. A组大鼠胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达量均明显低于B组(P<0.001). C组, D组, E组和F组大鼠胃组织中NLRP3、IL-1β、Caspase-1和ASC表达量均明显低于B组(P<0.01). 可以看出, 在检测的所有指标中F组明显优于阳性对照C组, 具有潜在的应用价值. NLRP3相关通路因子参与了白果内脂对胃溃疡的保护, 通过抗炎作用达到改善胃溃疡的作用.

4 结论

本文通过构建乙醇诱导的急性胃溃疡模型, 并采用不同剂量的白果内脂进行治疗, 探讨白果内脂改善胃溃疡的分子机制. 结果发现, 给药白果内脂后, 乙醇诱导的急性胃溃疡大鼠血清及胃组织中的NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β及ASC因子及蛋白的表达量明显降低, 有效改善了胃溃疡. 但是本文还存在一些不足之处, 本文仅对白果内脂对乙醇诱导的急性胃溃疡保护的NLRP3相关通路因子进行了研究, 未对其它通路进行分析, 尚不明确白果内脂是否通过其它通路对乙醇诱导的急性胃溃疡产生了相应的保护机制, 在今后的工作中将进一步对胃溃疡保护相关通路进行研究, 以完善白果内脂的作用机制. 综上所述, NLRP3相关通路因子参与了白果内脂对胃溃疡的保护, NLRP3相关通路通过抗炎作用达到改善胃溃疡的作用.

文章亮点

实验背景

目前研究发现白果内脂可能对胃溃疡具有一定的保护作用, 但其作用机制尚不明确, NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)相关通路在肠炎及肠道肿瘤等肠道疾病中具有重要的作用, 但其在胃溃疡中的相关作用研究较少.

实验动机

基于目前研究我们推测在肠道疾病中发挥重要作用的NLRP3相关通路可能在胃溃疡发生发展中发挥着一定的作用, 且白果内酯对炎症因子的调控可能与胃溃疡的保护作用具有一定的相关性.

实验目标

研究白果内脂通过NLRP3相关通路对乙醇诱导的急性胃溃疡的作用及其具体的分子机制, 以为胃溃疡的治疗提供可参考的理论依据.

实验方法

本文以60只SD大鼠为研究对象, 构建了乙醇诱导的急性胃溃疡模型, 以奥美拉唑作为阳性对照, 分析不同剂量白果内酯对急性胃溃疡的胃液pH值、胃泌素、胃蛋白酶、溃疡指数(ulcer index, UI)、NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β、超氧化物歧化酶、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和还原型谷胱甘肽等因子含量的影响.

实验结果

醇诱导的急性胃溃疡模型大鼠UI、胃泌素、总酸度和胃蛋白酶总活性、MDA值、NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β、Caspase-1和ASC蛋白的mRNA水平和蛋白表达量均明显升高. 经奥美拉唑和不同剂量白果内酯治疗后的乙醇诱导胃溃疡大鼠胃泌素、总酸度、胃蛋白酶总活性、MDA值、NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β、Caspase-1和ASC蛋白的mRNA水平和蛋白表达量均明显较未治疗模型组降低.

实验结论

白果内脂可通过NLRP3通路抗炎机制达到胃溃疡的保护作用.

展望前景

本文为胃溃疡的治疗提供了新思路, 在今后的工作中将进一步分析白果内脂对乙醇诱导的急性胃溃疡保护作用除了NLRP3通路是否还有其他通路参与.

5 参考文献

1 Mahmoud YI, Abd El-Ghffar EA. Spirulina ameliorates aspirin-induced gastric ulcer in albino mice by alleviating oxidative stress and inflammation. *Biomed Pharmacother* 2019; 109: 314-321 [PMID: 30396089 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.10.118]

2 Mousa AM, El-Sammad NM, Hassan SK, Madboli AENA, Hashim AN, Moustafa ES, Bakry SM, Elsayed EA. Antiulcerogenic effect of Cuphea ignea extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *BMC Complement Altern Med* 2019; 19: 345 [PMID: 31791313 DOI: 10.1186/s12906-019-2760-9]

3 Ichida T, Ueyama S, Eto T, Kusano F, Sakai Y. Randomized Controlled Trial Comparing the Effects of Vonoprazan Plus Rebamipide and Esomeprazole Plus Rebamipide on Gastric Ulcer Healing Induced by Endoscopic Submucosal Dissection. *Intern Med* 2019; 58: 159-166 [PMID: 30210115 DOI: 10.2169/internalmedicine.1146-18]

4 Bush J, van den Boom R, Franklin S. Comparison of aloe vera and omeprazole in the treatment of equine gastric ulcer syndrome. *Equine Vet J* 2018; 50: 34-40 [PMID: 28555939 DOI: 10.1111/evj.12706]

5 Slomiany BL, Slomiany A. Induction in gastric mucosal prostaglandin and nitric oxide by Helicobacter pylori is dependent on MAPK/ERK-mediated activation of IKK-β and cPLA2: modulatory effect of ghrelin. *Inflammopharmacology* 2013; 21: 241-51 [PMID: 23563696 DOI: 110.1007/s10787-013-0169-5]

6 Wu H, Ming W, Tan J, Lu Q, Mulmi Shrestha S, Li N, Wu G, Zhang Z, Shi R. Role of MKP-5-p38/MAPK pathway in Clopidogrel-induced gastric mucosal epithelial cells apoptosis and tight junction dysfunction. *Am J Transl Res* 2020; 12: 1741-1753 [PMID: 32509173]

7 Qian Y, Zhang J, Fu X, Yi R, Sun P, Zou M, Long X, Zhao X. Preventive Effect of Raw Liubao Tea Polyphenols on Mouse Gastric Injuries Induced by HCl/Ethanol via Anti-Oxidative Stress. *Molecules* 2018; 23: 2848 [PMID: 30388863 DOI: 10.3390/molecules23112848]

8 Luan J, Zhang X, Wang S, Li Y, Fan J, Chen W, Zai W, Wang S, Wang Y, Chen M, Meng G, Ju D. NOD-Like Receptor Protein 3 Inflammasome-Dependent IL-1β Accelerated ConA-Induced Hepatitis. *Front Immunol* 2018; 9: 758 [PMID: 29692782 DOI: 10.3389/fimmu.2018.00758]

9 Sheeja K, Lakshmi S. Nod-like receptor protein 3 inflammasome in head-and-neck cancer. *J Cancer Res Ther* 2020; 16: 405-409 [PMID: 32719244 DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_849_18]

10 Pellegrini C, Antonioli L, Calderone V, Colucci R, Fornai M, Blandizzi C. Microbiota-gut-brain axis in health and disease: Is NLRP3 inflammasome at the crossroads of microbiota-gut-brain communications? *Prog Neurobiol* 2020; 191: 101806 [PMID: 32473843 DOI: 10.1016/j.pneurobio.2020.101806]

11 Xie C, Liu L, Zhu S, Wei M. Effectiveness and safety of Chinese medicine combined with omeprazole in the treatment of gastric ulcer: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2021; 100: e25744. [PMID: 33907169 DOI: 10.1097/MD.0000000000025744]

12 Bu S, Yuan CY, Xue Q, Chen Y, Cao F. Bilobalide Suppresses Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes via the AMPK Signaling Pathway. *Molecules* 2019; 24 [PMID: 31569605 DOI: 10.3390/molecules24193503]

13 Zhang H, Wang Y, Su Y, Fang X, Guo W. The alleviating effect and mechanism of Bilobalide on ulcerative colitis. *Food Funct* 2021; 12: 6226-6239 [PMID: 34096560 DOI: 10.1039/d1fo01266e]

14 Hui S, Fangyu W. Protective effects of bilobalide against ethanol-induced gastric ulcer in vivo/vitro. *Biomed Pharmacother* 2017; 85: 592-600 [PMID: 27903426 DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.068]

15 Wang LJ, Xue T, Wu YQ, Zhao JY, Wang TN, Li JT, Fu CL, Ma JJ, Zhang LP, Shao YX, Yang YC, Zhou ZX, Ma HF. [Effect of acupuncture on intestinal flora in rats with stress gastric ulcer]. *Zhongguo Zhen Jiu* 2020; 40: 526-532 [PMID: 32394661 DOI: 10.13703/j.0255-2930.20191121-0002]

16 Rahman Z, Dwivedi DK, Jena GB. Ethanol-induced gastric ulcer in rats and intervention of tert-butylhydroquinone: Involvement of Nrf2/HO-1 signalling pathway. *Hum Exp Toxicol* 2020; 39: 547-562 [PMID: 31876185 DOI: 10.1177/0960327119895559]

17 Liu J, Sun D, He J, Yang C, Hu T, Zhang L, Cao H, Tong AP, Song X, Xie Y, He G, Guo G, Luo Y, Cheng P, Zheng Y. Gastroprotective effects of several H2RAs on ibuprofen-induced gastric ulcer in rats. *Life Sci* 2016; 149: 65-71 [PMID: 26883979 DOI: 10.1016/j.lfs.2016.02.045]

18 Tamaddonfard E, Erfanparast A, Farshid AA, Imani M, Mirzakhani N, Salighedar R, Tamaddonfard S. Safranal, a constituent of saffron, exerts gastro-protective effects against indomethacin-induced gastric ulcer. *Life Sci* 2019; 224: 88-94 [PMID: 30914317 DOI: 10.1016/j.lfs.2019.03.054]

19 Kangwan N, Pintha K, Lekawanvijit S, Suttajit M. Rosmarinic Acid Enriched Fraction from Perilla frutescens Leaves Strongly Protects Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 9514703 [PMID: 30949513 DOI: 10.1155/2019/9514703]

20 Aboul Naser A, Younis E, El-Feky A, Elbatanony M, Hamed M. Management of Citrus sinensis peels for protection and treatment against gastric ulcer induced by ethanol in rats. *Biomarkers* 2020; 25: 349-359 [PMID: 32319821 DOI: 10.1080/1354750X.2020.1759693]

21 Fahmi AA, Abdur-Rahman M, Aboul Naser AF, Hamed MA, Abd-Alla HI, Nasr MI. Pulicaria crispa mitigates gastric ulcer induced by ethanol in rats: role of treatment and auto healing. *Biomarkers* 2019; 24: 286-294 [PMID: 30512969 DOI: 10.1080/1354750X.2018.1556340]

22 Kwon DA, Kim YS, Baek SH, Kim SK, Kim HK, Jo SK, Jung U, Park HR, Lee HS. Protective effects of a standardized extract (HemoHIM) using indomethacin- and ethanol/HCl-induced gastric mucosal injury models. *Pharm Biol* 2019; 57: 543-549 [PMID: 31429615 DOI: 10.1080/13880209.2019.1651875]

23 Beiranvand M, Bahramikia S. Ameliorating and protective effects mesalazine on ethanol-induced gastric ulcers in experimental rats. *Eur J Pharmacol* 2020; 888: 173573 [PMID: 32956646 DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173573]

24 Sistani Karampour N, Arzi A, Rezaie A, Pashmforoosh M, Kordi F. Gastroprotective Effect of Zingerone on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats. *Medicina (Kaunas)* 2019; 55 [PMID: 30862060 DOI: 10.3390/medicina55030064]

25 Ising C, Venegas C, Zhang S, Scheiblich H, Schmidt SV, Vieira-Saecker A, Schwartz S, Albasset S, McManus RM, Tejera D, Griep A, Santarelli F, Brosseron F, Opitz S, Stunden J, Merten M, Kayed R, Golenbock DT, Blum D, Latz E, Buée L, Heneka MT. NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology. *Nature* 2019; 575: 669-673 [PMID: 31748742 DOI: 10.1038/s41586-019-1769-z]

26 Zhen Y, Zhang H. NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol* 2019; 10: 276 [PMID: 30873162 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00276]

27 Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, Yeh MM, Johnson CD, Van Rooyen DM, Haczeyni F, Teoh NC, Savard C, Ioannou GN, Masters SL, Schroder K, Cooper MA, Feldstein AE, Farrell GC. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *J Hepatol* 2017; 66: 1037-1046 [PMID: 28167322 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.01.022]

28 Song N, Li T. Regulation of NLRP3 Inflammasome by Phosphorylation. *Front Immunol* 2018; 9: 2305 [PMID: 30349539 DOI: 10.3389/fimmu.2018.02305]

29 Sharif H, Wang L, Wang WL, Magupalli VG, Andreeva L, Qiao Q, Hauenstein AV, Wu Z, Núñez G, Mao Y, Wu H. Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome. *Nature* 2019; 570: 338-343 [PMID: 31189953 DOI: 10.1038/s41586-019-1295-z]

30 Abdellatif KRA, Fadaly WAA, Kamel GM, Elshaier YAMM, El-Magd MA. Design, synthesis, modeling studies and biological evaluation of thiazolidine derivatives containing pyrazole core as potential anti-diabetic PPAR-γ agonists and anti-inflammatory COX-2 selective inhibitors. *Bioorg Chem* 2019; 82: 86-99 [PMID: 30278282 DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.09.034]

31 Li N, Zhou H, Wu H, Wu Q, Duan M, Deng W, Tang Q. STING-IRF3 contributes to lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction, inflammation, apoptosis and pyroptosis by activating NLRP3. *Redox Biol* 2019; 24: 101215 [PMID: 31121492 DOI: 10.1016/j.redox.2019.101215]

32 Xie L, Guo YL, Chen YR, Zhang LY, Wang ZC, Zhang T, Wang B. A potential drug combination of omeprazole and patchouli alcohol significantly normalizes oxidative stress and inflammatory responses against gastric ulcer in ethanol-induced rat model. *Int Immunopharmacol* 2020; 85: 106660 [PMID: 32559721 DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106660]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2022 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 88-91

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.88

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

文献综述 REVIEW

卷曲螺旋蛋白在胃癌发生发展中的研究进展

王启吉, 袁学敏

王启吉, 山东第一医科大学(山东省医学科学院)研究生部 山东省济南市 250000

袁学敏, 临沂市人民医院消化内科 山东省临沂市 276000

王启吉, 研究生, 研究方向为消化内科学.

作者贡献分布: 本综述由王启吉完成; 袁学敏审校.

通讯作者: 袁学敏, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 276000, 山东省临沂市兰山区卧虎山路与武汉路交汇, 临沂市人民医院消化内科. wdxuemin0707@126.com

收稿日期: 2021-12-03
修回日期: 2021-12-22
接受日期: 2022-01-20
在线出版日期: 2022-01-28

Role of coiled-coil domain containing proteins in development of gastric cancer

Qi-Ji Wang, Xue-Min Yuan

Qi-Ji Wang, Graduate School, Shandong First Medical University and Shandong Academy of Medical Science, Jinan 250000, Shandong Province, China

Xue-Min Yuan, Department of Gastroenterology, Linyi People's Hospital, Linyi 276000, Shandong Province, China

Corresponding author: Xue-Min Yuan, Associate Professor, Associate Chief Physician, Supervisor of Master Student, Department of Gastroenterology, Linyi People's Hospital, The Intersection of Wuhan Road and Wohushan Road, Lanshan District, Linyi 276000, Shandong Province, China. wdxuemin0707@126.com

Received: 2021-12-03
Revised: 2021-12-22
Accepted: 2022-01-20
Published online: 2022-01-28

Abstract

Coiled-coil domain containing proteins (CCDCs) are a class of oligomeric proteins consisting of two or more coiled-coil domains. About 40 coiled coil family genes are associated with disease, and they can act as both pro-oncogenes and anti-oncogenes in the pathogenesis of tumors, regulating tumor proliferation, metastasis, angiogenesis, and apoptosis. Therefore, they are closely related to tumor development. This paper reviews the recent progress in the understanding of the role of CCDCs in gastric cancer, and explores their different roles and functions in the development of this malignancy.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: CCDC; Gastric cancer; Molecular mechanism; Targeted therapy

Citation: Wang QJ, Yuan XM. Role of coiled-coil domain containing proteins in development of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 88-91
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/88.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.88

摘要

卷曲螺旋蛋白(coiled-coil domain containing protein, CCDC)是一类由两个及以上的卷曲螺旋结构域组成的同寡聚体或寡聚体序列蛋白. 约40个卷曲螺旋蛋白家族基因与疾病相关, 在肿瘤的发病过程中, 卷曲螺旋蛋白基因既可以作为促癌基因也可作为抑癌基因, 调控肿瘤的增殖、转移、血管生成和凋亡, 与肿瘤的发生发展有着密切的关系. 本文综述了CCDC家族相关蛋白在胃癌中的最新研究进展, 探讨了其在胃癌发生发展中的作用与功能.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 卷曲螺旋蛋白; 胃癌; 分子机制; 靶向治疗

核心提要: 卷曲螺旋蛋白(coiled-coil domain containing protein, CCDC)是一类由两个及以上的卷曲螺旋结构域组成的同寡聚体或寡聚体序列蛋白. 卷曲螺旋蛋白基因与肿瘤的发生发展有着密切的关系. 本文探讨了其在胃癌发生发展中的作用与功能, 加强了我们对肿瘤早期诊断、临床治疗、预后判断的认识.

文献来源: 王启吉, 袁学敏. 卷曲螺旋蛋白在胃癌发生发展中的研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 88-91
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/88.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.88

0 引言

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 最新的调查显示, 2018年全球约有超过100万胃癌新发病例, 造成约78.3万人死亡, 使其成为世界第五大常见的癌症和第三大癌症死亡原因[1]. 在我国, 胃癌的发病率和死亡率均高居恶性肿瘤的第二位[2]. 胃癌早期常发病隐匿, 无特殊临床表现, 多数病人确诊时已为进展期. 因此, 找到与胃癌发生发展相关的基因, 并对之加以研究, 将有助于我们了解胃癌发生、演变的分子机制, 并从中寻找到新的治疗靶点, 对于胃癌的早期发现、早期治疗和预后的判断具有重要的价值. 卷曲螺旋蛋白(coiled-coil domain containing protein, CCDC)是一类由两个及以上的卷曲螺旋结构域组成的同寡聚体或寡聚体序列蛋白, 是一类看似结构简单但高度通用的蛋白折叠域; 约40个卷曲螺旋蛋白家族基因与疾病相关, 在肿瘤的发病过程中, 卷曲螺旋蛋白基因既可以作为促癌基因也可作为抑癌基因, 调控肿瘤的增殖、转移、血管生成和凋亡, 与肿瘤的发生发展有着密切的关系[3].

目前发现与胃癌发生发展及侵袭相关的卷曲螺旋蛋白有CCDC34、CCDC43、CCDC49、CCDC67、CCDC134及CCDC178等分子, 这些CCDC家族成员分子在肿瘤的发生演变中发挥着不同的作用与功能, 下面对他们与胃癌间的关系作一综述.

1 CCDC34可促进胃癌血管生成

*CCDC34*基因位于11号染色体p14.1, 编码的蛋白质产物由373个氨基酸组成[4]. 有研究发现CCDC34在膀胱癌组织和细胞系中表达升高, 调控膀胱癌细胞增殖、凋亡和迁移[4]. Lin[5]等采用实时聚合酶链反应(RT-PCR)、Western blot、Transwell法和RNA测序等一系列实验探究了CCDC34与肝细胞癌之间的关系, 发现CCDC34在肝癌组织中被显著诱导, 而CCDC34的过表达预示着肝癌患者预后不良, 下调CCDC34可有效抑制肝癌细胞的增殖和转移, 其机制可能与抑制CCDC34可以影响蛋白激酶B的激活以及上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程有关. 赵亚军[6]运用免疫组化等方法检测CCDC34在胃癌及癌旁组织中蛋白表达情况, 发现CCDC34在胃癌患者中呈显著高表达, 且高表达患者的预后差, 根据免疫组化数据对CCDC34与肿瘤血管生成相关指标血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、CD31标记的肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD)值进行相关性分析, 推测其机制可能与CCDC34促进肿瘤血管生成有关, 上述结果提示CCDC34可能成为胃癌抗血管生成治疗的潜在靶点.

2 CCDC43高表达促进胃癌的增殖与侵袭

*CCDC43*基因位于17号染色体q21.31上, GENT数据库显示, CCDC43 mRNA在卵巢癌、肺癌、头颈癌、宫颈癌、乳腺癌、肾上腺癌、胃癌、肝癌及食道癌中均表达上调[7]. 先前一项研究采用免疫组织化学、流式细胞术、western blot、EdU法、荧光素酶法、染色质免疫沉淀法和细胞侵袭法测定CCDC43在EMT中的功能作用, 发现*CCDC43*基因在人结直肠癌中过表达, 并且CCDC43蛋白的高表达与CRC患者的肿瘤进展和不良预后相关; 其机制可能为CCDC43通过TGF-B信号通路促进了EMT的进展, CCDC43也是结直肠癌细胞中FOXK1的直接转录靶点[7]. Wang[8]等发现CCDC43在胃组织中过表达, 过表达CCDC43可促进胃癌细胞的增殖、侵袭和转移, 具体机制可能为CCDC43上调和稳定黏附调节分子1(adhesion regulating molecule 1, ADRM1)的表达, 导致泛素介导的蛋白酶体的构建, 并且抑制ADRM1在体内外均可逆转CCDC43在胃癌中的作用; 转录因子YY1直接与CCDC43和ADRM1基因启动子结合, 导致CCDC43和ADRM1过表达, 体外实验表明, 下调CCDC43或ADRM1可减弱YY1转录因子介导的恶性表型, 揭示了YY1转录因子调控的CCDC43-ADRM1轴促进了胃癌的增殖和转移, 该轴可能是胃癌潜在的治疗靶点.

3 血清CCDC49的表达对于胃癌的早期诊断具有重要价值

Schulte[9]等在一个典型的乳腺癌细胞株ZR-75-30中, 通过分析基因组重排发现*CCDC49*等12个与白血病相似的表达融合基因. 徐小虹[10]等应用ELISA检测205例胃癌组、96例癌前病变组及94例正常对照组共395例血清样本中CCDC49及胃动蛋白2(gastrokines-2, GKN2)的表达水平, 结果显示胃癌组血清CCDC49表达水平高于正常对照组及癌前病变组(P<0.05), 胃癌组血清GKN2表达水平低于正常对照组及癌前病变组(P<0.05), 对结果进行

统计学分析, 以ROC曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)下面积评价诊断的准确性, 用Logistic回归方程求出CCDC49和GKN2联合预测因子Y, Y的ROC曲线下面积为0.88, 95%CI: 0.85-0.92, 当Y取临界值为2.4时, 其诊断胃癌的灵敏度和特异度为84.9%(174/205)和65.8%(125/190), 验证了血清CCDC49的高表达水平及GKN2的低表达水平对胃癌具有一定的诊断价值, CCDC49和GKN2联合预测因子Y可作为一种新的、较好的胃癌诊断参考指标.

4 CCDC67抑制胃癌的侵袭及转移

*CCDC67*基因位于11号染色体q2.1, 编码的蛋白质产物由604个氨基酸组成[6]. Park[11]等通过限制性标志基因组扫描发现胃癌细胞系和原代胃癌中, *CCDC67*基因的启动子经常发生甲基化, 在72.7%的胃癌细胞系中CCDC67表达下调, 并且在大多数情况下, 基因下调与*CCDC67*启动子的CpG高甲基化相关; 通过焦磷酸测序分析150对原发性胃癌样本检测发现, 与癌旁及正常组织相比, 74%的被测肿瘤启动子CpG甲基化水平升高, 且这种高甲基化与*CCDC67*的下调显著相关, 得出*CCDC67*可能是胃癌中由于启动子CpG甲基化而沉默的抑癌基因, 其可能在肿瘤发生相关的细胞信号转导和迁移中发挥重要作用. 另外有研究表明*CCDC67*作为一种抑癌基因对肝癌、甲状腺癌及前列腺癌具有显著的抑制作用[12-14]. Yin[13]等通过对200例原发性甲状腺乳头状癌组织和匹配的正常甲状腺组织, 分别采用RT-PCR和Western blot检测CCDC67 mRNA和蛋白,通过基因组DNA测序检测甲状腺乳头状癌中BRAF的突变, 使用稳定转染CCDC67的甲状腺乳头状癌细胞株TPC-1研究CCDC67的功能,发现与正常甲状腺组织相比, 甲状腺乳头状癌中CCDC67在mRNA和蛋白水平的表达均显著下调, CCDC67表达降低与肿瘤侵袭性行为, 如肿瘤晚期、淋巴结转移以及BRAF突变显著相关, CCDC67在TPC-1细胞中的表达能显著抑制细胞增殖、集落形成和迁移, 诱导G1期细胞周期阻滞, 增加细胞凋亡.

5 CCDC134加快胃癌的迁移和侵袭

*CCDC134*基因位于22号染色体q13.2[6]. CCDC134 mRNA包含1280个核苷酸, 可编码含有229个氨基酸的蛋白质[15]. 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是细胞内高度保守的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, MAPK通路作为细胞内信号转导通路, 可接受广泛的细胞外信号刺激, 并将其转导至细胞核内, 在调节细胞增殖、凋亡分化和侵袭等方面发挥着重要作用, 当MAPK通路异常活化时则可能引起细胞恶化, 导致癌症的发生[16]. Huang[15]等通过Northern blot、RT-PCR、免疫组织化学和Western blot的表达谱分析, CCDC134在正常成人组织、肿瘤组织和细胞系中广泛表达. 功能研究显示, 过表达CCDC134及其纯化蛋白显著抑制了Elk1的转录活性, 抑制了ERK和JNK/SAPK的磷酸化, 但抑制不了p38 MAPK的激活; 相反, 特异性siRNA对抗CCDC134激活Elk1的转录活性, 促进ERK和JNK/SAPK的磷酸化, 表明CCDC134可能在MAPK介导的Elk1转录中发挥了抑制作用. Zhong[17]采用免疫组化染色法发现CCDC134在正常胃组织、病变组织和癌组织中的阳性率分别为32.0、29.4和4.2%, 与正常组织(P<0.001)和病变组织(P<0.001)相比, CCDC134在胃癌组织中的表达显著降低, 正常组织与病变组织间差异无统计学意义(P = 0.842). 具体机制可能为CCDC134的减弱表达促进了ERK1/2和JNK/SAPK的激活, 而对p38无影响, 并且ERK1/2和JNK/SAPK的激活是CCDC134介导的迁移和侵袭所必需的. 此外, CCDC134-RNAi可诱导MMP-2和MMP-9的表达, 这是调控细胞迁移和侵袭的关键分子. 因此, CCDC134可能是肿瘤恶性转化的候选生物标志物, 它具有调节细胞迁移和侵袭的作用, 可能成为胃癌的治疗靶点.

6 CCDC178与胃癌关系研究甚少

*CCDC178*基因属于CCDC家族成员之一, 位于18号染色体q12.1, 编码的蛋白质产物由867个氨基酸组成. 失巢凋亡是一种上皮细胞脱离细胞外基质而导致的细胞程序性死亡, 其被认为是一种生理屏障, 可以阻止转移, 是预防癌症转移的早期步骤[18]. 失巢凋亡抗性有助于癌细胞的存活, 使得癌细胞从起源部位脱离, 从而促进转移[19,20]. 对失巢凋亡的放松管制正在成为癌症的一个标志, 并有助于形成远处器官的转移[20-22]. Huang[23]等通过外显子组测序发现*CCDC178*在肝细胞癌中发生突变. Hu[24]等发现与癌旁非癌组织相比, CCDC178在肝癌标本中显著上调, 其过表达与病理分期相关(P = 0.003), CCDC178缺陷降低了肝癌细胞的非锚固性生长和抗失巢凋亡能力, 抑制了肝癌细胞的体内转移, CCDC178的过表达而非功能丧失可能在肝细胞癌的发展中发挥重要作用. 机制上, BRCA1相关蛋白2(BRCA1-associated protein 2, BRAP2)是ERK通路的负调控因子, CCDC178与BRAP2相互作用并促进其降解, 然后激活ERK信号通路. 确定了*CCDC178*是一个参与抗失巢凋亡, 促进肝细胞癌转移的新的候选癌基因. Tomasini[25]等研究发现CCDC178与肺癌脑转移相关. Zhang[26]等通过全基因组测序发现*CCDC178*基因在胃癌组织中发生, 但其在胃癌发生发展中的具体机制研究较少.

7 小结与展望

综上所述, 卷曲螺旋蛋白家族基因与胃癌的发生发展及

侵袭转移有着密切的关联, 它们既可作为促癌基因也可作为抑癌基因, 调控肿瘤的增殖、转移、血管生成和凋亡. 虽然对CCDC家族基因中的部分基因与胃癌及其他肿瘤的研究取得了一定的进展, 加强了我们对肿瘤早期诊断、临床治疗、预后判断的认识, 但更多类型的卷曲螺旋蛋白基因在胃癌及其他肿瘤中的发病机制亟待我们进一步研究.

8 参考文献

1 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]

2 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]

3 揭敏, 张渝, 吴维智, 周洁, 刘金沙, 刘展. 卷曲螺旋蛋白在调控肿瘤中作用及分子机制的研究进展. 中国临床医生杂志 2021; 49: 665-668 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-8552.2021.06.011]

4 Gong Y, Qiu W, Ning X, Yang X, Liu L, Wang Z, Lin J, Li X, Guo Y. CCDC34 is up-regulated in bladder cancer and regulates bladder cancer cell proliferation, apoptosis and migration. *Oncotarget* 2015; 6: 25856-25867 [PMID: 26312564 DOI: 10.18632/oncotarget.4624]

5 Lin Z, Qu S, Peng W, Yang P, Zhang R, Zhang P, Guo D, Du J, Wu W, Tao K, Wang J. Up-Regulated CCDC34 Contributes to the Proliferation and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma. *Onco Targets Ther* 2020; 13: 51-60 [PMID: 32021254 DOI: 10.2147/OTT.S237399]

6 赵亚军. CCDC34在胃癌中的表达及与患者预后的相关性研究. 新乡医学院 2018

7 Wang J, Liu G, Liu M, Xiang L, Xiao Y, Zhu H, Wu X, Peng Y, Zhang W, Jiang P, Li A, Nan Q, Chen Y, Chen C, Cheng T, Liu S, Wang J. The FOXK1-CCDC43 Axis Promotes the Invasion and Metastasis of Colorectal Cancer Cells. *Cell Physiol Biochem* 2018; 51: 2547-2563 [PMID: 30562730 DOI: 10.1159/000495924]

8 Wang J, Wu X, Dai W, Li J, Xiang L, Tang W, Lin J, Zhang W, Liu G, Yang Q, Lin Z, Sun Y, Zhang Y, Chen Y, Li G, Li A, Liu S, Li Y, Wang J. The CCDC43-ADRM1 axis regulated by YY1, promotes proliferation and metastasis of gastric cancer. *Cancer Lett* 2020; 482: 90-101 [PMID: 32278016 DOI: 10.1016/j.canlet.2020.03.026]

9 Schulte I, Batty EM, Pole JC, Blood KA, Mo S, Cooke SL, Ng C, Howe KL, Chin SF, Brenton JD, Caldas C, Howarth KD, Edwards PA. Structural analysis of the genome of breast cancer cell line ZR-75-30 identifies twelve expressed fusion genes. *BMC Genomics* 2012; 13: 719 [PMID: 23260012 DOI: 10.1186/1471-2164-13-719]

10 徐小虹, 李建芳, 苏丽萍, 李琛, 朱正纲, 刘炳亚. 血清卷曲螺旋蛋白49及胃动蛋白2诊断胃癌的临床价值. 外科理论与实践 2015; 20: 226-231 [DOI: 10.16139/j.1007-9610.2015.03.012]

11 Park SJ, Jang HR, Kim M, Kim JH, Kwon OH, Park JL, Noh SM, Song KS, Kim SY, Kim YH, Kim YS. Epigenetic alteration of CCDC67 and its tumor suppressor function in gastric cancer. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1494-1501 [PMID: 22610074 DOI: 10.1193/carcin/bgs178]

12 Chen ZH, Yu YP, Zuo ZH, Nelson JB, Michalopoulos GK, Monga S, Liu S, Tseng G, Luo JH. Targeting genomic rearrangements in tumor cells through Cas9-mediated insertion of a suicide gene. *Nat Biotechnol* 2017; 35: 543-550 [PMID: 28459452 DOI: 10.1038/nbt.]

13 Yin DT, Xu J, Lei M, Li H, Wang Y, Liu Z, Zhou Y, Xing M. Characterization of the novel tumor-suppressor gene CCDC67 in papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 5830-5841 [PMID: 26716505 DOI: 10.18632/oncotarget.6709]

14 Yu YP, Ding Y, Chen Z, Liu S, Michalopoulos A, Chen R, Gulzar ZG, Yang B, Cieply KM, Luvison A, Ren BG, Brooks JD, Jarrard D, Nelson JB, Michalopoulos GK, Tseng GC, Luo JH. Novel fusion transcripts associate with progressive prostate cancer. *Am J Pathol* 2014; 184: 2840-2849 [PMID: 25238935 DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.06.025]

15 Huang J, Shi T, Ma T, Zhang Y, Ma X, Lu Y, Song Q, Liu W, Ma D, Qiu X. CCDC134, a novel secretory protein, inhibits activation of ERK and JNK, but not p38 MAPK. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 338-349 [PMID: 18087676 DOI: 10.1007/s00018-007-7448-5]

16 钟佳伶. CCDC134、UCHL1基因与胃肠癌转移关系的研究. 北京协和医学院 2012 [DOI: 10.7666/d.Y2123475]

17 Zhong J, Zhao M, Luo Q, Ma Y, Liu J, Wang J, Yang M, Yuan X, Sang J, Huang C. CCDC134 is down-regulated in gastric cancer and its silencing promotes cell migration and invasion of GES-1 and AGS cells via the MAPK pathway. *Mol Cell Biochem* 2013; 372: 1-8 [PMID: 23070808 DOI: 10.1007/s11010-012-1418-4]

18 Frisch SM, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *J Cell Biol* 1994; 124: 619-626 [PMID: 8106557 DOI: 10.1083/jcb.124.4.619]

19 Gilmore AP. Anoikis. *Cell Death Differ* 2005; 12 Suppl 2: 1473-1477 [PMID: 16247493 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401723]

20 Frisch SM, Screaton RA. Anoikis mechanisms. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 555-562 [PMID: 11544023 DOI: 10.1016/s0955-0674(00)00251-9]

21 Paoli P, Giannoni E, Chiarugi P. Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 3481-3498 [PMID: 23830918 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.026]

22 Taddei ML, Giannoni E, Fiaschi T, Chiarugi P. Anoikis: an emerging hallmark in health and diseases. *J Pathol* 2012; 226: 380-393 [PMID: 21953325 DOI: 10.1002/path.3000]

23 Huang J, Deng Q, Wang Q, Li KY, Dai JH, Li N, Zhu ZD, Zhou B, Liu XY, Liu RF, Fei QL, Chen H, Cai B, Zhou B, Xiao HS, Qin LX, Han ZG. Exome sequencing of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2012; 44: 1117-1121 [PMID: 22922871 DOI: 10.1038/ng.2391]

24 Hu X, Zhao Y, Wei L, Zhu B, Song D, Wang J, Yu L, Wu J. CCDC178 promotes hepatocellular carcinoma metastasis through modulation of anoikis. *Oncogene* 2017; 36: 4047-4059 [PMID: 28319061 DOI: 10.1038/onc.2017.10]

25 Tomasini P, Barlesi F, Gilles S, Nanni-Metellus I, Soffietti R, Denicolai E, Pellegrino E, Bialecki E, Ouafik L, Metellus P. Comparative genomic analysis of primary tumors and paired brain metastases in lung cancer patients by whole exome sequencing: a pilot study. *Oncotarget* 2020; 11: 4648-4654 [PMID: 33400739 DOI: 10.18632/oncotarget.27837]

26 Zhang J, Huang JY, Chen YN, Yuan F, Zhang H, Yan FH, Wang MJ, Wang G, Su M, Lu G, Huang Y, Dai H, Ji J, Zhang J, Zhang JN, Jiang YN, Chen SJ, Zhu ZG, Yu YY. Whole genome and transcriptome sequencing of matched primary and peritoneal metastatic gastric carcinoma. *Sci Rep* 2015; 5: 13750 [PMID: 26330360 DOI: 10.1038/srep13750]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 92-99

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.92

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

文献综述 REVIEW

胃癌术前贫血治疗选择中的两难困境

况小红, 李 建

况小红, 绵阳市第三人民医院(四川省精神卫生中心)血液内科 四川省绵阳市 621000

李建, 绵阳市第三人民医院(四川省精神卫生中心)普通外科 四川省绵阳市 621000

况小红, 研究方向为血液系统疾病的临床诊治.

基金项目: 绵阳市卫生健康委科研课题项目, No.202012.

作者贡献分布: 所有作者对此文的贡献均等; 查阅文献, 文章撰写由况小红和李建共同完成; 文章格式及审校由李建完成.

通讯作者: 李建, 副主任, 副主任医师, 621000, 四川省绵阳市游仙区剑南路东段190号, 绵阳市第三人民医院普通外科. 654747973@qq.com

收稿日期: 2021-11-09
修回日期: 2021-12-22
接受日期: 2022-01-20
在线出版日期: 2022-01-28

Dilemma in selection of treatment for preoperative anemia in patients with gastric cancer

Xiao-Hong Kuang, Jian Li

Xiao-Hong Kuang, Department of Hematology, The Third Hospital of Mianyang (Sichuan Mental Health Center), Mianyang 621000, Sichuan Province, China

Jian Li, Department of General Surgery, The Third Hospital of Mianyang (Sichuan Mental Health Center), Mianyang 621000, Sichuan Province, China

Supported by: Scientific Research Projects of Health Commission of Mianyang City, No. 202012.

Corresponding author: Jian Li, Deputy Director, Vice-Chief Physician, Department of General Surgery, The Third Hospital of Mianyang, No. 190 East Jiannan Road, Youxian District, Mianyang 621000, Sichuan Province, China. 654747973@qq.com

Received: 2021-11-09
Revised: 2021-12-22
Accepted: 2022-01-20

Published online: 2022-01-28

Abstract

One of the common comorbidities of patients with gastric cancer waiting for gastrectomy is anemia, which negatively affects the postoperative outcomes and prognosis. Therefore, preoperative anemia often needs to be corrected. The most commonly used strategy to treat preoperative anemia in gastric cancer is transfusion. Currently, a large amount of evidence shows that transfusion can increase the incidence of postoperative complications and affect the long-term survival of patients. Therefore, there is a dilemma in choosing the treatment for preoperative anemia in patients with gastric cancer. Surgeons need to fully understand the duality of therapy strategies for preoperative anemia in gastric cancer patients. In this study, we review the studies on preoperative anemia and its treatment in patients with gastric cancer, aiming to help clinicians manage patients undergoing gastrectomy for cancer better.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Preoperative anemia; Transfusion; Patient blood management

Citation: Kuang XH, Li J. Dilemma in selection of treatment for preoperative anemia in patients with gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 92-99
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/92.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.92

摘要

贫血是胃癌术前常见伴发症之一, 并会对胃癌术后的短期恢复及预后产生不良影响, 因此, 术前贫血常常需要予以纠正. 胃癌术前贫血治疗最常用的策略即输

血, 而目前大量证据表明输血会增加术后并发症及影响病人长期生存率. 因此, 胃癌术前贫血治疗中存在选择的两难困境, 临床外科医师在管理此类病人时, 如何平衡利弊, 需要充分了解胃癌术前贫血治疗的两面性. 本文对关于胃癌病人术前贫血及其治疗相关研究进行综述, 对提高胃癌手术病人管理者的全局观提供参考.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃癌; 术前贫血; 输血; 病人血液管理

核心提要: 术前贫血及输血均可能会影响胃癌术后的恢复及预后, 平衡胃癌术前贫血治疗的利弊, 对提高胃癌的治疗效果至关重要.

文献来源: 况小红, 李建. 胃癌术前贫血治疗选择中的两难困境. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 92-99

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/92.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.92

0 引言

胃癌是全球高发恶性肿瘤之一, 据GLOBOCAN 2020统计, 胃癌居于全球高发恶性肿瘤第五位, 其导致的死亡人数则居恶性肿瘤相关死亡第四位[1]. 胃癌发生于上消化道, 其症状缺乏特异性, 与其他胃良性疾病症状相似, 故在无胃癌人群筛查的国家和地区, 胃癌往往确诊于进展期, 治疗效果及预后较差. 贫血是进展期胃癌最常见伴随症状之一, 部分病人即以贫血为首发表现而就诊. 大量证据表明贫血会影响恶性肿瘤的手术恢复, 全身治疗效果及远期生存时间, 在有限的关于术前贫血与胃癌术后并发症及远期预后关系研究中也有类似发现[2]. 因此, 在胃癌综合治疗中, 纠正贫血是一个重要组成部分. 目前针对癌性贫血的治疗措施主要包括输血, 补充铁制剂及促红细胞生成素制剂(erythropoietin-stimulating agents, ESAs)[3]. 这些措施在对胃癌贫血起治疗纠正效果的同时, 对胃癌的预后也可能存在负面影响, 尤其是胃癌围手术期纠正贫血最常用的异体成分输血, 已有大量报道显示其对病人术后短期恢复及远期预后存在不良影响[4,5]. 因此, 胃癌术前贫血治疗中存在选择的两难困境, 临床外科医师在管理此类病人时, 如何平衡利弊, 需要充分了解胃癌术前贫血治疗的两面性. 然而, 目前文献中尚缺乏对此两面性的综合探讨, 本文对关于胃癌病人术前贫血原因及其治疗方法的相关研究进行综述, 对提高胃癌手术病人管理者的全局观提供参考.

1 胃癌病人术前贫血发生率

贫血是恶性肿瘤的一种常见症状, 其治疗前发生率在各种恶性肿瘤中为30%-90%[6]. 由此可见, 贫血的发生率在不同恶性肿瘤中具有明显异质性, 其在胃癌中也同样如此. 虽然贫血是胃癌术前常需处理的临床症状, 但以胃癌术前贫血为主要研究内容的报道并不多见. 关于胃癌病人术前贫血的发生率, 不同研究报道结果差异较大, 这与胃癌导致贫血的机制多样及不同报道纳入病人的构成不同有关, 不同机制导致不同病人组贫血发生率存在明显差异. 在最近一篇关于胃癌术前贫血对病人预后影响的Meta分析中, 作者纳入了17篇报道, 估计胃癌病人术前贫血发生率为36% (27-44%)[2]. 目前关于胃癌术前贫血发生率的研究主要来自东亚国家, 这些国家胃癌发病率较高且均已建立广泛的针对胃癌的预防及筛查措施, 其早期胃癌的构成明显增加. 而在进展期胃癌占主要构成的国家, 如美国等, 目前关于胃癌术前贫血发生率的报道极少. 不同国家胃癌术前贫血发生率的对比研究可为胃癌防治政策提供信息, 因为在少有的几项关于胃癌术前贫血与临床病理特征关系的研究中, 发现肿瘤分期与术前贫血密切相关, 随着肿瘤分期的提升, 术前贫血发生率则明显升高(表1)[7-10]. 另外, 虽然铁是贯穿造血过程的重要物质, 关于胃癌术前铁水平的研究却极少, 来自加拿大的一项包括手术及非手术胃癌病人的回顾性分析显示, 在确诊胃癌时, 56%的病人存在铁缺乏, 40%的病人存在缺铁性贫血[11]. 一组来自日本的298例手术胃癌病人中, 43.2%存在贫血, 其中59.7%的贫血病人存在血清铁水平降低[12].

2 胃癌术前贫血发生原因及机制

虽然关于癌性贫血原因及机制的研究在各种恶性肿瘤中均有开展, 但在胃癌术前贫血中却研究极少. 表1列出的几项研究结果显示, 贫血或重度贫血一个明显的特征即是随着胃癌分期的提升, 术前贫血发生率明显升高. 其他与胃癌术前贫血密切相关的因素包括肿瘤大小, 淋巴结转移, 神经侵犯等, 均提示术前贫血的发生跟肿瘤进展相关. 虽然特异性针对胃癌术前贫血的研究较少, 但其发生机制与其他恶性肿瘤相关贫血具有共同性, 尽管不同肿瘤可能具有其特异性原因, 但显然, 胃癌术前贫血是多因素共同作用的结果[13].

2.1 消化道出血 消化道出血是胃癌常见症状之一, 其发生率据报道为5.8%-25.4%[14,15], 占肿瘤相关消化道出血的36-58%, 居于首位[16]. 胃癌恶性程度高, 肿瘤生长迅速, 快速的生长与肿瘤血供的不平衡引起肿瘤缺血坏死, 故胃癌常表现为溃疡型肿块. 同时, 胃腔内含具有腐蚀性

表 1 贫血发病率及与临床病理特征的关系

作者	发表年	国家	病例数	发生率(%)	各分期发生率(%)	其他与贫血明显相关的临床病理特征
Jiang[7]	2019	中国	505	40.9	I: 14.3; II: 17.4; III: 29.1	女性, 肿瘤大小, 淋巴结分期
Liu[8]	2017	中国	2163	27.0	I: 20.9; II: 31.3; III: 47.9	肿瘤大小, 神经侵犯, 术前体重下降, 体能状态评分
Wu[9]	2017	中国	210	25.2	I: 17.0; II: 32.7; III: 25.4	无
Shen[10]	2005	韩国	1688	39.9	I: 29.3; II: 45.8; III: 44.1	肿瘤大小, 大体类型, 浆膜侵犯, 淋巴结转移

表 2 胃癌术前贫血与病人预后

作者	发表年	国家	病例数	Hb界限(g/L)	预后(单因素分析)	预后(多因素分析)
Jiang[7]	2019	中国	1099	120	OS: HR = 1.43 (1.18–1.74)	OS: HR = 1.14 (0.93–1.41)
Liu[8]	2017	中国	2163	120	OS: HR = 1.24(0.99–1.54)	OS: HR = 1.24 (0.99–1.54)
Wang[32]	2017	中国	859	NA	OS: HR = 2.06 (1.68–2.52); DFS: HR = 1.89 (1.53–2.33)	OS: HR = 1.29 (1.04–1.59); DFS: NS
Chen[33]	2017	中国	292	126	OS: HR = 1.03 (0.68–1.56); DFS: HR = 1.07 (0.71–1.62)	OS: NS; DFS: NS
Xue[34]	2017	中国	269	108	OS: P = 0.033	OS: HR = 1.02 (0.68–1.53)
Wu[9]	2017	中国	210	60	DFS: P = 0.755	DFS: HR = 1.03 (0.94–1.12)
Lee[35]	2017	韩国	309	120	OS: HR = 0.12 (0.05–0.31); RFS: HR = 0.25 (0.13–0.48)	OS: HR = 0.32 (0.11–0.87); RFS: HR = 1.24 (0.49–3.11)
Eo[36]	2015	韩国	299	连续	OS: HR = 0.40 (0.22–0.73); DFS: HR = 0.32 (0.19–0.56)	OS: NS; DFS: NS
Rausei[37]	2013	意大利	224	120	OS: P = 0.113	NA
Mohri[38]	2010	日本	357	120	OS: HR = 1.81 (1.23–2.65)	NS
Shen[10]	2005	韩国	1688	120	OS: NS	OS: P = 0.208

DFS: 无病生存率; Hb: 血红蛋白; HR: 危险比; NA: 无数据; NS: 无统计学意义; OS: 总体生存率; RFS: 无复发生存率.

的胃酸, 胃消化酶, 在肿瘤表面缺乏相应正常胃黏膜保护屏障的情况下, 极易被腐蚀破坏, 加之胃蠕动及食物摩擦, 胃癌表面血管易破坏出血. 虽然急性大出血导致呕血或黑便、鲜血便等可致急性贫血, 需紧急处理以挽救生命, 但大多数病人仅表现为慢性消化道失血, 而不会引起重视, 致就诊延迟, 常出现明显贫血症状后才通过寻找贫血原因而明确诊断.

2.2 营养不良 造血是一个复杂的生理过程, 正常情况下, 造血受各种机制调控而维持于动态平衡. 其中造血原料物质的提供主要受营养状态的调控, 包括铁、甘氨酸、葡萄糖等合成血红蛋白(hemoglobin, Hb)的基本营养物质, 在胃肿瘤病变情况下, 可能会出现供应不足而Hb合成减少[17]. 胃癌病人常有上消化道症状, 如腹胀、食欲减退及消化不良等, 从而致进食减少, 当肿瘤位于胃出入口导致进食梗阻时会更加明显, 故胃癌病人常伴有营养不良表现. 铁代谢贯穿了整个Hb合成过程, 营养供给不足及慢性失血导致铁丢失增加减少了体内铁含量, 进而影响造血功能, 导致贫血发生. 另外, 营养不良同时也减少了其他造血必需物质如维生素B12、叶酸及微量元素等的供给[17]. 然而, 这些造血必需营养物质在胃癌病人术前的检测及评估并未受到重视, 相关研究报道也极少, 尽管针对这些物质的检测及纠正可能会对胃癌病人的术前管理带来深刻影响.

2.3 造血功能障碍 除了营养不良导致造血物质缺乏外, 慢性炎症所致造血功能障碍在癌性贫血中得到了充分的研究和证实, 甚至是部分癌性贫血的主要原因, 但胃癌术前贫血病人的慢性炎症状态尚缺乏研究报道[18]. 特别地, 癌性贫血与慢性炎性因子水平升高明显相关, 并表现为轻度正细胞色素或低色素性贫血, 同时伴循环血清铁浓度及转铁蛋白饱和度降低, 而体内铁储存多正常, 显示癌性贫血与铁利用能力下降而不是铁缺乏相关, 即“功能性铁缺乏”[19]. 铁调素是维持铁平衡的重要内分泌因子, 在铁吸收、存储、动员及再循环中起重要调控作用[20]. 在肿瘤等慢性炎症环境下, 体内铁调素明显升高, 致铁滞留于储存细胞内而用于造血减少, 从而引起贫血[21]. 其他慢性炎症因子如干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)和IL-6, 在恶性肿瘤病人中明显升高, 可通过不同机制导致造血功能障碍[3]. 除前诉造血抑制细胞因子的增加外, 造血

表 3 围手术期输血与胃癌预后的Meta分析

作者	发表年	作者国家	研究数	病人数	输血比例(%)	并发症	预后
Agnes[4]	2018	意大利	38	21485	28.5	OR = 3.33 (2.10–5.29)	OS: HR = 1.49 (1.32–1.69); DFS: HR = 1.48 (1.18–1.86); DSS: HR = 1.66 (1.5–2.19)
Sun[5]	2015	中国	18	9120	36.3	NA	全因死亡: OR = 2.17(1.72–2.74); 癌症相关死亡: OR = 2.57(1.24–5.34); 复发: OR = 1.52 (1.08–2.15)
Li[40]	2015	中国	16	9189	44.8	RR = 1.36 (1.02–1.81)	5年存活率: RR = 0.74 (0.69–0.79); 复发; RR = 1.82 (1.32–1.51)

DFS: 无病生存率; DSS: 疾病特异生存率; NA: 无数据; OR: 比值比; OS: 总体生存率; RR: 相对危险度.

促进细胞因子的减少是癌性贫血另一方面重要因素. 组织缺氧环境下产生的活性氧可模拟假性氧信号, 致肾小管周围间质细胞 促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)表达降低, 引起骨髓造血功能障碍[18]. 另外, 慢性炎症因子如IL-1、IL-6亦可通过抑制EPO合成, 降低EPO受体表达及红系前体细胞对EPO的反应, 从而影响红系造血[18].

2.4 术前治疗相关 随着胃癌多学科治疗模式的推广, 胃癌术前治疗包括化疗、放疗、免疫治疗、靶向治疗等的应用在临床上越来越普遍. 这些术前治疗最重要且常见的毒副作用即骨髓抑制, 主要表现为粒系造血减少, 但贫血发生率也很高. 胃癌术前化疗的早期研究采用方案如ECF、ECX、FLOT等联合三药治疗, 毒副作用非常明显, 其中贫血发生率均在80%以上, 尽管3和4度贫血发生率不超过10%[22]. 因此, 目前三药联合方案仅用于耐受能力极好的病人, 而临床多使用联合奥沙利铂及氟尿嘧啶或S-1的两药方案, 但其贫血发生率仍在50%左右[23,24]. 尽管胃癌新辅助治疗后贫血发生率明显升高, 但并无研究报道提及该类病人术前贫血的治疗及其可能对肿瘤产生的影响, 这需要胃癌术前治疗研究者的进一步关注.

3 术前贫血对胃癌病人的影响

3.1 降低生活质量 随着贫血程度加重及代偿机制的失衡, 各种贫血相关症状将严重影响病人生活质量. 贫血几乎可导致全身所有器官的相关症状, 常见包括心悸、心动过速、面色苍白等, 引起癌症相关虚弱的发生. 另一方面, 红细胞体内输氧能力的降低可影响器官系统的代谢和功能, 细胞代谢改变会明显影响病人身心功能, 心肺及骨骼肌系统改变也将导致体力活动及耐受力的降低, 表现为呼吸困难、乏力和肌肉疲劳. 同时, 胃肠道供氧降低使病人食欲下降及吸收障碍, 进一步影响病人营养和能量供给, 严重影响病人生活质量[3,25].

3.2 对术后恢复的影响 关于术前贫血和术后并发症的关系在各种手术中均有报道, 2015年一篇纳入21项术前贫血与各种手术术后并发症关系研究的Meta分析结果显示, 术前贫血与术后死亡、感染及输血增量明显相关[26]. 但该研究异质性较大, 无法明确术前贫血是术后并发症的独立危险因素, 还是仅仅为其他导致术后并发症的慢性疾病的伴随症状. 以术后并发症为主要指标的胃癌术前贫血研究极少, 多为研究其他指标时将贫血作为混杂因素纳入分析, 且均未发现术前贫血会明显增加胃癌术后并发症[27,28]. 这可能是因为在胃癌手术前, 贫血往往会通过输血等手段予以纠正, 故不能完全否认贫血本身对手术并发症的潜在影响. 在一项以评价Hb水平与胃癌根治术后并发症的关系研究中发现, 术后并发症与术前Hb水平没有明显关系, 但与术后Hb水平有关, 且随着Hb水平的下降, 如不输血纠正贫血则并发症发生率逐渐增加, 当Hb大于100 g/L时并发症发生率为14.2%, 而(80-90) g/L时为37.1%, 低于80 g/L时则高达40.0%[29].

3.3 对预后的影响 目前有大量文献表明术前贫血似乎会对肿瘤的长期预后产生影响, 其机制可能与缺氧有关. 缺氧微环境是实体瘤的重要特点, 而贫血会降低血液携氧能力, 进一步加重肿瘤组织缺氧微环境. 作为对缺氧做出的适应性反应, 肿瘤组织中缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor, HIF-1)表达升高, HIF-1通过调节靶基因表达, 促进肿瘤生长、增殖、浸润和转移, 导致不良预后[30]. 同时, 贫血会降低肿瘤药物治疗效果, 尤其是当Hb小于100 g/L时[31]. 另外, 术前贫血可能会延迟或中断肿瘤相关治疗, 导致病情进展. 然而在胃癌病人中, 术前贫血对预后的影响尚无定论, 如表2所示, 大多数研究提示术前贫血是胃癌根治术后的不良预后因素, 但经过多因素分析调整后, 其影响多无统计学意义[7-10,32-38]. 在Huang等[2]的Meta分析中, 术前贫血为总生存期(overall survival, OS)及无病生存期(disease-free survival, DFS)的独立危险因素, 但多因素亚组分析显示, 术前贫血对DFS影响无统计学意义. 其可能的解释为贫血主要与肿瘤分期有关, 而后者是明确的肿瘤预后因素, 经过多因素分析后, 贫血本身显示不是独立的危险因素, 同时围手术期输血可能会纠正术前贫血对长期预后的影响.

4 术前贫血治疗及其对胃癌手术术后的影响

如前所诉, 胃癌术前贫血对病人术后恢复、生活质量及预后可能具有不良影响, 因此需予以纠正. 目前纠正贫血的方式包括输血、ESAs、铁剂补充、营养支持及抗炎治疗等, 各种措施均有其正反方面的影响. 在胃癌术前贫血治疗中, 除输血外, 其余方法的研究很少. 虽然有研究发现, 维持血色素在120 g/L以上可以最大程度改善病人的生活质量[18], 但在胃癌术前情况下, 如何纠正及纠正到何种程度, 目前仍缺乏高级别证据支持.

4.1 输血 红细胞成分输血是纠正贫血及改善病人症状最直接也是最快的措施, 特别是在严重的或危及生命的情况下, 可以迅速提升Hb及红细胞压积[39], 也是临床上面对胃癌需限期手术的情况下最常采用的办法. 虽然有报道显示在晚期肿瘤的综合治疗中, 输血纠正贫血可能改善预后, 但在关于胃癌围手术期输血的研究中, 更多是显示其对术后并发症及预后的不良影响. 表3所示目前输血对胃癌术后并发症及预后研究的3项Meta分析显示, 与术前贫血相似, 输血可明显增加术后并发症发生率[4,5,40]. 而且, 研究发现输血增加术后并发症可能与贫血的严重程度有关, 在Jung等的回顾性分析中发现, 随着Hb水平的增加, 输血反而会导致术后并发症增加, Hb大于100 g/L时输血病人并发症发生率为60.0%, 而Hb为(80-90) g/L的病人为52.9%, 低于80 g/L时则为41.0%, 且与未输血组相比, 在Hb大于80 g/L的病人中, 输血反而会增加术后并发症发生[29]. 同时, 围手术期输血对肿瘤预后的不良影响获得了广泛的认识, 其机制主要认为是输血可导致免疫抑制, 包括抑制IL-2和INF-γ产生, 抑制自然杀伤细胞功能, 释放免疫抑制物前列腺素, 增加调节性T细胞的数量等[41]. 如表3所示, 无论是采用全因死亡, 总体生存率, 还是复发率等指标, 均显示胃癌围手术期输血会明显缩短病人的长期生存. 因而, 对胃癌围手术期输血应持慎重态度.

4.2 促红细胞生成制剂 自从1993年重组人红细胞生成素开始被批准应用于癌性贫血后, 各种短长效制剂被开发使用[42]. 大量临床试验明确了ESAs在癌性贫血中的价值, 可以明显降低红细胞输注, 改善虚弱等贫血相关症状, 提高生活质量[43]. 然而其应用也存在争议, 随机对照试验及系统综述均表明ESAs可明显增加血栓栓塞事件的风险, 特别是在基础Hb较高的情况下[43,44]. 另外, 虽然仍需要进一步明确, ESAs可能会刺激肿瘤细胞的生长[45]. 在临床试验中也发现, ESAs治疗与肿瘤预后差有关, 因此目前一致认为ESAs只适合于肿瘤姑息治疗且Hb低于100 g/L的情况下[13]. 虽然, ESAs应用于胃癌术前贫血的治疗缺乏研究, 但从晚期肿瘤的试验结果推导, ESAs并不适合于可以获得根治可能的术前病人.

4.3 铁剂补充 口服铁剂是贫血首选补铁方式, 但不适合于炎症相关性贫血[46]. 因为此类贫血往往是由铁吸收障碍, 铁代谢及利用异常所致, 因此, 肿瘤病人补铁研究中均采用静脉制剂. 大量证据表明, 联合或单独静脉补充铁剂可明显减少肿瘤病人的输血需求及提高生活质量, 且未发现有明显的副作用[47]. 因此, 铁剂补充可能适合于胃癌术前病人的贫血纠正中. 有研究发现, 静脉注射铁剂可明显提高术前贫血病人的Hb, 尤其是羧麦芽糖铁, 其Hb增加可达17 g/L[48]. 与蔗糖铁相比, 羧麦芽糖铁允许更高的使用剂量和可获得更快的Hb改善, 特别适合于肿瘤这类不能长时间推迟手术且不适合ESAs制剂的病人中. 但是, 尽管静脉补充铁剂显示了良好的安全性及有效性, 其在胃癌术前贫血的应用中并未受到重视, 如前所诉, 对胃癌术前贫血病人的铁代谢状况研究极少, 而术前补铁的研究目前仅有一项来自于西班牙的多中心研究[48]. 背后的顾虑可能源自于铁在肿瘤中的作用, 从而对肿瘤预后可能产生负性作用. 但这些研究主要来自动物实验[49], 在临床试验中并未发现静脉补铁对肿瘤患者的生存有明显影响[50-52]. 在输血存在不良预后影响及ESAs不适合应用于可获得根治机会的术前情况下, 关于胃癌病人术前铁代谢状况, 补铁对胃癌手术短期结局及长期预后的影响值得进一步的研究.

5 胃癌术前贫血防治的方向

5.1 胃癌的预防与早诊早治 广大从事胃癌诊疗工作的临床医师致力于研究不同的治疗方法以提高胃癌病人的长期生存时间, 虽然在肿瘤治疗策略的进展及胃癌多学科治疗模式的推广下, 胃癌病人的预后及生活质量均获得了明显的改善, 但相较于其他肿瘤, 进展期胃癌的治疗效果仍不理想. 其实, 从近数十年胃癌发病率变化倾势的研究看, 降低胃癌负担最有效的办法就是预防胃癌的发生[53]. 在中日韩等东亚国家, 胃癌的高发病率与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的感染密切相关, 因此, 随着这些国家*H. pylori*感染的筛查及根治运动的开展, 与其相关的胃癌发生率也明显降低, 被称为“流行病学的意外胜利”[54,55]. 但近年来随着高盐饮食及肥胖人群的增加, 近端胃癌发生率明显增加, 因此, 预防包括胃癌在内的肥胖相关健康问题迫在眉睫. 没有胃癌的发生, 其术前贫血治疗选择的两难困境就不会存在[56]. 另外, 胃癌术前贫血的研究发现, 随着胃癌分期的提升, 术前贫血发生率亦明显升高. 因此, 防治胃癌术前贫血的另一个有效措施即早期诊治, 这依赖于人群胃癌意识的提升及胃癌早诊早治项目的建立. 在韩国, 随着国家范围胃癌筛查项目的开展, 其早期胃癌占所有胃癌的比例从1995年的28.6%提升至2007年的58.0%, 明显的降低了

胃癌病人的死亡率, 同时理论上也降低了胃癌术前贫血的患病率[57].

5.2 病人血液管理 虽然胃癌预防与早诊早治是防治胃癌术前贫血的最佳策略, 但这需要社会的广泛参并存在巨大的经济负担, 目前在人口量大或胃癌发病率较低的国家, 其实现还需要相当的时间. 因此, 针对胃癌术前贫血治疗的优化仍很关键. 病人血液管理(patient blood management, PBM)策略包括不同的具有循证医学证据的干预措施, 旨在维持患者自身血量, 避免不必要输血. PBM包含三个部分: 通过早期检测和使用铁制剂管理贫血; 减少医源性失血; 通过限制性输血优化病人对贫血的生理耐受. PBM已成功应用于骨科、心脏和结直肠手术, 减少了输血和住院时间. 一项西班牙多中心研究将PBM策略应用于胃癌术前贫血的管理中, 并显示可明显减少围手术期输血, 在术前贫血的病人中减少更加明显. 同时降低了术后感染性并发症, 再手术率、平均住院时间及死亡率. 虽然该研究尚未报道该策略对胃癌术后远期预后的影响, 其显示出的所有短期收益可能会对远期预后产生积极的作用[48]. PBM具体策略为术前2-4周完成包括血常规、铁水平等实验室检测, 对Hb低于120 g/L和/或铁蛋白小于300 mg/L的病人给予术前7天的铁剂补充. 对有危险因素和/或贫血症状的病人, 建议输血的Hb阈值为90g/L, 而没有活动性出血的病人, Hb阈值为70 g/L[48]. 由于胃癌根治为限期手术, 可能会对PBM策略的执行造成影响, 因而其执行率仅52%, 这在结肠癌术前的研究中更低, 仅30%[48,58]. 然而, 在西班牙的这项研究中, PBM的实施并没有明显的延长胃癌诊断至手术的时间间隔[48]. 而且, 目前也没有证据表明完成PBM所需的时间会明显导致肿瘤的进展从而影响预后, 反而其所获得的诸如减少输血、感染并发症、死亡率等收益将远远超过其所需的时间付出. 因而, 在一项德国的包含部分上消化道肿瘤的研究中, 术前PBM策略可提高15%的两年生存率, 虽然缺乏亚组分析而不能明确是否在胃癌病人中同样如此[59]. 因此, PBM策略在包括胃癌在内的肿瘤病人术前管理中具有良好的前景, 值得进一步的研究.

6 结论

综上所诉, 目前关于胃癌术前贫血及铁代谢状态的报道欠缺, 需要进一步大样本、多种群的研究, 为胃癌病人术前管理提供数据支持. 现有的回顾性报道虽然证据级别很低, 但确支持术前贫血会对胃癌根治术后病人的短期结局和长期预后产生不良影响, 虽然因术前贫血常会被临床医师关注而加以纠正, 致部分研究在多因素分析后提示术前贫血对胃癌病人的长期预后缺乏统计学意义. 因ESAs不适合应用于可接受根治可能的术前环境, 铁剂补充需要一定时间, 故绝大部分临床实践中采取了快速有效的输血方案, 但大量的研究提示输血对胃癌病人术后的短期恢复及远期生存存在负面作用. 因此, 胃癌病人术前贫血的管理使临床医师面临选择的两难困境, 如何平衡胃癌术前贫血治疗的利弊, 需要更多的探索. 目前, PBM策略在各种择期手术中显示出其优越性, 在各种恶性肿瘤包括胃癌手术的术前贫血管理中也显示了其降低输血率及术后并发症, 改善病人预后的初步效果, 值得进一步研究, 以提高胃癌的治疗效果.

7 参考文献

1 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71: 209-249 [PMID: 33538338 DOI: 10.3322/caac.21660]

2 Huang XZ, Yang YC, Chen Y, Wu CC, Lin RF, Wang ZN, Zhang X. Preoperative Anemia or Low Hemoglobin Predicts Poor Prognosis in Gastric Cancer Patients: A Meta-Analysis. *Dis Markers* 2019; 2019: 7606128 [PMID: 30719182 DOI: 10.1155/2019/7606128]

3 Natalucci V, Virgili E, Calcagnoli F, Valli G, Agostini D, Zeppa SD, Barbieri E, Emili R. Cancer Related Anemia: An Integrated Multitarget Approach and Lifestyle Interventions. *Nutrients* 2021; 13 [PMID: 33535496 DOI: 10.3390/nu13020482]

4 Agnes A, Lirosi MC, Panunzi S, Santocchi P, Persiani R, D'Ugo D. The prognostic role of perioperative allogeneic blood transfusions in gastric cancer patients undergoing curative resection: A systematic review and meta-analysis of non-randomized, adjusted studies. *Eur J Surg Oncol* 2018; 44: 404-419 [PMID: 29398320 DOI: 10.1016/j.ejso.2018.01.006]

5 Sun C, Wang Y, Yao HS, Hu ZQ. Allogeneic blood transfusion and the prognosis of gastric cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Int J Surg* 2015; 13: 102-110 [PMID: 25486261 DOI: 10.1016/j.ijsu.2014.11.044]

6 Rodgers GM 3rd, Becker PS, Blinder M, Cella D, Chanan-Khan A, Cleeland C, Coccia PF, Djulbegovic B, Gilreath JA, Kraut EH, Matulonis UA, Millenson MM, Reinke D, Rosenthal J, Schwartz RN, Soff G, Stein RS, Vlahovic G, Weir AB 3rd. Cancer- and chemotherapy-induced anemia. *J Natl Compr Canc Netw* 2012; 10: 628-653 [PMID: 22570293 DOI: 10.6004/jnccn.2012.0064]

7 Jiang J, Ouyang J, Liu S, Chen J, Zhang H, Wang C, Wu W, Zhang C, He Y. The prognostic impact of pretreatment anemia in patients with gastric cancer and nonhypoalbuminemia undergoing curative resection: a retrospective study. *Ann Transl Med* 2021; 9: 1046 [PMID: 34422958 DOI: 10.21037/atm-21-1649]

8 Liu X, Qiu H, Huang Y, Xu D, Li W, Li Y, Chen Y, Zhou Z, Sun X. Impact of preoperative anemia on outcomes in patients undergoing curative resection for gastric cancer: a single-institution retrospective analysis of 2163 Chinese patients. *Cancer Med* 2018; 7: 360-369 [PMID: 29341506 DOI: 10.1002/cam4.1309]

9 Wu G, Zhang DY, Duan YH, Zhang YQ, Cui XN, Luo Z. Correlations of Hemoglobin Level and Perioperative Blood Transfusion with the Prognosis of Gastric Cancer: A Retrospective Study. *Med Sci Monit* 2017; 23: 2470-2478 [PMID: 28535151 DOI: 10.12659/msm.900907]

10 Shen JG, Cheong JH, Hyung WJ, Kim J, Choi SH, Noh SH. Pretreatment anemia is associated with poorer survival in patients with stage I and II gastric cancer. *J Surg Oncol* 2005; 91: 126-130 [PMID: 16028285 DOI: 10.1002/jso.20272]

11 Tang GH, Hart R, Sholzberg M, Brezden-Masley C. Iron deficiency anemia in gastric cancer: a Canadian retrospective review. *Eur J*

Gastroenterol Hepatol 2018; 30: 1497-1501 [PMID: 30179903 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001251]
12 Sawayama H, Iwatsuki M, Kuroda D, Toihata T, Uchihara T, Koga Y, Yagi T, Kiyozumi Y, Eto T, Hiyoshi Y, Ishimoto T, Baba Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Baba H. Total iron-binding capacity is a novel prognostic marker after curative gastrectomy for gastric cancer. *Int J Clin Oncol* 2018; 23: 671-680 [PMID: 29633053 DOI: 10.1007/s10147-018-1274-7]
13 Abdel-Razeq H, Hashem H. Recent update in the pathogenesis and treatment of chemotherapy and cancer induced anemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2020; 145: 102837 [PMID: 31830663 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2019.102837]
14 Kulig J, Popiela T, Kolodziejczyk P, Sierzega M, Jedrys J, Szczepanik AM; Polish Gastric Cancer Study Group. Clinicopathological profile and long-term outcome in young adults with gastric cancer: multicenter evaluation of 214 patients. *Langenbecks Arch Surg* 2008; 393: 37-43 [PMID: 17618451 DOI: 10.1007/s00423-007-0208-z]
15 Tavares A, Gandra A, Viveiros F, Cidade C, Maciel J. Analysis of clinicopathologic characteristics and prognosis of gastric cancer in young and older patients. *Pathol Oncol Res* 2013; 19: 111-117 [PMID: 22573278 DOI: 10.1007/s12253-012-9530-z]
16 Sheibani S, Kim JJ, Chen B, Park S, Saberi B, Keyashian K, Buxbaum J, Laine L. Natural history of acute upper GI bleeding due to tumours: short-term success and long-term recurrence with or without endoscopic therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 144-150 [PMID: 23710797 DOI: 10.1111/apt.12347]
17 Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Martín-Montañez E, Auerbach M. Perioperative anemia management in colorectal cancer patients: a pragmatic approach. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1972-1985 [PMID: 24587673 DOI: 10.3748/wjg.v20.i8.1972]
18 Macciò A, Madeddu C, Gramignano G, Mulas C, Tanca L, Cherchi MC, Floris C, Omoto I, Barracca A, Ganz T. The role of inflammation, iron, and nutritional status in cancer-related anemia: results of a large, prospective, observational study. *Haematologica* 2015; 100: 124-132 [PMID: 25239265 DOI: 10.3324/haematol.2014.112813]
19 Madeddu C, Gramignano G, Astara G, Demontis R, Sanna E, Atzeni V, Macciò A. Pathogenesis and Treatment Options of Cancer Related Anemia: Perspective for a Targeted Mechanism-Based Approach. *Front Physiol* 2018; 9: 1294 [PMID: 30294279 DOI: 10.3389/fphys.2018.01294]
20 Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823: 1434-1443 [PMID: 22306005 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.01.014]
21 Qiao B, Sugianto P, Fung E, Del-Castillo-Rueda A, Moran-Jimenez MJ, Ganz T, Nemeth E. Hepcidin-induced endocytosis of ferroportin is dependent on ferroportin ubiquitination. *Cell Metab* 2012; 15: 918-924 [PMID: 22682227 DOI: 10.1016/j.cmet.2012.03.018]
22 Al-Batran SE, Homann N, Pauligk C, Goetze TO, Meiler J, Kasper S, Kopp HG, Mayer F, Haag GM, Luley K, Lindig U, Schmiegel W, Pohl M, Stoehlmacher J, Folprecht G, Probst S, Prasnikar N, Fischbach W, Mahlberg R, Trojan J, Koenigsmann M, Martens UM, Thuss-Patience P, Egger M, Block A, Heinemann V, Illerhaus G, Moehler M, Schenk M, Kullmann F, Behringer DM, Heike M, Pink D, Teschendorf C, Löhr C, Bernhard H, Schuch G, Rethwisch V, von Weikersthal LF, Hartmann JT, Kneba M, Daum S, Schulmann K, Weniger J, Belle S, Gaiser T, Oduncu FS, Güntner M, Hozaeel W, Reichart A, Jäger E, Kraus T, Mönig S, Bechstein WO, Schuler M, Schmalenberg H, Hofheinz RD; FLOT4-AIO Investigators. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. *Lancet* 2019; 393: 1948-1957 [PMID: 30982686 DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32557-1]
23 Chen W, Shen J, Pan T, Hu W, Jiang Z, Yuan X, Wang L. FOLFOX versus EOX as a neoadjuvant chemotherapy regimen for patients with advanced gastric cancer. *Exp Ther Med* 2014; 7: 461-467 [PMID: 24396426 DOI: 10.3892/etm.2013.1449]
24 Sah BK, Zhang B, Zhang H, Li J, Yuan F, Ma T, Shi M, Xu W, Zhu Z, Liu W, Yan C, Li C, Liu B, Yan M, Zhu Z. Neoadjuvant FLOT versus SOX phase II randomized clinical trial for patients with locally advanced gastric cancer. *Nat Commun* 2020; 11: 6093 [PMID: 33257672 DOI: 10.1038/s41467-020-19965-6]
25 Ludwig H, Strasser K. Symptomatology of anemia. *Semin Oncol* 2001; 28: 7-14 [PMID: 11395846 DOI: 10.1016/s0093-7754(01)90206-4]
26 Fowler AJ, Ahmad T, Phull MK, Allard S, Gillies MA, Pearse RM. Meta-analysis of the association between preoperative anaemia and mortality after surgery. *Br J Surg* 2015; 102: 1314-1324 [PMID: 26349842 DOI: 10.1002/bjs.9861]
27 Lou N, Chi CH, Chen XD, Zhou CJ, Wang SL, Zhuang CL, Shen X. Sarcopenia in overweight and obese patients is a predictive factor for postoperative complication in gastric cancer: A prospective study. *Eur J Surg Oncol* 2017; 43: 188-195 [PMID: 27692536 DOI: 10.1016/j.ejso.2016.09.006]
28 Sun X, Xu J, Chen X, Zhang W, Chen W, Zhu C, Sun J, Yang X, Wang X, Hu Y, Cai Y, Shen X. Sarcopenia in Patients With Normal Body Mass Index Is an Independent Predictor for Postoperative Complication and Long-Term Survival in Gastric Cancer. *Clin Transl Sci* 2021; 14: 837-846 [PMID: 33278338 DOI: 10.1111/cts.12940]
29 Jung DH, Lee HJ, Han DS, Suh YS, Kong SH, Lee KU, Yang HK. Impact of perioperative hemoglobin levels on postoperative outcomes in gastric cancer surgery. *Gastric Cancer* 2013; 16: 377-382 [PMID: 23007652 DOI: 10.1007/s10120-012-0196-8]
30 Jing X, Yang F, Shao C, Wei K, Xie M, Shen H, Shu Y. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. *Mol Cancer* 2019; 18: 157 [PMID: 31711497 DOI: 10.1186/s12943-019-1089-9]
31 Vaupel P, Thews O, Hoeckel M. Treatment resistance of solid tumors: role of hypoxia and anemia. *Med Oncol* 2001; 18: 243-259 [PMID: 11918451 DOI: 10.1385/MO:18:4:243]
32 Wang SL, Ma LL, Chen XY, Zhou DL, Li B, Huang DD, Yu Z, Shen X, Zhuang CL. Impact of visceral fat on surgical complications and long-term survival of patients with gastric cancer after radical gastrectomy. *Eur J Clin Nutr* 2018; 72: 436-445 [PMID: 29184135 DOI: 10.1038/s41430-017-0032-7]
33 Chen L, Yan Y, Zhu L, Cong X, Li S, Song S, Song H, Xue Y. Systemic immune-inflammation index as a useful prognostic indicator predicts survival in patients with advanced gastric cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Manag Res* 2017; 9: 849-867 [PMID: 29276407 DOI: 10.2147/CMAR.S151026]
34 Xue F, Lin F, Yin M, Feng N, Zhang X, Cui YG, Yi YP, Kong XY, Chen X, Liu WZ. Preoperative albumin/globulin ratio is a potential prognosis predicting biomarker in patients with resectable gastric cancer. *Turk J Gastroenterol* 2017; 28: 439-445 [PMID: 29086711 DOI: 10.5152/tjg.2017.17167]
35 Lee JW, Lee MS, Chung IK, Son MW, Cho YS, Lee SM. Clinical implication of FDG uptake of bone marrow on PET/CT in gastric cancer patients with surgical resection. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 2385-2395 [PMID: 28428718 DOI: 10.3748/wjg.v23.i13.2385]
36 Eo WK, Jeong DW, Chang HJ, Won KY, Choi SI, Kim SH, Chun SW, Oh YL, Lee TH, Kim YO, Kim KH, Ji YI, Kim A, Kim HY. Absolute monocyte and lymphocyte count prognostic score for patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 2668-2676 [PMID: 25759535 DOI: 10.3748/wjg.v21.i9.2668]
37 Rausei S, Ruspi L, Galli F, Tirotta F, Inversini D, Frattini F, Chiappa C, Rovera F, Boni L, Dionigi G, Dionigi R. Peri-operative blood transfusion in gastric cancer surgery: prognostic or confounding factor? *Int J Surg* 2013; 11 Suppl 1: S100-S103 [PMID: 24380538

DOI: 10.1016/S1743-9191(13)60027-8]
38 Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Yokoe T, Miki C, Kusunoki M. Prognostic significance of host- and tumor-related factors in patients with gastric cancer. *World J Surg* 2010; 34: 285-290 [PMID: 19997918 DOI: 10.1007/s00268-009-0302-1]
39 Rodgers GM, Gilreath JA. The Role of Intravenous Iron in the Treatment of Anemia Associated with Cancer and Chemotherapy. *Acta Haematol* 2019; 142: 13-20 [PMID: 30970366 DOI: 10.1159/000496967]
40 Li L, Zhu D, Chen X, Huang Y, Ouyang M, Zhang W. Perioperative Allogenenic Blood Transfusion is Associated With Worse Clinical Outcome for Patients Undergoing Gastric Carcinoma Surgery: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1574 [PMID: 26426632 DOI: 10.1097/MD.0000000000001574]
41 Nakanishi K, Kanda M, Kodera Y. Long-lasting discussion: Adverse effects of intraoperative blood loss and allogeneic transfusion on prognosis of patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 2743-2751 [PMID: 31235997 DOI: 10.3748/wjg.v25.i22.2743]
42 Storring PL, Tiplady RJ, Gaines Das RE, Stenning BE, Lamikanra A, Rafferty B, Lee J. Epoetin alfa and beta differ in their erythropoietin isoform compositions and biological properties. *Br J Haematol* 1998; 100: 79-89 [PMID: 9450795 DOI: 10.1046/j.1365-2141.1998.00521.x]
43 Tonia T, Mettler A, Robert N, Schwarzer G, Seidenfeld J, Weingart O, Hyde C, Engert A, Bohlius J. Erythropoietin or darbepoetin for patients with cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD003407 [PMID: 23235597 DOI: 10.1002/14651858.CD003407.pub5]
44 Wright JR, Ung YC, Julian JA, Pritchard KI, Whelan TJ, Smith C, Szechtman B, Roa W, Mulroy L, Rudinskas L, Gagnon B, Okawara GS, Levine MN. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of erythropoietin in non-small-cell lung cancer with disease-related anemia. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1027-1032 [PMID: 17312332 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.1514]
45 Henke M, Mattern D, Pepe M, Bézay C, Weissenberger C, Werner M, Pajonk F. Do erythropoietin receptors on cancer cells explain unexpected clinical findings? *J Clin Oncol* 2006; 24: 4708-4713 [PMID: 17028293 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.2737]
46 Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1011-1023 [PMID: 15758012 DOI: 10.1056/NEJMra041809]
47 Gafter-Gvili A, Rozen-Zvi B, Vidal L, Leibovici L, Vansteenkiste J, Gafter U, Shpilberg O. Intravenous iron supplementation for the treatment of chemotherapy-induced anaemia - systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Acta Oncol* 2013; 52: 18-29 [PMID: 22877242 DOI: 10.3109/0284186X.2012.702921]
48 Osorio J, Jericó C, Miranda C, Santamaría M, Artigau E, Galofré G, Garsot E, Luna A, Puértolas N, Aldeano A, Olona C, Molinas J, Feliu J, Videla S, Tebe C, Pera M. Improved postoperative outcomes and reduced transfusion rates after implementation of a Patient Blood Management program in gastric cancer surgery. *Eur J Surg Oncol* 2021; 47: 1449-1457 [PMID: 33267997 DOI: 10.1016/j.ejso.2020.11.129]
49 Beguin Y, Aapro M, Ludwig H, Mizzen L, Osterborg A. Epidemiological and nonclinical studies investigating effects of iron in carcinogenesis--a critical review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2014; 89: 1-15 [PMID: 24275533 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2013.10.008]
50 Wilson MJ, Harlaar JJ, Jeekel J, Schipperus M, Zwaginga JJ. Iron therapy as treatment of anemia: A potentially detrimental and hazardous strategy in colorectal cancer patients. *Med Hypotheses* 2018; 110: 110-113 [PMID: 29317052 DOI: 10.1016/j.mehy.2017.12.011]
51 Jaspers A, Baron F, Maertens J, De Prijck B, Schots R, Bonnet C, Hafraoui K, Willems É, Servais S, Fillet G, Beguin Y. Long-term safety follow-up of a randomized trial of darbepoetin alpha and intravenous iron following autologous hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol* 2015; 90: E133-E134 [PMID: 25802012 DOI: 10.1002/ajh.24013]
52 Abiri B, Vafa M. Iron Deficiency and Anemia in Cancer Patients: The Role of Iron Treatment in Anemic Cancer Patients. *Nutr Cancer* 2020; 72: 864-872 [PMID: 31474155 DOI: 10.1080/01635581.2019.1658794]
53 GBD 2017 Stomach Cancer Collaborators. The global, regional, and national burden of stomach cancer in 195 countries, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 42-54 [PMID: 31648970 DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30328-0]
54 Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. Global burden of gastric cancer attributable to Helicobacter pylori. *Int J Cancer* 2015; 136: 487-490 [PMID: 24889903 DOI: 10.1002/ijc.28999]
55 Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. *Epidemiol Rev* 1986; 8: 1-27 [PMID: 3533579 DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036288]
56 Lifshitz F, Lifshitz JZ. Globesity: the root causes of the obesity epidemic in the USA and now worldwide. *Pediatr Endocrinol Rev* 2014; 12: 17-34 [PMID: 25345082]
57 Jeong O, Park YK. Clinicopathological features and surgical treatment of gastric cancer in South Korea: the results of 2009 nationwide survey on surgically treated gastric cancer patients. *J Gastric Cancer* 2011; 11: 69-77 [PMID: 22076206 DOI: 10.5230/jgc.2011.11.2.69]
58 Wilson MJ, Dekker JW, Bruns E, Borstlap W, Jeekel J, Zwaginga JJ, Schipperus M. Short-term effect of preoperative intravenous iron therapy in colorectal cancer patients with anemia: results of a cohort study. *Transfusion* 2018; 58: 795-803 [PMID: 29250797 DOI: 10.1111/trf.14456]
59 Keding V, Zacharowski K, Bechstein WO, Meybohm P, Schnitzbauer AA. Patient Blood Management improves outcome in oncologic surgery. *World J Surg Oncol* 2018; 16: 159 [PMID: 30086770 DOI: 10.1186/s12957-018-1456-9]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 100-108

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.100

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

文献综述 REVIEW

菌–肠–脑轴与血脑屏障通透性的相关性研究进展

华嵘暄, 高 晗, 王博雅, 郭玥昕, 梁 宸, 高 磊, 尚宏伟, 徐敬东

华嵘暄, 首都医科大学临床医学专业 “5+3” 长学制 北京市 100069

高晗, 首都医科大学基础医学院生理学与病理生理学系北京市100069

王博雅, 北京大学医学部临床医学八年制 北京市 100083

郭玥昕, 首都医科大学口腔医学专业 “5+3” 长学制 北京市 100069

梁宸, 首都医科大学临床医学专业 北京市 100069

高磊, 首都医科大学生物医学工程学院生物医学信息学系 北京市 100069

尚宏伟, 首都医科大学基础医学院形态学实验中心 北京市 100069

徐敬东, 首都医科大学基础医学院生理学与病理生理学系 北京市 100069

华嵘暄, 首都医科大学临床医学 “5+3一体化” 专业学生, 研究方向为消化生理学与临床医学.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No.82174056和No.81673671; 国家重点研发计划 “重大慢性非传染性疾病防控研究” 重点专项课题, No.2016YFC1306305.

作者贡献分布: 本文综述由华嵘暄和徐敬东完成; 图片由华嵘暄、王博雅和郭玥昕绘制; 高晗、梁宸、高磊和尚宏伟负责部分文献搜集与整理; 徐敬东审校.

通讯作者: 徐敬东, 副教授, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条10号, 首都医科大学生理学与病理生理学系. xujingdong@163.com

收稿日期: 2021–09–03
修回日期: 2021–10–19
接受日期: 2022–01–12
在线出版日期: 2022–01–28

Insights into correlation between intestinal flora-gut-brain axis and blood-brain barrier permeability

Rong-Xuan Hua, Han Gao, Bo-Ya Wang, Yue-Xin Guo, Chen Liang, Lei Gao, Hong-Wei Shang, Jing-Dong Xu

Rong-Xuan Hua, Clinical Medicine “5+3” Program, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Han Gao, Jing-Dong Xu, Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Bo-Ya Wang, Clinical Medicine Program, Peking University Health Science Center, Beijing 100081, China

Yue-Xin Guo, Oral Medicine “5+3” Program, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Chen Liang, Clinical Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Lei Gao, Department of Biomedical Informatics, School of Biomedical Engineering, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Hong-Wei Shang, Morphological Experiment Center, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 821714056 and No. 81673671; National Key Research and Development Plan “Major Chronic Non-communicable Disease Prevention and Control Research” Key Special Project, No. 2016YFC1306305.

Corresponding author: Jing-Dong Xu, Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, No. 10 Youanmenwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. xujingdong@163.com

Received: 2021-09-03
Revised: 2021-10-19
Accepted: 2022-01-12
Published online: 2022-01-28

Abstract

A wide variety of gut microbes has a non-negligible physiological and pathological impact on the host. Studies show that gut microbes can influence the function of the central nervous system by synthesizing and releasing several key neurotransmitters and neuroregulatory factors. Decreasing the integrity of the blood-brain barrier is related to the disorder of gut microbes, and maintaining the homeostasis of gut microbes is of great significance in preventing and treating neurodegenerative diseases. This

review summarizes the possible mechanism of the intestine flora-gut-brain axis as a signaling pathway and presents several ideas and potential directions for regulating gut microbes to achieve the purpose of disease treatment.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestine flora-gut-brain axis; Blood-brain barrier; Neurodegeneration disease; Gastrointestinal microbiome; Mucosal barrier; Alzheimer's disease

Citation: Hua RX, Gao H, Wang BY, Guo YX, Liang C, Gao L, Shang HW, Xu JD. Insights into correlation between intestinal flora-gut-brain axis and blood-brain barrier permeability. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 100-108
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/100.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.100

摘要

肠道内数量庞大的菌群对宿主的生理病理功能有着不可忽视的影响. 研究显示肠道菌群能够通过合成和释放一些重要的神经递质及调节因子来影响中枢神经系统的功能, 肠道菌群的紊乱与血脑屏障完整性降低有关. 肠道菌群的稳态在预防与治疗神经退行性疾病中有重要意义. 本文拟综述血脑屏障完整性与菌-肠-脑轴相关性的最新进展, 为从肠道出发治疗神经系统疾病提供新的方向.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 菌-肠-脑轴; 血脑屏障; 神经退行性疾病; 肠道微生物; 粘膜屏障; 阿尔兹海默

核心提要: 肠道菌群作为机体重要的调控参与者, 其改变引起血脑屏障完整性与通透性的改变, 进而成为影响脑神经元功能的使动因素. 同时肠道菌群也成为治疗中枢神经系统疾病的一个新靶点.

文献来源: 华嵘暄, 高睿, 王博雅, 郭玥昕, 梁宸, 高磊, 尚宏伟, 徐敬东. 菌-肠-脑轴与血脑屏障通透性的相关性研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 100-108
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/100.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.100

0 引言

随着研究技术的不断完善, 大脑不再被认为是一个独立存在的器官而单独履行其功能. 越来越多的研究表明, 中枢神经系统(central nervous system, CNS)有许多的外周调节途径, 其中肠道是日益关注的焦点, 肠道菌群对宿主的生理和心理健康特别是对大脑发育过程的影响引起了人们广泛兴趣. 肠道菌群影响中枢和外周神经胶质细胞的发育, 调节其在整个生命过程中的稳态[1]. 肠道微生物对肠神经胶质细胞的发育、迁移和分化至关重要, 并参与粘膜免疫反应, 并维持肠道上皮屏障功能. 而病理状态下肠道菌群多样性降低, 有益菌群减少, 致病菌增加[2], 可导致肠上皮细胞间紧密连接(tight junction, TJ)减弱, 屏障作用降低, 肠道微生物发生移位, 引起组织的慢性炎性病理变化. 近年来有研究结果令人倍感兴奋: 在使用肠道菌群移植后阿尔兹海默(alzheimer's disease, AD)、帕金森病(parkinson's disease, PD)等神经功能障碍有所缓解[3,4], 推测肠道菌群对脑功能的调节作用可能与血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)相联系, 而神经退行性疾病的发生也与之相关. 本文由肠道菌群出发, 阐述菌-肠-脑轴与BBB完整性相关性的最新进展, 以期从肠道出发, 为预防和治疗神经系统疾病提供新的方向.

1 肠道菌群

肠道菌群与宿主长期互惠共生, 其数量级与人类全身细胞总数相当[5], 超过10^{14}个, 其中绝大部分位于回肠末端与结肠[6]. 肠道内微生物数量如此之庞大, 其代谢等功能对宿主的影响不容小觑, 目前已经证实, 乳酸菌和双歧杆菌有利于肠道屏障功能的维持, 而梭状芽孢杆菌过度增殖可能打破免疫稳态致使通透性增加, 造成炎性肠病等异常[7].

肠道菌群及其代谢物的作用不止于此, 动物实验证实肠道菌群与脑之间存在一定功能上的联系, 给无菌小鼠移植微生物后BBB通透性降低, 与之相反肠道微生物的缺失会导致BBB通透性增加, 出现TJ蛋白occludin, claudin-5明显减少[8]. 特别是长期服用抗生素的小鼠肠道微生物数量和多样性降低, 动物可出现认知功能障碍、海马神经损伤以及记忆力下降; 而服用益生菌的作用则与之相反[9]. 这些结果提示肠道菌群的稳态与脑功能联系密切. 随着脑-肠之间相关性研究的深入, 着眼肠道菌群以解决中枢神经系统问题已成为当今研究热点.

2 BBB通透性改变

20世纪初, 研究人员发现动物接受静脉注射苯丙胺后, 其余器官均有苯丙胺分布, 唯独脑组织例外-这不由让人想到有某种屏障的存在影响这种物质的扩散. 随后研究证实在脑部毛细血管和神经胶质细胞间存在BBB. 众所周知, BBB是循环系统和中枢神经系统之间重要的"活跃接口"[10], 对营养物质的运输和代谢物的清除具有调控作用, 同时兼备对潜在有毒、有害物质的滤过作用, 以维持CNS的稳态. 因此, BBB的通透性增加被视为神经元损伤、脑内环境稳态失衡、神经退行性疾病发生的

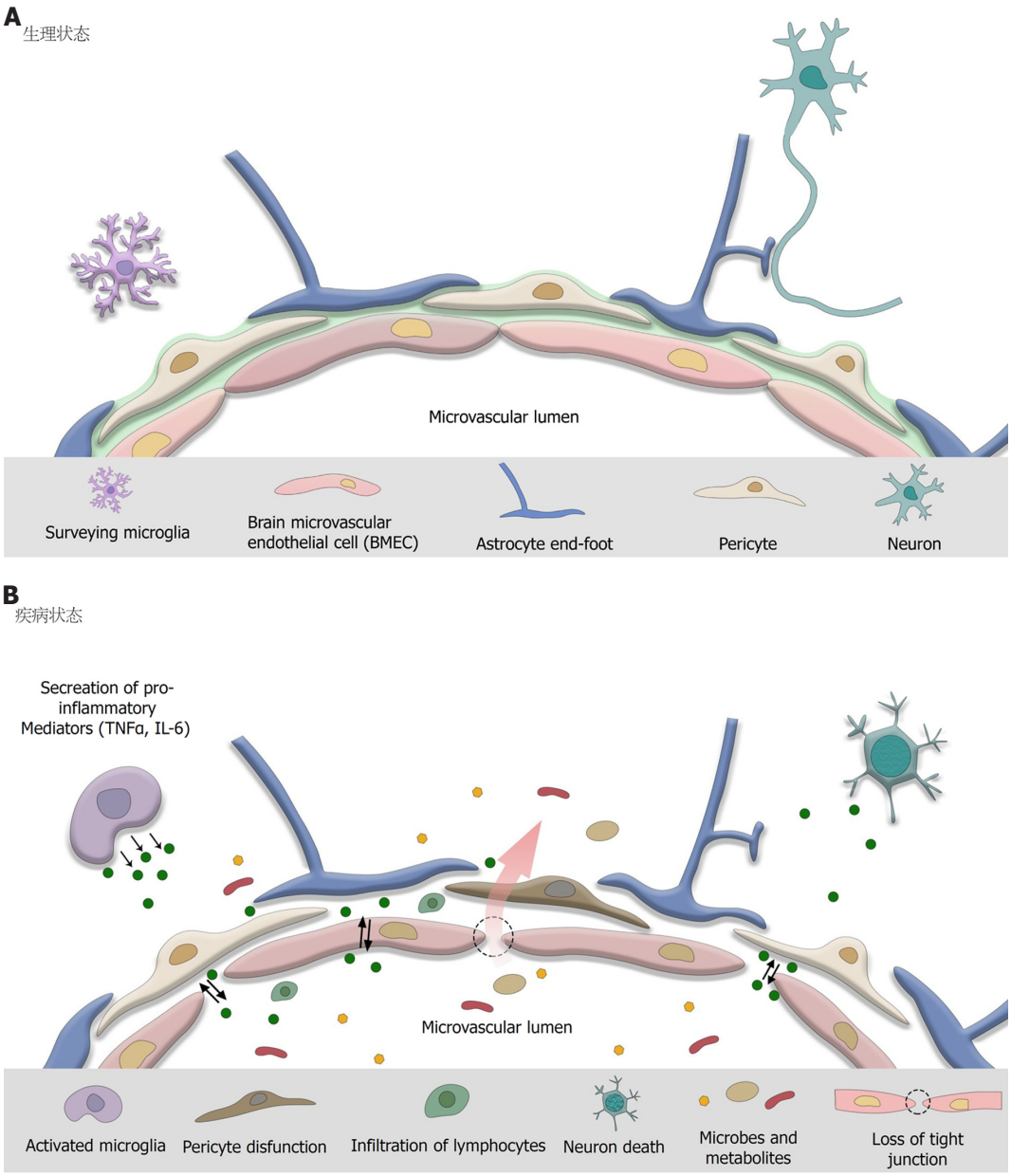


图 1　血脑屏障构成方式改变模式图. A: BBB的神经血管内皮单元由BMEC、周细胞、星形胶质细胞以及小胶质细胞等构成; B: 当创伤和感染时, BMEC间紧密连接的破坏引起BBB通透性增加, 免疫细胞以及小胶质细胞释放TNFα, IL-6, BBB渗透性增加, 导致细胞外基质缺失以及神经元死亡. Surveying microglia: 未激活的小胶质细胞; Brain microvascular endothelial cell, BMEC: 脑微血管内皮细胞; Astrocyte end-foot: 星形胶质细胞末梢足突; Pericyte: 周细胞; Neuron: 神经元; Microvascular lumen: 微血管腔隙; Activated microgila: 激活的小胶质细胞; Pericyte disfunction: 周细胞功能丧失; Infiltration of lymphocytes: 淋巴细胞的浸润; Neuron death: 神经元死亡; Microbes and metabolites: 微生物及其代谢产物; Loss of tight junction: 紧密连接的丧失; Secretion of pro-inflammatory mediators: 促炎因子的释放; BBB: 血脑屏障; IL-6: 白细胞介素-6.

重要原因.

BBB的构成并不简单(如图1), 包括脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMECs)、周细胞、星形胶质细胞终足、小胶质细胞和细胞外基质等[10]. BMECs间TJ由三类蛋白(由claudins、occludins和连接黏附分子组成的跨膜蛋白; 胞质附着蛋白zonulae occludens 1-3; 以及细胞骨架蛋白)有序排列组成[11], 限制一些大分子物质及细菌透过, 以保持脑内部的内环境稳态[12]. 周细胞环绕在BMECs外, 能够起到控制毛细血管管径, 调节胞吞、免疫细胞运输的作用. 小胶质细胞作为BBB建立过程中的重要细胞, 是CNS的“第一道防线”, 分泌血管生长素, 促进脑血管生成[1], 同时又能通过CX3CR1、CD11b/c和CD45的抗原标记判定脑实质中血源性物质和潜在炎症刺激[13]. 有研究表明[1], 当胚胎期血管发生完成后, 去除小胶质细胞不会导致BBB功能的改变, 提示小胶质细胞对BBB的维持并非必要. 如图1A所示, 星形胶质细胞的终足包绕在周细胞与内皮细胞外, 作为“第二道物理屏障”选择性地阻挡微生物、大

分子化合物等物质的通过. 神经元借助星形胶质细胞与BMECs形成内皮-神经元的联系, 能够传导神经信号, 调节局部血流量, 对于维持大脑内血流的稳定发挥重要的调节作用. 为了完成通过血浆进入CNS的物质的滤过, 机体可谓“煞费苦心”.

诚然BBB的生理结构也是“双刃剑”, 精细的生理结构也让BBB的病理改变难以修复. 如图1B所示, 创伤及感染导致小胶质细胞由静息时的高度分支状变为肾形或杆状的活化形式并释放促炎因子[14]. 这使BBB通透性增加, 引起血源性免疫细胞、细胞因子、菌群代谢物的渗透, 这又会引起慢性颅内炎症[15], 其与BBB的受损通常相伴发生, 很难分清因果关系. 紧密连接的减少、BMECs的破坏、星形胶质细胞与小胶质细胞的活化、外周免疫细胞渗透皆可使BBB完整性降低[16].

3 神经退行性疾病源起BBB通透性改变

肠道生态系统由庞大的细菌数量形成稳定的生态圈, 其代谢产物将信号可传递远端器官, 因此肠道菌群与免疫系统、激素、大脑、宿主代谢等功能都有相关性. 最新的研究表明[2,5], 肠道菌群与肥胖、炎症性疾病、神经系统发育障碍等疾病相关. 目前, 肠道菌群紊乱与神经退行性疾病的发生、发展相关性研究已经引起了广泛的关注.

神经退行性疾病是造成老年人残疾, 生活障碍与运动障碍的主要因素之一, 给社会和家庭带来巨大的压力. 如AD、PD、血管性痴呆、路易体痴呆、额颞叶痴呆等[17]. 生理状态下BBB具有选择性屏障的作用, 外周T细胞不能进入脑实质; 但在AD患者脑实质中出现中性粒细胞以及$CD4^+$ T细胞亚群中的Th1和Th17细胞的浸润[18,19]. Th17细胞分泌促炎因子白细胞介素(interleukin, IL)-17、IL-21和IL-22与神经元上受体结合, 诱导其凋亡[18], 这是CNS疾病的特点之一. 可见, 相伴而生的BBB功能的下降与颅内炎症直接对神经退行性疾病具有一定的相关性. 因此, 保护并重建BBB完整性, 避免淋巴细胞的浸润、血管内皮炎症的出现势必在预防与治疗AD及其他神经退行性疾病中尤为关键[17].

除BBB完整性对神经退行性疾病有相关影响外, 近年来对α突触核蛋白(α synuclein, α-Syn)的研究也成为热点. α-Syn由140个氨基酸组成小分子蛋白质, 由于PD患者的α-Syn的突变可破坏α-Syn螺旋结构, 使之形成β-折叠进而聚集并产生具有神经毒性作用的纤维丝样蛋白聚集体, 最终导致PD的发生. 有研究证实α-Syn参与突触小泡运输调节与控制内质网稳态[20]. 值得注意的是单体或聚集的α-Syn能在细胞之间迁移或通过BBB, 加速神经病理状态的发展[21]. 尽管目前对其确切功能尚不清楚, 但有证据表明α-Syn是多巴胺释放和突触小泡循环所必需的. 在人回盲部也发现病理相关的α-Syn, 此处有大量菌群聚集, 推断可能是病理α-Syn产生的源头[22]. 在小鼠模型中发现了PD方面与胃肠中致病性α-Syn产生并积累的相关性. α-Syn以跨突触传递方式, 从肠道神经元传递到迷走神经, 通过轴腔逆向运输的方式沿迷走神经上行至延髓及脑桥被盖, 此处正是PD发病第一、二阶段的病理区域[23]. 然而研究提示, 迷走神经并不是PD发生发展的必要条件, 啮齿类动物实验中切断迷走神经, 虽能延缓但不能阻断PD发病[24]. 在脊髓损伤或缺血后α-syn水平增加, 并导致神经退行性疾病发展, 小胶质细胞的迁移与活化在其中有重要作用, 但α-syn是否调节以及如何调节小胶质细胞还未知晓[20]. 基于此, 研究肠道微生物-肠内分泌细胞-肠神经元-肠道免疫系统之间的相互作用, 对于探索肠道与CNS的相互作用具有重要的意义.

4 菌-肠-脑轴影响BBB通透性

从原来的无人问津到如今如火如荼, 肠-脑轴已经成为目前神经科学不可回避的热门话题. 在过去的十年里, 大量的研究发现, 肠道中数以万亿计的细菌可能会对大脑产生深远的影响, 并可能与一系列疾病有关. 菌-肠-脑轴(intestine flora-gut-brain axis)是连接肠道微生物群与中枢神经系统的双向信号通路.

4.1 肠粘液屏障作为菌-肠-脑轴起点

肠道通过机械屏障和免疫屏障抑制微生物及代谢物与肠上皮的直接接触. 肠腔内有粘液分泌, 并伴随免疫球蛋白及抗菌肽的释放[2], 共同构成屏障被形象地称为粘膜“防火墙”, 保护机体以避免致病菌的攻击.

肠上皮覆盖之粘液主要由高度糖基化的蛋白质组成, 主要是杯状细胞分泌的粘蛋白2(mucin2, MUC2), 糖基化的MUC2能够保护蛋白质免受微生物蛋白酶的降解[2]. 小肠的粘液层相对结肠较弱, 但其丰富的潘氏细胞中含有大量抗菌分子[25]. 当受到肠道菌群刺激后, 潘氏细胞分泌α-defense限制其繁殖; 而ILC3淋巴细胞通过释放IL-22促进抗菌肽(antimicrobial peptide, AMP)的合成, AMP跨细胞进入肠道, 防止产碱菌的生成; 诱导岩藻糖基转移酶的合成, 使得上皮聚糖的岩藻糖基化, 从而抑制肠道菌群[2,26]. 此外, 肠道粘膜下的浆细胞分泌免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA), 参与肠道生物屏障的构成, IgA进入肠腔后与细菌或其表面抗原结合, 抑制微生物靠近肠上皮细胞. 共生细菌也能诱导同源性免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)反应. IgG抗体可通过识别高度保守的蛋白质以识别并结合多个菌群以限制病原微生物的增长[2].

肠道粘膜“防火墙”完整性的破坏意味炎症和疾

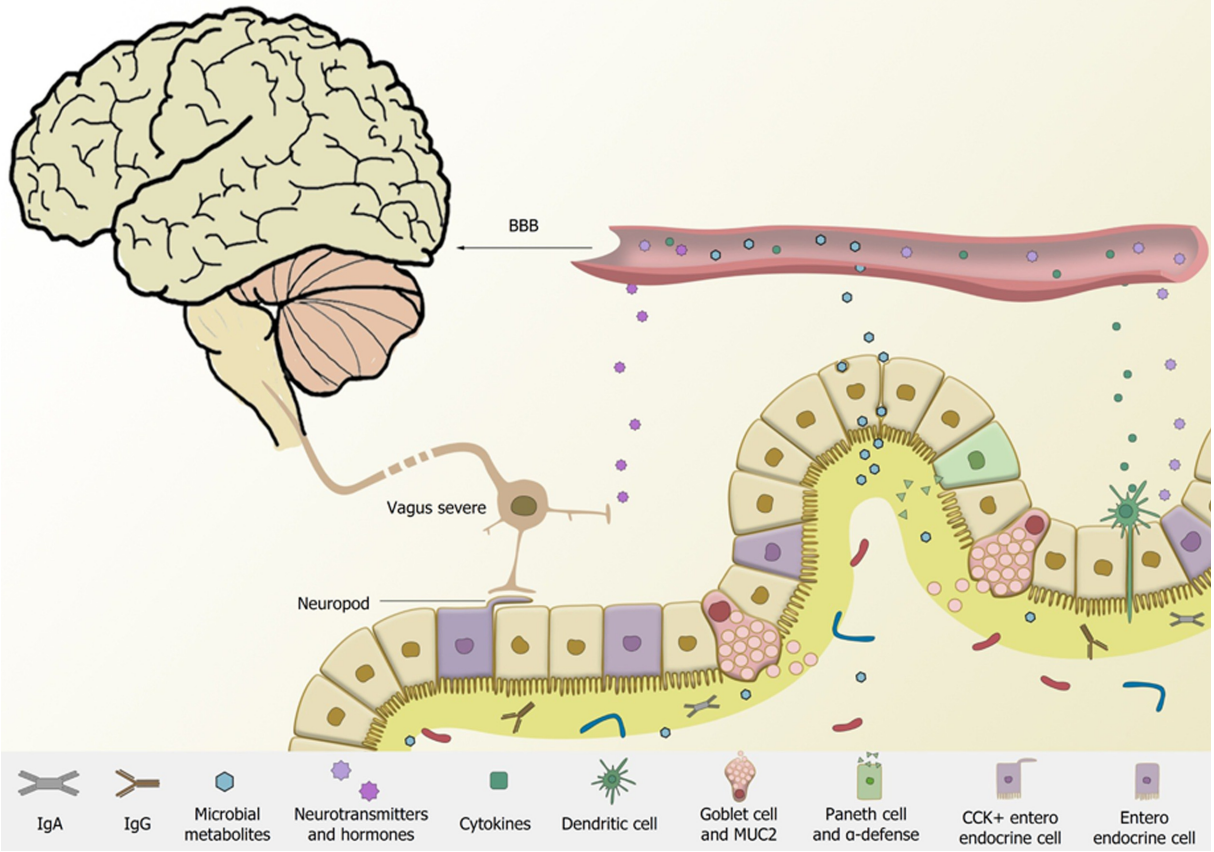


图 2　菌-肠-脑轴交互调节模式图. 肠道微生物代谢产物通过借助循环系统将细菌代谢物运输到BBB传递信息, 或诱导神经递质的产生或直接以代谢物作为神经递质影响中枢神经系统; 通过肠内在神经系统和外来神经系统网络结构进行双向信号传导; 多种途径共同作用, 以复杂关系、跨系统的方式构建菌-肠-脑轴双向通路. Neurotransmitters and hormones: 神经递质与激素; Cytokines: 细胞因子; Dendritic cell: 树突状细胞; Paneth cell and MUC2: 杯状细胞细胞和MUC2; Paneth cell and α-defense: 潘氏细胞和α-防御素; Entero endocrine cell: 肠内分泌细胞; vagus nerve: 迷走神经; BBB: 血脑屏障; IgA: 免疫球蛋白A; IgG: 免疫球蛋白G.

病的发生, 上述的多种防御机制互相维持平衡, 每个环节完整性对肠道菌群微环境的稳态起着重要作用.

4.2 菌-肠-脑轴影响BBB的三种路径 菌-肠-脑轴可通过三种特别重要的方式作用于BBB[27], 如图2所示. 首先可以直接通过神经元将信号传递给大脑的神经网络. 肠道上皮的肠内分泌细胞表面会表达短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)的G蛋白偶联受体, SCFA通过后者刺激肠内分泌细胞释放神经肽, 将信号通过支配肠道的肠神经元及迷走神经传导至脑干[17]. 随着年龄增长, 肠道处的巨噬细胞(Mϕ)因子增加导致肠神经元对炎症信号的反应变化, 肠道神经元的凋亡增加[28]. 这会造成肠-脑沟通能力受损, 影响肠道功能. 菌群代谢物可调节免疫细胞因子的释放, 充当神经递质.

其次, 通过血液循环将分泌出的细胞因子与免疫信号分子运输到达BBB[17]. 肠内分泌细胞检测到菌群代谢物后, 释放激素并伴随饮食代谢物与神经递质通过血液运输至BBB[29]. BBB上的特定受体能够允许营养物和一些调节性因子通过BBB直接进入到脑组织中[30]. 衰老、损伤、感染等引发的上皮屏障被破坏可以导致细菌及其代谢物的渗透, 触发炎症免疫反应, 且有可能引起肠神经元死亡[31]. 如果肠道炎症持续存在, 会致使血清中TNF、IL-6、IL-1β等因子升高, 引发全身性的炎症反应, 破坏BBB[17]. 脑部炎症会促进免疫细胞外渗, 激活小胶质细胞, 促进炎症信号的传递, 形成恶性循环[32]. 因此, 在神经退行性疾病发病早期, 体内可能存在微生物与免疫细胞相互影响, 肠上皮屏障受损与细菌感染, 并通过影响肠脑细胞因子和免疫细胞运输而促进疾病发展.

第三, 代谢物激活的免疫细胞可通过血流在BBB处释放可溶性因子, 从而影响其完整性并改变脑细胞的炎症状态. TNFα可上调BBB处与脑中的黏附因子等, 促进Mϕ和白细胞向脑外部渗透, 下调紧密连接破坏BBB完整性[17].

此外, 近期研究还发现肠上皮细胞和神经元之间存在一种直接联系“neuropod”, 这是一类特化的肠内分泌细胞, 与肠道周围神经元形成突触释放谷氨酸作为神经递质从而快速传递肠道与微生物的化学信号[29]. 这种途

径能更直接更有效地响应肠道菌群代谢物的产生. 深入研究发现, 肠内分泌细胞并不只分泌一种信号分子, 而是利用不同的分泌小泡来储存丰富的信号分子[29]. 这些分子在不同的排列组合下传递不同信息, 如营养价值、机械膨胀、渗透性、pH或温度等[33]. 因此通过“neuropod”肠上皮细胞能轻松与迷走神经进行信息传递, 进而构成肠-脑通路. 如, 在小鼠模型中葡萄糖刺激cck^{+}肠内分泌细胞可通过谷氨酸神经传递激活迷走神经结节神经元[29], 这些研究中的信号通路对菌-肠-脑信息交流的积极作用令人欣喜.

肠-脑双向通路, 影响饱腹信号和食欲调节, 以及记忆、学习、情绪等功能[27], 并且与CNS疾病发生密切相关.

5 肠道菌群及代谢产物影响BBB

正如前面所说BBB与CNS之间存在功能上的联系, 诠释肠道菌群及其代谢产物通过直接或间接的方式调节BBB通透性影响CNS神经元的功能. 使用健康小鼠的肠道菌群移植到无菌小鼠体内会使之BBB完整性和TJ蛋白表达量上调[34], 提示肠道菌群具有调节BBB的潜在作用. 肠道菌群的主要代谢产物SCFA和维生素在宿主体内具有信号传导功能, 能够通过循环系统到达BBB, 对BBB完整性以及CNS功能等具有调节作用.

5.1 短链脂肪酸与BBB的关系 SCFA是肠道菌群重要的代谢产物之一, 是含1-6个碳原子的有机酸, 包含乙酸、丙酸、丁酸、乳酸、异丁酸等, 90%的SCFA是由肠道菌群发酵膳食纤维的终产物. 有95%被结肠粘膜吸收, 仅有少部分能进入到循环系统中[35]. 它们为微生物提供能量与碳元素, 也能促进肠道蠕动和水盐吸收, 提供饱腹感[35]. 作为信号分子在调节宿主代谢免疫系统和细胞增殖方面具有关键作用.

SCFA不仅对宿主消化系统有作用, 还可作用到单核巨噬细胞、淋巴细胞等免疫细胞通过影响炎症因子的释放, 细胞趋化反应, 抑制免疫效应等细胞增殖等参与肠道内的免疫调节在肠道抵御致病菌中起重要的作用. 在GPR43$^{-/-}$的小鼠表现为免疫屏障功能缺陷, 肠上皮受损并出现全身性炎症[36], 无菌小鼠在口服丁酸盐后, BBB的TJ蛋白上调, 通透性降低[8]. 给颅外伤模型小鼠丁酸梭菌灌胃后BBB的通透性降低、TJ蛋白水平上调、认知功能障碍得到改善[37]; 体外培养的BMECs在表达丙酸盐受体后, 可下调脂多糖受体CD14相关mRNA表达, 抑制低密度脂蛋白受体相关蛋白-1的表达[38]. 这保护BBB免受氧化应激, 减轻炎症反应, 降低了BBB的渗透性, 保护了BMECs[38]. 此外, SCFA能通过BBB激活小胶质细胞上由外周免疫细胞表达的游离脂肪酸受体2/3(FFAR2/3), 发挥抗炎作用阻断小胶质细胞与促炎因子间的正反馈调节作用, 保护神经元及神经胶质细胞免受炎症损害[39].

当然, SCFA对宿主的作用具有多样性. 实验研究证实自闭症小鼠模型中较高比例的丙酸盐可导致症状加剧, 补充丁酸盐后症状缓解[40]. 由此观之, SCFA对神经系统的影响不是靠单一因素决定的, SCFA构成比例在发挥作用时需要特别关注[17]. 由此可见, 无论是在预防还是治疗中, SCFA的平衡对BBB的作用是显而易见的, 其主要通过上调紧密连接蛋白、减轻神经炎症、调节受干扰的小胶质细胞功能三方面发挥作用. 就现有证据来看, SCFA可以缓解由于中枢神经元功能受损引起的功能障碍, 但如何配置SCFA间的最佳比例有待进一步研究.

5.2 维生素与BBB完整性的关系 维生素(vitamin, Vit)是维持人体生理功能不可缺少的营养素, 是物质代谢中起重要调节作用的许多酶的组成成分, Vit是人体必需从饮食肠道菌群中获得的物质, 虽然该物质在体内既不是构成身体组织的原料, 也不作能量来源, 但是具有抗氧化、基因调控和辅助因子的重要作用. 肠道菌群产生的维生素主要在结肠被吸收, 而从食物中直接获得的维生素则是在小肠被吸收[41]. 其中, 细菌来源的Vit K_2(menaquinone-7, MK-7), 作为γ-谷氨酰羧化酶辅助因子, 可催化谷氨酸残基羧化为Vit K依赖性蛋白中的γ-羧基谷氨酸残基, 这是蛋白激活的关键步骤[42]; Vit B是另一可由肠道菌群为人类提供的必须营养素, 研究表明256种常见肠道细菌的基因组中包含了全部8种Vit B的合成途径[43]. 肠道菌群与维生素代谢产物的对应关系见表1.

肠道菌群代谢产生的维生素对宿主有重要影响. MK-7的生成有助于提供抗氧化活性并保护细胞膜免受脂质过氧化作用[44]. VitK_7具有免疫调节作用, 调节人巨噬细胞中TNF-α、IL-1α和IL-1β等细胞因子表达从而影响到BBB和小胶质细胞的活性[44],而这些改变很可能有助于降低AD、PD发病. 此外抗凝剂华法林(VitK拮抗剂)的过度使用造成数百万患者如心房颤动、深静脉血栓形成、肺栓塞等血栓症状[45]. 与AD发病相关的因素之一载脂蛋白E4(APOE4)等位基因, 其携带着普遍血液中Vit K水平较低, 并且脑容量明显小于其他APOE基因型[46]. 由此推断Vit K可能与脑损伤创伤修补有关[46]. Vit K还通过减缓α-syn原纤维化, 从而生成短的原纤维和无定形聚集体, 它们不易产生合成囊泡渗漏, 这一过程可抑制PD发病[47]. 有研究表明在饮食中增加摄入Vit K可以减轻老年人的记忆衰退[48]. 肠道菌群的建立伴随着Vit B族合成量趋于稳定, 而缺乏Vit B导致多发性神经病、神经性脚气

表 1 肠道菌群源性的维生素的功能关系

维生素类别	维生素K(Vit K)	维生素B_2(Vit B_2)	维生素B_9(Vit B_9)	维生素B_{12}(Vit B_{12})
产生菌群[17]	大肠杆菌; 克雷伯氏杆菌; 丙酸杆菌属	枯草杆菌; 大肠杆菌	双歧杆菌 乳酸乳球菌 噬热链球菌	罗伊乳杆菌; 费氏丙酸杆菌
缺乏导致的异常	AD、PD、血栓[44, 45]	认知功能减退、神经管缺陷、抑郁、AD[46,47]		

Vit: 维生素; AD: 阿尔兹海默; PD: 帕金森病.

病等[49]. Vit B_9(叶酸)和神经管的形成相关, 缺乏会导致认知障碍. 叶酸甲酯是为数不多被认可对抗抑郁的药物之一[17]. Vit B_9和Vit B_6、B_{12}等可以缓解AD认知下降相关区域的大脑萎缩[50]. 因此, 作为肠道菌群一大产物的维生素与脑部健康的关联性已得到证实.

总之, 这些肠道菌群代谢产物能够以多种方式调节宿主生理功能, 除影响BBB外还可直接作用于肠上皮屏障, 未来的维生素研究对于认识维生素的调控及其如何有助于预防和治疗神经系统疾病而言至关重要.

6 调控肠道菌群作为预防和治疗神经退行性疾病的潜在价值

正如本文所述肠道菌群及其代谢产物对BBB的影响及影响方式, 以及脑神经和胃肠道之间的复杂的网络联系以菌-肠-脑轴的起点, 在神经退行性疾病的预防与治疗中很可能作为潜在的有效切入点.

6.1 益生菌促进肠道微环境稳态 益生菌是适当添加或天然存在于食品中的有益微生物. 常见益生菌包括双歧杆菌、乳杆菌、乳球菌、肠球菌、链球菌等[17]. 早在20世纪初人们就发现了乳酸杆菌可缓解抑郁症, 由此产生了“精神益生菌”这一名词, 用来表示益生菌在有关脑与心理疾病中的积极作用[51]. 随着对神经退行性疾病的深入了解, 大量证据支持益生菌在AD、PD等神经退行性疾病中的有益作用. 实验表明[52], 为PD患者提供双歧杆菌与乳酸杆菌混合物后, 可见患者运动功能得到改善. 而在AD模型小鼠中施用双歧杆菌与乳酸杆菌混合物, 可明显改善学习记忆能力, 下调氧化应激反应, 减少大脑中组织病理学标记, 恢复神经元细胞蛋白水解能力[53].

益生菌可通过调节GABA与谷氨酸释放, 协调控制神经元兴奋和抑制平衡; 促进脑源性神经生长因子的释放; 同时参与促炎和抗炎因子的调节, 缓解炎症导致的BBB通透性增加, 防止潜在有害物质进入大脑[54]. 由此观之, 益生菌缓解AD、PD等疾病的证据, 为其在疾病缓解与治疗中提供了理论支持.

6.2 通过粪便微生物菌群移植改善肠道微环境 粪便微生物群移植(fecal microbiota transplantation, FMT)是指将健康肠道中含有肠道菌群的粪便通过灌肠、鼻饲、内窥镜等方法移植到患有相关病症的受体中, 从而改善其肠道环境以起到治疗疾病的作用. 因此, FMT被用于改善宿主行为的研究. 有研究发现GFBALB/c小鼠中利用FMT定殖了来自NIH Swiss小鼠菌株肠道内的微生物, 定殖后的BALB/c小鼠海马中脑源性神经生长因子水平升高, 其探索行为增加[34]; 相反, 用BALB/c小鼠肠道微生物菌群定植无菌NIH Swiss小鼠会表现出更多的胆怯[34]. 利用FMT将正常小鼠的粪便微生物群移植至PD模型小鼠后, 表现出较明显的神经保护作用, TNF驱动的神经炎症减少, 且脑中多巴胺和血清素的水平增加, 从而使得运动状况得以改善[4]. 因此, FMT在神经退行性疾病治疗中值得被进一步关注.

7 结论

肠-脑轴是将大脑和肠道功能整合的双向信息交流系统, 肠道微生物参与肠-脑轴的功能反应, 在肠道与大脑的信息交流中发挥着非常重要的作用, 肠道菌群与神经退行性疾病有相关性, 且定植特定菌群或将健康机体内微生物群落移植等方法直接促进了这类疾病的缓解. 越来越多的证据令人信服, 并在基于微生物的疗法中看到了巨大的潜力. 因此, 菌－肠－脑通路及其中涉及的相关分子可能作为潜在治疗或预防神经退行性疾病的靶点.

8 问题与展望

尽管目前越来越多的研究证实菌-肠-脑轴影响BBB通透性进而影响CNS, 但距离改善神经退行性变为首的影响众多老年人健康的疾病的目标, 还有许多研究工作. 如何将已有的分子水平及动物水平的研究推广到患者身上, 如何把握“通过饮食调节脑部功能”这条捷径并制定临床可行的防治方案, 如何从多处靶点找到干预疾病发展的通路或药物, 这些都是目前研究者们应当重点关注的方面. 期待有老年杀手之称的神经退行性疾病之僵局能够从菌-肠-脑通路获益.

9 参考文献

1 Liebner S, Dijkhuizen RM, Reiss Y, Plate KH, Agalliu D, Constantin G. Functional morphology of the blood-brain barrier

in health and disease. *Acta Neuropathol* 2018; 135: 311-336 [PMID: 29411111 DOI: 10.1007/s00401-018-1815-1]
2 Caruso R, Lo BC, Núñez G. Host-microbiota interactions in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 411-426 [PMID: 32005980 DOI: 10.1038/s41577-019-0268-7]
3 Athari Nik Azm S, Djazayeri A, Safa M, Azami K, Ahmadvand B, Sabbaghziarani F, Sharifzadeh M, Vafa M. Lactobacilli and bifidobacteria ameliorate memory and learning deficits and oxidative stress in β-amyloid (1-42) injected rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2018; 43: 718-726 [PMID: 29462572 DOI: 10.1139/apnm-2017-0648]
4 Sun MF, Zhu YL, Zhou ZL, Jia XB, Xu YD, Yang Q, Cui C, Shen YQ. Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on MPTP-induced Parkinson's disease mice: Gut microbiota, glial reaction and TLR4/TNF-α signaling pathway. *Brain Behav Immun* 2018; 70: 48-60 [PMID: 29471030 DOI: 10.1016/j.bbi.2018.02.005]
5 Chen Z, Maqbool J, Sajid F, Hussain G, Sun T. Human gut microbiota and its association with pathogenesis and treatments of neurodegenerative diseases. *Microb Pathog* 2021; 150: 104675 [PMID: 33352217 DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104675]
6 Paris D, Ganey NJ, Laporte V, Patel NS, Beaulieu-Abdelahad D, Bachmeier C, March A, Ait-Ghezala G, Mullan MJ. Reduction of beta-amyloid pathology by celastrol in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2010; 7: 17 [PMID: 20211007 DOI: 10.1186/1742-2094-7-17]
7 Nash V, Ranadheera CS, Georgousopoulou EN, Mellor DD, Panagiotakos DB, McKune AJ, Kellett J, Naumovski N. The effects of grape and red wine polyphenols on gut microbiota - A systematic review. *Food Res Int* 2018; 113: 277-287 [PMID: 30195522 DOI: 10.1016/j.foodres.2018.07.019]
8 Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, Korecka A, Bakocevic N, Ng LG, Kundu P, Gulyás B, Halldin C, Hultenby K, Nilsson H, Hebert H, Volpe BT, Diamond B, Pettersson S. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med* 2014; 6: 263ra158 [PMID: 25411471 DOI: 10.1126/scitranslmed.3009759]
9 Fröhlich EE, Farzi A, Mayerhofer R, Reichmann F, Jačan A, Wagner B, Zinser E, Bordag N, Magnes C, Fröhlich E, Kashofer K, Gorkiewicz G, Holzer P. Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain Behav Immun* 2016; 56: 140-155 [PMID: 26923630 DOI: 10.1016/j.bbi.2016.02.020]
10 Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 173-185 [PMID: 15914466 DOI: 10.1124/pr.57.2.4]
11 Ugalde-Silva P, Gonzalez-Lugo O, Navarro-Garcia F. Tight Junction Disruption Induced by Type 3 Secretion System Effectors Injected by Enteropathogenic and Enterohemorrhagic Escherichia coli. *Front Cell Infect Microbiol* 2016; 6: 87 [PMID: 27606286 DOI: 10.3389/fcimb.2016.00087]
12 Vorbrodt AW, Dobrogowska DH. Molecular anatomy of intercellular junctions in brain endothelial and epithelial barriers: electron microscopist's view. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 42: 221-242 [PMID: 12791441 DOI: 10.1016/s0165-0173(03)00177-2]
13 Dudvarski Stankovic N, Teodorczyk M, Ploen R, Zipp F, Schmidt MHH. Microglia-blood vessel interactions: a double-edged sword in brain pathologies. *Acta Neuropathol* 2016; 131: 347-363 [PMID: 26711460 DOI: 10.1007/s00401-015-1524-y]
14 Block ML, Hong JS. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* 2005; 76: 77-98 [PMID: 16081203 DOI: 10.1016/j.pneurobio.2005.06.004]
15 Zamudio F, Loon AR, Smeltzer S, Benyamine K, Navalpur Shanmugam NK, Stewart NJF, Lee DC, Nash K, Selenica MB. TDP-43 mediated blood-brain barrier permeability and leukocyte infiltration promote neurodegeneration in a low-grade systemic inflammation mouse model. *J Neuroinflammation* 2020; 17: 283 [PMID: 32979923 DOI: 10.1186/s12974-020-01952-9]
16 Huang X, Hussain B, Chang J. Peripheral inflammation and blood-brain barrier disruption: effects and mechanisms. *CNS Neurosci Ther* 2021; 27: 36-47 [PMID: 33381913 DOI: 10.1111/cns.13569]
17 Parker A, Fonseca S, Carding SR. Gut microbes and metabolites as modulators of blood-brain barrier integrity and brain health. *Gut Microbes* 2020; 11: 135-157 [PMID: 31368397 DOI: 10.1080/19490976.2019.1638722]
18 Zhang J, Ke KF, Liu Z, Qiu YH, Peng YP. Th17 cell-mediated neuroinflammation is involved in neurodegeneration of aβ1-42-induced Alzheimer's disease model rats. *PLoS One* 2013; 8: e75786 [PMID: 24124514 DOI: 10.1371/journal.pone.0075786]
19 Sommer A, Marxreiter F, Krach F, Fadler T, Grosch J, Maroni M, Graef D, Eberhardt E, Riemenschneider MJ, Yeo GW, Kohl Z, Xiang W, Gage FH, Winkler J, Prots I, Winner B. Th17 Lymphocytes Induce Neuronal Cell Death in a Human iPSC-Based Model of Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell* 2019; 24: 1006 [PMID: 31173705 DOI: 10.1016/j.stem.2019.04.019]
20 Bogale TA, Faustini G, Longhena F, Mitola S, Pizzi M, Bellucci A. Alpha-Synuclein in the Regulation of Brain Endothelial and Perivascular Cells: Gaps and Future Perspectives. *Front Immunol* 2021; 12: 611761 [PMID: 33679750 DOI: 10.3389/fimmu.2021.611761]
21 Longhena F, Faustini G, Missale C, Pizzi M, Spano P, Bellucci A. The Contribution of α-Synuclein Spreading to Parkinson's Disease Synaptopathy. *Neural Plast* 2017; 2017: 5012129 [PMID: 28133550 DOI: 10.1155/2017/5012129]
22 Gray MT, Munoz DG, Gray DA, Schlossmacher MG, Woulfe JM. Alpha-synuclein in the appendiceal mucosa of neurologically intact subjects. *Mov Disord* 2014; 29: 991-998 [PMID: 24352892 DOI: 10.1002/mds.25779]
23 Breen DP, Halliday GM, Lang AE. Gut-brain axis and the spread of α-synuclein pathology: Vagal highway or dead end? *Mov Disord* 2019; 34: 307-316 [PMID: 30653258 DOI: 10.1002/mds.27556]
24 Pan-Montojo F, Schwarz M, Winkler C, Arnhold M, O'Sullivan GA, Pal A, Said J, Marsico G, Verbavatz JM, Rodrigo-Angulo M, Gille G, Funk RH, Reichmann H. Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice. *Sci Rep* 2012; 2: 898 [PMID: 23205266 DOI: 10.1038/srep00898]
25 Ayabe T, Satchell DP, Wilson CL, Parks WC, Selsted ME, Ouellette AJ. Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat Immunol* 2000; 1: 113-118 [PMID: 11248802 DOI: 10.1038/77783]
26 Marsland BJ. Regulating inflammation with microbial metabolites. *Nat Med* 2016; 22: 581-583 [PMID: 27270775 DOI: 10.1038/nm.4117.]
27 Andermann ML, Lowell BB. Toward a Wiring Diagram Understanding of Appetite Control. *Neuron* 2017; 95: 757-778 [PMID: 28817798 DOI: 10.1016/j.neuron.2017.06.014]
28 Becker L, Nguyen L, Gill J, Kulkarni S, Pasricha PJ, Habtezion A. Age-dependent shift in macrophage polarisation causes inflammation-mediated degeneration of enteric nervous system. *Gut* 2018; 67: 827-836 [PMID: 28228489 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312940]
29 Kaelberer MM, Buchanan KL, Klein ME, Barth BB, Montoya MM, Shen X, Bohórquez DV. A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science* 2018; 361 [PMID: 30237325 DOI: 10.1126/science.aat5236]
30 Lauritzen KH, Morland C, Puchades M, Holm-Hansen S, Hagelin EM, Lauritzen F, Attramadal H, Storm-Mathisen J, Gjedde A, Bergersen LH. Lactate receptor sites link neurotransmission,

neurovascular coupling, and brain energy metabolism. *Cereb Cortex* 2014; 24: 2784-2795 [PMID: 23696276 DOI: 10.1093/cercor/bht136]
31 Zhao HW, Yue YH, Han H, Chen XL, Lu YG, Zheng JM, Hou HT, Lang XM, He LL, Hu QL, Dun ZQ. Effect of toll-like receptor 3 agonist poly I:C on intestinal mucosa and epithelial barrier function in mouse models of acute colitis. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 999-1009 [PMID: 28246473 DOI: 10.3748/wjg.v23.i6.999]
32 Thomsen MS, Birkelund S, Burkhart A, Stensballe A, Moos T. Synthesis and deposition of basement membrane proteins by primary brain capillary endothelial cells in a murine model of the blood-brain barrier. *J Neurochem* 2017; 140: 741-754 [PMID: 27456748 DOI: 10.1111/jnc.13747]
33 Kaelberer MM, Rupprecht LE, Liu WW, Weng P, Bohórquez DV. Neuropod Cells: The Emerging Biology of Gut-Brain Sensory Transduction. *Annu Rev Neurosci* 2020; 43: 337-353 [PMID: 32101483 DOI: 10.1146/annurev-neuro-091619-022657]
34 Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, Deng Y, Blennerhassett P, Macri J, McCoy KD, Verdu EF, Collins SM. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 2011; 141: 599-609, 609.e1-609.e3 [PMID: 21683077 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.052]
35 Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80 Suppl 1: S147-S171 [PMID: 9849357 DOI: 10.1079/bjn19980108]
36 Kim M, Friesen L, Park J, Kim HM, Kim CH. Microbial metabolites, short-chain fatty acids, restrain tissue bacterial load, chronic inflammation, and associated cancer in the colon of mice. *Eur J Immunol* 2018; 48: 1235-1247 [PMID: 29644622 DOI: 10.1002/eji.201747122]
37 Li H, Sun J, Du J, Wang F, Fang R, Yu C, Xiong J, Chen W, Lu Z, Liu J. Clostridium butyricum exerts a neuroprotective effect in a mouse model of traumatic brain injury via the gut-brain axis. *Neurogastroenterol Motil* 2018; 30: e13260 [PMID: 29193450 DOI: 10.1111/nmo.13260]
38 Hoyles L, Snelling T, Umlai UK, Nicholson JK, Carding SR, Glen RC, McArthur S. Microbiome-host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood-brain barrier. *Microbiome* 2018; 6: 55 [PMID: 29562936 DOI: 10.1186/s40168-018-0439-y]
39 Wenzel TJ, Gates EJ, Ranger AL, Klegeris A. Short-chain fatty acids (SCFAs) alone or in combination regulate select immune functions of microglia-like cells. *Mol Cell Neurosci* 2020; 105: 103493 [PMID: 32333962 DOI: 10.1016/j.mcn.2020.103493]
40 MacFabe DF, Cain DP, Rodriguez-Capote K, Franklin AE, Hoffman JE, Boon F, Taylor AR, Kavaliers M, Ossenkopp KP. Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behav Brain Res* 2007; 176: 149-169 [PMID: 16950524 DOI: 10.1016/j.bbr.2006.07.025]
41 Said HM, Mohammed ZM. Intestinal absorption of water-soluble vitamins: an update. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 140-146 [PMID: 16462170 DOI: 10.1097/01.mog.0000203870.22706.52]
42 Shearer MJ, Okano T. Key Pathways and Regulators of Vitamin K Function and Intermediary Metabolism. *Annu Rev Nutr* 2018; 38: 127-151 [PMID: 29856932 DOI: 10.1146/annurev-nutr-082117-051741]
43 Magnúsdóttir S, Ravcheev D, de Crécy-Lagard V, Thiele I. Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. *Front Genet* 2015; 6: 148 [PMID: 25941533 DOI: 10.3389/fgene.2015.00148]
44 McMillan D, Perreault T, Watanabe M, Chance G, Askin DF, Hall J. Neonatal personnel in Canada. *Paediatr Child Health* 1997; 2: 193-197 [PMID: 20098518 DOI: 10.1093/pch/2.3.193]
45 Merli GJ, Fink J. Vitamin K and thrombosis. *Vitam Horm* 2008; 78: 265-279 [PMID: 18374199 DOI: 10.1016/S0083-6729(07)00013-1]
46 Allison AC. The possible role of vitamin K deficiency in the pathogenesis of Alzheimer's disease and in augmenting brain damage associated with cardiovascular disease. *Med Hypotheses* 2001; 57: 151-155 [PMID: 11461163 DOI: 10.1054/mehy.2001.1307]
47 da Silva FL, Coelho Cerqueira E, de Freitas MS, Gonçalves DL, Costa LT, Follmer C. Vitamins K interact with N-terminus α-synuclein and modulate the protein fibrillization in vitro. Exploring the interaction between quinones and α-synuclein. *Neurochem Int* 2013; 62: 103-112 [PMID: 23064431 DOI: 10.1016/j.neuint.2012.10.001]
48 Langohr HD, Petruch F, Schroth G. Vitamin B 1, B 2 and B 6 deficiency in neurological disorders. *J Neurol* 1981; 225: 95-108 [PMID: 6164769 DOI: 10.1007/BF00313323]
49 Douaud G, Refsum H, de Jager CA, Jacoby R, Nichols TE, Smith SM, Smith AD. Preventing Alzheimer's disease-related gray matter atrophy by B-vitamin treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 9523-9528 [PMID: 23690582 DOI: 10.1073/pnas.1301816110]
50 Soutif-Veillon A, Ferland G, Rolland Y, Presse N, Boucher K, Féart C, Annweiler C. Increased dietary vitamin K intake is associated with less severe subjective memory complaint among older adults. *Maturitas* 2016; 93: 131-136 [PMID: 26923488 DOI: 10.1016/j.maturitas.2016.02.004]
51 Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry* 2013; 74: 720-726 [PMID: 23759244 DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.05.001]
52 Tamtaji OR, Taghizadeh M, Daneshvar Kakhaki R, Kouchaki E, Bahmani F, Borzabadi S, Oryan S, Mafi A, Asemi Z. Clinical and metabolic response to probiotic administration in people with Parkinson's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr* 2019; 38: 1031-1035 [PMID: 29891223 DOI: 10.1016/j.clnu.2018.05.018]
53 Bonfili L, Cecarini V, Berardi S, Scarpona S, Suchodolski JS, Nasuti C, Fiorini D, Boarelli MC, Rossi G, Eleuteri AM. Microbiota modulation counteracts Alzheimer's disease progression influencing neuronal proteolysis and gut hormones plasma levels. *Sci Rep* 2017; **7**: 2426 [PMID: 28546539 DOI: 10.1038/s41598-017-02587-2]
54 Sarkar A, Lehto SM, Harty S, Dinan TG, Cryan JF, Burnet PWJ. Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria-Gut-Brain Signals. *Trends Neurosci* 2016; 39: 763-781 [PMID: 27793434 DOI: 10.1016/j.tins.2016.09.002]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 109-113

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.109

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

文献综述 REVIEW

肠道菌群与脓毒症相互关系的研究进展

张 悦, 王玉莹, 罗海燕, 廖红伍, 周克兵, 颜 波, 阳学风

张悦, 王玉莹, 周克兵, 阳学风, 南华大学衡阳医学院附属南华医院消化内科 湖南省衡阳市 421002

张悦, 王玉莹, 周克兵, 阳学风, 南华大学衡阳医学院附属南华医院全科医疗科 湖南省衡阳市 421002

罗海燕, 廖红伍, 南华大学衡阳医学院附属南华医院 湖南省衡阳市 421002

张悦, 王玉莹, 上海市普陀区人民医院急诊科 上海市普陀区 200060

颜波, 南华大学衡阳医学院附属第一医院重症医学科 湖南省衡阳市 421001

张悦, 研究生, 研究方向主要为脓毒症基础与临床研究.

基金项目: 湖南省卫生和健康生育委员会重点项目, No.A2017015; 湖南省科技创新计划项目No.2018SK51712和No.2018SK51713.

作者贡献分布: 本论文写作由张悦完成; 设计、审校由阳学风完成; 王玉莹、罗海燕、廖红伍、周克兵、颜波参与文献查阅与整理.

通讯作者: 阳学风, 教授, 421002, 湖南省衡阳市珠晖区东风南路336号, 南华大学附属南华医院. yxf9988@126.com

收稿日期: 2021-11-02
修回日期: 2021-11-30
接受日期: 2022-01-20
在线出版日期: 2022-01-28

Interrelationship between gut microbiota and sepsis

Yue Zhang, Yu-Ying Wang, Hai-Yan Luo, Hong-Wu Liao, Ke-Bing Zhou, Bo Yan, Xue-Feng Yang

Yue Zhang, Yu-Ying Wang, Ke-Bing Zhou, Bo Yan, Xue-Feng Yang, Department of Gastroenterology, The Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Yue Zhang, Yu-Ying Wang, Ke-Bing Zhou, Bo Yan, Xue-Feng Yang, Department of General Practice, The Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Hai-Yan Luo, Hong-Wu Liao, The Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Yue Zhang, Yu-Ying Wang, Emergency Department, The Shanghai Putuo District People's Hospital, Shanghai 200060, China

Bo Yan, Department of Critical Care Medicine, The Affiliated First Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Supported by: Scientific Research Project of Hunan Provincial Health and Family Planning Commission No. A2017015; Science and Technology Innovation Program of Hunan Province No. 2018SK51712 and No. 2018SK51713.

Corresponding author: Xue-Feng Yang, Professor, Department of Gastroenterology and General Practice, The Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical College, University of South China, No. 336 Dongfeng South Road, Zhuhui District, Hengyang 421002, Hunan Province, China. yxf9988@126.com

Received: 2021-11-02
Revised: 2021-11-30
Accepted: 2022-01-20
Published online: 2022-01-28

Abstract

The occurrence and development of sepsis are closely associated with the alteration of the gut microbiota. The gut microbiota can induce the occurrence of sepsis through several mechanisms, such as imbalance of gut flora, intestinal mucosal barrier dysfunction, and bacterial displacement. At the same time, sepsis can also aggravate the imbalance of the gut microbiota and the destruction of intestinal mucosal barrier function, leading to multiple organ dysfunction. This paper discusses the relationship between gut microbiota and sepsis, and provides ideas for clinical intervention of sepsis.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gut microbiota; Sepsis; Imbalance of gut flora;

Intestinal mucosal barrier function; Bacterial translocation

Citation: Zhang Y, Wang YY, Luo HY, Liao HW, Zhou KB, Yan B, Yang XF. Interrelationship between gut microbiota and sepsis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 109-113
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/109.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.109

摘要

脓毒症的发生发展与肠道菌群失调密切相关. 肠道菌群失调可以通过肠黏膜屏障功能破坏、黏膜免疫功能破坏和细菌移位等环节诱导脓毒症的发生. 同时脓毒症也可以加重肠道菌群失调, 加重肠黏膜屏障功能破坏, 导致机体多器官功能障碍. 本文通过探讨肠道菌群和脓毒症之间的相互关系, 为脓毒症临床干预提供思路.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠道菌群; 脓毒症; 肠道菌群失调; 肠黏膜屏障功能; 细菌移位

核心提要: 目前临床认为肠道菌群失衡、肠道屏障功能受损和细菌移位是诱发脓毒症的重要原因, 而脓毒症又会反向损害人体胃肠道, 加重肠道菌群失调, 加重肠黏膜屏障功能破坏, 甚至导致机体多器官功能障碍. 因此如何通过改善肠道微生态来预防脓毒症的发生、发展越来越受到临床医生的重视.

文献来源: 张悦, 王玉莹, 罗海燕, 廖红伍, 周克兵, 颜波, 阳学风. 肠道菌群与脓毒症相互关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 109-113
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/109.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.109

0 引言

脓毒症(sepsis)是由感染引起的全身炎性反应综合征. 2017年, 全球约有4890多万人因感染而发生脓毒症, 病死率高达17.9%, 是现今重症医学科亟待解决的难题之一, 严重威胁着患者的生命安全[1,2]. 由于发病率及病死率高, 2017年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将脓毒症列为一个全球性的公共卫生问题[3]. 最近的证据表明, 脓毒症发生、发展与肠道微生态紊乱关系密切. 一方面, 肠道微生态紊乱可以增强脓毒症的易感性[4]. 肠道细菌在某些条件下可通过肠黏膜直接侵入外周血, 或经“肠-器官”轴进入远隔器官, 形成细菌移位, 诱发全身炎性反应、脓毒症, 病情进一步发展可导致机体器官功能障碍, 甚至引起脓毒性休克而危及生命[5]. 另一方面, 脓毒症又可导致人体肠道微环境发生改变, 引起肠道菌群失调, 诱导炎性因子分泌, 致使肠道黏膜屏障受损, 进一步加重病情[6]. 本文通过探讨肠道菌群和脓毒症之间的相互关系, 为脓毒症临床干预提供思路.

1 肠道菌群及肠黏膜屏障功能

1.1 *肠道菌群与菌群失调* 人体肠道是微生物寄居的主要场所, 含有最庞大的微生物群, 包含细菌、真菌等多种微生物. 过去, 关于人肠道微生物群的大多数知识来自于劳动密集型的培养方法. 最近, 由于高通量和低成本测序方法等与培养无关的方法的出现, 调查肠道微生物的能力大大提高[6]. 76%属于新的和未定型的粪便物种可由16s rRNA测序获得. 全基因组鸟枪宏基因组学可以提供更可靠的微生物群组成和多样性的估计[6]. 地球已知大概有55门细菌和13门古生菌, 但是由于进化选择作用, 人类的肠道仅仅寄生12门细菌, 其中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)为主, 古生菌门(*Methanobrevibacter smithii*), 史氏甲烷短杆菌、变形杆菌门、疣微菌门、放线菌门、梭杆菌门和蓝细菌比例较少[7]. 肠道微生物组是保护宿主健康的一道屏障, 在维持人体肠道正常生理功能中起重要作用, 具有辅助人体营养、代谢、生长、免疫、防御等功能[6].

正常情况下肠道菌群的种类和数量保持相对平衡状态, 在某些条件下(如饮食、机体应激、创伤、药物等)肠道原生细菌减少、条件致病菌(如铜绿假单胞菌、变形杆菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌等)显著增加成为优势菌群, 即为肠道菌群失调. 肠道菌群失调与脓毒症、艰难梭菌(*Clostridioides difficile*)感染、炎症性肠病等疾病发生密切有关[8,9].

1.2 *肠黏膜屏障与屏障功能障碍* 肠黏膜屏障主要由肠黏膜上皮细胞、上皮细胞间连接及黏液物质组成, 具有分割肠腔内物质、防止病原微生物和肠道毒性物质透过肠黏膜进入血液循环及体内其他组织器官的功能. 其中消化液、肠黏膜上皮细胞分泌物及正常细菌分泌的抑菌物质构成化学屏障. 消化液中的胃酸可以灭杀大部分来自口腔的病原菌, 而胆汁对病原菌增值具有一定的抑制作用[10,11], 肠道上皮细胞分泌黏液遍布整个肠道黏膜表层, 可有效阻断病原菌与肠上皮结合[12,13]. 肠道黏膜上皮细胞由桥粒、贴壁连接和紧密连接连接在一起构成化学屏障, 防止细菌、内毒素向宿主体循环扩散[14]. 肠道黏膜免疫系统, 由淋巴结、固有层和上皮细胞组成免疫屏障, 构成了保护肠道完整性的屏障[15].

正常情况下, 肠道屏障允许水、溶液和免疫调节因子通过细胞旁途径进入, 抑制肠腔内物质和微生物进入. 当人体的肠黏膜屏障在各种外因及内因(烧伤、创伤、大手术、感染、休克)的影响下被破坏后, 肠黏膜通透性

增加, 肠道内的细菌及内毒素突破肠黏膜屏障侵犯到肠外组织, 可引起肠源性感染[16].

1.3 肠道菌群对肠黏膜屏障功能的影响 肠道菌群对肠道屏障的影响体现在下列几个方面: (1)参与黏液层合成和降解的调节. 肠道菌群的代谢产物短链脂肪酸在低浓度情况下刺激肠道黏液的分泌和黏蛋白2(Mucin2)的表达, 而高浓度的短链脂肪酸作用则相反[12,17]; (2)调节肠道抗菌活性物质的形成. 抗菌肽是天然免疫的主要效应物之一, 可由肠道菌群刺激潘氏细胞分泌产生[18,19]; (3)对肠上皮细胞分化、发育、更新具有重要影响. Yu等[20]应用人源化的微生物菌群小鼠模型, 观察早产儿肠道微生物群对肠上皮发育的影响, 发现肠道菌群参与肠上皮细胞分化和紧密连接的形成. 肠上皮细胞的更新对维持肠道屏障功能具有重要作用. 无菌动物往往出现肠道上皮细胞形态结构异常, 粪菌移植后肠道上皮细胞可修复更新至正常水平[21].

2 肠道菌群失调对脓毒症发生的影响

2.1 肠源性脓毒症发生的常见原因 正常情况下肠道菌群的种类和数量保持相对平衡状态, 在某些条件下(如饮食、机体应激、创伤、药物等)发生肠道菌群失调, 即可引发肠源性感染. 据报道[22], 高脂饮食引起的肠道微生态失调和代谢内毒素血症, 质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIS)具有增加肝硬化患者细菌感染和败血症的风险[23]. Baggs等[24]调查在516家医院病人在住院后90天内发生败血症的风险, 发现与未接触抗生素患者相比, 接触高风险抗生素者患败血症的风险高出65%.

2.2 肠源性脓毒症的发生机制

2.2.1肠道菌群失调导致肠黏膜屏障功能的破坏: 肠道菌群通过减少肠道黏膜的通透性和增强黏膜上皮防御机制来形成黏膜屏障, 并与肠道形成共生关系, 在调控肠黏膜屏障功能中发挥重要的作用[25]. 生理状态下构成生物屏障的菌群主要为乳酸杆菌和双歧杆菌, 维持肠道无氧环境, 抑制需氧菌繁殖, 在病理状态下随着肠道环境的改变, 致病菌更易生存, 部分病原菌甚至可循环利用有益菌代谢产物进一步繁殖扩张, 引起肠源性感染, 破坏肠黏膜生物屏障功能[26]. 致病菌的大量生长也会导致致病及其代谢产物可破坏肠道黏液层结构, 随后黏附于肠上皮细胞, 可直接或间接诱导上皮细胞损伤[27]. 同时肠道细菌可通过释放毒性蛋白, 如大肠埃希菌可通过3型分泌系统将NleA蛋白转运至细胞内, 幽门螺旋杆菌则通过4型分泌系统将细胞毒性相关基因A编码的效应蛋白传递至胃肠上皮细胞, 下调蛋白酶激活受体-1等信号通路干扰紧密连接蛋白表达于定位, 最终导致肠上皮细胞紧密连接开放, 从而引起肠黏膜通透性增加, 导致肠黏膜物理屏障功能下降, 致病菌更易穿过肠黏膜入侵[28].

2.2.2 肠道菌群失调导致肠道黏膜免疫功能的破坏: 丁文婷等[29]研究中表明肠道微生物对包括全身性固有免疫、特异性免疫等在内的免疫反应产生影响, 肠道黏膜免疫系统是机体免疫系统的重要构成部分, 具有独特的结构与功能, 其免疫功能主要由肠黏膜相关淋巴组织参与完成. 肠道上皮表达的多种TOLL样受体可通过细胞信号传递形成级联反应开启特异性免疫应答, 而肠道菌群平衡被破坏后, 随着致病菌的不断繁殖会产生大量的内毒素, 内毒素被吸收入血后可被TOLL样受体识别并激活转录因子AP1、NF-κB信号通路, 进而释放γ-干扰素、肿瘤坏死因子-α及白介素等炎性因子, 进一步加重黏膜屏障功能损伤[30].

2.2.3 肠道菌群失调导致菌群移位, 肠道以外的组织发生感染: 正常生理条件下肠道菌群按一定的数量和比例寄居在肠道不同部位, 发挥着营养、代谢、免疫等多重生理功能, 由于存在完整的肠道黏膜屏障可以使机体不受这些细菌的损害. 在药物应用及创伤、休克等状态下, 可使肠道微环境改变导致菌群失调, 致病菌不断繁殖并离开原定位横向移位或向肠黏膜深部纵向转移, 而一旦肠黏膜屏障完整性被破坏, 这些细菌及其毒素即可越过肠上皮细胞屏障大量入侵肠道以外的无菌组织和器官, 如肠系膜淋巴结、或由门静脉入血并扩散至肺、肝等远隔器官, 引发肠源性感染, 诱发一系列炎症因子级联反应大爆发导致病情加重最终发展为脓毒症, 危及患者生命[31,32]. 在邵瑞飞等[33]研究中表明肠道菌群和“肠-肺”轴参与了脓毒症的发生与发展, 指出人体肠黏膜屏障功能发生障碍时, 致病菌及其分解物可通过血液迁移到肠系膜淋巴结、肺等正常无菌组织, 引发全身炎性反应及远隔器官受损, 最终诱发脓毒症.

3 脓毒症对肠道菌群的影响

3.1 脓毒症进一步加重肠道菌群失调 颜俊等[34]指出胃肠道在脓毒症早期即可受累并出现肠道菌群失调、肠黏膜屏障功能障碍, 其中菌群失调的发生率高达60%. 刘丹等[35]研究指出脓毒症患者会出现肠道菌群紊乱且具有三大特征, 表现为肠道菌群多样性下降和菌群结构改变、专性厌氧菌减少而兼性厌氧菌增多、有益共生菌减少而机会致病菌增多. 王玉等[36]研究中也表明正常情况下人体肠道以拟杆菌门、梭杆菌门、放线菌门等专性厌氧菌占优, 脓毒症时肠道缺氧环境遭受破坏, 促使兼性厌氧菌变形菌门在肠道不断增值扩张, 变形杆菌能干扰物质代谢和免疫调节, 是肠道微环境失调的标志之

一.

3.2 脓毒症进一步加重肠黏膜屏障功能破坏 脓毒症的一个重要变化就是组织缺血缺氧, 肠道也不例外. 动物实验研究发现[37], 脓毒症大鼠肠黏膜中毛细血管减少、黏膜破坏, 显微结构观察发现上皮细胞超微结构破坏、细胞骨架收缩、细胞连接中断[38].

4 研究脓毒症与肠道菌群相互关系的临床意义

目前临床认为肠道菌群失衡、肠道屏障功能受损和细菌移位是诱发脓毒症的重要原因, 而脓毒症又会反向累及人体胃肠道, 进一步促进病情进展, 因此近年来肠道菌群与脓毒症相关研究主要集中在阻断脓毒症发生发展的治疗环节上, 如粪菌移植、微生态免疫营养剂及中医中药治疗. 在李素彦等[39]研究中发现通过粪菌移植后大鼠肠道菌群α多样性指数显著升高, 基于门、科属水平的菌群结构明显逆转, 肿瘤坏死因子-α、白介素等炎性因子显著降低, 研究指出粪菌移植能改善脓毒症大鼠肠道菌群失衡, 同时激活胆碱能抗炎通路发挥抗炎作用. 谢洁[40]等研究发现脓毒症肠功能障碍患者使用微生态免疫营养剂有利于减轻患者全身炎症反应、调节其肠道菌群、改善机体免疫功能. 此外中医中药在阻断脓毒症方面获得了一定的进展, 李银平等[41]认为肠道是脓毒症多器官功能障碍综合征的启动器官, 肠道屏障功能的破坏造成了肠源性内毒素血症和菌群移位, 并将"菌毒并治"和"三证三法"进行了完善和丰富, 总结出了"菌毒炎并治"和"四证四法"辨证治疗原则. 刘锦等[42]研究中发现采用温下健脾法治疗脓毒症后肠道菌群物种丰度和肠道sIgA表达水平获得升高, 研究指出温下健脾法可调节脓毒症胃肠功能障碍的肠道菌群及肠道免疫异常, 从而发挥治疗脓毒症的作用.

5 展望

脓毒症与肠道菌群间的相互关系至今仍未完全阐明, 且缺乏临床大样本数据支撑, 需要获得临床更多的关注, 为临床控制脓毒症的发生发展提供预防与治疗策略.

6 参考文献

1 Napolitano LM. Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes. *Surg Infect (Larchmt)* 2018; 19: 117-125 [PMID: 29447109 DOI: 10.1089/sur.2017.278]

2 Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara DV, Ikuta KS, Kissoon N, Finfer S, Fleischmann-Struzek C, Machado FR, Reinhart KK, Rowan K, Seymour CW, Watson RS, West TE, Marinho F, Hay SI, Lozano R, Lopez AD, Angus DC, Murray CJL, Naghavi M. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2020; 395: 200-211 [PMID: 31954465 DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7]

3 Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority - A WHO Resolution. *N Engl J Med* 2017; 377: 414-417 [PMID: 28658587 DOI: 10.1056/NEJMp1707170]

4 Adelman MW, Woodworth MH, Langelier C, Busch LM, Kempker JA, Kraft CS, Martin GS. The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis. *Crit Care* 2020; 24: 278 [PMID: 32487252 DOI: 10.1186/s13054-020-02989-1]

5 Haak BW, Wiersinga WJ. The role of the gut microbiota in sepsis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 135-143 [PMID: 28403983 DOI: 10.1016/S2468-1253(16)30119-4]

6 Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 2017; 474: 1823-1836 [PMID: 28512250 DOI: 10.1042/BCJ20160510]

7 Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, Thaiss CA, Kau AL, Eisenbarth SC, Jurczak MJ, Camporez JP, Shulman GI, Gordon JI, Hoffman HM, Flavell RA. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* 2012; 482: 179-185 [PMID: 22297845 DOI: 10.1038/nature10809]

8 Adelman MW, Woodworth MH, Langelier C, Busch LM, Kempker JA, Kraft CS, Martin GS. The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis. *Crit Care* 2020; 24: 278 [PMID: 32487252 DOI: 10.1186/s13054-020-02989-1]

9 Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2015; 31: 69-75 [PMID: 25394236 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000139]

10 Bruno G, Zaccari P, Rocco G, Scalese G, Panetta C, Porowska B, Pontone S, Severi C. Proton pump inhibitors and dysbiosis: Current knowledge and aspects to be clarified. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 2706-2719 [PMID: 31235994 DOI: 10.3748/wjg.v25.i22.2706]

11 Chatterjee A, Chaudhuri S, Saha G, Gupta S, Chowdhury R. Effect of bile on the cell surface permeability barrier and efflux system of Vibrio cholerae. *J Bacteriol* 2004; 186: 6809-6814 [PMID: 15466033 DOI: 10.1128/JB.186.20.6809-6814]

12 Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut* 2020; 69: 2232-2243 [PMID: 32917747 DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322260]

13 Boegh M, Nielsen HM. Mucus as a barrier to drug delivery – understanding and mimicking the barrier properties. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2015; 116: 179-186 [PMID: 25349046 DOI: 10.1111/bcpt.12342]

14 Allam-Ndoul B, Castonguay-Paradis S, Veilleux A. Gut Microbiota and Intestinal Trans-Epithelial Permeability. *Int J Mol Sci* 2020; 21 [PMID: 32899147 DOI: 10.3390/ijms21176402]

15 Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res* 2017; 4: 14 [PMID: 28465831 DOI: 10.1186/s40779-017-0122-9]

16 Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315: 801-810 [PMID: 26903338 DOI: 10.1001/jama.2016.0287]

17 Barcelo A, Claustre J, Moro F, Chayvialle JA, Cuber JC, Plaisancié P. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut* 2000; 46: 218-224 [PMID: 10644316 DOI: :]

18 Meyer-Hoffert U, Hornef MW, Henriques-Normark B, Axelsson LG, Midtvedt T, Pütsep K, Andersson M. Secreted enteric antimicrobial activity localises to the mucus surface layer. *Gut* 2008; 57: 764-771 [PMID: 18250125 DOI: 10.1136/gut.2007.141481]

19 Masuda K, Nakamura K, Yoshioka S, Fukaya R, Sakai N, Ayabe T. Regulation of microbiota by antimicrobial peptides in the

gut. *Adv Otorhinolaryngol* 2011; 72: 97-99 [PMID: 21865701 DOI: 10.1159/000324625.]
20 Yu Y, Lu L, Sun J, Petrof EO, Claud EC. Preterm infant gut microbiota affects intestinal epithelial development in a humanized microbiome gnotobiotic mouse model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016; 311: G521-G532 [PMID: 27492329 DOI: 10.1152/ajpgi.00022.2016]
21 Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, Schilter HC, Rolph MS, Mackay F, Artis D, Xavier RJ, Teixeira MM, Mackay CR. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009; 461: 1282-1286 [PMID: 19865172 DOI: 10.1038/nature08530]
22 Netto Candido TL, Bressan J, Alfenas RCG. Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet. *Nutr Hosp* 2018; 35: 1432-1440 [PMID: 30525859 DOI: 10.20960/nh.1792]
23 Picardi A, Vespasiani-Gentilucci U. Proton pump inhibitor prescription abuse and sepsis in cirrhosis. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2016; 7: 1-4 [PMID: 26855807 DOI: 10.4292/wjgpt.v7.i1.1]
24 Baggs J, Jernigan JA, Halpin AL, Epstein L, Hatfield KM, McDonald LC. Risk of Subsequent Sepsis Within 90 Days After a Hospital Stay by Type of Antibiotic Exposure. *Clin Infect Dis* 2018; 66: 1004-1012 [PMID: 29136126 DOI: 10.1093/cid/cix947]
25 黄艳芬, 刘湘红, 伍浩, 徐美华. 肠黏膜屏障与肠道菌群的相互关系. 中国微生态学杂志 2019; 31: 1465-1469, 1474 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201912021]
26 邢肖伟, 陶金华, 江曙, 魏晓燕, 崔祥, 钱大玮, 段金廒. 肠道菌群影响黏膜屏障结构与功能的研究进展. 中国微生态学杂志 2018; 30: 725-730 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201806026]
27 方晶, 薛博瑜, 方南元. 肠道细菌与肠黏膜机械屏障损伤关系的研究进展. 东南大学学报(医学版) 2018; 37: 330-334 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2018.02.033]
28 崔甜甜, 王丽杰. 肠屏障与肠源性内毒素血症. 中国小儿急救医学 2019; 2: 134-138 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2019.02.012]
29 丁文婷. 肠道菌群对免疫系统影响的研究进展. 西部医学 2017; 29: 1617-1620, 1625 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2017.11.031]
30 许雄, 张森. 肠黏膜屏障对肠源性脓毒症发病及其防治影响的研究进展. 山东医药 2018; 58: 82-85 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.41.024]
31 姜秀菊, 闫阳. 腹部手术与肠道细菌移位和内源性感染. 中国微生态学杂志 2013; 25: 739-741 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.2013.06.028]
32 王颖, 奚海燕, 李玲慧, 史利宁(综述), 王卫萍(审校). 肠道细菌移位与血流感染. 东南国防医药 2014; 5: 514-516 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-271X.2014.05.022]
33 邵瑞飞, 杨艳, 郑志榕, 赵世民, 陈国兵. 肠道菌群和“肠-肺”轴在脓毒症中的作用. 基础医学与临床 2020; 40: 1109-1112 [DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2020.08.023]
34 颜骏, 蔡燕, 张清艳, 金兆辰, 杨宏锋. 脓毒症早期肠道菌群失调相关危险因素及其对预后的影响. 中华危重症医学杂志(电子版) 2020; 13: 328-333 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2020.05.002]
35 刘丹, 王晓红, 张小彬, 闫晶, 杨小娟, 刘勤富, 孙婷, 杨晓军. 脓毒症患者肠道菌群紊乱的临床研究. 中华急诊医学杂志 2019; 28: 736-742 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.06.015]
36 王玉, 杨中文, 程艳波, 曹睿明, 吴星. 脓毒症儿童的肠道菌群特征及益生菌的干预作用. 中华微生物学和免疫学杂志 2021; 41: 440-447 [DOI: 10.3760/cma.j.cn112309-20201127-00533]
37 Haussner F, Chakraborty S, Halbgebauer R, Huber-Lang M. Challenge to the Intestinal Mucosa During Sepsis. *Front Immunol* 2019; 10: 891 [PMID: 31114571 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00891]
38 Moriez R, Salvador-Cartier C, Theodorou V, Fioramonti J, Eutamene H, Bueno L. Myosin light chain kinase is involved in lipopolysaccharide-induced disruption of colonic epithelial barrier and bacterial translocation in rats. *Am J Pathol* 2005; 167: 1071-1079 [PMID: 16192642 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61196-0]
39 李素彦, 许宁, 花然亮, 牛小莉, 吕畅, 李明泉, 李建国. 粪菌移植通过肠道菌群调节脓毒症大鼠脑皮质胆碱能抗炎通路. 中华危重病急救医学 2019; 31: 1102-1107 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.009]
40 谢洁, 郑峰, 叶宏伟, 许春阳, 李明华. 微生态免疫营养剂对脓毒症肠功能障碍患者炎症反应及免疫功能的影响. 中华医院感染学杂志 2019; 29: 2575-2579 [DOI: 10.11816/cn.ni.2019-182761]
41 李银平, 武子霞, 李志军, 曹书华. “菌毒并治”与“三证三法”理论的创立及发展: “菌毒炎并治”与“四证四法”(二). 中国中西医结合急救杂志 2017; 24: 113-114 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.001]
42 刘锦, 郭楠, 徐亚文, 刘福生. 温下健脾法对脓毒症胃肠功能障碍大鼠肠道菌群及肠道免疫的影响. 中国中医急症 2019; 6: 999-1002

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 © 2022 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): 114-118

DOI: 10.11569/wcjd.v30.i2.114

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

病例报告 CASE REPORT

Gardner综合征1例报道

黄艳齐, 陈柯豫, 张玲利

黄艳齐, 陈柯豫, 张玲利, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

黄艳齐, 郑州大学第一附属医院硕士研究生在读, 主要研究方向为消化内科学.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No.81802859.

作者贡献分布: 此课题由张玲利、黄艳齐和陈柯豫设计; 病例的资料收集与整理由黄艳齐完成; 病例信息及数据的核对由陈柯豫负责; 本论文写作由黄艳齐完成; 张玲利对该论文内容进行修改与补充.

通讯作者: 张玲利, 副主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科. zhangllzzu@163.com

收稿日期: 2021-10-25
修回日期: 2021-11-25
接受日期: 2022-01-11
在线出版日期: 2022-01-28

Gardner syndrome: A case report

Yan-Qi Huang, Ke-Yu Chen, Ling-Li Zhang

Yan-Qi Huang, Ke-Yu Chen, Ling-Li Zhang, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81802859.

Corresponding author: Ling-Li Zhang, Deputy Chief Physician, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, No. 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. zhangllzzu@163.com

Received: 2021-10-25
Revised: 2021-11-25
Accepted: 2022-01-11
Published online: 2022-01-28

Abstract

BACKGROUND

Gardner syndrome is a special subtype of familial adenomatous polyposis (FAP) and it is an autosomal dominant genetic disease mainly characterized by multiple gastrointestinal polyps, soft tissue tumors, and osteomas. It is a rare disease, and there are few relevant reports about it. However, the malignant transformation rate of Gardner syndrome is high. Therefore, understanding of its main clinical features, and early examination and timely discovery are of great significance for its treatment.

CASE SUMMARY

We report the case of a 39-year-old man diagnosed with Gardner syndrome who presented with anemia and melena for more than 4 mo, along with nausea and vomiting for more than 20 d. Gastrointestinal endoscopy revealed multiple polyps in the gastrointestinal tract and polyp biopsy pathology confirmed the diagnosis. Endoscopic treatment was performed, and the patient had no postoperative discomfort. Finally, his condition improved.

CONCLUSION

The clinical manifestations of Gardner syndrome are complex. The combination of clinical manifestations with relevant imaging and pathological examination results can help achieve early diagnosis and early treatment. Early treatment is usually associated with a good prognosis.

© **The Author(s) 2022.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gardner syndrome; Familial adenomatous polyposis; Peutz-Jeghers syndrome; Case report

Citation: Huang YQ, Chen KY, Zhang LL. Gardner syndrome: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(2): 114-118
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/114.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.114

摘要

背景

Gardner综合征是常染色体显性遗传病, 主要表现为多发性胃肠道息肉、软组织肿瘤和骨瘤. 它比较罕见, 相关报道较少, 但其恶变率高, 因此对该病有全面认识对治疗具有重要意义.

病例简介

我们报告1例被确诊为Gardner综合征的39岁男性患者, 因贫血、黑便4月余, 伴恶心呕吐20天来院诊治. 胃肠镜检查发现胃肠道多发息肉, 息肉活检病理证实该疾病诊断, 我院医生即对其行内镜下治疗, 患者术后恢复良好, 黑便症状缓解, 贫血症状也有所改善.

结论

Gardner综合征的临床表现复杂, 因此要求医生能更加敏锐地将患者临床表现与影像学和病理检查结果相结合, 尽早诊断和治疗, 使病情得到有效的控制, 改善疾病预后.

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: Gardner综合征; 家族性腺瘤性息肉病; 黑斑息肉综合征; 病例报告

核心提要: Gardner综合征临床表现累及多系统改变, 结肠多发息肉、骨瘤、软组织肿瘤为Gardner综合征三大主要特征, 由于肠道息肉恶变率较高, 因此该疾病一经确诊应立即采取内镜下治疗防止疾病恶化.

文献来源: 黄艳齐, 陈柯豫, 张玲利. Gardner综合征1例报道. 世界华人消化杂志 2022; 30(2): 114–118
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i2/114.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i2.114

0 引言

Gardner综合征在临床上非常罕见的疾病, 是一种常染色体显性遗传病, 以多发结直肠道息肉、多发性骨瘤、皮肤和软组织肿瘤三联征为特征. 本文报道1例Gardner综合征患者, 通过回顾相关文献并结合该病人的临床表现, 来提升对该疾病的认知.

1 病例简介

男, 39岁, 因“发现黑便4月余, 伴恶心、呕吐20余天”入院. 患者4月前因黑便、贫血就诊于当地医院, 2021-02-03于当地医院行胃镜检查结果示: (1)胃多发粘膜隆起(皮棘综合征); (2)十二指肠球部粘膜隆起, 十二指肠降段占位. 病理报告显示: (1)十二指肠降段管状腺瘤; (2)胃底腺息肉. 2021-02-26行胸部CT结果示: (1)十二指肠降段、水平段不规则软组织肿块; (2)肠系膜间隙密度稍增高、条索影, 肿块型脂膜炎可能, 不除外其他. 患者于2021-06-20入我院治疗, 查体发现腹部平脐偏左侧可触及一大小为3.0 cm×3.0 cm的包块, 质硬, 活动度可. 实验室检查结果显示血红蛋白浓度下降(50.00 g/L), 平均红细胞体积下降(55.50 fl), 平均红细胞血红蛋白下降(258.00 g/L). 余实验室常规检查未见明显异常. 患者于我院行无痛电子胃镜检查结果显示贲门下、全胃可见满天星样息肉, 息肉大小为0.3 cm×0.3 cm-0.5 cm×0.5 cm, 表面光滑. 十二指肠降部乳头下2 cm可见巨大息肉, 大小为1.0 cm×2.0 cm, 表面轻度发红, 呈条索状(见图1). 病理诊断为(1)(胃底活检)黏膜慢性炎; (2)(十二指肠降段活检)管状腺瘤. 患者于2021-06-26行无痛肠镜检查可见回盲部至直肠粘膜遍布息肉, 于横结肠处活检2块, 见乙状结肠处有一结节隆起样病变, 取活检3块(见图2). 病理结果示: (1)(横结肠活检)管状腺瘤; (2)(乙状结肠活检)管状腺瘤; SPECT结果示: (1)右侧骶髂关节、右侧髂骨骨代谢活跃, 建议结合其他检查; (2)下颌骨骨代谢活跃, 多考虑炎性病变(见图3). CT检查结果示: (1)十二指肠降部、水平部壁增厚, 建议结合镜检; (2)肠系膜间软组织占位, 考虑肠系膜脂膜炎可能大(见图4); (3)右侧腰背部, 右侧髂骨及髋骨旁肌肉软组织内多发高密度影, 出血? 请结合临床. 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)结果示: (1)所示腰骶椎体椎体、骨盆诸骨、双侧股骨干弥漫骨髓异常信号, 请结合临床及实验室检查协诊; (2)双髋关节退行性变; (3)双侧髋关节腔少量积液. 为明确左下腹肿块性质行超声引导下腹部肿块穿刺, 病理提示腹部梭形细胞瘤或病变, 细胞无明显异型性, 倾向为浸润性纤维瘤病. 免疫组化结果显示CD34(血管+)、β-catenin(-)、S-100(-)、SMA(-)、结蛋白(-)、CD68(-)、Ki-67(极少数+). 给予患者输血、补液等对症支持治疗, 患者一般情况好转后于我院行十二指肠降段巨大腺瘤切除术及结肠多发腺瘤切除术, 术后考虑诊断: (1)Gardner综合征; (2)十二指肠息肉切除术后; (3)结肠息肉切除术后; (4)小细胞低色素性贫血. 追问其家庭史, 患者未婚, 发现患者有一姐姐存在类似头晕、贫血症状, 暂未进行相关检验检查, 其余家属暂未出现相似症状.

2 最终诊断

(1)Gardner综合征; (2)十二指肠息肉切除术后; (3)结肠息肉切除术后; (4)小细胞低色素性贫血.

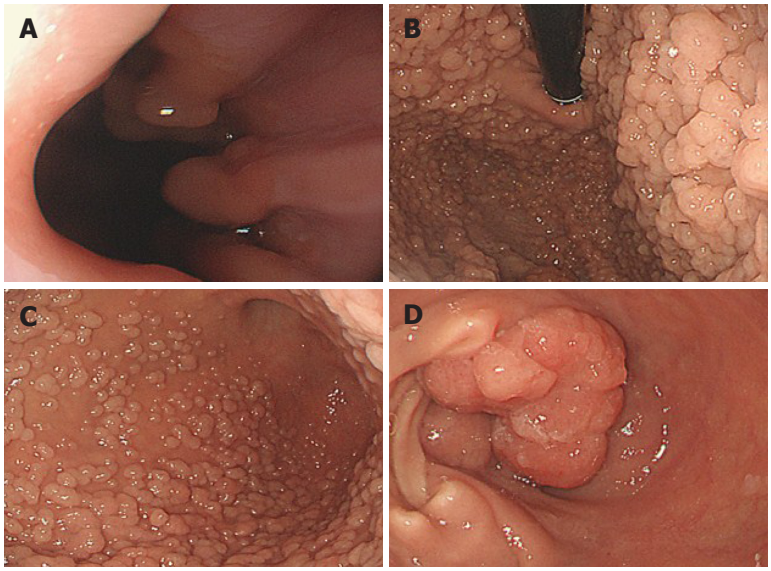


图 1　胃镜检查. A: 贲门下可见多发息肉; B: 胃底可见满天星样息肉; C: 胃体可见满天星样息肉, 息肉大小为0.3 cm×0.3 cm-0.5 cm×0.5 cm; D: 十二指肠降部乳头下2 cm可见巨大息肉, 大小为1.0 cm×2.0 cm.

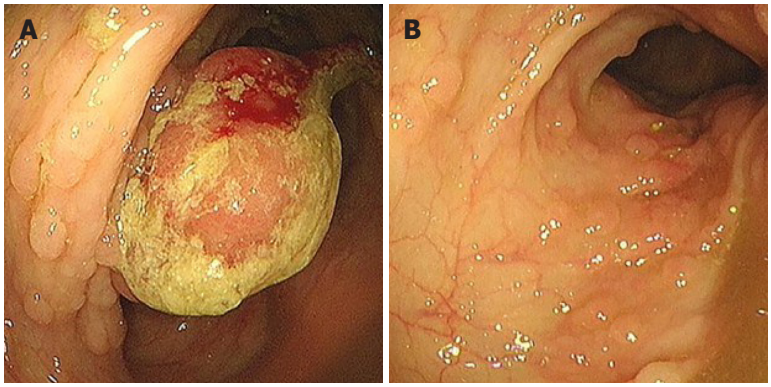


图 2　肠镜检查. A: 乙状结肠处有一结节隆起样病变; B: 直肠粘膜遍布直径约0.2 cm×0.2 cm-0.8 cm×0.8 cm的息肉.

3 治疗

该病人入院后实验室检查结果显示血红蛋白50.00 g/L, 为重度贫血, 平均红细胞体积为55.50 fL, 平均红细胞血红蛋白14.30 pg, 平均红细胞血红蛋白浓度为258.00 g/L, 提示患者小细胞低色素性贫血, 考虑消化道失血导致的缺铁性贫血, 给予患者输注悬浮红细胞共6U, 复查血常规显示血红蛋白升高至79.0 g/L, 患者一般情况好转后行胃肠镜检查可见胃肠道多发息肉(见图1、2); 完善CT、MRI、SPECT检查结果提示右侧骶髂关节、右侧髂骨骨代谢活跃, 下颌骨骨代谢活跃. 结合以上检验检查结果, 患者存在贫血症状、结肠多发息肉以及骨代谢异常, 同时体格检查未发现特征性的皮肤黏膜色素沉着, 且息肉病理诊断为管状腺瘤, 因此可排除黑斑息肉综合征, 初步考虑为Gardner综合征. 患者左下腹部包块性质不明, 为了明确包块性质和疾病诊断, 对患者行超声引导下腹部包块穿刺病理检查, 病理结果及免疫组化提示良性梭形细胞肿瘤, 倾向于浸润性纤维瘤病, 更加证实了Gardner综合征这一诊断. Gardner综合征发病与结肠腺瘤样息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)基因突变有关, 基因检测对疾病的诊断有重要作用, 但该病人因为资金有限未能进行基因检测. 检查结果回示暂未发现患者息肉癌变, 同时由于内镜下息肉切除是防止其癌变最主要也是最有效的治疗方式, 因此在完善患者各项术前必要检查并排除禁忌症后, 我院医生立即对患者行十二指肠降段巨大腺瘤切除术及结肠多发腺瘤切除术, 术后病理回示: (十二指肠降段)绒毛-管状腺瘤; (直肠活检)绒毛-管状腺瘤. 患者术后观察无不良反应, 无恶心呕吐症状, 黑便缓解, 复查血红蛋白72.0 g/L, 贫血症状较治疗前有所好转. 嘱咐患者院外注意事项如定期复查血常规、胃肠镜检查、定期服用补铁、补充维生素药物治疗后予以办理出院, 并嘱其直系亲属来院全面检查并长期随访.

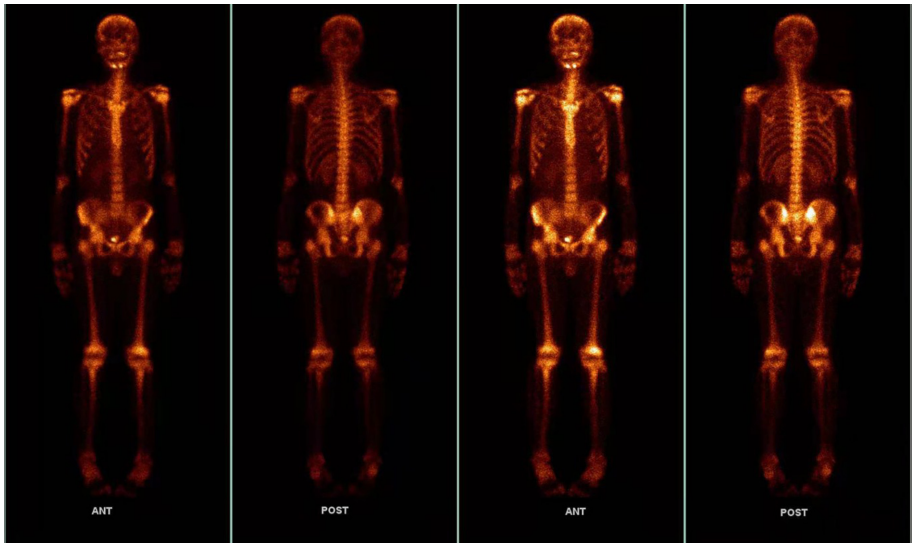


图 3　SPECT结果: 右侧骶髂关节、右侧髂骨骨代谢活跃; 下颌骨骨代谢活跃, 多考虑炎性病变.

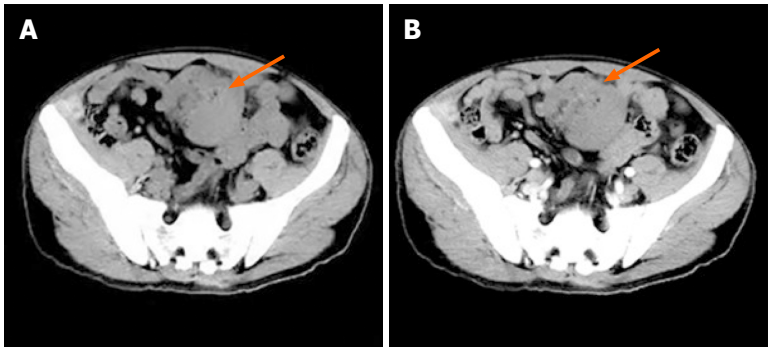


图 4　CT检查. A: 肠系膜间软组织占位(箭头所指); B: CT增强后肠系膜间软组织占位未见明显强化(箭头所指).

4 结果和随访 治疗效果和术后随访

术后随访患者贫血症状改善, 无头晕、头痛、腹痛症状, 未诉恶心、呕吐, 黑便症状有所缓解, 嘱咐患者定期复查血常规和胃肠镜, 如有异常及时进行治疗.

5 讨论

Gardner综合征为家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyps, FAP)的一种特殊亚型, 是一种常染色体显性遗传病, 其发病与结肠腺瘤样息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)基因突变有关[1]. Gardner综合征临床表现复杂多样, 累及多系统改变, 包括多发性胃肠道息肉、软组织肿瘤、骨肿瘤、表皮样囊肿、纤维瘤和脂肪瘤等, 肠外病变以硬纤维瘤为主. 结肠多发息肉、骨瘤、软组织肿瘤为Gardner综合征三大主要特征[2].

Gardner综合征表现主要由肠内表现和肠外表现两部分组成. 腹部不适、腹痛、不同程度便血、贫血、大便次数增多和肠梗阻等结直肠外表现可作为该疾病的首发症状[3], 由于肠道息肉恶变率较高, 早期对疾病做出准确诊断以及尽早采取治疗措施对疾病的预后有着关键的作用, 因此及时行胃镜检查早期发现结直肠外表现对疾病早期确诊具有重要意义. 该病例中, 患者首发症状为黑便和贫血, 行肠镜检查发现直肠管状腺瘤及乙状结肠管状腺瘤, 同时我们还进行了胃镜检查发现十二指肠降段管状腺瘤和胃多发息肉, 该结果对疾病的早期诊断具有重要意义, 提示我们在临床中同样不能忽略了患者的肠外表现, 如果发现癌变应及早行外科手术治疗. 肠外表现如骨瘤发生在46%-93%的Gardner综合征患者中, 其发病率是普通人群的4-20倍. 骨瘤大多数是良性的, 多发生在颅骨、上颌骨及下颌骨. 70% Gardner综合征病人会出现阻生牙、多生牙、牙源性囊肿、牙源性肿瘤和广泛的坏龋等表现[4-6]. 软组织肿瘤有皮脂囊肿、皮样囊肿及纤维性肿瘤, 也可见脂肪瘤和平滑肌瘤等. 上皮样囊肿好发于面部及躯干四肢. 硬纤维瘤常发生在腹壁外、腹壁及腹腔内, 多发生于肠系膜处, 有时会因肿块压迫导致输尿管及肠管狭窄, 通常行手术切除治疗,

但极易复发[7]. 此外, 临床上也会发现一些患者的临床症状并不是很典型, 比如有的患者只存在息肉病表现但没有胃肠道外的病变发生, 还有一些患者可能只有胃肠道外的病变表现而没有息肉病[8]. 如临床高度怀疑Gardner综合征, 应及时行腹部彩超、CT及口腔X线检查全面评估病情.

Gardner综合征主要与家族性息肉病和黑斑息肉综合征相鉴别. 黑斑息肉综合征以皮肤黏膜色素沉着和胃肠道多发息肉为主要特点, 色素沉着主要见于口唇及其四周、面颊部和手指皮肤等, 胃肠镜检提示息肉病理为错构瘤即可明确诊断[9]; 家族性腺瘤性息肉病典型表现为镜检发现结肠和直肠出现成百上千的息肉, 小肠内通常无息肉. 疾病的诊断主要依据家族病史、结直肠多发息肉以及活组织检查为腺瘤[10].

6 结论

综上, 通过对此病例的学习以及相关文献的复习, 我们了解到目前Gardner综合征临床比较少见, 相关报道也不是很多, 但因其有着极高的恶变率, 早期诊断和早期治疗对患者的预后有着极其重要的作用, 这就要求医生应该对该疾病有着全面的认知[11]. 该患者直系亲属中暂未发现患有同样疾病的人, 但由于Gardner综合征是一种常染色体显性遗传病, 因此建议患者家族成员尽早行基因筛查和胃肠镜检查, 若胃肠镜检查发现早期病变应予以内镜下切除, 同时积极宣教并加强患者及其家属对该疾病的认知, 做到早发现、早治疗, 这对于提高患者生存期和生存质量, 降低疾病并发症有着重要作用. 由于预防性手术治疗可以有效防止癌变, 医生可以在综合考虑患者病情轻重、患者意愿、年龄、生活质量等的基础上, 对手术方式和治疗方案进行个体化选择. 目前对于硬纤维瘤的主要治疗方式仍是以手术切除为主, 但其复发率较高[12].

7 参考文献

1 李晶英, 冯元春, 赵殿江, 刘剑羽, 宋伟, 吴猛. Gardner综合征的腹部CT表现. 中国医学影像学杂志 2018; 26: 671-675 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2018.09.008]
2 曹海龙, 王邦茂, 曹晓沧. Gardner和Turcot综合征的临床特点93例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3922-3925 [DOI: 10.11569/wcjd.v18.i36.3922]
3 姚翔, 胡敏杰, 吕斌, 张向征, 刘圣洁. Gardner综合征的综合诊断. 中国医学影像学杂志 2021; 29: 248-251 [DOI: 10.3969/j.issn. 1005-5185.2021.03.014]
4 唐粟, 张国权, 黄盛兴. Gardner综合征诊疗现状及进展. 口腔疾病防治 2017; 25: 677-680 [DOI: 10.12016/j.issn.2096-1456.2017.10.014]
5 Saito K, Sekine M, Goto F, Yamamoto H, Kaneda S, Sakai A, Iijima H, Yamauchi M, Yamazaki A, Okami K. Gardner syndrome with odontogenic sinusitis: A case report. *Clin Case Rep* 2021; 9: e04256 [PMID: 34194782 DOI: 10.1002/ccr3.4256]
6 Koh KJ, Park HN, Kim KA. Gardner syndrome associated with multiple osteomas, intestinal polyposis, and epidermoid cysts. *Imaging Sci Dent* 2016; 46: 267-272 [PMID: 28035305 DOI: 10.5624/isd.2016.46.4.267]
7 蔡健华, 赵任. Gardner综合征早期诊断和治疗新进展. 外科理论与实践 2010; 15: 201-203 [DOI: 10.16139/j.1007-9610.2010.02.007]
8 王石林, 顾国利. 遗传性结直肠肿瘤研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3075-3085 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2009.30.001]
9 Chen HM, Fang JY. Genetics of the hamartomatous polyposis syndromes: a molecular review. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 865-874 [PMID: 19381654 DOI: 10.1007/s00384-009-0714-2]
10 任宏宇, 刘俊. 胃肠道息肉的诊断和处理. 中国消化内镜 2008; 4: 11-17
11 Besteiro B, Gomes F, Costa C, Portugal R, Garrido I, Almeida J. Importance of Extraintestinal Manifestations in Early Diagnosis of Gardner Syndrome. *Case Rep Gastrointest Med* 2020; 2020: 7394928 [PMID: 32832171 DOI: 10.1155/2020/7394928]
12 胡平, 汤琪云. 家族性腺瘤性息肉病47例临床分析. 世界华人消化杂志 2018; 26: 1313-1319 [DOI: 10.11569/wcjd.v26.i21.1313]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2022年1月28日; 30(2): I-V
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

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学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学事业的发展, 提高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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, ℃), *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 kD改为*M*r 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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5

周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-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% CO_2应为50 mL/L CO_2; 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υ; (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^aP<0.05或^bP<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^cP<0.05和^dP<0.01; 第三套为^eP<0.05和^fP<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.

2.8 医学伦理问题及知情同意 (1)以人为研究对象的伦理、知情同意陈述: 当论文的主体是以人为研究对象时, 作者应说明其遵循的程序是否符合负责人体试验委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制订的伦理学标准, 以及是否获得了研究对象或其监护人的知情同意. 请提供伦理委员会批准文件(批准文号著录于手稿中)和知情同意书的PDF版本; (2)以动物为研究对象的伦理陈述: 所有研究人员需提倡人道地进行动物实验, 必须严格遵守动物实验的各项伦理条例. 请提供伦理委员会批准文件(批准文号著录于手稿中)的PDF版本. 注意: 以上两个伦理批准文件上必须有机构公章和签发日期.

2.9 关于图片或者表的引用 手稿中所有图片或者表的引用必须严格遵照BPG出版物引用图片或者表的政策. BPG出版物引用图与表的政策如下: (1)获取许可. 如果作者提交的手稿中引用了一张或者多张已发表的图片或者表, 或者拥有版权的图片和表, 作者必须提供之前的出版商或者版权拥有者出具的图片或者表可被再次发表的许可文件; (2)正确标注引用文献来源和版权. 举例如: Figure 1 Histopathological examination by hematoxylin-eosin staining (200×). A: Control group; B: Model group; C: Pioglitazone hydrochloride group; D: Chinese herbal medicine group. Citation: Yang JM, Sun Y, Wang M, Zhang XL, Zhang SJ, Gao YS, Chen L, Wu MY,

Zhou L, Zhou YM, Wang Y, Zheng FJ, Li YH. Regulatory effect of a Chinese herbal medicine formula on non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 5105-5119. Copyright ©The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. 如果作者未按照上述要求对已发表或受版权保护的图片或表格进行合理引用, 则将面临被BPG撤稿, 甚至被追究法律责任.

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志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献, 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

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 *关键词* 作者应在关键词列表中提供3-10个关键词, 来反映论文中的核心内容. 请尽量使用美国国立医学图书馆编辑的最新版Index Medicus中医学主题词表(MeSH)内所列的词. 必要时可采用惯用的自由词. 每个关键词之间用“;”分隔. 格式如: 肠道菌群; 急性胰腺炎; 慢性胰腺炎; 自身免疫性胰腺炎. 每个英文关键词第一个字母大写. 每个关键词之间用“;”分隔.

3.10 *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/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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.

4.7 *关键词* 作者应在关键词列表中提供3-10个关键词, 来反映论文中的核心内容. 每个关键词之间用“;”分隔. 格式如: 肠道菌群; 急性胰腺炎; 慢性胰腺炎; 自身免疫性胰腺炎. 每个英文关键词第一个字母大写. 每个关键词之间用“;”分隔.

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

© 2022 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.