

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2022 年 5 月 8 日 第 30 卷 第 9 期 (Volume 30 Number 9)



9 / 2022

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《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。



文献综述

- 381 肝素类药物防治肝硬化静脉血栓栓塞的研究进展
李喆, 许文涛, 许向波, 祁兴顺
- 387 儿童肝囊型包虫病诊治进展
孟凯, 周鸿乾, 安秀青, 王苗苗, 蔡剑平, 刘光辉, 阿吉德, 杨金煜

基础研究

- 393 Circ_0044516靶向调控miR-516a-5p对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响
方惠, 李莹, 桑怡
- 402 细胞色素P450家族成员CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2表达与HCC发生有关并可作为HCC诊断和预后的分子标志物
唐辉, 汪笑秋
- 411 基于生物信息学分析*STMN1*基因在肝细胞癌中预后及免疫浸润的临床意义
崔玉, 运涛, 赵国刚

病例报告

- 420 口腔恶性黑色素瘤伴胃转移出血1例报道
许一帆, 金善恩

消 息

- 401 《世界华人消化杂志》栏目设置
419 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯

封面故事

高泽立, 医学博士, 主任医师, 上海医大医院消化科, 上海交通大学医学院硕士研究生导师, 从事消化内科临床及教学工作30余年, 擅长慢性胃炎、胃食道反流病及早期胃癌的诊治, 对脂肪肝、慢性肝炎、肝硬化的诊治积累了丰富的经验, 先后承担上海市科委、教委课题, 2017年参与完成科技部国家支撑计划, 近5年在国内外杂志发表相关论著10篇, 其中4篇为SCI收录。

本期责任人

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2022-05-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

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.

Contents

Volume 30 Number 9 May 8, 2022

REVIEW

- 381 Heparins for prevention and treatment of venous thromboembolism in cirrhosis: Research advances

Li Z, Xu WT, Xu XB, Qi XS

- 387 Progress in diagnosis and treatment of hepatic cystic echinococcosis in children

Meng K, Zhou HQ, An XQ, Wang MM, Cai JP, Liu GH, A JD, Yang JY

BASIC RESEARCH

- 393 Circ_0044516 inhibits cell proliferation and migration and induces apoptosis in gastric cancer cells by targeting miR-516a-5p

Fang H, Li Y, Sang Y

- 402 Cytochrome P450 family members CYP2E1, CYP3A4, and CYP1A2 are related to prognosis of HCC and can be used as molecular markers for its diagnosis

Tang H, Wang XQ

- 411 Bioinformatics analysis of clinical significance of *STMN1* gene in prognosis and immune infiltration in hepatocellular carcinoma

Cui Y, Yun T, Zhao GG

CASE REPORT

- 420 Oral malignant melanoma with gastric metastasis and hemorrhage: A case report

Xu YF, Jin SE

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 30 Number 9 May 8, 2022

COVER

Editor-in-Chief of *World Chinese Journal of Digestology*, Ze-Li Gao, MD, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Medical Hospital, No. 39 Nijiajiao Road, Qingpu District, Shanghai 201702, China. gzeli@163.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date May 8, 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: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

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.

肝素类药物防治肝硬化静脉血栓栓塞的研究进展

李喆, 许文涛, 许向波, 祁兴顺

李喆, 许文涛, 许向波, 祁兴顺, 北部战区总医院消化内科 辽宁省沈阳市 110840

李喆, 许文涛, 许向波, 祁兴顺, 沈阳药科大学研究生院 辽宁省沈阳市 110016

李喆, 硕士研究生, 研究方向为消化疾病的药物治疗.

作者贡献分布: 所有作者对此文所作贡献均等; 本文由李喆查阅文献及撰写; 许文涛、许向波校正文章书写及格式; 祁兴顺撰写及审核.

通讯作者: 祁兴顺, 博士, 博士后, 副主任, 副主任医师, 110840, 辽宁省沈阳市文化路83号, 北部战区总医院消化内科. xingshunqi@126.com

收稿日期: 2022-02-09

修回日期: 2022-04-03

接受日期: 2022-04-18

在线出版日期: 2022-05-08

Heparins for prevention and treatment of venous thromboembolism in cirrhosis: Research advances

Zhe Li, Wen-Tao Xu, Xiang-Bo Xu, Xing-Shun Qi

Zhe Li, Wen-Tao Xu, Xiang-Bo Xu, Xing-Shun Qi, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Zhe Li, Wen-Tao Xu, Xiang-Bo Xu, Xing-Shun Qi, Postgraduate College, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Corresponding author: Xing-Shun Qi, MD, Deputy Director, Vice-Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, No. 83 Wenhua Road, Shenyang 110840, Liaoning Province, China. xingshunqi@126.com

Received: 2022-02-09

Revised: 2022-04-03

Accepted: 2022-04-18

Published online: 2022-05-08

Abstract

Current evidence suggests that liver cirrhosis may increase the

risk of venous thromboembolism (VTE). In cirrhosis, common types of VTE include portal vein thrombosis (PVT), deep vein thrombosis, and pulmonary embolism (PE). Heparins are the most commonly prescribed anticoagulants for the prevention and treatment of VTE. However, the indications, choice, dosage, and monitoring of heparins in cirrhosis remain inconclusive. This paper aims to review the advances in the research of heparins for the prevention and treatment of VTE in cirrhosis to optimize the treatment strategy.

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

Key Words: Heparins; Low molecular weight heparin; Fondaparinux sodium; Cirrhosis; Portal vein thrombosis; Deep vein thrombosis; Pulmonary embolism

Citation: Li Z, Xu WT, Xu XB, Qi XS. Heparins for prevention and treatment of venous thromboembolism in cirrhosis: Research advances. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(9): 381-386

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/381.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i9.381>

摘要

当前证据提示肝硬化可能增加静脉血栓栓塞风险. 肝硬化静脉血栓栓塞常见的类型包括门静脉血栓、深静脉血栓及肺栓塞. 作为临床最常用的抗凝药物, 肝素类药物是防治静脉血栓栓塞的重要手段. 然而, 肝硬化患者应用肝素类药物的适应症、药物种类、药物剂量及监测等问题尚无定论. 本文对肝素类药物防治肝硬化静脉血栓栓塞的研究进展作一综述, 为临床合理用药提供参考.

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

关键词: 肝素; 低分子肝素; 磺达肝癸钠; 肝硬化; 门静脉血栓; 深静脉血栓; 肺栓塞

核心提要: 肝素类药物可有效防治肝硬化门静脉血栓(portal vein thrombosis, PVT), 但对深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)/肺栓塞(pulmonary embolism, PE)的防治效果尚有待进一步验证。

文献来源: 李喆, 许文涛, 许向波, 祁兴顺. 肝素类药物防治肝硬化静脉血栓栓塞的研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(9): 381-386

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/381.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.381>

0 引言

传统观点认为肝硬化患者处于低凝状态, 出血风险高^[1]. 然而, 当前的证据提示肝硬化患者凝血系统处于“再平衡”状态, 不仅存在出血倾向, 而且常伴发多种静脉血栓栓塞性疾病(venous thromboembolism, VTE)^[2,3]. 肝硬化患者中, 最常发生VTE的部位是门静脉^[4]. 肝硬化患者发生门静脉血栓(portal vein thrombosis, PVT)的风险是普通人群的7倍^[5], 其发病率为3%-17%, 患病率为5%-26%^[6]. PVT可增加肝硬化患者消化道出血、腹水、急性肾损伤及肝移植术后死亡的风险^[7,8]. 此外, 肝硬化患者发生其他部位VTE的风险是普通人群的1.7倍^[9], 主要包括深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)和肺栓塞(pulmonary embolism, PE). 肝硬化患者DVT或PE发病率为0.2%-6.3%^[10,11], 患病率为0.4%-4.7%^[10,12]. 肝硬化合并DVT患者30 d死亡率为7%, 为非肝硬化患者的2.17倍; 肝硬化合并PE患者30 d死亡率为35%, 为非肝硬化患者的1.3倍^[13,14].

抗凝是预防及治疗肝硬化VTE的重要手段之一, 可显著减少肝硬化患者血栓发生率、增加血栓再通率, 甚至可以降低肝脏失代偿率并提高总体生存率^[15-18]. 肝素类药物是目前临床最常用的抗凝药物^[19], 主要包括普通肝素、低分子肝素(依诺肝素、那曲肝素、达肝素、达那肝素等)以及合成肝素(磺达肝癸钠等)^[19]. 2020年美国重症医学会指南^[18]推荐普通肝素及低分子肝素可用于预防及治疗肝硬化患者VTE, 但该推荐强度弱、证据质量低. 更值得一提的是, 肝硬化患者常合并食管胃底静脉曲张及血小板减少症, 故在临床实践中需考虑肝素类药物在肝硬化患者中应用的安全性^[20,21]. 目前, 肝硬化患者应用肝素类药物的适应症、药物种类、药物剂量及监测等问题尚无定论. 为此, 本文通过回顾国内外相关文献, 总结肝素类药物防治肝硬化VTE的研究进展, 为临床合理用药提供参考.

1 肝素类药物的种类与特点

普通肝素是一种硫酸化的葡萄糖胺聚糖混合物, 平均分子量为12 kDa^[22]. 其通过与抗凝血酶III(AT-III)特异性

结合, 加速灭活血浆中凝血因子II a、IX a、X a、XI a和XIII a^[23], 进而发挥抗凝作用. 普通肝素的生物利用度约为30%, 药物半衰期为30 min-60 min^[24]. 出血是普通肝素主要的不良反应, 可表现为各种黏膜出血、关节腔积血和伤口出血等. 普通肝素也可导致免疫诱导性血小板减少症, 发生率达5%, 多发生在给药后7 d-10 d.

低分子肝素是从普通肝素中分离或由普通肝素降解后得到的短链制剂, 一般分子量低于7 kDa^[24]. 由于分子链较短, 不能与AT-III和凝血因子II a同时结合形成复合物, 故主要对凝血因子X a发挥作用. 生物利用度约为90%. 药物半衰期为119 min-180 min, 约为普通肝素的2-4倍. 常见的不良反应有出血、免疫诱导性血小板减少症等. 临床常用的低分子肝素包括依诺肝素、那曲肝素、达肝素、达那肝素等.

磺达肝癸钠是一种以AT-III-肝素结合位点结构为基础人工合成的戊多糖. 仅对凝血因子X a发挥抑制作用. 与普通肝素和低分子肝素相比, 该药具有更高的生物利用度(100%)及更长的药物半衰期(17 h以上), 且基本上不会导致出血及免疫诱导性血小板减少症的不良反应^[25].

2 肝素类药物的剂量与监测

通常情况下, 普通肝素预防剂量为首剂皮下注射5000 U, 之后每12 h注射5000 U^[23], 治疗剂量为首剂静脉注射5000 U, 之后每1 h持续注射18 U/kg^[26], 用药4 h后应监测抗X a因子活性, 参考范围为0.35 U/mL-0.7 U/mL^[23]; 低分子肝素预防剂量为皮下注射4000 U-5000 U, 每日1次^[27]. 治疗剂量为皮下注射100 U/kg, 每日2次^[28], 用药4 h后同样应监测抗X a因子活性, 参考范围为0.6 U/mL-1.3 U/mL^[29]; 磺达肝癸钠治疗剂量为皮下注射2.5 mg, 每日1次^[19]. 然而, 目前研究不建议肝硬化患者根据抗X a因子活性调整剂量^[30-32], 可使用总体止血试验作为补充监测^[33-35]. Bechmann等^[30]发现, 接受标准剂量依诺肝素的肝硬化患者未能达到推荐的预防性及治疗性抗X a因子活性. 该研究纳入了84例肝硬化患者, 分别给予预防剂量(4000 U, 每日1次)及治疗剂量(100 U/kg, 每日1次)依诺肝素, 给药4 h后, 接受预防及治疗剂量的肝硬化患者的平均抗X a因子活性分别为(0.169±0.122) U/mL及(0.432±0.173) U/mL, 均低于参考范围. 此外, 依诺肝素给药后发生出血的患者比未发生出血的患者抗X a因子活性更低[(0.088±0.038) U/mL vs (0.174±0.016 U/mL)]. 因此, 肝硬化患者根据抗X a因子活性调整剂量并不可靠. 相比于抗X a因子活性监测, 总体止血试验, 如凝血酶生成试验, 可能会更精确、更高效地反映肝素类药物在肝硬化患者中的抗凝活性^[33-35]. Potte等^[34]留取了30例肝硬化患者及30例健康对照者的血浆

表 1 肝素类药物防治肝硬化静脉血栓栓塞的文献回顾

参考文献	抗凝例数	血栓范围	血栓程度	药物剂量、频次	治疗周期	治疗应答例数	相关不良事件例数
预防性应用							
Shatzel ^[68] (2015)	296	N/A	N/A	试验组: 普通肝素(5000 U, 每日1-2次)或依诺肝素(40 mg, 每日1次); 对照组: 无	N/A	试验组: DVT/PE或PVT(7); 对照组: DVT/PE或PVT(5)	试验组: 胃肠道出血(9), 非胃肠道出血(15), 死亡(5); 对照组: 胃肠道出血(10), 非胃肠道出血(7) 死亡(1)
Villa ^[37] (2012)	70	N/A	N/A	试验组: 依诺肝素(4000 U, 每日1次); 对照组: 无	48 wk	试验组: 无PVT; 对照组: PVT(10)	N/A
Vivarelli ^[40] (2010)	157	N/A	N/A	试验组: 那曲肝素(2850 U)或依诺肝素(4000 U); 对照组: 无	7 d	试验组: PE(1); 对照组: PVT(1)	试验组: 总出血事件(5); 对照组: 总出血事件(1)
治疗性应用							
Senzolo ^[51] (2021)	124	PVT(124)	N/A	磺达肝癸钠/低分子肝素(血小板减少症、严重肾功能障碍、胃肠道出血史、门脉高压胃病、行腹腔穿刺患者减量)	36 mo	磺达肝癸钠组: PVT完全(24)/部分(7)/无(10)再通; 低分子肝素组: PVT完全(32)/部分(10)/无(41)再通	磺达肝癸钠组: 总出血事件(11), 死亡(1); 低分子肝素组: 静脉曲张出血(3), 脑出血(2), 血小板减少症(3)
Summers ^[57] (2019)	82	DVT/PE(59); PVT(23)	N/A	普通肝素/低分子肝素	N/A	N/A	普通肝素组: 大出血(10), 小出血(3); 低分子肝素组: 无
Rodriguez-Castro ^[47] (2019)	65	PVT(65)	N/A	依诺肝素(PLT < 50 × 10 ⁹ /L或CC < 50 mL/min者减量)	3 mo-12 mo	PVT完全(25)/部分(6)/无(34)再通	大出血(2), 胃肠道出血(1), 脑出血(1)
Hayashi ^[43] (2019)	52	PVT(52)	N/A	达那肝素(1250 U, 每日1次)或联合抗凝血酶III(1500 U)	14 d	PVT体积平均减少72% PVT完全(20)/部分(36)/无(35)再通	无
Kwon ^[45] (2018)	91	PVT(91)	N/A	依诺肝素(1 mg/kg, 每日2次)/达肝素(200 U/kg, 每日1次, 1月后转为150 U/kg, 每日1次)	6 mo	磺达肝癸钠(2.5 mg, 每日1次)	总出血事件(13), 死亡(2)
Zhang ^[50] (2017)	7	PVT(7)	N/A	磺达肝癸钠(2.5 mg, 每日1次)	21 d	PVT完全(7)	无
Naeshiro ^[44] (2015)	26	PVT(26)	N/A	达那肝素(2500 U, 每日1次)	14 d	PVT完全(4)/部分(16)/无(6)再通	无
Cui ^[48] (2015)	65	PVT(65)	N/A	依诺肝素(1 mg/kg, 每日2次或1.5 mg/kg, 每日1次)	6 mo	PVT完全(17)/部分(34)/无(14)再通	注射部位出血(3), 鼻出血(5), 血尿(2)
Senzolo ^[49] (2012)	33	PVT(31)	部分(24); 完全(7)	那曲肝素(95 U/kg, 每日1次)	10 mo	PVT完全(12)/部分(9)/无(12)再通	鼻出血(1), 血尿(1), 脑出血(1), 血小板减少(1)
Amitrano ^[46] (2010)	28	PVT(28)	部分(23); 完全(5)	依诺肝素(200 U/kg, 每日1次)	6 mo-17 mo	PVT完全(21)/部分(2)/无(5)再通	无
García-Fuster ^[12] (2008)	17	DVT/PE(17)	N/A	低分子肝素或联合华法林	N/A	N/A	总出血事件(16)

N/A: 文献中未提供相关信息; PVT: 门静脉血栓; DVT: 深静脉血栓; PE: 肺栓塞; PLT: 血小板计数; CCr: 肌酐清除率。

样本, 分别添加0.3 U/mL普通肝素、0.2 U/mL依诺肝素及0.5 μg/mL磺达肝癸钠。结果显示, 肝硬化患者凝血酶生成曲线下面积的下降幅度较健康对照者更大, 这说明肝硬化患者对普通肝素及低分子肝素的反应增加^[36], 抗凝效果增强, 建议减量使用^[34]; 而磺达肝癸钠在肝硬化患者血浆中的反应降低, 抗凝效果减弱, 建议增加剂量^[34]。然而, 这一结论并未考虑到肝硬化患者体内血小板对凝血过程的影响。尚不清楚调整剂量后的肝素类药物是否

能在肝硬化患者体内最大限度地发挥药物疗效以及减少不良反应。总之, 目前仍需更多的临床研究探讨凝血酶生成试验以及其他监测方法对指导肝素类药物剂量调整的临床实用价值。

3 肝素类药物在肝硬化VTE中的预防价值

低分子肝素可有效安全地预防肝硬化患者发生PVT(表1)。一项随机对照试验结果显示^[37], 48 wk及96 wk时, 接受依

诺肝素预防的患者无一例发生PVT, 未接受依诺肝素的患者PVT发生率分别为16.6%及27.7%; 随访结束时, 接受依诺肝素预防的患者PVT发生率显著低于未接受依诺肝素的患者(8.8% vs 27.7%, $P = 0.006$); 两组间出血事件发生率无显著性差异(5.8% vs 2.7%, $P = 0.521$)。该研究也显示^[37], 接受依诺肝素预防的患者肝脏失代偿率(38.2% vs 83.0%, $P < 0.0001$)及死亡率(23.5% vs 36.1%, $P = 0.251$)均更低。基于此, 2016年意大利肝病学会和意大利医学学会有关肝硬化止血平衡的共识建议将低分子肝素用于预防肝硬化PVT^[38]。

最近, 我国抗凝药物指南推荐低分子肝素可作为预防肝硬化患者DVT/PE的首选药物^[39], 但证据尚不充分。一项回顾性研究发现^[40], 与未接受低分子肝素预防的患者相比, 接受低分子肝素预防的患者DVT/PE发生率更低(0.63% vs 1.38%, $P = 0.530$), 出血发生率更高(3.18% vs 1.38%, $P = 0.380$), 但两组间无显著差异(表1)。荟萃分析结果显示^[41], 接受与未接受肝素类药物预防的肝硬化患者之间DVT/PE发生率也无显著性差异($OR = 1.65$, 95%CI: 0.36-7.54, $P > 0.05$)。因此, 肝素类药物预防肝硬化DVT/PE的确切疗效仍有待更为严格的随机对照试验加以验证。

4 肝素类药物在肝硬化VTE中的治疗价值

2020年, 我国《肝硬化门静脉血栓管理专家共识》建议^[6], 肝硬化PVT抗凝治疗的主要适应证为急性症状性PVT、等待肝移植、合并肠系膜静脉血栓。主要禁忌证为近期出血史、严重的食管胃静脉曲张、严重的小血小板减少症。近年的研究发现, 肝素类药物治疗肝硬化PVT具有重要作用, 但易引起出血事件及血小板减少症等不良反应^[42](表1)。肝硬化PVT患者经达那肝素治疗2 wk后^[43,44], PVT体积可平均缩小72%-77%, 完全再通率为15%, 部分再通率为62%, 未发生大出血、血小板减少、肝损伤等不良反应。肝硬化PVT患者经达肝素或依诺肝素抗凝治疗6 mo后^[45-48], 治疗应答率(包括完全再通及部分再通)为61%-78.5%, 无应答率为16.7%-30.8%, PVT进展率为4.4%, 总体出血率为4%-23.5%^[45,47,48], 致死性出血率为2.1%^[45]。肝硬化PVT患者经那曲肝素治疗5.5 mo后^[49], 治疗应答率(包括完全再通及部分再通)为63%, 总体出血率为8.5%。肝硬化PVT患者经磺达肝癸钠治疗21 d后^[50], 完全再通率为100%, 未发生出血或血小板减少等不良反应, 但该研究样本量小(仅7例患者), 且治疗时间较短(仅21 d)。最近, 一项回顾性研究比较了低分子肝素与磺达肝癸钠治疗肝硬化PVT患者36 mo后的疗效^[51], 接受磺达肝癸钠治疗患者的治疗应答率(77% vs 51%, $P = 0.001$)及出血事件发生率(27% vs 13%, $P = 0.06$)均高于接受低分子肝素治疗患者。荟萃分析结果显示^[52], 低分子肝素及磺达肝癸钠治疗

肝硬化PVT后, 治疗应答率分别为71.2%及71.6%, 完全再通率分别为41.0%及43.0%, 总体出血事件发生率分别为6.5%及15.1%。尽管磺达肝癸钠给药剂量固定^[53], 且无血小板减少等不良反应^[54], 但该药在肝硬化患者中似乎有着较高的出血率。因此, 低分子肝素被推荐作为治疗肝硬化PVT的首选肝素类药物^[6,55,56], 疗程为6 mo或直至门静脉再通^[56]。

两项回顾性研究探讨了普通肝素及低分子肝素治疗肝硬化DVT/PE患者的安全性(表1); 2008年, Garcia-Fuster等发现^[12], 接受低分子肝素治疗的患者有着较高的出血率。该研究纳入了1992-2007住院的17例肝硬化DVT/PE患者。其中, 11例接受低分子肝素治疗, 6例接受低分子肝素序贯华法林治疗。治疗期间, 16例发生出血, 6例需要输注血液制品, 14例因严重的出血事件不得不提前中止应用抗凝药物, 出血率达83%。然而, 2020年, Summers等发现^[57], 相比于普通肝素, 接受低分子肝素治疗的肝硬化DVT/PE及PVT患者有着较低的出血率。该研究纳入了59例肝硬化DVT/PE患者及23例PVT患者, 其中接受普通肝素治疗52例, 大出血率为19.2%, 小出血率为5.8%; 低分子肝素治疗30例, 大、小出血率均为0%。因此, 普通肝素及低分子肝素在肝硬化DVT/PE患者中的安全性仍存在争议。

5 结论

肝硬化患者使用肝素类药物时, 不推荐通过监测抗Xa因子活性调整用药剂量; 相比之下, 总体止血试验可能会更好地评估肝素类药物的抗凝效果及安全性。肝素类药物可有效防治肝硬化PVT, 但对DVT/PE的防治效果尚有待进一步验证。

6 参考文献

- 1 Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 147-156 [PMID: 21751907 DOI: 10.1056/NEJMr1011170]
- 2 He Y, Yuan S, Guo X, Yi F, Xu X, An Y, Xu S, Ageno W, Qi X. Association of thromboelastography profile with severity of liver cirrhosis and portal venous system thrombosis. *BMC Gastroenterol* 2021; 21: 253 [PMID: 34098892 DOI: 10.1186/s12876-021-01832-3]
- 3 Zhang X, Qi X, De Stefano V, Zhu Z, Qiao R, Guo X. Impact of liver cirrhosis on the outcomes of patients with venous thromboembolism: A case-control study. *AME Med J* 2017; 2: 26 [DOI: 10.21037/amj.2017.02.11]
- 4 Amitrano L, Guardascione MA, Brancaccio V, Balzano A. Coagulation disorders in liver disease. *Semin Liver Dis* 2002; 22: 83-96 [PMID: 11928081 DOI: 10.1055/s-2002-23205]
- 5 Chun HS, Choe AR, Lee M, Cho Y, Kim HY, Yoo K, Kim TH. Treatment of direct oral anticoagulants in patients with liver cirrhosis and portal vein thrombosis. *Clin Mol Hepatol* 2021; 27: 535-552 [PMID: 34130370 DOI: 10.3350/cmh.2021.0109]
- 6 祁兴顺, 杨玲. 肝硬化门静脉血栓管理专家共识(2020年, 上海). 临床肝胆病杂志 2020; 36: 2667-2674 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256]
- 7 Qi X, Su C, Ren W, Yang M, Jia J, Dai J, Xu W, Guo X. Association between portal vein thrombosis and risk of bleeding in liver

- cirrhosis: A systematic review of the literature. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2015; 39: 683-691 [PMID: 25956490 DOI: 10.1016/j.clinre.2015.02.012]
- 8 Ghabril M, Agarwal S, Lacerda M, Chalasani N, Kwo P, Tector AJ. Portal vein thrombosis is a risk factor for poor early outcomes after liver transplantation: Analysis of risk factors and outcomes for portal vein thrombosis in waitlisted patients. *Transplantation* 2016; 100: 126-133 [PMID: 26050013 DOI: 10.1097/tp.0000000000000785]
 - 9 Ambrosino P, Tarantino L, Di Minno G, Paternoster M, Graziano V, Petitto M, Nasto A, Di Minno MN. The risk of venous thromboembolism in patients with cirrhosis. A systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost* 2017; 117: 139-148 [PMID: 27761574 DOI: 10.1160/th16-06-0450]
 - 10 Qi X, Ren W, Guo X, Fan D. Epidemiology of venous thromboembolism in patients with liver diseases: A systematic review and meta-analysis. *Intern Emerg Med* 2015; 10: 205-217 [PMID: 25472621 DOI: 10.1007/s11739-014-1163-7]
 - 11 Zhang X, Qi X, De Stefano V, Hou F, Ning Z, Zhao J, Peng Y, Li J, Deng H, Li H, Guo X. Epidemiology, risk factors, and in-hospital mortality of venous thromboembolism in liver cirrhosis: A single-center retrospective observational study. *Med Sci Monit* 2016; 22: 969-976 [PMID: 27009380 DOI: 10.12659/msm.896153]
 - 12 García-Fuster MJ, Abdilla N, Fabiá MJ, Fernández C, Oliver V, Forner M J. Venous thromboembolism and liver cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 259-262 [PMID: 18662076 DOI: 10.4321/s1130-01082008000500002]
 - 13 Søgaard KK, Horváth-Puhó E, Montomoli J, Vilstrup H, Sørensen HT. Cirrhosis is associated with an increased 30-day mortality after venous thromboembolism. *Clin Transl Gastroenterol* 2015; 6: e97 [PMID: 26133110 DOI: 10.1038/ctg.2015.27]
 - 14 Qi X, Mancuso A. Venous thromboembolism in liver cirrhosis: An emerging issue. *Embol Diseases - Unusual Therapies and Challenges* 2017; 6 [DOI: 10.5772/67707]
 - 15 Qi X, De Stefano V, Li H, Dai J, Guo X, Fan D. Anticoagulation for the treatment of portal vein thrombosis in liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Intern Med* 2015; 26: 23-29 [PMID: 25566699 DOI: 10.1016/j.ejim.2014.12.002]
 - 16 Qi X, Han G, Fan D. Management of portal vein thrombosis in liver cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 435-446 [PMID: 24686266 DOI: 10.1038/nrgastro.2014.36]
 - 17 Loffredo L, Pastori D, Farcomeni A, Violi F. Effects of anticoagulants in patients with cirrhosis and portal vein thrombosis: A systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2017; 153: 480-487 [PMID: 28479379 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.042]
 - 18 Nanchal R, Subramanian R, Karvellas CJ, Hollenberg SM, Peppard WJ, Singbartl K, Truweit J, Al-Khafaji AH, Killian AJ, Alquraini M, Alshammari K, Alshamsi F, Belley-Cote E, Cartin-Ceba R, Dionne JC, Galusca DM, Huang DT, Hyzy RC, Junek M, Kandiah P, Kumar G, Morgan RL, Morris PE, Olson JC, Sieracki R, Steadman R, Taylor B, Alhazzani W. Guidelines for the management of adult acute and acute-on-chronic liver failure in the ICU: Cardiovascular, endocrine, hematologic, pulmonary, and renal considerations. *Crit Care Med* 2020; 48: e173-e191 [PMID: 32058387 DOI: 10.1097/ccm.0000000000004192]
 - 19 Onishi A, St Ange K, Dordick JS, Linhardt RJ. Heparin and anticoagulation. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2016; 21: 1372-1392 [PMID: 27100512 DOI: 10.2741/4462]
 - 20 Wang L, Xu X, Hou Y, Shao X, Guo X, Qi X. Acute mesenteric vein thrombosis after endoscopic injection sclerotherapy for esophageal varices in a patient with liver cirrhosis. *Drug Discov Ther* 2019; 13: 118-121 [PMID: 31080203 DOI: 10.5582/ddt.2019.01014]
 - 21 Xu X, Guo X, Wang R, Wang L, Li Q, Yi F, Li H, Qi X. Low-molecular-weight heparin followed by rivaroxaban for acute occlusive portomesenteric vein thrombosis in a cirrhotic patient treated with multiple endoscopic variceal procedures. *Ann Hepatol* 2020; 19: 573-577 [PMID: 31521463 DOI: 10.1016/j.jaohep.2019.08.002]
 - 22 季晖. 药理学. 南京东南大学出版社, 2019
 - 23 Baglin T, Barrowcliffe TW, Cohen A, Greaves M; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the use and monitoring of heparin. *Br J Haematol* 2006; 133: 19-34 [PMID: 16512825 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05953.x]
 - 24 罗振, 张天民. 低分子肝素的分子量与抗血栓作用的关系. *中国医药工业杂志* 1991; 3: 140-141 [DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.1991.03.018]
 - 25 Ashish K, Bandyopadhyay D, Hajra A, Ghosh RK. Possible use of fondaparinux in heparin-induced thrombocytopenia. *Int J Cardiol* 2018; 256: 3 [PMID: 29454410 DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.12.029]
 - 26 Carson JL. Subcutaneous unfractionated heparin vs low-molecular-weight heparin for acute thromboembolic disease: issues of efficacy and cost. *JAMA* 2006; 296: 991-993 [PMID: 16926359 DOI: 10.1001/jama.296.8.991]
 - 27 《中国血栓性疾病防治指南》专家委员会. 中国血栓性疾病防治指南. *中华医学杂志* 2018; 98: 2861-2888 [DOI: 10.3760/cma.jissn.0376-2491.2018.36.002]
 - 28 吴雯翔, 孔德润. 门静脉血栓诊治的一些新认识. *世界华人消化杂志* 2021; 4: 165-173 [DOI: 10.11569/wjcd.v29.i4.165]
 - 29 邱平, 李绵洋. 抗Xa活性检测在抗凝治疗中的临床应用现状与前景. *协和医学杂志* 2021; 12: 456-459 [DOI: 10.12290/xhyxzz.2021-0424]
 - 30 Bechmann LP, Sichau M, Wichert M, Gerken G, Kröger K, Hilgard P. Low-molecular-weight heparin in patients with advanced cirrhosis. *Liver Int* 2011; 31: 75-82 [PMID: 20958919 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02358.x]
 - 31 Potze W, Arshad F, Adelmeijer J, Blokzijl H, van den Berg AP, Porte RJ, Lisman T. Routine coagulation assays underestimate levels of antithrombin-dependent drugs but not of direct anticoagulant drugs in plasma from patients with cirrhosis. *Br J Haematol* 2013; 163: 666-673 [PMID: 24219333 DOI: 10.1111/bjh.12593]
 - 32 Franz ND, Brancaccio A, Robinson AC, Regal RE. Cirrhosis, Thrombosis, Finding FaXts about doses: Dosing of unfractionated heparin for venous thromboembolism in cirrhosis. *Ann Pharmacother* 2020; 54: 450-456 [PMID: 31766856 DOI: 10.1177/1060028019890028]
 - 33 Altman R, Scazzioa AS, Pons S, Herrera L, Keller AG, Assefi AR, Di Girolamo G. Effects of enoxaparin preparations on thrombin generation and their correlation with their anti-FXa activity. *Curr Med Res Opin* 2011; 27: 1-9 [PMID: 21083516 DOI: 10.1185/03007995.2010.535512]
 - 34 Potze W, Arshad F, Adelmeijer J, Blokzijl H, van den Berg AP, Meijers JC, Porte RJ, Lisman T. Differential in vitro inhibition of thrombin generation by anticoagulant drugs in plasma from patients with cirrhosis. *PLoS One* 2014; 9: e88390 [PMID: 24505487 DOI: 10.1371/journal.pone.0088390]
 - 35 Tripodi A, Primignani M, Braham S, Chantarangkul V, Clerici M, Moia M, Peyvandi F. Coagulation parameters in patients with cirrhosis and portal vein thrombosis treated sequentially with low molecular weight heparin and vitamin K antagonists. *Dig Liver Dis* 2016; 48: 1208-1213 [PMID: 27470055 DOI: 10.1016/j.dld.2016.06.027]
 - 36 Thomas O, Lybeck E, Strandberg K, Tynngård N, Schött U. Monitoring low molecular weight heparins at therapeutic levels: dose-responses of, and correlations and differences between aPTT, anti-factor Xa and thrombin generation assays. *PLoS One* 2015; 10: e0116835 [PMID: 25625201 DOI: 10.1371/journal.pone.0116835]
 - 37 Villa E, Cammà C, Marietta M, Luongo M, Critelli R, Colopi S, Tata C, Zecchini R, Gitto S, Petta S, Lei B, Bernabucci V, Vukotic R, De Maria N, Schepis F, Karampatou A, Caporali C, Simoni L, Del Buono M, Zambotto B, Turola E, Fornaciari G, Schianchi S, Ferrari A, Valla D. Enoxaparin prevents portal vein thrombosis

- and liver decompensation in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology* 2012; 143: 1253-1260 [PMID: 22819864 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.07.018]
- 38 Italian Association for the Study of Liver Diseases (AISF) and the Italian Society of Internal Medicine (SIMI). Hemostatic balance in patients with liver cirrhosis: Report of a consensus conference. *Dig Liver Dis* 2016; 48: 455-467 [PMID: 27012444 DOI: 10.1016/j.dld.2016.02.008]
 - 39 王乔宇, 武明芬, 柳鑫, 王晓岩, 陈耀龙, 赵志刚. 2021中国静脉血栓栓塞症防治抗凝药物的选用与药学监护指南. *中国临床药理学杂志* 2021; 37: 2999-3016 [DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2021.21.032]
 - 40 Vivarelli M, Zanella M, Zanfi C, Cucchetti A, Ravaioli M, Del Gaudio M, Cescon M, Lauro A, Montanari E, Grazi GL, Pinna AD. Prophylaxis for venous thromboembolism after resection of hepatocellular carcinoma on cirrhosis: is it necessary? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2146-2150 [PMID: 20440855 DOI: 10.3748/wjg.v16.i17.2146]
 - 41 Gómez Cuervo C, Bisbal Pardo O, Pérez-Jacoiste Asín MA. Efficacy and safety of the use of heparin as thromboprophylaxis in patients with liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res* 2013; 132: 414-419 [PMID: 23993900 DOI: 10.1016/j.thromres.2013.08.001]
 - 42 Lee GY, Hua N, Yu M, Hsieh TC. Unusual cause for abdominal pain: Portal vein thrombosis. *American Journal of Gastroenterology* 2020; 115: S1824 [DOI: 10.14309/01.ajg.0000716164.87480.7a]
 - 43 Hayashi T, Takatori H, Horii R, Nio K, Terashima T, Iida N, Kitahara M, Shimakami T, Arai K, Kitamura K, Kawaguchi K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, Honda M, Toyama T, Okumura K, Kozaka K, Kaneko S. Danaparoid sodium-based anticoagulation therapy for portal vein thrombosis in cirrhosis patients. *BMC Gastroenterol* 2019; 19: 217 [PMID: 31842768 DOI: 10.1186/s12876-019-1140-8]
 - 44 Naeshiro N, Aikata H, Hyogo H, Kan H, Fujino H, Kobayashi T, Fukuhara T, Honda Y, Nakahara T, Ohno A, Miyaki D, Murakami E, Kawaoka T, Tsuge M, Hiraga N, Hiramatsu A, Imamura M, Kawakami Y, Ochi H, Chayama K. Efficacy and safety of the anticoagulant drug, danaparoid sodium, in the treatment of portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Res* 2015; 45: 656-662 [PMID: 25088236 DOI: 10.1111/hepr.12400]
 - 45 Kwon J, Koh Y, Yu SJ, Yoon JH. Low-molecular-weight heparin treatment for portal vein thrombosis in liver cirrhosis: Efficacy and the risk of hemorrhagic complications. *Thromb Res* 2018; 163: 71-76 [PMID: 29407630 DOI: 10.1016/j.thromres.2018.01.032]
 - 46 Amitrano L, Guardascione MA, Menchise A, Martino R, Scaglione M, Giovine S, Romano L, Balzano A. Safety and efficacy of anticoagulation therapy with low molecular weight heparin for portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 448-451 [PMID: 19730112 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181b3ab44]
 - 47 Rodriguez-Castro KI, Vitale A, Fadin M, Shalaby S, Zerbinati P, Sartori MT, Landi S, Pettinari I, Piscaglia F, Han G, Burra P, Simioni P, Senzolo M. A prediction model for successful anticoagulation in cirrhotic portal vein thrombosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2019; 31: 34-42 [PMID: 30188408 DOI: 10.1097/meg.0000000000001237]
 - 48 Cui SB, Shu RH, Yan SP, Wu H, Chen Y, Wang L, Zhu Q. Efficacy and safety of anticoagulation therapy with different doses of enoxaparin for portal vein thrombosis in cirrhotic patients with hepatitis B. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015; 27: 914-919 [PMID: 25856686 DOI: 10.1097/meg.0000000000000351]
 - 49 Senzolo M, M Sartori T, Rossetto V, Burra P, Cillo U, Boccagni P, Gasparini D, Miotto D, Simioni P, Tsochatzis E, A Burroughs K. Prospective evaluation of anticoagulation and transjugular intrahepatic portosystemic shunt for the management of portal vein thrombosis in cirrhosis. *Liver Int* 2012; 32: 919-927 [PMID: 22435854 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02785.x]
 - 50 Zhang ZH, Zhang JW, He P, Zhou Y, Sun CY. Fondaparinux is effective for acute portal vein thrombosis in decompensated cirrhotic patients. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e8256 [PMID: 29049216 DOI: 10.1097/MD.00000000000008256]
 - 51 Senzolo M, Piano S, Shalaby S, Tonon M, Tonello S, Zanetto A, Sacerdoti D, Simioni P, Bombonato G, Burra P, Angeli P. Comparison of fondaparinux and low-molecular-weight heparin in the treatment of portal vein thrombosis in cirrhosis. *Am J Med* 2021; 134: 1278-1285.e2 [PMID: 34197784 DOI: 10.1016/j.amjmed.2021.05.013]
 - 52 Wang L, Guo X, Xu X, De Stefano V, Plessier A, Noronha Ferreira C, Qi X. Anticoagulation favors thrombus recanalization and survival in patients with liver cirrhosis and portal vein thrombosis: Results of a meta-analysis. *Adv Ther* 2021; 38: 495-520 [PMID: 33155180 DOI: 10.1007/s12325-020-01550-4]
 - 53 Bauer KA, Hawkins DW, Peters PC, Petitou M, Herbert JM, van Boeckel CA, Meuleman DG. Fondaparinux, a synthetic pentasaccharide: The first in a new class of antithrombotic agents - the selective factor Xa inhibitors. *Cardiovasc Drug Rev* 2002; 20: 37-52 [PMID: 12070533 DOI: 10.1111/j.1527-3466.2002.tb00081.x]
 - 54 Schindewolf M, Steindl J, Beyer-Westendorf J, Schellong S, Dohmen PM, Brachmann J, Madlener K, Pötzsch B, Klamroth R, Hankowitz J, Banik N, Eberle S, Müller MM, Kropff S, Lindhoff-Last E. Use of fondaparinux off-label or approved anticoagulants for management of heparin-induced thrombocytopenia. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70: 2636-2648 [PMID: 29169470 DOI: 10.1016/j.jacc.2017.09.1099]
 - 55 Northup PG, Garcia-Pagan JC, Garcia-Tsao G, Intagliata NM, Superina RA, Roberts LN, Lisman T, Valla DC. Vascular liver disorders, portal vein thrombosis, and procedural bleeding in patients with liver disease: 2020 practice guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2021; 73: 366-413 [PMID: 33219529 DOI: 10.1002/hep.31646]
 - 56 de Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, Reiberger T, Ripoll C, Baveno VII Faculty. Baveno VII - Renewing consensus in portal hypertension. *J Hepatol* 2022; 76: 959-974 [PMID: 35120736 DOI: 10.1016/j.jhep.2021.12.022]
 - 57 Summers KL, Davis KA, Nisly SA. Bleeding risk of therapeutic unfractionated heparin and low molecular weight heparin in patients with cirrhosis. *Clin Drug Investig* 2020; 40: 191-196 [PMID: 31755014 DOI: 10.1007/s40261-019-00875-5]
 - 58 Shatzel J, Dulai PS, Harbin D, Cheung H, Reid TN, Kim J, James SL, Khine H, Batman S, Whyman J, Dickson RC, Ornstein DL. Safety and efficacy of pharmacological thromboprophylaxis for hospitalized patients with cirrhosis: A single-center retrospective cohort study. *J Thromb Haemost* 2015; 13: 1245-1253 [PMID: 25955079 DOI: 10.1111/jth.13000]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



儿童肝囊型包虫病诊治进展

孟凯, 周鸿乾, 安秀青, 王苗苗, 蔡剑平, 刘光辉, 阿吉德, 杨金煜

孟凯, 周鸿乾, 青海大学研究生院 青海省西宁市 810016

安秀青, 王苗苗, 蔡剑平, 刘光辉, 阿吉德, 杨金煜, 青海省人民医院普外科 青海省西宁市 810007

孟凯, 在读硕士, 主要从事肝胆方向研究.

基金项目: 青海省卫生计生系统指导性计划课题, No. 2020-wjzdx-27.

作者贡献分布: 本文综述由孟凯、周鸿乾、安秀青、王苗苗、蔡剑平、刘光辉、阿吉德完成; 杨金煜审核.

通讯作者: 杨金煜, 教授, 主任医师, 810007, 青海省西宁市城东区共和路2号, 青海省人民医院普外科. qhyjy333@163.com

收稿日期: 2022-03-03

修回日期: 2022-03-18

接受日期: 2022-04-05

在线出版日期: 2022-05-08

Progress in diagnosis and treatment of hepatic cystic echinococcosis in children

Kai Meng, Hong-Qian Zhou, Xiu-Qing An, Miao-Miao Wang, Jian-Ping Cai, Guang-Hui Liu, Ji-De A, Jin-Yu Yang

Kai Meng, Hong-Qian Zhou, Graduate School of Qinghai University, Xining 810016, Qinghai Province, China

Xiu-Qing An, Miao-Miao Wang, Jian-Ping Cai, Guang-Hui Liu, Ji-De A, Jin-Yu Yang, Department of General Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810007, Qinghai Province, China

Supported by: Qinghai Province Health and Family Planning System Guidance Program Topics, No. 2020-wjzdx-27.

Corresponding author: Jin-Yu Yang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, No. 2 Gonghe Road, Chengdong District, Xining 810007, Qinghai Province, China. qhyjy333@163.com

Received: 2022-03-03

Revised: 2022-03-18

Accepted: 2022-04-05

Published online: 2022-05-08

Abstract

Hepatic cystic echinococcosis is a zoonotic parasitic disease caused by infection with *Echinococcus granulosus* that is widely distributed worldwide. As a special population, children are the key population for the prevention and treatment of echinococcosis, and are also the key target for monitoring in large-scale prevention and treatment. The symptoms of hepatic cystic echinococcosis in children are atypical and easy to be misdiagnosed, and irregular treatment can easily lead to recurrence or even death. This paper provides a review of the diagnosis and treatment modalities for hepatic cystic echinococcosis in children.

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

Key Words: Children; Hepatic cystic echinococcosis; Diagnosis; Treatment

Citation: Meng K, Zhou HQ, An XQ, Wang MM, Cai JP, Liu GH, A JD, Yang JY. Progress in diagnosis and treatment of hepatic cystic echinococcosis in children. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(9): 387-392

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/387.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i9.387>

摘要

肝包虫病是一种全世界广泛分布的由棘球绦虫感染引起的人畜共患寄生虫病。儿童处于特殊的年龄阶段, 不仅是棘球绦虫病的重点防治人群, 也是大规模防治中的重点监测对象。儿童肝囊型包虫病症状不典型, 易误诊, 治疗不规范易导致复发甚至死亡, 因此本文从儿童肝囊型包虫病的诊断和治疗方式作一综述。

© The Author(s) 2022. Published by Baishideng Publishing

Group Inc. All rights reserved.

关键词: 儿童; 肝囊型包虫病; 诊断; 治疗

核心提要: 儿童肝囊型包虫病具有与成人不同的临床特征, 需要结合临床表现、影像学、实验室检查明确诊断。该病治疗方法较多, 儿童作为特殊群体, 应制定个体化治疗方案, 手术以损伤控制性原则为主导思想, 注重患儿的身心健康。

文献来源: 孟凯, 周鸿乾, 安秀青, 王苗苗, 蔡剑平, 刘光辉, 阿吉德, 杨金煜. 儿童肝囊型包虫病诊治进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(9): 387-392

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/387.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.387>

0 引言

棘球蚴病(echinococcosis)又称为包虫病(hydatidosis), 是由棘球蚴的幼虫即棘球蚴寄生引起的一种世界性人畜共患寄生虫病。主要在地中海地区、南美、澳大利亚、新西兰、中东、中亚、中国和东非流行^[1,2]。我国是全球包虫病流行最严重的国家之一, 主要流行于西北部畜牧业发达的省区。我国包虫病主要分为两类: 一类为细粒棘球蚴引起的囊型包虫病(cystic echinococcosis, CE), 另一类为多房棘球蚴引起的泡型包虫病(alveolar echinococcosis, AE)。棘球蚴虫卵被人类误食后主要经门脉系统进入肝脏, 因此肝脏是包虫病发病率最高的器官, 约占包虫病总例数的70%^[3,4]。

包虫病一般多发生于成人, 但感染的高峰年龄主要为儿童期^[5,6]。儿童肝包虫病是常见的寄生虫病, 是最具代表性的早期棘球蚴病, 也是危害儿童健康的常见疾病, 这与儿童免疫系统尚不健全以及牧区儿童不良生活习惯、医疗卫生条件落后有必然联系。据报道^[7], 在全球范围内, 果洛藏族自治州儿童包虫病患病率最高(2.1%), 其中, 女孩的患病率高于男孩, 且患病率总体上呈现出随年龄增长的趋势。儿童肝囊型包虫病早期诊断较为困难, 需要通过影像学及实验室检查辅助诊断。外科手术仍是儿童肝囊型包虫病的首选治疗方法, 但与成人不同, 该人群的治疗更应该注重患儿的身心健康。所以, 笔者认为手术应以损伤控制性原则为主导思想。目前, 国内外对抗包虫病药物的研究进展较快, 也为更多患儿带来了新的希望。现本文就儿童肝囊型包虫病的诊断和治疗方式作一综述, 旨在为儿童肝囊型包虫病的诊断与治疗提供一定参考。

1 儿童肝囊型包虫病的诊断

根据《包虫病诊断标准》(WS257-2006), 儿童肝囊型包虫病主要是依靠流行病学史、临床表现、影像学检查

及实验室检查、病原学检查等手段明确诊断。

1.1 临床表现 患儿大多有流行地区居住史, 或与犬、牲畜及其粪便直接或间接接触史。多数儿童感染肝囊型包虫病后临床表现缺乏特异性, 多与囊肿的大小、所在部位、类型、并发症有关, 早期可无症状或症状轻微, 缺乏典型临床表现, 家长往往因包块增大才引起注意。许多病例被诊断时已处于晚期甚至复杂的阶段^[8]。在少数存在症状的患儿中, 右上腹部或上腹部疼痛最常出现, 部分患儿伴有贫血、低蛋白血症、消瘦、体重减轻等消耗性症状^[9]。当囊肿增大至一定阶段时, 患儿可因压迫胃肠道引起腹胀、恶心、呕吐等症状, 也可因压迫胆道引起梗阻性黄疸症状^[10]。如果囊肿继续增大或受到外伤、腹内压增高、囊液感染致破裂, 患儿可出现全身皮疹、过敏反应、过敏性休克等表现^[11]。研究表明^[12], 与成人相比, 儿童肝囊型包虫病具有以下特征: (1)儿童肝脏的含氧量和血流量较成人多, 纤维结缔组织较少, 包虫生长和繁殖的阻力小, 导致寄生在小儿肝脏的包虫囊肿较寄生在成人肝脏的包虫囊肿增长更快, 且更容易通过肝脏屏障到达其他器官生长; (2)由于儿童肝脏组织疏松, 多数患儿肝脏包虫囊肿呈现多发, 而多数成人患者肝脏包虫囊肿呈现单发; (3)患儿病程较短, 儿童阶段处于早期感染期, 在此阶段包虫囊肿多呈现单囊、活力旺盛状态; (4)儿童包虫囊肿体积大、囊壁菲薄, 而儿童喜爱活动和玩耍, 导致包虫囊肿破裂、压迫等并发症较成人多。儿童年龄小, 表达及理解能力差, 因此患儿入院后应仔细询问病史, 以防误诊与漏诊。

1.2 影像学检查

1.2.1 X线: 通过腹平片可看到突出肝脏的囊肿表现为密度较高的半球形阴影; 肝顶部或者较大的囊肿致膈肌上移; 囊肿外囊钙化时表现为环形高密度影; 含气体的囊腔表现为液气平征象。但小儿肝包虫囊肿多位于肝脏实质内, 因此腹平片对于儿童肝囊型包虫病诊断价值不大。

1.2.2 B超: B超检查对小儿肝包虫囊肿的诊断准确率高(约为90%), 有助于确定囊肿内部结构(囊壁厚、子囊等)、数量和位置, 且为非侵入性检查、价格低廉、操作简便, 是目前筛选和诊断儿童肝囊性包虫病的首选检查技术^[9,13]。《包虫病诊断标准》(WS257-2006)将肝囊型包虫病在B超检查中的表现分为6型: CL: 囊型病灶; CE1: 单囊型; CE2型: 多子囊型; CE3型: 内囊破裂型; CE4型: 实变型; CE5型: 钙化型。临床上多数患儿以CE1、CE3为主, 少数儿童有CE4病变, 罕见CE5病变, 表明儿童肝囊型包虫病的病程较短。

1.2.3 CT: CT在诊断儿童肝囊型包虫病具有较高的准确性, 能提示包虫囊肿的数目、大小、位置、与邻近组织结构的关系, 也能反映包虫的发生、发展和转归等不同

过程的病理变化, 对儿童肝囊型包虫病的诊断、预后与手术治疗都具有重要意义. 不同类型的包虫囊肿在CT下也表现出不同的特点: CE1: 单囊型表现为边界清楚的类圆形囊性占位阴影, 密度较低且均匀; CE2: 多子囊型表现为母囊内由生发层产生多个密度更低的子囊, 子囊之间存在分隔, 呈现蜂房征、车轮状等表现; CE3: 内囊破裂型表现为内囊由于破裂而漂浮于囊液中, 呈现出飘带征、水上浮莲征; CE4: 实变型表现为实性软组织密度肿块影; CE5: 钙化型表现为钙化型包块, CT增强扫描无强化^[14]. 研究指出^[15], 诊断肝囊型包虫病时钙化、多子囊和内囊破裂为重要表现, 但儿童期病灶中钙化和多子囊型少见, 因此以上两者不宜作为诊断儿童肝囊型包虫病的主要征象, 而内囊破裂征象对于儿童肝囊型包虫病仍具有较高的诊断特异性.

1.2.4 MRI: MRI可以为儿童肝囊型包虫病提供辅助诊断信息, 在初始诊断和术前阶段, 可进一步应用T2加权成像(T2 weighted image, T2WI)来确定囊肿特征^[13]. 包虫囊肿多在T1加权成像(T1 weighted image, T1WI)上呈现低信号, 在T2WI上呈现高信号, 而囊壁多在T2WI上呈现低信号^[16]. 文献表明^[17], MRI对于肝泡型包虫病根治术术前评价有明显的优势, 可作为肝泡型包虫病的常规影像学检查. 当包虫囊肿累及胆道系统时, 磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)可准确显示肝内外胆管的结构, 具有更高的诊断意义.

1.2.5 计算机三维可视化重建技术: 近年来, 随着计算机三维重建在医学领域中的高度应用, 外科精准医学进入了新的阶段^[18]. 目前认为^[19], 计算机三维重建通过可视化虚拟现实模型的建立而形成的关于人体结构图像数据库, 其准确直观的三维影像数据能够为临床诊疗过程中术前评估、手术规划、术中导航等提供更有力的影像辅助价值. 而且, 计算机三维重建还可以建立手术模型, 进行模拟切除手术, 测定预切肝体积、残肝体积, 计算残肝比等, 为手术切除病灶提供了良好的指导作用^[20]. 与传统二维影像测量方法相比, 计算机三维可视化重建技术对肝内脉管解剖结构显示更为清晰、对预期切除平面上脉管分布显示更为精准^[21].

1.3 实验室检查

1.3.1 皮内试验: 皮内试验是将以囊液抗原0.1 mL注射前臂内侧, (15-20)分钟后观察局部反应. 此方法阳性率高(90%-95%), 操作简便, 但特异性差, 假阳性高(18%-67%), 个别受试者可能会出现过敏反应, 因此目前临床上已停止使用.

1.3.2 ELISA: 目前酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)通常作为儿童肝囊型包虫病筛选试验, 它是一种将抗原、抗体的特异性反应与酶对

底物的高效催化作用相结合起来的试验技术, 可同时做出定性及定量诊断, 主要用于证实影像学诊断, 且对于影像学不典型的患儿病例有较高的辅助诊断价值, 还可用于患儿药物治疗及手术疗效随访. 研究表明^[22], 当检测特异性IgG抗体来诊断包虫病时, 其特异性和敏感性可高达89.7%和96.5%. 国外文献指出^[13], ELISA出现假阴性很可能与患儿疾病的早期阶段(CE1)或晚期阶段(CE5)有关, 其结果受到囊肿大小和数量、囊肿活动性和治疗的影响. 目前国内外又在此基础上创新了抗原B的斑点酶联免疫吸附试验(Dot-ELISA), 此方法用时短, 操作简单, 特异性和敏感性均较高.

1.3.3 IHAT: 间接血凝试验(indirect hemagglutination test, IHAT)是将抗原(或抗体)包被于红细胞表面, 成为致敏的载体, 然后与相应的抗体(或抗原)结合, 从而使红细胞凝聚在一起, 出现可见的凝集反应. 与ELISA法相比, IHAT更易操作、成本更低、速度更快、具有更高的灵敏度和特异性. IHAT在囊肿摘除1年以上可以转为阴性, 因此多用来衡量手术效果及有无复发^[22,23].

1.3.4 DIGFA: 金标渗滤法(dot immunogold filtration assay, DIGFA)是近年从固相免疫测定法发展起来的新技术, 仅需数分钟就能完成ELISA数小时才能显示的结果, 且具有敏感性高、特异性高、可目测观察、无需特殊仪器设备、经济实用等优点, 并且可对两型包虫病进行初步的鉴别诊断. 与ELISA不同的是, DIGFA只能做出定性诊断, 因此其常用于儿童肝囊型包虫病的普查及初筛.

1.3.5 分子生物学检查: 目前诊断包虫病最新、最敏感的方法是聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术, 它是目前最可靠的诊断方法, 具有很高的敏感性和特异性^[24]. 运用此方法可以鉴别囊型包虫病和泡型包虫病病例, 也可检测出血清学方法无法检测出的包虫病病例, 常被用于验证性试验.

2 儿童肝囊型包虫病的治疗

儿童肝囊型包虫病的理想治疗方法是彻底消灭寄生虫, 以最低的发病率和死亡率防止疾病的复发. 根据WHO-IWGE的专家共识, 认为有四种治疗方式: 外科治疗、使用PAIR(穿刺、抽吸, 注射, 再抽吸)技术对包虫囊肿进行经皮治疗、抗感染药物治疗、和“观察等待”^[25]. 目前小儿肝囊型包虫病治疗的主要模式为药物治疗为辅, 手术治疗为主. 有研究表明^[26], 外科手术治疗为目前最常使用且效果最佳的治疗方式. 手术方式包括开腹手术和微创手术, 开腹手术包括姑息性术式(内囊摘除术、改良内囊摘除术)、准根治性术式(内囊摘除术+外囊次全切术)和根治性术式(外囊完整剥除术、肝部分切除术), 微创手术包括PAIR和腹腔镜手术. 研究表明^[27], 于成人患

者而言,根治性术式相比姑息性术式在术后复发率及住院天数上具有显著优势,是治疗肝囊型包虫病安全有效的术式。但儿童作为特殊群体,身体还在发育的过程中,生理及心理均与成年人有所不同。对于儿童肝囊型包虫病的手术治疗,要以清除病灶、防治复发、加快康复为原则,应根据具体病例情况决定是否根治,不推荐盲目扩大手术,以减少对患儿造成身体及心理上的不良影响。

2.1 外科治疗

2.1.1 内囊摘除术:该术式操作简便、手术时间短、创伤及手术风险小、疗效肯定,能最大程度保留患儿有功能的肝组织,但术中穿刺并摘除内囊时囊肿有破裂及囊液外溢的风险,因此术后复发率高(16.1%);且该术式并发症较多,主要包括胆瘘(37.5%)、残腔感染(26.8%)等。基于以上缺点,研究者们提出了包括内囊摘除外囊内翻缝合或加置管引流术、袋形造口外引流、囊腔敞开、大网膜填塞等的术式,取得了较好的临床疗效^[28]。

2.1.2 腹腔镜手术:随着微创及腔镜技术的发展,腹腔镜技术已应用于小儿肝囊型包虫病的治疗^[29]。有研究指出,与开腹手术相比,腹腔镜手术的优点是:(1)手术切口小、美观,降低了切口疝及切口感染的发生率,同时也减轻了手术本身对患儿造成的心理伤害,这也符合WHO提倡的社会-心理-医学模式^[30,31];(2)减少了肠粘连与肠梗阻的发生,术后患儿胃肠道恢复快,明显缩短了住院时间,有利于患儿的康复^[32,33];(3)腹腔镜可以放大视野,有效减少术中出血、术后胆汁瘘等并发症的发生^[34];且小儿肝脏上韧带较成人松弛,容易由肝顶部加压使肝脏下移显露包虫囊部位,利于腹腔镜手术的顺利完成^[29]。腹腔镜手术的适应症有:(1)位于腹腔镜下容易暴露的部位,如靠近膈面的多发囊肿或肝的Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ段的多单发囊肿等;(2)未侵犯重要的胆管及血管;(3)外囊壁厚应大于3 mm且囊肿直径小于10 cm;(4)患儿心肺功能对全麻手术可耐受;(5)术者具有腹腔镜肝切除或者开腹包虫囊肿切除的手术经验,手术室配备有完备的腹腔镜设备^[35,36]。但腹腔镜手术也存在着一些缺点:(1)存在较多的禁忌症,如:囊肿直径>10 cm、囊肿数量>3、位于S7和S8段的肝内囊肿、复杂的肝包虫囊肿等;(2)小儿腹腔空间有限,对于术者操作器械的技术要求高,操作失误容易引起囊液外溢、出血、胆瘘等并发症。总之,小儿肝囊型包虫病行腹腔镜手术视野清楚,利于术中处理,具有创伤小、术后康复快、美观、住院时间短的优点,患儿家属容易接受,为儿童肝囊型包虫病的治疗提供了更为安全有效的方法。

2.1.3 外囊完整剥除术:由法国医师于1965年提出,通过紧贴包虫外囊壁的肝实质面上的潜在腔隙完整剥除外囊。该术式安全、简单,尽可能的保留了正常肝脏,且大大减少了包虫原位复发、胆汁瘘、残腔感染等并发症,

被称为肝囊型包虫病的“根治术”。但儿童肝囊型包虫囊肿体积大、肝内呈多发,且囊液活性强、囊壁薄、囊肿张力大、多位于肝脏实质内,这对于外囊完整剥除术带来了极大的困难,有些病例无法适用该术式^[6]。

2.1.4 内囊摘除术+外囊次全切除术:该术式在完成内囊摘除术的基础上尽可能剥除外囊,降低了残腔感染、胆汁瘘的并发症,并且因为剥除大部分外囊降低了病灶的复发,同时减少了术中出血、损伤周边组织等风险。由于儿童肝囊型包虫囊肿多位于肝脏实质内,施行外囊完整剥除术有极大的困难,因此该术式成为小儿肝囊型包虫病的首选术式。有研究认为^[12],该术式安全、有效、经济、简单可行,对于儿童常见的外生型肝囊型包虫病首选内囊摘除+外囊次全切除术,而单纯肝内型包虫病首选单纯内囊摘除术,不再做外囊剥除术。目前有专家将该术式与腹腔镜技术联合应用,在满足适应症条件下进行手术,具备了微创、安全、术后恢复快、并发症发生率低等诸多优点。

2.1.5 肝部分切除术:该术式切除了儿童肝囊型包虫病灶,但也切除了部分肝组织。虽然包虫术后复发率低,但手术创伤大、风险大、术中出血多、费用高、需要较高的技术条件,而且儿童肝囊型包虫病是一种良性疾病,不应盲目扩大切除,因此除非有绝对适应症,一般不作为肝囊型包虫病的首选治疗^[37]。目前根治性肝切除术称为“虫癌”的肝泡型包虫病的首选方法,因为泡型包虫病病灶在肝内呈浸润性生长,所以要求切除病灶边缘1 cm以上的正常肝组织,以此减少病灶复发^[38]。

2.2 使用PAIR技术经皮治疗 PAIR技术是一种国外常见的微创手术,其目的主要是破坏生发层并排出其囊内容物^[30]。PAIR适应症包括:(1)无法或拒绝手术的患者;(2)孕妇或3岁以下儿童患者;(3)手术或药物治疗后复发包虫囊肿;(4)活动性肝囊型包虫病(CE1, CE2和CE3);(5)脾、肾、腹膜、肺或骨非活性包虫囊肿;(6)感染的包虫囊肿;(7)可行穿刺的多发包虫囊肿。其禁忌症包括:(1)钙化或不活跃的包虫囊肿;(2)与胆道相通的包虫囊肿(引起化学性胆管炎的风险);(3)在超声检查中不可见的肺包虫囊肿;(4)脑、脊柱或心脏包虫囊肿;(5)肝囊肿无法接近的肝包虫囊肿。术前至少4 h及术后1 mo均需进行药物治疗。研究表明^[39],PAIR术后并发症发生率低、复发率低且平均住院时间短;但若操作不当可引起出血、感染、胆瘘、过敏反应、寄生虫扩散、硬化性胆管炎等并发症^[24,40]。

2.3 抗感染药物治疗 药物治疗作为儿童肝囊型包虫病的辅助治疗,对肝内多发包虫、合并多脏器包虫、降低围手术期过敏反应发生、术后预防复发、小体积的

包虫病灶、各种原因无法手术等的包虫病患者提供了有效的治疗方法^[41]。目前治疗儿童肝囊型包虫病的药物有苯并咪唑类药物, 包括阿苯达唑和甲苯咪唑。即使在治疗6岁以下儿童方面经验有限, 阿苯达唑(albendazole, ABZ)仍是目前治疗儿童肝囊型包虫病最常用的药物。ABZ可抑制线虫微管的合成, 导致包囊无法代谢葡萄糖而死亡。ABZ推荐剂量为(10-15) mg/kg/d, 连续使用(3-6) mo, 其最常见的副作用是可逆性肝毒性、白细胞减少、血小板减少和脱发。因此在应用ABZ治疗的前3 mo, 每2 wk应进行一次血液检验, 之后再每月进行一次^[13,42]。目前治疗儿童肝囊型包虫病的药物选择少、效果不佳且副作用明显, 亟待开发现有药物新剂型、联合用药的新方式和研究筛选新的治疗药物。目前国内对中草药如砂生槐、青蒿琥脂、骆驼蓬子, 国外对大蒜、黑种草、木香、小檗关于包虫病的疗效均仍在探索与研究中。

2.4 “观察等待” 对于儿童非活动的和无并发症的囊肿, 建议采用“观察等待”方法。因为在未接受特殊治疗措施的情况下, 大部分囊肿在一段时间内可保持稳定。研究表明^[13,43], 对患儿进行的5年随访期间, 从未接受过特殊治疗的CE4-CE5囊肿显示出稳定的自发灭活趋势, 相比之下, 47%治疗过的灭活囊肿复发至过渡期; 对于CE3b囊肿, ABZ治疗后呈现非永久性失活, 而在观察和等待期间囊肿活性保持稳定。

3 儿童肝囊型包虫病的预后

儿童肝囊型包虫病的预后主要包括治愈、复发和死亡。随着诊断技术的完善及我国对于儿童囊型包虫病筛查力度的加强, 儿童肝囊型包虫病的早期检出率不断提高, 经过临床医生的系统诊治, 多数患儿均可治愈; 部分患儿因术中未清除破裂包虫囊肿内残留内囊和子囊、未反复冲洗腹腔和残腔容易引起包虫囊肿复发; 少数患儿疾病诊疗过程中出现死亡的严重后果, 其主要原因是缺乏典型临床表现导致漏诊、误诊, 以及手术准备不充分、术式选择不合理、术后护理不恰当引起手术并发症等。

4 结论

综上所述, 儿童肝囊型包虫病会对儿童健康以及家庭、社会带来严重的不良影响。儿童的感染率和患病率是评价包虫病流行现状与防治效果的重要指标, 因此我们应更多的关注儿童群体, 注重儿童肝囊型包虫病的早筛早诊早治疗。儿童感染囊型包虫病后症状及体征不典型, 需要结合临床表现、影像学、实验室检查明确诊断。B超检查因操作简便、价格低廉, 成为目前儿童肝囊型包虫病的首选检查方法; CT检查在显示包虫囊肿与周围组

织的毗邻关系、包虫囊肿周边的胆管扩张、囊壁钙化等方面优于B超, 并且能够反映出包虫囊肿不同阶段的病理变化; MRI检查价格昂贵, 一般不作为首选检查, 当包虫囊肿累及胆道系统时, MRCP在显示肝内外胆管结构方面具有更高的准确性。作为医务工作者, 我们要在提升自身诊断能力的同时探索更为有效的诊断方法。目前药物治疗为辅, 手术治疗为主的治疗模式成为小儿肝囊型包虫病治疗的主要模式, 对于儿童外生型肝囊型包虫病首选内囊摘除+外囊次全切除术, 而单纯肝内型包虫病首选单纯内囊摘除术。儿童肝囊型包虫病的治疗方法较多, 但均存在着适应症与禁忌症, 临床医生应通过多因素考虑拟定个体化治疗方案。在治疗过程中应帮助患儿克服恐惧心理, 力求以最小化的痛苦赢得最佳的治疗效果, 提高患儿的生活质量。

5 参考文献

- Öztorun Cİ, Demir S, Güney D, Ertürk A, Bayram İlhan G, Karabulut B, Azılı MN, Şenel E. An unsolved problem in developing countries: hydatid cysts in children. *Pediatr Surg Int* 2021; 37: 1235-1241 [PMID: 33895860 DOI: 10.1007/s00383-021-04904-3]
- Greco S, Cannella R, Giambelluca D, Pecoraro G, Battaglia E, Midiri M, Brancatelli G, Vernuccio F. Complications of hepatic echinococcosis: multimodality imaging approach. *Insights Imaging* 2019; 10: 113 [PMID: 31792750 DOI: 10.1186/s13244-019-0805-8]
- Alghofaily KA, Saeedan MB, Aljohani IM, Alrasheed M, McWilliams S, Aldosary A, Neimatallah M. Hepatic hydatid disease complications: review of imaging findings and clinical implications. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42: 199-210 [PMID: 27487777 DOI: 10.1007/s00261-016-0860-2]
- 王永珍, 韩秀敏, 郭亚民. 肝包虫病的诊断与治疗研究进展. 寄生虫病与感染性疾病 2018; 16: 47-51
- 汤晓佳, 马军. 儿童青少年包虫病流行现状与防治措施. 中国学校卫生 2019; 40: 956-960 [DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2019.06.049]
- 克里比努尔·阿布都热依木, 阎景红, 冉博, 李海涛, 邵英梅, 马秀敏, 温浩. 新疆地区儿童肝囊型包虫病临床诊治及预后分析. 新疆医科大学学报 2016; 39: 727-730
- Cai H, Guan Y, Ma X, Wang L, Wang H, Su G, Zhang X, Han X, Ma J, Liu YF, Li J, Zhang J, Wang Y, Wang W, Du R, Lei W, Wu W. Epidemiology of Echinococcosis Among Schoolchildren in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China. *Am J Trop Med Hyg* 2017; 96: 674-679 [PMID: 28070013 DOI: 10.4269/ajtmh.16-0479]
- Balen Topić M, Skuhala T, Desnica B, Višković K, Drinković M. Repeated Percutaneous Treatment of Massive Hepatic Cystic Echinococcosis in a Child. *Pediatrics* 2018; 142 [PMID: 30429271 DOI: 10.1542/peds.2018-1254]
- Erdem LO, Erdem CZ, Karlioguz K, Uner Ç. Radiologic aspects of abdominal hydatidosis in children. *Clinical Imaging* 2004; 28: 196-200 [DOI: 10.1016/S0899-7071(03)00152-9]
- 阿布都赛米·阿布都热依木, 玉苏甫, 叶尔番, 和军, 李凯, 刘东, 阿孜古丽, 周玲, 李水学, 克力木. 儿童肝囊型包虫病腹腔镜手术治疗体会. 中华肝脏外科手术学电子杂志 2019; 8: 54-57
- 玉苏甫·阿克木, 阿布都赛米·阿布都热依木, 秦双利, 叶尔番, 和军, 李凯, 刘东, 阿孜古丽, 周玲, 李水学, 克力木. 急诊腹腔镜手术治疗儿童肝囊型包虫病破裂的应用价值. 中华肝脏外科手术学电子杂志 2020; 9: 571-575
- 阿斯古丽·热依木, 李万富, 马柱, 梁挺, 樊伽榕. 小儿肝囊型包虫病

- 152例临床特征及诊治分析. 临床小儿外科杂志 2019; 18: 310-314
- 13 Tersigni C, Venturini E, Montagnani C, Bianchi L, Chiappini E, de Martino M, Galli L. Should Pediatricians Be Aware of Cystic Echinococcosis? A Literature Review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2019; 68: 161-168 [PMID: 30334932 DOI: 10.1097/MPG.0000000000002182]
- 14 赵军, 刘龙霏, 张泉, 袁飞. 多排螺旋CT在肝包虫病诊断中的应用价值. 武警后勤学院学报(医学版) 2016; 25: 383-385 [DOI: 10.16548/j.2095-3720.2016.05.013]
- 15 徐昕, 袁新宇, 杨小英, 王娅宁, 董桂花, 韩淑娟, 余海宁. 儿童肝包虫病的CT特点. 中国医学影像技术 2017; 33: 1305-1308 [DOI: 10.13929/j.1003-3289.201703046]
- 16 Onur MR, Bakal U, Kocakoc E, Tartar T, Kazez A. Cystic abdominal masses in children: a pictorial essay. *Clin Imaging* 2013; 37: 18-27 [PMID: 23206604 DOI: 10.1016/j.clinimag.2012.03.010]
- 17 栗海龙, 侯立朝, 任利, 樊海宁, 鲍海华, 温生宝, 李伟霞. MRI在泡型肝包虫病术前评估中作用的研究. 中国普外基础与临床杂志 2016; 23: 535-538
- 18 Zhao D, Lau WY, Zhou W, Yang J, Xiang N, Zeng N, Liu J, Zhu W, Fang C. Impact of three-dimensional visualization technology on surgical strategies in complex hepatic cancer. *Biosci Trends* 2018; 12: 476-483 [PMID: 30473555 DOI: 10.5582/bst.2018.01194]
- 19 方驰华, 顾杨. 数字医学技术在我国腹部外科临床应用现状、困难和发展前景. 中国实用外科杂志 2013; 33: 25-29
- 20 张世伟, 王万祥, 杨成旺. 三维可视化技术在肝胆外科中的应用. 内蒙古医学杂志 2014; 46: 193-195 [DOI: 10.16096/j.cnki.nmgxyzz.2014.02.039]
- 21 李鹏鹏, 王志恒, 黄罡, 黄智平, 李耀, 倪俊声, 刘辉, 方驰华, 周伟平. 肝脏三维可视化技术在肝脏恶性肿瘤治疗规划中的应用研究. 中华外科杂志 2017; 55: 916-922
- 22 黄士波, 米圆圆, 刘爱琴, 赵宪琪, 张铁民. 肝包虫病的诊断现状及进展. 现代生物医学进展 2016; 16: 797-800 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.04.049]
- 23 Himsawi N, Hijawi N, Al-Radaideh A, Al-Tamimi M. Seroprevalence of cystic echinococcosis in a high-risk area (Al-Mafraq Governorate) in Jordan, using indirect hemagglutination test. *Parasite Epidemiol Control* 2019; 5: e00104 [PMID: 31049423 DOI: 10.1016/j.parepi.2019.e00104]
- 24 Petropoulos AS, Chatzoulis GA. Echinococcus Granulosus in Childhood: A Retrospective Study of 187 Cases and Newer Data. *Clin Pediatr (Phila)* 2019; 58: 864-888 [PMID: 31081377 DOI: 10.1177/0009922819847032]
- 25 Bold B, Hattendorf J, Shagj A, Tserendovdon B, Ayushkhuu T, Luvsandorj A, Zinsstag J, Junghanss T. Patients with cystic echinococcosis in the three national referral centers of Mongolia: A model for CE management assessment. *PLoS Negl Trop Dis* 2018; 12: e0006686 [PMID: 30092059 DOI: 10.1371/journal.pntd.0006686]
- 26 Ye J, Zhang Q, Ma L, Zheng H. Immunological Characteristics of Recurrent Echinococcosis-Induced Anaphylactic Shock. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 94: 371-377 [PMID: 26711523 DOI: 10.4269/ajtmh.15-0386]
- 27 于雁宾, 庄云龙, 李丽昕, 王洪波. 藏族地区80例肝包虫病施行根治手术的临床分析. 肝脏 2021; 26: 1167-1169 [DOI: 10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2021.10.027]
- 28 张亚飞, 陆宏伟, 吉鸿, 赵恩法, 黎一鸣. 肝包虫病治疗的研究进展. 中国普外基础与临床杂志 2015; 22: 162-165
- 29 阿布都赛米·阿布都热衣木, 卡热也木, 叶尔番, 玉苏甫, 和军, 李凯, 刘东, 阿孜古丽, 周玲, 李水学, 克力木. 腹腔镜手术治疗小儿囊性肝包虫病的应用价值. 腹腔镜外科杂志 2018; 23: 794-797 [DOI: 10.13499/j.cnki.fqjwkzz.2018.10.794]
- 30 刘光辉, 杨金煜, 唐明杰. 人肝细粒棘球蚴病致病的研究进展. 中国人兽共患病学报 2021; 37: 165-170
- 31 和军, 颜景灏, 刘东, 刘妍芳, 李水学. 腹腔镜手术治疗小儿肝细粒棘球蚴病临床体会: 附26例报告. 临床小儿外科杂志 2018; 17: 703-706
- 32 Minaev SV, Gerasimenko IN, Kirgizov IV, Shamsiev AM, Bykov NI, Shamsiev JA, Mashchenko AN. Laparoscopic Treatment in Children with Hydatid Cyst of the Liver. *World J Surg* 2017; 41: 3218-3223 [PMID: 28752428 DOI: 10.1007/s00268-017-4129-x]
- 33 强巴旦增, 顾炯, 侯辉. 西藏山南市肝包虫病外科治疗经验. 肝胆外科杂志 2019; 27: 225-227
- 34 熊彦红, 郑彬. 《包虫病诊断标准》(WS257-2006)在四川省实施掌握情况的调查. 中国卫生标准管理 2020; 11: 7-10
- 35 Goja S, Saha SK, Yadav SK, Tiwari A, Soin AS. Surgical approaches to hepatic hydatidosis ranging from partial cystectomy to liver transplantation. *Ann Hepatobiliary Pancreat Surg* 2018; 22: 208-215 [PMID: 30215042 DOI: 10.14701/ahbps.2018.22.3.208]
- 36 Chen HW, Deng FW, Hu JY, Li JY, Lai ECH, Lau WY. Extra-glisssonian Approach for Total Laparoscopic Left Hepatectomy: A Prospective Cohort Study. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2017; 27: e145-e148 [PMID: 29049080 DOI: 10.1097/SLE.0000000000000483]
- 37 喻定刚, 杜刚, 靳福廷, 罗斯满, 罗金辉, 石汶, 王春华. 肝包虫病的外科治疗. 中国人兽共患病学报 2015; 31: 186-188
- 38 谭钧文, 唐健, 赵明星, 宫金伟, 孙继勇, 赵孝波. 肝包虫病诊断及治疗进展. 肝脏 2019; 24: 1199-1201 [DOI: 10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2019.10.038]
- 39 Bakdik S, Arslan S, Oncu F, Tolu I, Eryilmaz MA. Percutaneous treatment of hepatic cystic echinococcosis: the success of alcohol as a single endocavitary agent in PAIR, catheterization, and modified catheterization techniques. *Radiol Med* 2018; 123: 153-160 [PMID: 29030721 DOI: 10.1007/s11547-017-0820-0]
- 40 Keong B, Wilkie B, Sutherland T, Fox A. Hepatic cystic echinococcosis in Australia: an update on diagnosis and management. *ANZ J Surg* 2018; 88: 26-31 [PMID: 29024292 DOI: 10.1111/ans.14117]
- 41 Pitchaimuthu M, Duxbury M. Cystic lesions of the liver - A review. *Current Problems in Surgery* 2017; 54: 514-542 [DOI: 10.1067/j.cpsurg.2017.09.001]
- 42 Mihmanli M, Idiz UO, Kaya C, Demir U, Bostanci O, Omeroglu S, Bozkurt E. Current status of diagnosis and treatment of hepatic echinococcosis. *World J Hepatol* 2016; 8: 1169-1181 [PMID: 27729953 DOI: 10.4254/wjh.v8.i28.1169]
- 43 Stojkovic M, Rosenberger KD, Steudle F, Junghanss T. Watch and Wait Management of Inactive Cystic Echinococcosis - Does the Path to Inactivity Matter - Analysis of a Prospective Patient Cohort. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0005243 [PMID: 27992434 DOI: 10.1371/journal.pntd.0005243]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



Circ_0044516靶向调控miR-516a-5p对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响

方惠, 李莹, 桑怡

方惠, 李莹, 浙江中医药大学附属杭州市中医院特检科 浙江省杭州市 310000

桑怡, 浙江中医药大学附属杭州市中医院消化科 浙江省杭州市 311700

方惠, 本科, 研究方向为内科学.

作者贡献分布: 此课题由方惠、李莹共同设计; 研究过程由方惠、李莹操作完成; 研究用试剂及分析工具由方惠、李莹提供; 数据分析由桑怡完成; 论文写作由方惠、李莹、桑怡完成.

通讯作者: 方惠, 特检科医师, 310000, 浙江省杭州市西湖区体育场路453号, 浙江中医药大学附属杭州市中医院. fh15068756396@163.com

收稿日期: 2022-01-21

修回日期: 2022-03-02

接受日期: 2022-04-19

在线出版日期: 2022-05-08

Circ_0044516 inhibits cell proliferation and migration and induces apoptosis in gastric cancer cells by targeting miR-516a-5p

Hui Fang, Ying Li, Yi Sang

Hui Fang, Ying Li, Department of Special Inspection, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Yi Sang, Department of Gastroenterology, Hangzhou Hospital Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311700, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hui Fang, Doctor, Department of Special Examination, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, No. 453 Tiyu Road, Xihu District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. fh15068756396@163.com

Received: 2022-01-21

Revised: 2022-03-02

Accepted: 2022-04-19

Published online: 2022-05-08

Abstract

BACKGROUND

Circ_0044516 is highly expressed in gastric cancer, and inhibition of circ_0044516 can promote gastric cancer cell proliferation and induce apoptosis. Bioinformatics analysis predicts that miR-516a-5p binds to circ_0044516. The expression of miR-516a-5p is low in non-small cell lung cancer, but its role is unclear in gastric cancer cells. This study mainly explored the effect of circ_0044516 targeting miR-516a-5p on the proliferation, migration, and apoptosis of gastric cancer cells.

AIM

To explore whether circ_0044516 targets and regulates miR-516a-5p and its effects on the proliferation, migration, and apoptosis of gastric cancer cells.

METHODS

Quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was first used to detect the expression levels of circ_0044516 and miR-516a-5p in gastric epithelial cells GES-1 and gastric cancer cells (SNU-16 and HGC-27). HGC-27 cells were then divided into si-NC group (transfected with si-NC), si-circ_0044516 group (transfected with si-circ_0044516), miR-NC group (transfected with miR-NC), miR-516a-5p group (transfected with miR-516a-5p), si-circ_0044516 + anti-miR-NC group (co-transfected with si-circ_0044516 and anti-miR-NC), and si-circ_0044516 + anti-miR-516a-5p group (co-transfected with si-circ_0044516 and anti-miR-516a-5p). qRT-PCR was used to detect the expression levels of circ_0044516 and miR-516a-5p, MTT assay was used to detect cell proliferation, flow cytometry was performed to detect cell

apoptosis, Transwell assay was used to detect cell migration, Western blot analysis was performed to detect the protein expression of p21, Bcl-2 associated X protein (Bax), B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), and matrix metalloproteinase 2 (MMP2), and dual luciferase reporter assay was used to detect the targeting relationship between circ_0044516 and miR-516a-5p.

RESULTS

Compared with gastric epithelial cells GES-1, the expression level of circ_0044516 was increased in gastric cancer cells SNU-16 and HGC-27, and the expression level of miR-516a-5p was decreased. Silencing circ_0044516 or overexpression of miR-516a-5p decreased the survival rate of gastric cancer cells and the number of migrating cells, increased the rate of cell apoptosis and the expression of p21 and Bax proteins, and reduced the expression of Bcl-2 and MMP2 proteins. Circ_0044516 targets and negatively regulates the expression of miR-516a-5p, and inhibition of miR-516a-5p partially restored the effect of silencing circ_0044516 on the proliferation, migration, and apoptosis of gastric cancer cells.

CONCLUSION

Circ_0044516 inhibits cell proliferation and migration and induces apoptosis in gastric cancer cells through targeted negative regulation of miR-516a-5p.

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

Key Words: Circ_0044516; MiR-516a-5p; Gastric cancer cells; Proliferation; Migration; Apoptosis

Citation: Fang H, Li Y, Sang Y. Circ_0044516 inhibits cell proliferation and migration and induces apoptosis in gastric cancer cells by targeting miR-516a-5p. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(9): 393-401

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/393.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.393>

摘要

背景

Circ_0044516在胃癌中高表达,抑制circ_0044516能促进胃癌细胞增殖和诱导凋亡。生物学软件预测miR-516a-5p与circ_0044516相结合,miR-516a-5p在非小细胞肺癌低表达,但是在胃癌细胞研究暂不清楚。本研究主要探究circ_0044516靶向调控miR-516a-5p对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响。

目的

探究circ_0044516是否靶向调控miR-516a-5p及对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响。

方法

qRT-PCR实验检测胃上皮细胞GES-1和胃癌细胞

SNU-16、HGC-27中circ_0044516、miR-516a-5p表达水平。将HGC-27细胞分为si-NC组(转染si-NC)、si-circ_0044516组(转染si-circ_0044516)、miR-NC组(转染miR-NC)、miR-516a-5p组(转染miR-516a-5p)、si-circ_0044516+anti-miR-NC组(共转染si-circ_0044516和anti-miR-NC)、si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p组(共转染si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p)。定量即时聚合酶链锁反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qRT-PCR)实验检测circ_0044516和miR-516a-5p表达水平;噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)实验检测细胞增殖;流式细胞术实验检测细胞凋亡;Transwell实验检测细胞迁移;蛋白免疫印迹(Western blot)实验检测p21、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)蛋白表达;双荧光素酶报告实验检测circ_0044516和miR-516a-5p靶向关系。

结果

与胃上皮细胞GES-1相比, circ_0044516在胃癌细胞SNU-16、HGC-27中表达水平增加, miR-516a-5p表达水平降低。沉默circ_0044516或过表达miR-516a-5p降低胃癌细胞存活率、迁移细胞数,增加细胞凋亡率,增加p21、Bax蛋白表达,降低Bcl-2、MMP2蛋白表达。circ_0044516靶向负调控miR-516a-5p的表达,抑制miR-516a-5p可以部分回复沉默circ_0044516对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响。

结论

Circ_0044516可通过靶向负调控miR-516a-5p抑制胃癌细胞增殖和迁移,并诱导细胞凋亡。

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

关键词: Circ_0044516; miR-516a-5p; 胃癌细胞; 增殖; 迁移; 凋亡

核心提要: 在胃癌细胞中circ_0044516高表达, miR-516a-5p低表达, circ_0044516可通过靶向负调控miR-516a-5p抑制胃癌细胞增殖和迁移,并诱导细胞凋亡。

文献来源: 方惠, 李莹, 桑怡. Circ_0044516靶向调控miR-516a-5p对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2022; 30(9): 393-401

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/393.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.393>

0 引言

胃癌作为常见的恶性肿瘤,与饮食习惯、遗传、地域等

因素有关,在我国南方胃癌患病人数高于北方,病死率也较高^[1]。化疗手段是治疗晚期胃癌患者的最佳方式,由于化疗药物治疗出现耐药性及毒副作用影响了治疗效果^[2],因此寻找新的治疗方式迫在眉睫,而新型靶向治疗已成为胃癌治疗的主要手段之一。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一种内源性非编码RNA分子,具有共价闭合结构,已成为近年的人类疾病和肿瘤研究的热点^[3,4]。研究结果表明^[5],在胃癌组织和细胞中circ_0044516表达水平增加,可能通过靶向调控miR-149促进胃癌细胞增殖和诱导凋亡。通过在线生物信息学软件预测显示,miR-516a-5p与circ_0044516相互结合,研究结果显示,miR-516a-5p在非小细胞肺癌细胞中低表达,与患者年龄、病理分期、肿瘤大小有关,可能通过靶向负调控HIST3H2A抑制非小细胞肺癌细胞增殖^[6],但是在胃癌细胞及对胃癌细胞的生物学行为暂不清楚。关于circ_0044516和miR-516a-5p靶向调控作用尚不明确,鉴于此,本研究主要观察circ_0044516可能通过靶向调控miR-516a-5p对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响

1 材料和方法

1.1 材料 细胞和主要试剂。胃上皮细胞(GES-1)、胃癌细胞(SNU-16、HGC-27)购于中科院上海细胞中心;改良Eagle培养基(Dulbecco's Minimum Essential, DMEM)培养基、胎牛血清购于美国Gibco公司; Lipofectamine™2000试剂盒购于美国Invitrogen公司;实验中所用序列、引物购于上海吉玛公司; TRIzol试剂盒、逆转录试剂盒、荧光定量试剂盒购于美国Thermo fisher公司; 噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)试剂盒、凋亡试剂盒购于上海碧云天生物; Transwell小室购于上海泽迈生物技术有限公司; p21抗体、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)抗体、B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)抗体、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购于美国Abcam公司; 双荧光素酶检测试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: 将胃上皮细胞GES-1、胃癌细胞(SNU-16、HGC-27)培养在DMEM培养基内,且含有10%胎牛血清、青霉素、链霉素,培养条件为37℃、5% CO₂。观察细胞融合情况,融合度为90%时,加入0.25%胰蛋白酶消化传代培养细胞。

取对数期HGC-27细胞,将细胞接种至96孔板中,细胞融合达到80%,按照Lipofectamine™2000试剂盒说明书将si-NC、si-circ_0044516、miR-NC、miR-516a-

5p、pcDNA、pcDNA-circ_0044516转染细胞中,记为si-NC组、si-circ_0044516组、miR-NC组、miR-516a-5p组、pcDNA组、pcDNA-circ_0044516组;共转染si-circ_0044516和anti-miR-NC、si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p至细胞内,记为si-circ_0044516+anti-miR-NC组、si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p组。细胞转染6h换细胞培养液,培养48h后进行后续实验。

1.2.2 qRT-PCR实验检测circ_0044516和miR-516a-5p表达水平: 按照TRIzol法提取胃上皮细胞GES-1、胃癌细胞(SNU-16、HGC-27)、及各组HGC-27细胞中总RNA,检测RNA浓度后,按照逆转录试剂盒说明书将RNA合成cDNA,使用cDNA为模板进行PCR反应,反应体系共20 μL,为10 μL SYBR Premix Ex Taq II (2×), 1 μL cDNA, 上、下游引物各0.8 μL, ddH₂O 7.4 μL。circ_0044516以GAPDH作为内参, miR-516a-5p以U6作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算circ_0044516和miR-516a-5p表达水平。

1.2.3 MTT实验检测细胞增殖: 收集各组细胞HGC-27细胞(pcDNA组、pcDNA-circ_0044516组除外),将细胞制成密度为 3×10^4 个/mL,接种96孔板中,培养48 h,每孔加入20 μL MTT,继续培养4 h,加入150 μL DMSO试剂,低速震荡至结晶溶解,使用酶标仪检测490 nm处细胞吸光度值(A),计算细胞活性(%)。

1.2.4 流式细胞术实验检测细胞凋亡: 收集各组细胞HGC-27细胞(pcDNA组、pcDNA-circ_0044516组除外),预冷磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)清洗细胞,使用结合缓冲液500 μL制备细胞悬液,然后先加入5 μL膜联蛋白 V-FITC (Annexin V-FITC),再加入5 μL碘化丙啶(propidium iodide, PI),混匀后避光反应15 min,上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.5 Transwell实验检测细胞迁移: 收集各组细胞HGC-27细胞(pcDNA组、pcDNA-circ_0044516组除外),加入不含血清培养基调整细胞浓度,浓度为 2×10^4 个/mL。在Transwell小室上室中加入200 μL细胞悬液,下室加入500 μL含血清的培养基,继续培养24 h,拿出小室擦掉没有迁移的细胞,用4%多聚甲醛固定30 min,结晶紫染色20 min,在显微镜下观察细胞,并拍照,即为迁移细胞数。

1.2.6 Western blot实验检测p21、Bax、Bcl-2、MMP2蛋白表达: 将蛋白裂解液加各组细胞HGC-27细胞(pcDNA组、pcDNA-circ_0044516组除外),提取的细胞总蛋白使用BCA试剂盒检测定量,加入上样缓冲液,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶处理,转膜,脱脂奶粉封闭2 h,加入一抗p21、Bax、Bcl-2、MMP2、GAPDH抗体,4℃过夜孵育,加入带标记的二抗室温下孵育2 h,将电化学发光(electro-chemi-luminescence, ECL)滴入聚偏

表 1 沉默circ_0044516对HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡影响(mean ± SD, $n = 9$)

分组	存活率(%)		凋亡率(%)	迁移细胞数(个)	p21	Bax	Bcl-2	MMP2
	24 h	48 h						
si-NC	99.97 ± 9.12	98.51 ± 6.78	6.50 ± 0.62	86.36 ± 6.83	0.31 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.65 ± 0.04	0.51 ± 0.04
si-circ_0044516	69.17 ± 5.68 ^a	46.88 ± 4.56 ^a	20.26 ± 2.30 ^a	39.47 ± 5.12 ^a	0.52 ± 0.04 ^a	0.43 ± 0.02 ^a	0.40 ± 0.05 ^a	0.35 ± 0.04 ^a
<i>t</i>	8.600	18.957	17.329	16.480	12.600	14.145	11.713	8.485
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与si-NC组相比, ^a $P < 0.05$. Bax: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; MMP2: 基质金属蛋白酶2.

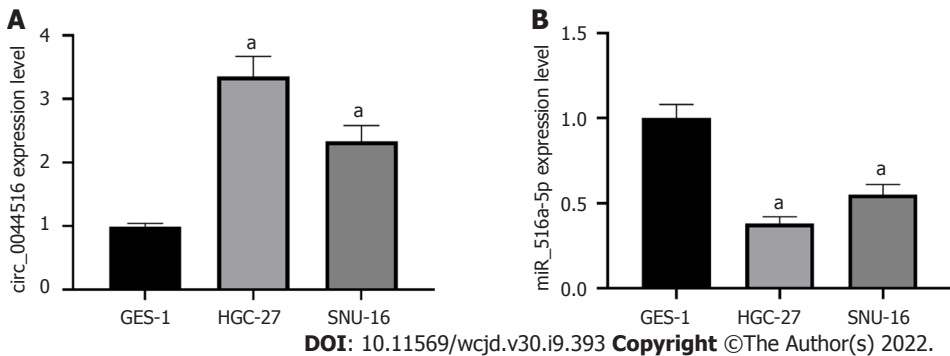


图 1 circ_0044516和miR-516a-5p在胃癌细胞中的表达水平(mean ± SD, $n = 9$). A: circ_0044516在胃癌细胞中的表达水平; B: circ_0044516和miR-516a-5p在胃癌细胞中的表达水平. 与GES-1相比, ^a $P < 0.05$. GES-1: 胃上皮细胞; SNU-16、HGC-27: 胃癌细胞.

二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上, 显影、曝光. 使用Image J软件分析蛋白条带密度值, 以GAPDH作为内参.

1.2.7 双荧光素酶报告实验检测circ_0044516和miR-516a-5p靶向关系: 构建miR-516a-5p结合位点的circ_0044516野生型、突变型载体序列(circ_0044516 WT、circ_0044516 MUT), 取HGC-27细胞接种24孔中, 将circ_0044516 WT、circ_0044516 MUT分别与miR-NC或miR-516a-5p共转染细胞, 48 h收集细胞, 按照双荧光素酶检测试剂盒操作步骤, 检测荧光素酶活性.

统计学处理 使用SPSS 20.0软件处理数据, 结果采用mean ± SD表示, 多组间比较使用单因素方差分析, 两组间比较使用独立样本 t 检验. $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃癌细胞中circ_0044516和miR-516a-5p表达水平与胃上皮细胞GES-1相比, 胃癌细胞SNU-16、HGC-27中circ_0044516相对表达水平显著增加($P < 0.05$), miR-516a-5p相对表达水平显著降低($P < 0.05$). 图1.

2.2 沉默circ_0044516对HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡的影响 与si-NC组比较, si-circ_0044516组circ_0044516相对表达水平显著降低($P < 0.05$), 细胞活性、迁移细胞

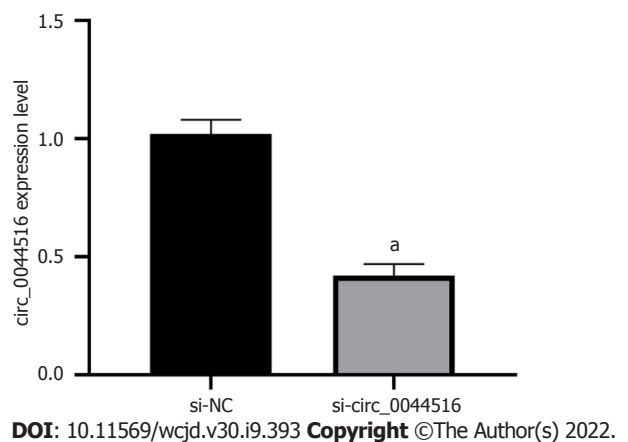


图 2 沉默circ_0044516的转染效率. 与si-NC相比, ^a $P < 0.05$.

数降低($P < 0.05$), 凋亡率显著升高($P < 0.05$), p21、Bax蛋白表达增加($P < 0.05$), Bcl-2、MMP2蛋白表达降低($P < 0.05$). 图2、图3、表1.

2.3 过表达miR-516a-5p对HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡的影响 与miR-NC组比较, miR-516a-5p组miR-516a-5p相对表达水平显著增加($P < 0.05$), 细胞活性、迁移细胞数降低($P < 0.05$), 凋亡率显著增加($P < 0.05$), p21、Bax蛋白表达增加($P < 0.05$), Bcl-2、MMP2蛋白表达降低($P < 0.05$). 图4、图5、表2.

2.4 Circ_0044516靶向调控miR-516a-5p的表达 图6

表 2 过表达miR-516a-5p对HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

分组	存活率(%)		凋亡率(%)	迁移细胞数(个)	p21	Bax	Bcl-2	MMP2
	24 h	48 h						
miR-NC	100.31 ± 9.56	99.17 ± 8.36	6.93 ± 0.58	82.54 ± 7.20	0.33 ± 0.04	0.27 ± 0.04	0.61 ± 0.06	0.53 ± 0.05
miR-516a-5p	70.24 ± 6.86 ^a	49.44 ± 5.02 ^a	21.31 ± 2.26 ^a	43.56 ± 3.98 ^a	0.50 ± 0.05 ^a	0.46 ± 0.05 ^a	0.36 ± 0.04 ^a	0.33 ± 0.04 ^a
<i>t</i>	7.667	15.299	18.489	14.215	7.965	8.902	7.904	9.370
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与miR-NC组相比, ^a*P*<0.05. Bax: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; MMP2: 基质金属蛋白酶2.

表 3 双荧光素酶报告实验(mean ± SD, n = 9)

分组	circ_0044516 WT	circ_0044516 MUT
miR-NC	1.01 ± 0.09	0.99 ± 0.07
miR-516a-5p	0.36 ± 0.04 ^a	0.96 ± 0.06
<i>t</i>	19.799	0.976
<i>P</i>	0.000	0.344

与miR-NC组相比, ^a*P*<0.05.

表 4 circ_0044516靶向调控miR-516a-5p的表达(mean ± SD, n = 9)

分组	circ_0044516	miR-516a-5p
pcDNA	0.99 ± 0.10	1.00 ± 0.08
pcDNA-circ_0044516	4.51 ± 0.36 ^a	0.40 ± 0.05 ^a
<i>t</i>	28.263	19.080
<i>P</i>	0.000	0.000

与pcDNA组相比, ^a*P*<0.05.

结果显示, circ_0044516和miR-516a-5p存在互补的结合位点. 表3结果显示, 与miR-NC组比较, miR-516a-5p组circ_0044516 WT荧光素酶活性显著降低(*P*<0.05), circ_0044516 MUT荧光素酶活性不受影响.

2.5 Circ_0044516靶向负调控miR-516a-5p的表达 与pcDNA组相比, pcDNA-circ_0044516组中circ_0044516相对表达水平显著增加(*P*<0.05), miR-516a-5p相对表达水平显著降低(*P*<0.05). 表4.

2.6 抑制miR-516a-5p对沉默circ_0044516处理HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡的影响 与si-circ_0044516+anti-miR-NC组比较, si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p组miR-516a-5p相对表达水平显著降低(*P*<0.05), 细胞活性、迁移细胞数增加(*P*<0.05), 凋亡率显著降低(*P*<0.05), p21、Bax蛋白表达降低(*P*<0.05), Bcl-2、MMP2蛋白表达增加(*P*<0.05). 图7、图8、表5.

3 讨论

CircRNA在哺乳动物异常表达, 于20世纪70年代首次被

发现, 目前已受到国内外研究学者的广泛关注, 还能够竞争结合微小RNA(microRNA, miRNA)参与肿瘤细胞增殖、迁移、凋亡等生物学过程^[7,8]. 研究结果表明^[9], 在胃癌组织中circ_001653表达增加, 体外实验显示下调circ_001653抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭, 并诱导细胞凋亡, 可能调控miR-377/NR6A1轴促进胃癌发展. circ_0044516是最近被发现一种circRNA, 在肺癌组织和细胞中高表达, 敲低circ_0044516可明显抑制肺癌细胞增殖和阻滞细胞周期进展, 促进细胞凋亡^[10]. 研究表明^[11], 在前列腺癌组织外泌体中circ_0044516表达增加, 下调其表达对前列腺癌细胞增殖、迁移、侵袭由抑制作用. 在胃癌研究中发现, circ_0044516表达增加, 通过调控miR-149-5p促进HuR的表达, 进而促进胃癌细胞增殖、迁移和侵袭^[12]. 本研究结果显示, 胃癌细胞中circ_0044516表达水平增加, 明显高于胃上皮细胞GES-1, 沉默circ_0044516降低胃癌细胞存活率、迁移细胞数, 增加细胞凋亡率. p21是Cip家族成员, 在癌组织中表达失调, 与细胞周期及增殖有关^[13]. Bcl-2家族成员Bcl-2与Bax, 二者之间相互拮抗共同促进细胞发生凋亡^[14]. MMP2基因位于16q12.2区域, 不仅能降解细胞外基质蛋白, 还可以促进细胞转移^[15]. 上调p21、Bax蛋白表达, 下调Bcl-2、MMP2蛋白表达, 提示沉默circ_0044516抑制胃癌细胞增殖和迁移, 并诱导细胞凋亡.

miRNA在正常组织和癌组织中差异表达, 可以作为促癌基因或抑癌基因影响癌症的发展, 包括在内的胃癌^[6], 如下调miR-335、miR-124、miR-218等^[17], 上调miR-216a、miR-552、miR-592等^[18,19]. 研究结果显示^[20,21], miR-516a-5p在肝细胞癌、膀胱癌等低表达, 上调miR-516a-5p表达能抑制癌细胞增殖、迁移和侵袭等过程. 还有研究结果表明^[22], circ_MYC可能通过降低miR-516a-5p促进急性髓系白血病细胞增殖. 但是miR-516a-5p对胃癌细胞的研究暂不明确, 在本研究中发现, miR-516a-5p在胃癌细胞中表达水平降低, 过表达miR-516a-5p降低胃癌细胞存活率和迁移细胞数, 增加凋亡率, p21、Bax蛋白表达增加, Bcl-2、MMP2蛋白表达降低, 提示过表达miR-

表 5 抑制miR-516a-5p对沉默circ_0044516处理HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

分组	存活率(%)		凋亡率(%)	迁移细胞数(个)	p21	Bax	Bcl-2	MMP2
	24 h	48 h						
si-circ_0044516+anti-miR-NC	69.17 ± 5.68	43.35 ± 4.26	20.88 ± 2.41	36.43 ± 3.24	0.54 ± 0.04	0.44 ± 0.05	0.37 ± 0.04	0.34 ± 0.04
si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p	85.88 ± 7.21 ^a	68.94 ± 6.53 ^a	13.67 ± 1.52 ^a	55.21 ± 4.70 ^a	0.43 ± 0.03 ^a	0.32 ± 0.03 ^a	0.50 ± 0.04 ^a	0.45 ± 0.04 ^a
t	5.462	9.846	7.591	9.869	6.600	6.174	6.894	5.834
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与si-circ_0044516+anti-miR-NC组相比, ^aP<0.05; Bax: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; MMP2: 基质金属蛋白酶2.

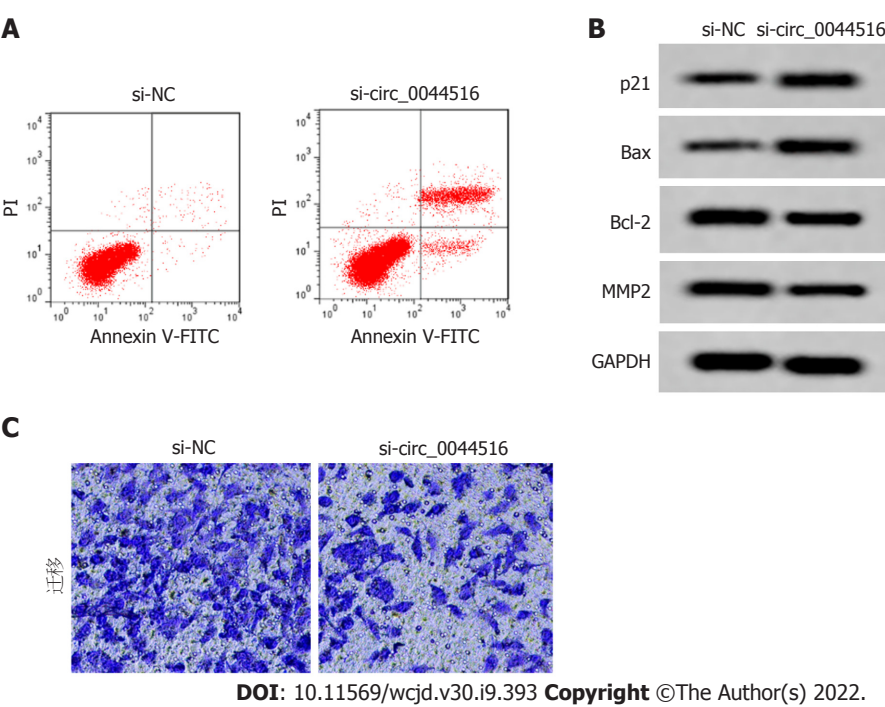
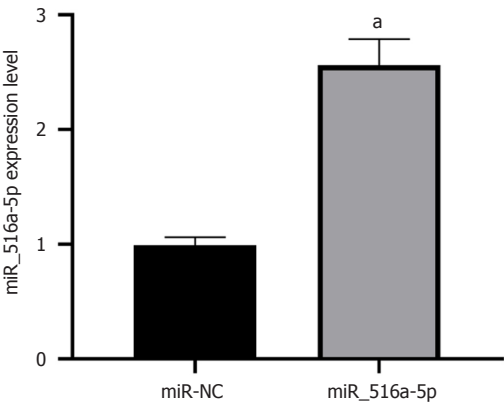


图 3 沉默circ_0044516对HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡影响. A: 凋亡图; B: p21、Bax、Bcl-2、MMP2蛋白表达; C: 迁移图. Bax: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; MMP2: 基质金属蛋白酶2.



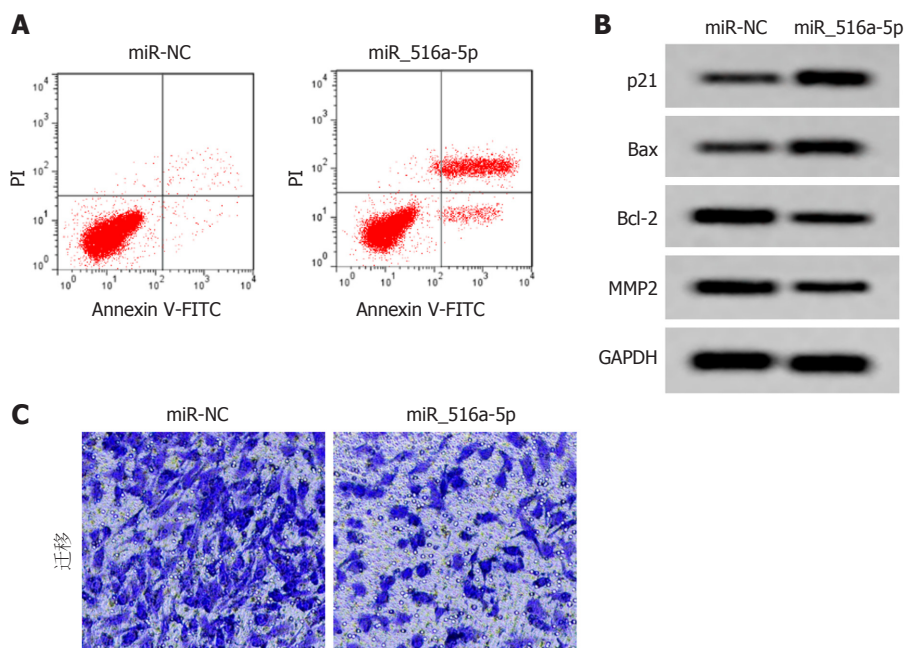
DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.393 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 4 过表达miR-516a-5p的转染效率. 与miR-NC相比, ^aP<0.05

516a-5p抑制胃癌细胞增殖和迁移, 并诱导细胞凋亡. 在线生物信息软件和双荧光素酶报告实验显示, miR-516a-5p是circ_0044516靶基因. 过表达circ_0044516降低miR-516a-5p表达水平, 提示circ_0044516靶向负调控miR-516a-5p的表达. 进一步实验结果显示, 抑制miR-516a-5p对沉默circ_0044516处理胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响, 提示circ_0044516可能通过负调控miR-516a-5p促进胃癌细胞发展.

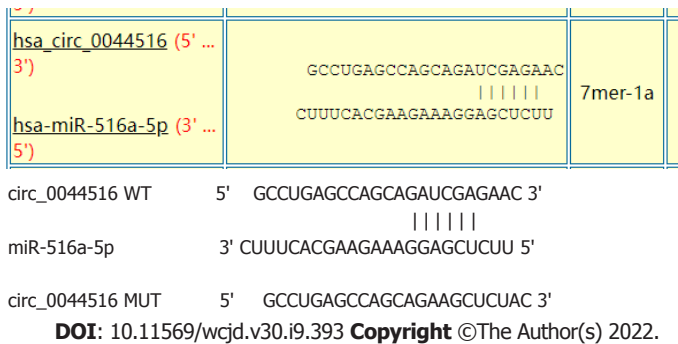
4 结论

综上所述, 沉默circ_0044516抑制胃癌细胞增殖和迁移, 并诱导细胞凋亡, 作用机制可能与调控miR-516a-5p有关. 当然, 本实验也存在不足的地方, 只注重研究体外细胞功能实验, 关于体内实验及可能相关信号通路等需要后一



DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.393 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 5 过表达miR-516a-5p对HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡影响. A: 凋亡图; B: p21、Bax、Bcl-2、MMP2蛋白表达; C: 迁移图. Bax: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; MMP2: 基质金属蛋白酶2.



DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.393 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 6 circ_0044516和miR-516a-5p存在互补结合位点.

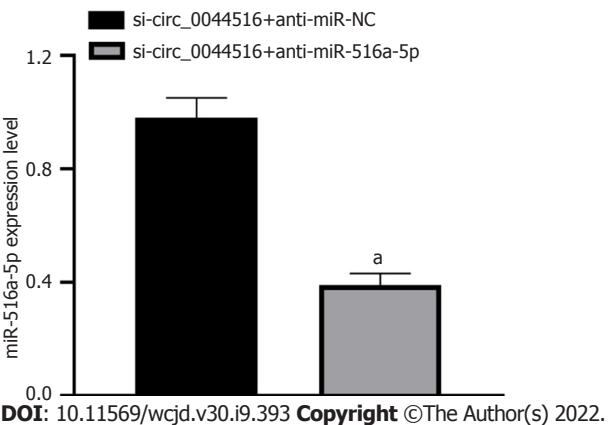


图 7 miR-516a-5p转染效率. 与si-circ_0044516+anti-miR-NC相比, *P<0.05.

步继续验证, 为胃癌治疗提供新的分子靶向理论依据.

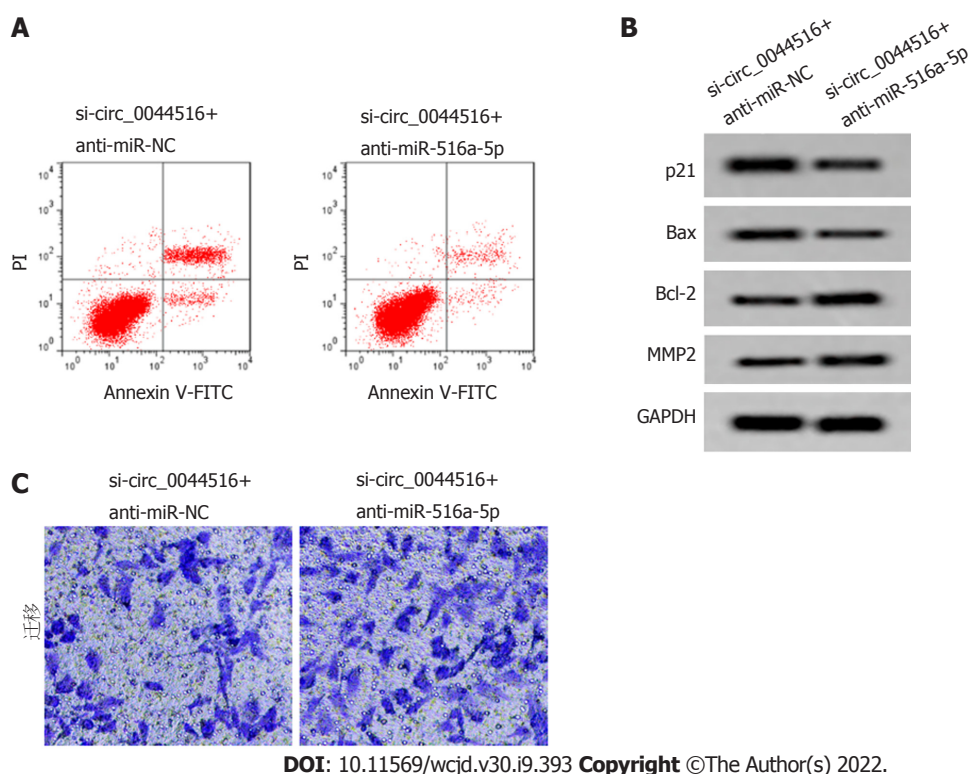
文章亮点

实验背景

CircRNA具有共价闭合结构, 已成为近年的人类疾病和肿瘤研究的热点, 研究证明circRNA与胃癌发病有关, 可介导参与胃癌细胞增殖、迁移等过程.

实验动机

在胃癌组织和细胞中circ_0044516高表达, 通过靶向调控miRNA促进胃癌细胞生物学行为. 在线生物信息学软件预测显示, miR-516a-5p与circ_0044516相互结合, 而miR-516a-5p在非小细胞肺癌细胞中低表达, 但是随胃癌细胞生物学行为暂不清楚. 本研究主要观察circ_0044516可能



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.393 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 8 抑制miR-516a-5p对沉默circ_0044516处理HGC-27细胞增殖、迁移和凋亡影响。A: 凋亡图; B: p21、Bax、Bcl-2、MMP2蛋白表达; C: 迁移图。Bax: Bcl-2相关X蛋白; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; MMP2: 基质金属蛋白酶2。

通过靶向调控miR-516a-5p对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响。

实验目标

本研究主要观察circ_0044516对胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响, 及其是否能通过调控miR-516a-5p影响胃癌细胞生物学行为, 旨在为胃癌研究提供新的作用靶点。

实验方法

qRT-PCR实验检测胃上皮细胞GES-1和胃癌细胞SNU-16、HGC-27中circ_0044516、miR-516a-5p表达水平。将HGC-27细胞分为si-NC组、si-circ_0044516组、miR-NC组、miR-516a-5p组、si-circ_0044516+anti-miR-NC组、si-circ_0044516+anti-miR-516a-5p组。qRT-PCR实验检测circ_0044516和miR-516a-5p表达水平; 噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)实验检测细胞增殖; 流式细胞术实验检测细胞凋亡; Transwell实验检测细胞迁移; Western blot实验检测p21、Bax、Bcl-2、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)蛋白表达; 双荧光素酶报告实验检测circ_0044516和miR-516a-5p靶向关系。

实验结果

胃癌细胞circ_0044516高表达, 而miR-516a-5p低表达, 沉

默circ_0044516或过表达miR-516a-5p抑制胃癌细胞增殖和迁移, 并诱导细胞凋亡, 抑制miR-516a-5p对沉默circ_0044516处理胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的影响。

实验结论

胃癌细胞circ_0044516高表达, 沉默circ_0044516抑制胃癌细胞增殖和迁移, 并诱导细胞凋亡, 作用机制可能与调控miR-516a-5p有关。

展望前景

本实验也存在不足的地方, 只注重研究体外细胞功能实验, 关于体内实验及可能相关信号通路等需要后一步继续验证。

5 参考文献

- 1 Li P, Jing J, Li R, Ge M, Jia P, Hu W, Qi X, Wei WQ, Zhuang G. Upper Gastrointestinal Cancer in China: Spatial Epidemiologic Evidence from Screening Areas. *Cancer Prev Res (Phila)* 2020; 13: 935-946 [PMID: 32655009 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0139]
- 2 Song Z, Wu Y, Yang J, Yang D, Fang X. Progress in the treatment of advanced gastric cancer. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317714626 [PMID: 28671042 DOI: 10.1177/1010428317714626]
- 3 Li R, Jiang J, Shi H, Qian H, Zhang X, Xu W. CircRNA: a rising star in gastric cancer. *Cell Mol Life Sci* 2020; 77: 1661-1680 [PMID: 31659415 DOI: 10.1007/s00018-019-03345-5]
- 4 Altesha MA, Ni T, Khan A, Liu K, Zheng X. Circular RNA in cardiovascular disease. *J Cell Physiol* 2019; 234: 5588-5600 [PMID: 30341894 DOI: 10.1002/jcp.27384]

- 5 Fang J, Chen W, Meng X. Downregulating circRNA_0044516 Inhibits Cell Proliferation in Gastric Cancer Through miR-149/Wnt1/ β -catenin Pathway. *J Gastrointest Surg* 2021; 25: 1696-1705 [PMID: 33140323 DOI: 10.1007/s11605-020-04834-w]
- 6 Ye XY, Xu L, Lu S, Chen ZW. MiR-516a-5p inhibits the proliferation of non-small cell lung cancer by targeting HIST3H2A. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2019; 33: 2058738419841481 [PMID: 30966836 DOI: 10.1177/2058738419841481]
- 7 Zhou WY, Cai ZR, Liu J, Wang DS, Ju HQ, Xu RH. Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins. *Mol Cancer* 2020; 19: 172 [PMID: 33317550 DOI: 10.1186/s12943-020-01286-3]
- 8 Khan S, Jha A, Panda AC, Dixit A. Cancer-Associated circRNA-miRNA-mRNA Regulatory Networks: A Meta-Analysis. *Front Mol Biosci* 2021; 8: 671309 [PMID: 34055888 DOI: 10.3389/fmolb.2021.671309]
- 9 Zhou W, Jiang R, Wang Y, Li Y, Sun Z, Zhao H. hsa_circ_001653 up-regulates NR6A1 expression and elicits gastric cancer progression by binding to microRNA-377. *Exp Physiol* 2020; 105: 2141-2153 [PMID: 33006200 DOI: 10.1113/EP088399]
- 10 Chen YW, Du QR, He YJ, Chen WS, Jiang WY, Gui Q, Xu CC, Wang W, Cheng HY. Circ_0044516 Regulates miR-136/MAT2A Pathway to Facilitate Lung Cancer Development. *J Immunol Res* 2021; 2021: 5510869 [PMID: 34258296 DOI: 10.1155/2021/5510869]
- 11 Li T, Sun X, Chen L. Exosome circ_0044516 promotes prostate cancer cell proliferation and metastasis as a potential biomarker. *J Cell Biochem* 2020; 121: 2118-2126 [PMID: 31625175 DOI: 10.1002/jcb.28239]
- 12 Yang Y, Cai B, Shi X, Duan C, Tong T, Yu C. circ_0044516 functions in the progression of gastric cancer by modulating MicroRNA-149-5p/HuR axis. *Mol Cell Biochem* 2021 [PMID: 33417162 DOI: 10.1007/s11010-020-04026-9]
- 13 Shamloo B, Usluer S. p21 in Cancer Research. *Cancers (Basel)* 2019; 11 [PMID: 31416295 DOI: 10.3390/cancers11081178]
- 14 Warren CFA, Wong-Brown MW, Bowden NA. BCL-2 family isoforms in apoptosis and cancer. *Cell Death Dis* 2019; 10: 177 [PMID: 30792387 DOI: 10.1038/s41419-019-1407-6]
- 15 Sanyal S, Amin SA, Adhikari N, Jha T. Ligand-based design of anticancer MMP2 inhibitors: a review. *Future Med Chem* 2021; 13: 1987-2013 [PMID: 34634916 DOI: 10.4155/fmc-2021-0262]
- 16 Alessandrini L, Manchi M, De Re V, Dolcetti R, Canzonieri V. Proposed Molecular and miRNA Classification of Gastric Cancer. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 29882766 DOI: 10.3390/ijms19061683]
- 17 Zare A, Ahadi A, Larki P, Omrani MD, Zali MR, Alamdari NM, Ghaedi H. The clinical significance of miR-335, miR-124, miR-218 and miR-484 downregulation in gastric cancer. *Mol Biol Rep* 2018; 45: 1587-1595 [PMID: 30171475 DOI: 10.1007/s11033-018-4278-5]
- 18 Safaralizadeh R, Ajami N, Nemati M, Hosseinpourfeizi M, Azimzadeh Isfajani A, Moaddab SY. Disregulation of miR-216a and miR-217 in Gastric Cancer and Their Clinical Significance. *J Gastrointest Cancer* 2019; 50: 78-83 [PMID: 29177609 DOI: 10.1007/s12029-017-0019-6]
- 19 李猛, 仲雅婷, 陈成, 徐维, 高超. miR-552和miR-592在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系. *胃肠病学和肝病学杂志* 2021; 30: 1096-1100+1106 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2021.10.004]
- 20 Yao Z, Xu R, Yuan L, Xu M, Zhuang H, Li Y, Zhang Y, Lin N. Circ_0001955 facilitates hepatocellular carcinoma (HCC) tumorigenesis by sponging miR-516a-5p to release TRAF6 and MAPK11. *Cell Death Dis* 2019; 10: 945 [PMID: 31822654 DOI: 10.1038/s41419-019-2176-y]
- 21 Huang W, Lu Y, Wang F, Huang X, Yu Z. Circular RNA circRNA_103809 Accelerates Bladder Cancer Progression and Enhances Chemo-Resistance by Activation of miR-516a-5p/FBXL18 Axis. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 7561-7568 [PMID: 32922071 DOI: 10.2147/CMAR.S263083]
- 22 Zou X, Jiang M. CircMYC regulates the mitochondrial respiration and cell viability via miR-516a-5p/AKT3 axis in acute myeloid leukemia. *Am J Transl Res* 2021; 13: 10112-10126 [PMID: 34650684]

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.

细胞色素P450家族成员CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2表达与HCC发生有关并可作为HCC诊断和预后的分子标志物

唐辉, 汪笑秋

唐辉, 浙江中医药大学 浙江省丽水市 323000

唐辉, 丽水市人民医院介入科 浙江省丽水市 323000

汪笑秋, 丽水市人民医院肿瘤科 浙江省丽水市 323000

唐辉, 主治医师, 主要从事肿瘤及外周血管综合介入方向临床研究.

作者贡献分布: 此课题由汪笑秋设计; 研究过程、数据分析、本论文写作由唐辉、汪笑秋完成.

通讯作者: 汪笑秋, 副主任医师, 323000, 丽水市莲都区大众街15号, 丽水市人民医院. 61600313@qq.com

收稿日期: 2022-02-28

修回日期: 2022-03-21

接受日期: 2022-04-19

在线出版日期: 2022-05-08

Cytochrome P450 family members CYP2E1, CYP3A4, and CYP1A2 are related to prognosis of HCC and can be used as molecular markers for its diagnosis

Hui Tang, Xiao-Qiu Wang

Hui Tang, Zhejiang University of Chinese Medicine, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Hui Tang, Department of Interventional Surgery, Lishui People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Xiao-Qiu Wang, Department of Oncology, Lishui People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xiao-Qiu Wang, Deputy Chief Physician, Department of Oncology, Lishui People's Hospital. No. 15 Dazhong Road, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. 61600313@qq.com

Received: 2022-02-28

Revised: 2022-03-21

Accepted: 2022-04-19

Published online: 2022-05-08

Abstract BACKGROUND

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common malignant tumor of the digestive system, and its exact pathogenesis is unclear. Most studies believe that dysregulation of the spatiotemporal expression of multiple genes is closely related to the occurrence of HCC.

AIM

To identify the differentially expressed genes in HCC, analyze their value as molecular markers for the diagnosis of HCC, and explore the relationship between differentially expressed key genes and prognosis of HCC patients.

METHODS

The differentially expressed gene profiles in HCC patients and non-HCC liver tissues were selected from GEO database, and the differentially expressed genes were screened. The selected differential genes were clustered, and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) and protein-protein interaction (PPI) analyses were performed. At the same time, hub genes were identified from the differentially expressed genes. According to the identified HUB gene expression, the HCC patients were divided into high and low expression groups, and the overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) were compared between the two groups. Hub genes were then evaluated for their value in HCC diagnosis.

RESULTS

In GSE62232, GSE67764, GSE89377, and GSE112790 data sets, differentially expressed genes in HCC and normal

liver tissues were 370, 1386, 76, and 418, respectively, and a total of 37 common differentially expressed genes were found in the four data sets. These 37 differentially expressed genes are mainly enriched in recognition of apoptotic cells, transition metal ion binding, and chemical carcinogenesis. The clustering heat map of seven differentially expressed genes showed obvious clustering between tumor tissues and normal tissues. PPI topological network was plotted for the 37 differentially expressed genes, and there were 42 protein nodes and 145 action relationships in the network, with an average action degree of 6.9 and regional clustering index of 0.586, indicating significant enrichment ($P < 0.05$). CYP3A4 and CYP1A2 were the first three hub genes among the 37 differential genes. The areas under the ROC curves for HCC diagnosis based on CYP2E1, CYP3A4, and CYP1A2 alone were 0.83 (95% confidence interval [CI]: 0.74-0.93), 0.93 (95% CI: 0.88-0.97), and 0.96 (95% CI: 0.924-0.98), respectively. OS (hazard ratio [HR] = 0.57, 95% CI: 0.39-0.84; HR = 0.57, 95% CI: 0.40-0.81) and PFS (HR = 0.63, 95% CI: 0.46-0.88; HR = 0.61, 95% CI: 0.45-0.83) in the high CYP2E1 and CYP3A4 expression groups were significantly higher than those in their respective low expression groups ($P < 0.05$), while there was no statistical difference in OS or PFS in the CYP1A2 high and low expression groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION

CYP2E1, CYP3A4, and CYP1A2 may be associated with the occurrence of HCC and can be applied as molecular markers for the prognosis and diagnosis of HCC.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Differentially expressed genes; Prognosis; Diagnosis; Biological information

Citation: Tang H, Wang XQ. Cytochrome P450 family members CYP2E1, CYP3A4, and CYP1A2 are related to prognosis of HCC and can be used as molecular markers for its diagnosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(9): 402-410

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/402.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.402>

摘要

背景

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是较为常见的消化系统恶性肿瘤,其确切发病机制不清。大多数研究认为多基因的时空表达失调与HCC的发生密切相关。

目的

探讨HCC差异表达基因及其作为分子标志物诊断HCC价值,同时分析差异表达关键基因与HCC患者预后关系。

方法

基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)中选取HCC与非HCC肝组织中差异表达基因谱数据,并对差异表达基因进行筛选。对筛选出的差异基因进行聚类,并进行基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)和蛋白相互作用网络(protein-protein interaction, PPI)分析;同时对差异表达基因进行关键基因(hub)鉴定。根据鉴定的hub基因表达情况分为高低表达组,比较高低表达组HCC患者总生存率(overall survival, OS)和无疾病进展生存(progression free survival, PFS)有无差异。采用hub基因为诊断依据评估hub诊断HCC的价值。

结果

GSE62232、GSE67764、GSE89377和GSE112790数据中HCC和正常肝组织中差异表达基因分别为370、1386、76和418个,四个数据集中共差异表达的基因为37个。37个差异表达基因主要富集于凋亡细胞的识别、过渡金属离子结合,KEGG信号通路富集于化学致癌作用等。37个差异基因表达水平绘制聚类热图,肿瘤组织与正常组织间聚类明显;37基因PPI拓扑网络中有42个蛋白节点,145个作用关系,平均作用度为6.9,区域聚类指数为0.586,富集显著($P < 0.05$),CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2为37个差异基因中的前三个hub基因;以CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2为参考诊断HCC的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)下面积分别为0.83(95%CI: 0.74-0.93), 0.93(95%CI: 0.88-0.97)和0.96(95%CI: 0.924-0.98); CYP2E1高表达组OS(HR = 0.57, 95%CI: 0.39-0.84), PFS(HR = 0.63, 95%CI: 0.46-0.88)和CYP3A4高表达组OS(0.57, 95%CI: 0.40-0.81), PFS(0.61, 95%CI: 0.45-0.83)均显著高于低表达组,且有统计学差异($P < 0.05$),而CYP1A2高低表达组HCC患者OS和PFS无统计学差异($P > 0.05$)。

结论

CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2可能与HCC的发生有关,并可作为HCC诊断和预后的分子标志物。

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

关键词: 肝细胞癌; 差异表达基因; 预后; 诊断; 生物信息

核心提要: 细胞色素P450家族成员CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者癌组织中呈现明显的差异表达并与HCC发生有关,有望成为HCC诊断和预后的分子标志物。

文献来源: 唐辉, 汪笑秋. 细胞色素P450家族成员CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2表达与HCC发生有关并可作为HCC诊断和预后的分子标志物。

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)较为常见的消化系统恶性肿瘤。流行病学数据预计, 2021年全球范围内HCC每年新发病例为905677例, 因HCC死亡病例为830180例^[1]。目前大多数研究认为HCC的发生主要与乙肝肝硬化有关, HBV感染后造成肝细胞的持续损伤、修复、再损伤循环, 从而造成肝硬化, 继而发生癌变, 但其确切发病机制不清^[2,3]。大多数研究认为多基因的时空表达失调与HCC的发生密切相关^[4,5], 但涉及HCC有关的时空表达失调的基因众多, 不同的差异表达基因在HCC发生发展及侵袭转移等生物学过程中可能发挥不同的作用。现有的HCC发生及生物学行为相关基因有Tp53, Bcl-2, Bad-p, Bax^[6], HULC和H19等^[7]。上述基因大多被相关文献报道, 而HCC差异表达基因集及其相关的生物学功能、与预后的关系和诊断价值鲜有报道。

1 材料和方法

1.1 材料 研究采用生物信息数据库分析, 首先在基因综合表达数据库[(gene expression omnibus, GEO)中筛选HCC与正常肝组织基因表达数据, 然后对数据集中的差异表达基因进行筛选, 对筛选出的差异基因进行基因本体论(gene ontology, GO), 基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、蛋白相互作用网络(protein-protein interaction, PPI)和聚类分析。对差异基因进行关键基因(hub基因)鉴定。Kaplan-Meier数据库对比关键基因高低表达与HCC患者预后关系。同时, 采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)以hub基因为参考, 诊断HCC的价值, 图1。

研究选取(GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)、(KEGG, <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)、蛋白相互作用拓扑网络数据库(String, <http://string-db.org/cgi/input.pl>)、肿瘤生存分析数据库(Kaplan-Meier, <http://kmplot.com/analysis/index.php?p=service>), 作为本次研究的主要数据来源。

1.2 方法 GEO数据库中检索HCC基因表达数据集, 检索词为“Hepatocellular carcinoma (HCC)/liver cancer”, 种属为“human”。进一步对检索到的结果进行筛选, 选取GSE62232^[8]、GSE67764^[9]、GSE89377^[10]和GSE112790^[11]四个数据集进行分析。根据数据集中HCC与正常肝组织中基因表达谱情况进行筛选, 筛选条件为HCC组和正常组中上调或下调超过2个拷贝的基因, 且 $P < 0.05$; 分

表 1 纳入分析的4个数据基本特征

数据集	提交者	地区	种属	标本		
				HCC	正常	合计
GSE62232	Schulze ^[8]	法国	人类	81	10	91
GSE67764	Yang ^[9]	中国	人类	6	3	9
GSE89377	Shen ^[10]	韩国	人类	40	13	53
GSE112790	Shimada ^[11]	日本	人类	183	15	198

HCC: 肝细胞癌。

别对GSE62232、GSE67764、GSE89377和GSE112790数据集中的差异基因进行重叠分析, 选取公差异表达基因, 并绘制Venn图。在STRING数据库中对筛选出的共差异表达基因进行蛋白相互作用拓扑网络构建, 构建条件为: 数据来源Textmining, co-expression, gene function和co-occurrence; 相互作用关系系数 ≥ 0.4 ; 相互作用蛋白不高于20个。在KEGG数据库中对筛选出的差异表达基因相关信号通路进行分析富集。物种选择“human”; 通路包含: 代谢、遗传信息、环境信息、细胞过程、人类疾病和药物开发等。采用Cytoscapev3.7.2软件对拓扑网络中的hub基因进行筛选关键hub基因, 筛选依据为node-score。在GSE112790数据中, 根据HCC与正常肝组织37个差异基因表达水平绘制聚类热图, 条件为: 行距离: 欧氏距离; 列距离: 欧氏距离。

统计学处理 相关统计分析采用R软件进行, 计量资料应用mean $\pm$ SD表示, 肿瘤组织与正常组织比较采用 t 检验; 计数采用率表示, 应用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC差异表达基因筛选 选取了GSE62232、GSE67764、GSE89377和GSE112790数据为研究对象, 四个数据集基本特征见表1。HCC和正常肝组织中差异表达基因分别为370、1386、76和418(图2), 四个数据集中共差异表达的基因为37个(图3)。

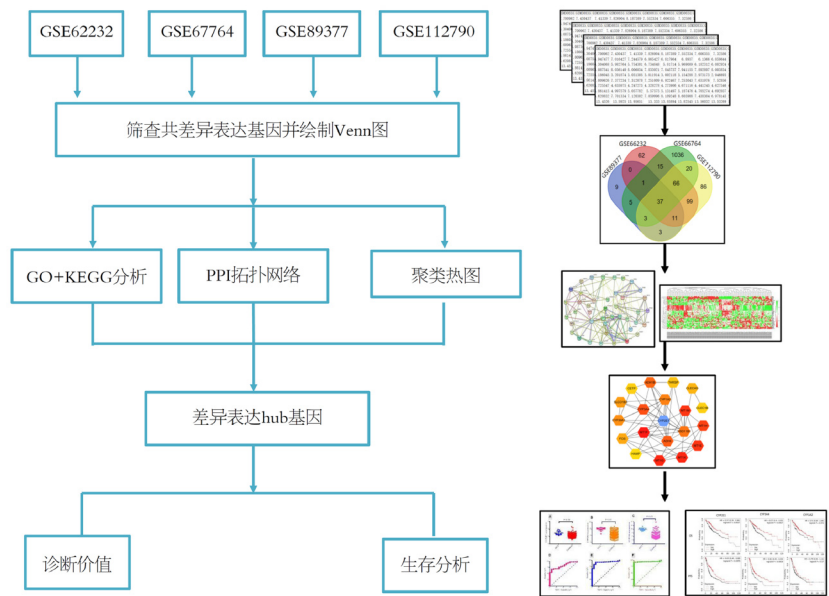
2.2 差异表达基因GO及KEGG分析 筛选出的37个差异表达基因生物学过程主要富集于代谢过程、凋亡细胞的识别和细胞金属离子的反应; 细胞定位于转录因子ap-1复合体和高密度脂蛋白粒子; 生物学过程主要为过渡金属离子结合、芳香化酶活性和雌激素2-hydroxylase活性等, 见表2。KEGG信号通路富集于细胞色素P450对外来生物的代谢、化学致癌作用和药物代谢-细胞色素P450等, 见表3。

2.3 差异表达基因聚类分析 根据HCC与正常肝组织37个差异基因表达水平绘制聚类热图, 肿瘤组织与正常组织间聚类明显, 见图4。

表 2 差异表达基因GO富集

GO	基因数	背景基因	强度	P value
生物学过程				
铜离子解毒	6	14	2.3	7.37E-09
极低密度脂蛋白颗粒重塑	3	9	2.19	0.00087
脂质羟基化	2	7	2.12	0.0388
生物碱代谢过程	2	7	2.12	0.0388
凋亡细胞的识别	2	7	2.12	0.0388
细胞对铜离子的反应	7	27	2.08	3.68E-09
细胞对锌离子的反应	6	23	2.08	4.45E-08
对促红细胞生成素的反应	2	8	2.07	0.0436
细胞对镉离子的反应	8	37	2	7.77E-10
细胞成分				
转录因子ap-1复合物	3	4	2.54	0.00078
高密度脂蛋白颗粒	4	29	1.81	0.00087
分子功能				
过渡金属离子结合	13	1076	0.75	0.0013
类固醇羟化酶活性	4	36	1.71	0.0041
类固醇结合	5	104	1.35	0.0061
芳香化酶活性	3	24	1.77	0.0337
锌离子结合	9	811	0.71	0.0425
阳离子结合	21	4242	0.36	0.0425
雌激素2-羟化酶活性	2	5	2.27	0.0425

GO: 基因本体论.



DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.402 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 1 研究流程图. GO: 基因本体论; KEGG: 基因组百科全书; PPI: 蛋白相互作用网络.

2.4 PPI拓扑网络及hub基因 37个HCC与正常肝组织差异表达基因绘制PPI拓扑网络, 网络中有42个蛋白节点, 145个作用关系, 平均作用度为6.9, 区域聚类指数为0.586, 富集显著($P<0.05$), 见图5. Cytoscapev3.7.2软件对拓扑网络中的hub基因进行筛选, *CYP2E1*, *CYP3A4*和

*CYP1A2*为37个差异基因中的前三个hub基因, 见图6.

2.5 Hub基因诊断HCC价值 三个hub基因*CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*在HCC组织中的表达水平明显高于正常对照组织($P<0.05$), 见图6. 以*CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*为参考诊断HCC的ROC曲线下面积分别

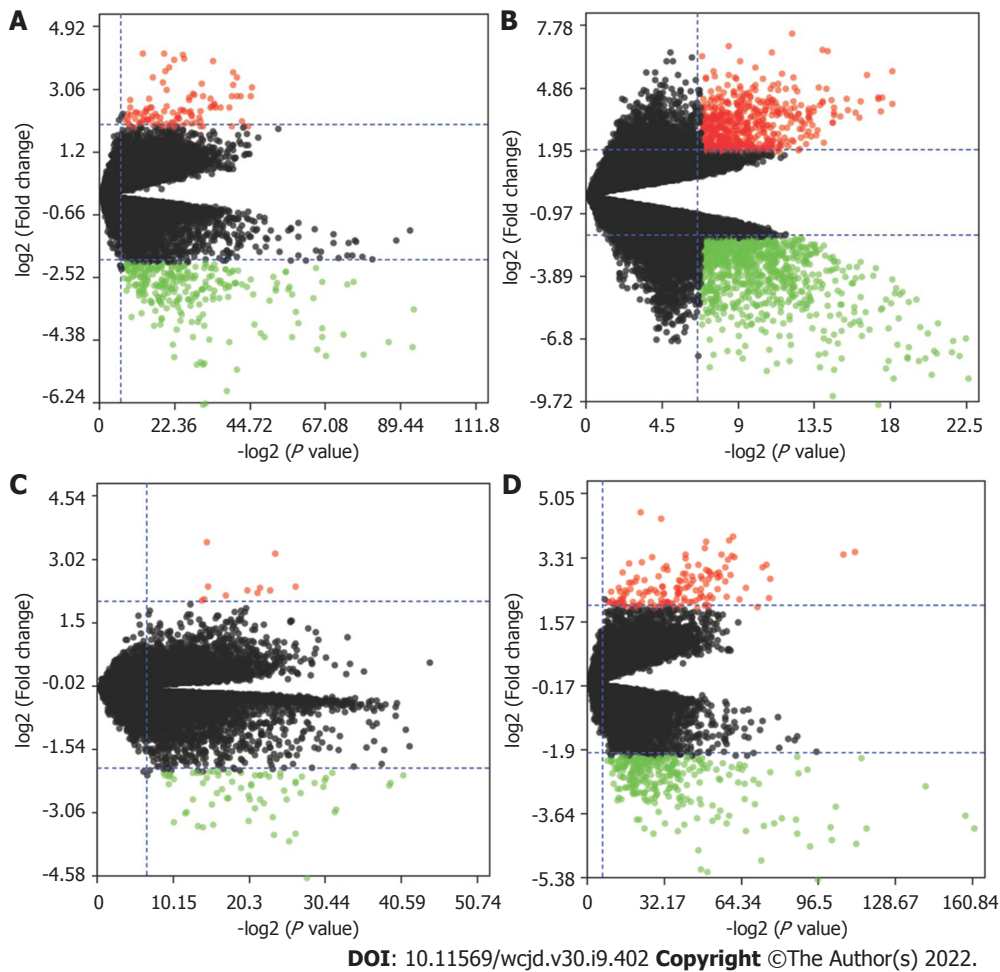


图 2 HCC差异表达基因筛选火山图. A: GSE62232数据集; B: GSE67764数据集; C: GSE89377数据集; D: GSE112790数据. HCC: 肝细胞癌.

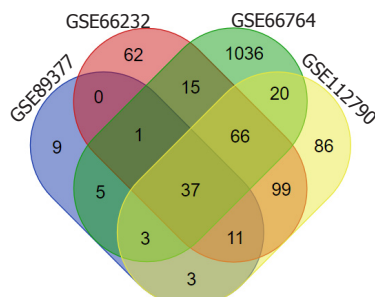


图 3 四个数据集中共差异表达基因的Venn图.

为0.83(95%CI: 0.74-0.93), 0.93(95%CI: 0.88-0.97)和0.96(95%CI: 0.924-0.98), 见图7.

2.6 Hub基因与HCC预后分析 *CYP2E1*高表达组总生存率(overall survival, OS)(HR = 0.57, 95%CI: 0.39-0.84), 无疾病进展生存(progression free survival, PFS)(HR = 0.63, 95%CI: 0.46-0.88)和*CYP3A4*高表达组OS(0.57, 95%CI: 0.40-0.81), PFS(0.61, 95%CI: 0.45-0.83)均显著高于低表达组且有统计学差异($P < 0.05$), 而*CYP1A2*高低表达组HCC患者OS和PFS无统计差异($P > 0.05$), 见图8.

3 讨论

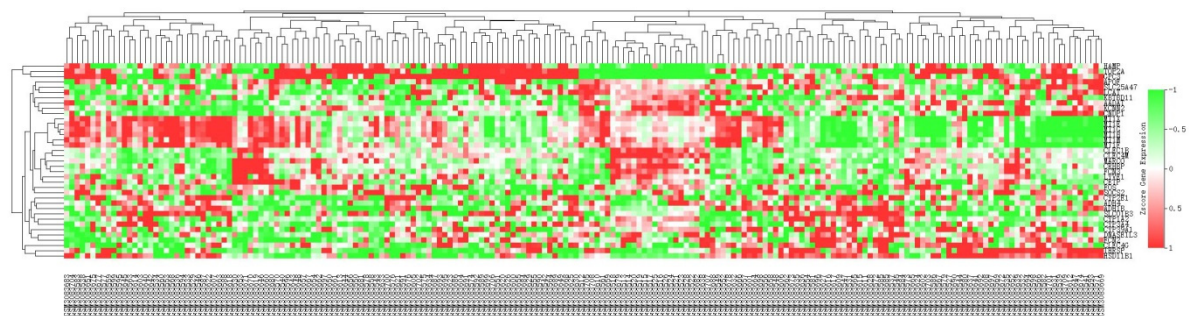
HCC是临床上较为常见的实体恶性肿瘤, 在常见的癌症中排名第六, 癌症相关死亡原因排名第四^[12]乙肝病毒感染(hepatitis B virus, HBV)导致的肝硬化是HCC的最常见原因^[13,14] 我国是HBV感染大国, HBV感染人数众多, 因而HCC的发生率也较高. HCC的预后极差, 5年生存率低于30%, 同时也缺乏有效的早期诊断方法^[15] 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是HCC早期诊断和术后监测复发的重要血清标志物, 但其可受到其他因素如妊娠、急慢性肝损伤等的影响而降低其诊断的敏感性和特异性^[16] 同时, AFP明显升高后, HCC已形成和发展为非早期, 其作为早期预警或高危人群检测的指标效果并不理想.

近年来随着分子生物和高通量测序、芯片技术的发展, HCC发生、发展、侵袭转移、预后和诊断等分子标志物成为了研究热点. 对HCC患者和正常人群进行高通量差异表达基因的筛选, 并对筛选的结果进一步分析, 有望鉴定出HCC特异表达基因谱, 为HCC的诊断、预后、靶向药物研发提供新的靶点和思路. 为了筛选HCC和健康人体肝脏组织之间的差异表达基因(different

表 3 差异表达基因KEGG功能富集

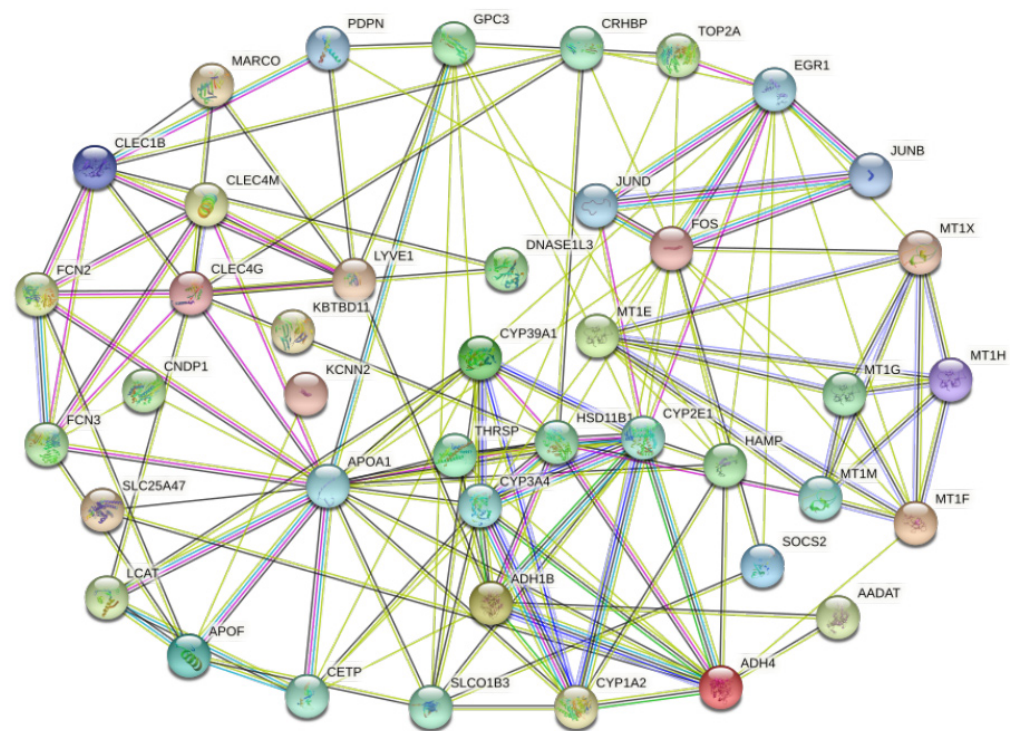
KEGG富集	基因数	背景基因	强度	P value
细胞色素P450对外源性物质的代谢	6	69	1.61	5.45E-06
化学致癌	6	75	1.57	5.45E-06
矿物吸收	5	58	1.6	3.42E-05
药物代谢-细胞色素P450	5	64	1.56	4.06E-05
类固醇激素生物合成	4	59	1.5	0.0009
视黄醇代谢	4	64	1.46	0.001
亚油酸	3	29	1.68	0.0028
胆固醇代谢	3	48	1.46	0.0101

KEGG: 基因组百科全书.



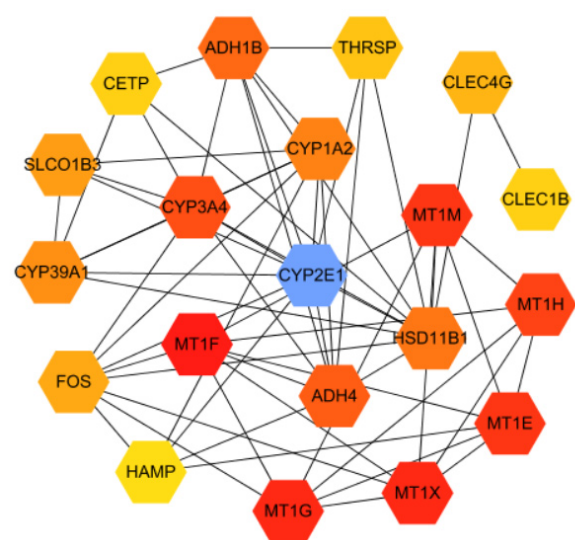
DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.402 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 4 GSE112790数据集中差异表达的37个基因聚类热图.



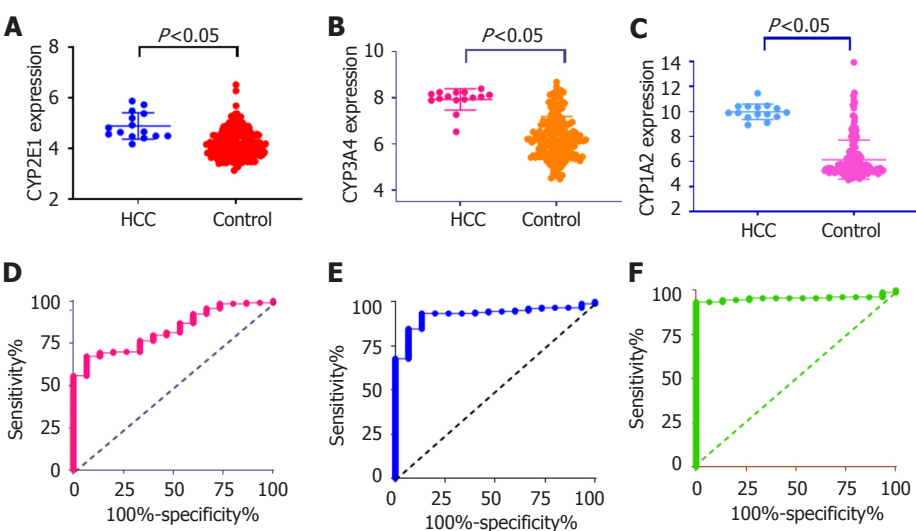
DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.402 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 5 37个差异表达基因PPI拓扑网络图. PPI: 蛋白相互作用网络.



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.402 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 6 37个差异表达基因中hub基因拓扑网络图.



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.402 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 7 三个hub基因差别表达及ROC曲线图. A: *CYP2E1*差异表达散点图; B: *CYP3A4*差异表达散点图; C: *CYP1A2*差异表达散点图; D: *CYP2E1*诊断HCC的ROC曲线; E: *CYP3A4*诊断HCC的ROC曲线; F: *CYP1A2*诊断HCC的ROC曲线. HCC: 肝细胞癌; ROC: 受试者工作特征曲线.

expressed genes, DEGs), 我们从GEO数据库中下载了4个基因表达谱, 以获得HCC组织和正常组织样本之间的DEGs. 通过GO注释和KEGG信号通路富集, 对所选的DEGs进行潜在功能分析. 同时, 对差异表达基因进行了聚类分析, 并利用Cytoscape软件构建蛋白-蛋白相互作用拓扑网络核心基因, 寻找与HCC相关的枢纽基因. 使用在线数据库Kaplan-Meier plotter对这些关键hub基因进行生存分析, 评估其高低表达与HCC患者预后关系. 研究结果共纳入了4个数据集GSE62232、GSE67764、GSE89377和GSE112790中HCC和正常肝组织中差异表达基因分别为370、1386、76和418, 四个数据集中共差异表达的基因为37个. 37个差异表达基因主要富集于

凋亡细胞的识别、过渡金属离子结合, KEGG信号通路富集于化学致癌作用等. *CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*为37个差异基因中的前三的hub基因; 分别以*CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*为参考诊断HCC的ROC曲线下面积分别为0.83, 0.93和0.96, 其诊断效能均较高; *CYP2E1*、*CYP3A4*高表达组OS和PFS均显著高于低表达组且有统计学差异($P < 0.05$), 而*CYP1A2*高低表达组HCC患者OS和PFS无统计差异.

CYP2E1, *CYP3A4*和*CYP1A2*均为细胞色素P450 (cytochrome P450)家族成员. 既往有文献报道*CYP2E1*表达与胃癌、膀胱癌等预后有关^[2,17], 而*CYP2E1*表达与HCC相关性鲜有报道. 细胞色素P450酶负责药物、外源

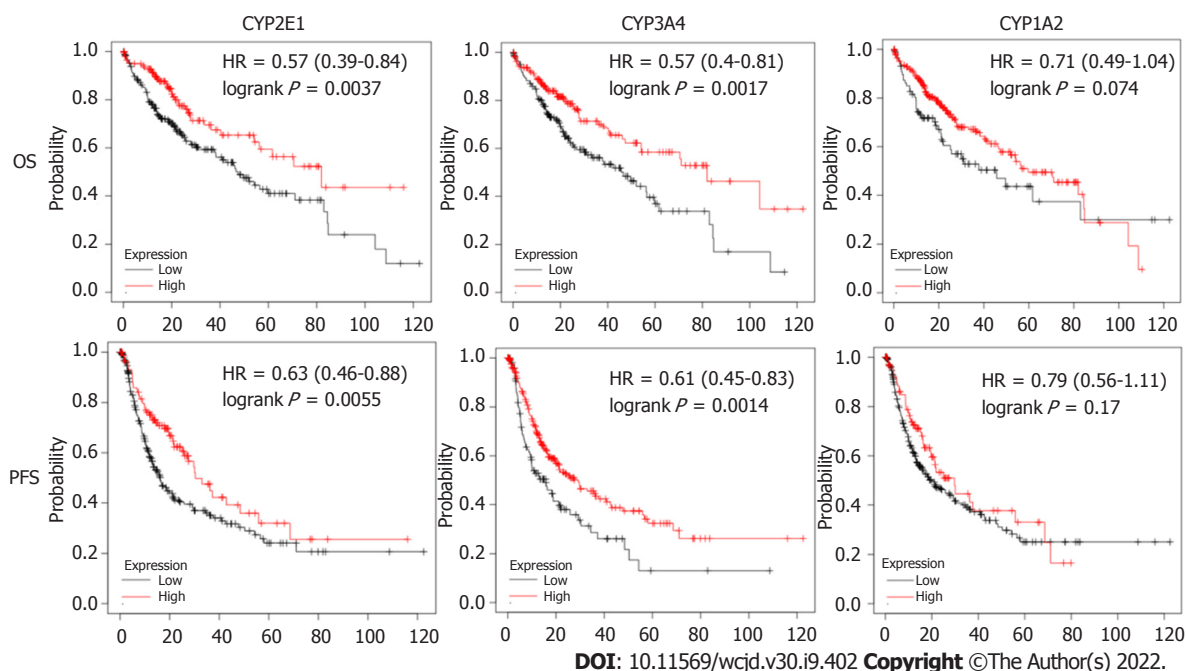


图 8 三个hub基因差别与HCC预后关系的生存曲线. HCC: 肝细胞癌; OS: 总生存率; PFS: 无疾病进展生存.

物质和内源性物质的生物转化. 这种酶活性可以由内在和外在因素调节, 从而改变机体对药物或某些毒性物质的反应. 从巨噬细胞、淋巴细胞和中性粒细胞释放的促炎性细胞因子, 如白细胞介素-1(interleukin 1, IL-1)、白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等能够在导致细胞色素P450酶抑制或活化的. 上述细胞也存在于肿瘤微环境中, 参与癌症的发展. 在本研究中我们发现CYP2E1高表达者OS和PFS优于低表达者, 因而提示CYP2E1可能为HCC生存的优势基因, 可作为HCC术后预后较好的标记物. 同时CYP2E1也可作为HCC诊断的分子标记物, 其诊断HCC的ROC曲线下面积高达0.83. CYP3A4与肿瘤的生物功能及预后亦有报道, 但和HCC的关系报道不多. 我们的研究也提示CYP3A4高表达与HCC预后较好有关.

然而本文存在一定的局限性, 首先研究结论主要基于生物信息数据库分析, 其结果和结论的可靠性需要进一步相关临床和基础试验进行证实. 其次, 欧美和日本HCC患者多有HCV感染背景, 而中国HCC患者多为HBV感染背景, 单纯HBV背景或HCV背景的HCC患者数据对研究中所获结果是否存在不同有待补充相关临床研究数据证实.

4 结论

综上, CYP2E1, CYP3A4和CYP1A2可能与HCC发病有关, 并可作为HCC诊断和预后的分子标志物.

文章亮点

实验背景

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是较为常见的消化系统恶性肿瘤, 预后差, 5年生存率低. 然而, 虽然HCC的发生与乙肝病毒感染有关, 但确切发病机制目前仍不十分清楚. 近年来已有研究提示HCC的发生与多基因的时空表达失调密切相关.

实验动机

采用生物信息数据深度挖掘方法探寻HCC差异表达基因及其作为分子标志物诊断肝癌的临床价值, 同时进一步探讨差异表达关键基因与HCC患者预后关系, 评估差异表达基因作为HCC预后分子标志物的可行性.

实验目标

探讨HCC差异表达基因及其与患者预后关系, 同时分析差异表达基因作为HCC诊断分子标志物的价值.

实验方法

首先采用生物信息分析技术在基因综合表达数据库(gene expression omnibus, GEO)中选取HCC与非HCC肝组织中差异表达基因谱数据. 对筛选出的差异基因进行聚类, 基因注释及蛋白网络分析, 并鉴定差异表达基因进行关键基因(hub). 根据hub基因表达分为高低表达组, 比较高低表达组HCC患者总生存率(overall survival, OS)和无疾病进展生存(progression free survival, PFS)有无差

异并评估hub诊断HCC的敏感性和特异性。

实验结果

HCC在四个数据集中共差异表达的基因为37个。37个差异表达基因主要富集于凋亡细胞的识别、过渡金属离子结合, KEGG信号通路富集于化学致癌作用等。*CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*为37个差异基因中的前三个hub基因; *CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*为参考诊断HCC的AUC分别为0.83(95%CI: 0.74-0.93), 0.93(95%CI: 0.88-0.97)和0.96(95%CI: 0.924-0.98); *CYP2E1*高表达组OS(HR = 0.57, 95%CI: 0.39-0.84), PFS(HR = 0.63, 95%CI: 0.46-0.88)和*CYP3A4*高表达组OS(0.57, 95%CI: 0.40-0.81), PFS(0.61, 95%CI: 0.45-0.83)均显著高于低表达组, 且有统计学差异($P < 0.05$)。

实验结论

细胞色素P450家族成员*CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*差异表达与HCC发生有关, 有望成为HCC诊断和预后的分子标志物。

展望前景

本研究通过生物信息数据挖掘技术发现细胞色素P450家族成员*CYP2E1*, *CYP3A4*和*CYP1A2*差异表达与HCC发生有关, 并可作为HCC诊断和预后的潜在生物学标记物。然而, 研究结果和结论主要基于相关的数据库生物信息学分析, 缺乏组织标本和细胞学验证结果。后续应补充临床组织标本和相关细胞学试验, 对研究结果和结论进行进一步的验证。

5 参考文献

- 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]
- Yin X, Xiong W, Wang Y, Tang W, Xi W, Qian S, Guo Y. Association of CYP2E1 gene polymorphisms with bladder cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: e11910 [PMID: 30278485 DOI: 10.1097/MD.00000000000011910]
- Liu Y, Guo LW, Xu HF, Kang RH, Zheng LY, Zhang LY, Chen Q, Sun XB, Zhang SK, Qiao YL. Risk of Liver Cirrhosis in HBV/HCV-Infected Individuals with First-Degree Relatives Who Have Liver Cancer: Development and Validation of a Simple Model. *Cancer Prev Res (Phila)* 2022; 15: 111-120 [PMID: 34675066 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-21-0220]
- Li Y, Xiao F, Li W, Hu P, Xu R, Li J, Li G, Zhu C. Overexpression of Opa interacting protein 5 increases the progression of liver cancer via BMP2/JUN/CHEK1/RAC1 dysregulation. *Oncol Rep* 2019;

- 41: 2075-2088 [PMID: 30816485 DOI: 10.3892/or.2019.7006]
- Liu T, Yang H, Fan W, Tu J, Li TWH, Wang J, Shen H, Yang J, Xiong T, Steggerda J, Liu Z, Nouredin M, Maldonado SS, Annamalai A, Seki E, Mato JM, Lu SC. Mechanisms of MAFG Dysregulation in Cholestatic Liver Injury and Development of Liver Cancer. *Gastroenterology* 2018; 155: 557-571.e14 [PMID: 29733835 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.04.032]
- Chang CS, Huang SM, Lin HH, Wu CC, Wang CJ. Different expression of apoptotic proteins between HBV-infected and non-HBV-infected hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 2061-2068 [PMID: 18251160 DOI: 10.1016/s0033-8389(05)70186-x]
- Yang Z, Lu Y, Xu Q, Tang B, Park CK, Chen X. HULC and H19 Played Different Roles in Overall and Disease-Free Survival from Hepatocellular Carcinoma after Curative Hepatectomy: A Preliminary Analysis from Gene Expression Omnibus. *Dis Markers* 2015; 2015: 191029 [PMID: 26136615 DOI: 10.1155/2015/191029]
- Schulze K, Imbeaud S, Letouze E, Alexandrov LB, Calderaro J, Rebouissou S, Couchy G, Meiller C, Shinde J, Soysouvanh F, Calatayud AL, Pinyol R, Pelletier L, Balabaud C, Laurent A, Blanc JF, Mazzaferro V, Calvo F, Villanueva A, Nault JC, Bioulac-Sage P, Stratton MR, Llovet JM, Zucman-Rossi J. Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets. *Nat Genet* 2015; 47: 505-511 [PMID: 25822088 DOI: 10.1038/ng.3252]
- Yang Y, Guo Y, Tan S, Ke B, Tao J, Liu H, Jiang J, Chen J, Chen G, Wu B. β -Arrestin1 enhances hepatocellular carcinogenesis through inflammation-mediated Akt signalling. *Nat Commun* 2015; 6: 7369 [PMID: 26077142 DOI: 10.1038/ncomms8369]
- Shen Q, Eun JW, Lee K, Kim HS, Yang HD, Kim SY, Lee EK, Kim T, Kang K, Kim S, Min DH, Oh SN, Lee YJ, Moon H, Ro SW, Park WS, Lee JY, Nam SW. Barrier to autointegration factor 1, procollagen-lysin, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 3, and splicing factor 3b subunit 4 as early-stage cancer decision markers and drivers of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2018; 67: 1360-1377 [PMID: 2959470 DOI: 10.1002/hep.29606]
- Shimada S, Mogushi K, Akiyama Y, Furuyama T, Watanabe S, Ogura T, Ogawa K, Ono H, Mitsunori Y, Ban D, Kudo A, Arii S, Tanabe M, Wands JR, Tanaka S. Comprehensive molecular and immunological characterization of hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine* 2019; 40: 457-470 [PMID: 30598371 DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.12.058]
- 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]
- 何倩玉, 李俊峰, 毛小荣. 慢性HBV感染相关性肝癌发生的突变基因研究. *肝脏* 2021; 26: 811-814 [DOI: 10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2021.07.027]
- 贾红宇, 刘克洲. 慢性HBV感染免疫耐受期抗病毒治疗有益于预防肝硬化和肝癌的发生. *临床肝胆病杂志* 2021; 37: 1024-1025 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2021.05.007]
- Bosch FX, Ribes J, Borràs J. Epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 271-285 [PMID: 10518307 DOI: 10.1055/s-2007-1007117]
- Tzartzeva K, Singal AG. Testing for AFP in combination with ultrasound improves early liver cancer detection. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 12: 947-949 [PMID: 30118333 DOI: 10.1080/17474124.2018.1512855]
- Wang RY, Chen XW, Zhang WW, Jiang F, Liu MQ, Shen XB. CYP2E1 changes the biological function of gastric cancer cells via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Mol Med Rep* 2020; 21: 842-850 [PMID: 31974627 DOI: 10.3892/mmr.2019.10890]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



基于生物信息学分析STMN1基因在肝细胞癌中预后及免疫浸润的临床意义

崔玉, 运涛, 赵国刚

崔玉, 运涛, 赵国刚, 天津市第五中心医院普外科 天津市 300450

崔玉, 住院医师, 研究方向为普通外科.

作者贡献分布: 此课题由崔玉设计; 数据统计和文章撰写; 研究过程和数据统计由运涛共同完成; 赵国刚负责最终的审校.

通讯作者: 赵国刚, 副主任医师, 300450, 天津市滨海新区浙江路41号, 天津市第五中心医院普外科. tjsdwzxyyzzgg@163.com

收稿日期: 2022-03-02

修回日期: 2022-04-10

接受日期: 2022-04-18

在线出版日期: 2022-05-08

Bioinformatics analysis of clinical significance of STMN1 gene in prognosis and immune infiltration in hepatocellular carcinoma

Yu Cui, Tao Yun, Guo-Gang Zhao

Yu Cui, Tao Yun, Guo-Gang Zhao, Department of General Surgery, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Corresponding author: Guo-Gang Zhao, Deputy Chief Physician, Department of General Surgery, The Fifth Central Hospital of Tianjin, No. 41 Zhejiang Road, Binhai New Area, Tianjin 300450, China. tjsdwzxyyzzgg@163.com

Received: 2022-03-02

Revised: 2022-04-10

Accepted: 2022-04-18

Published online: 2022-05-08

Abstract

BACKGROUND

STMN1 (stathmin1), a member of the microtubule destabilizing protein family, is transcriptionally repressed by the functional tumor suppressor protein p53. STMN1

was first identified as a cellular phosphorylated protein overexpressed in leukemia in 1983. STMN1 was found to be upregulated in a variety of cancers, such as non-small cell lung cancer, breast cancer, and gastric cancer, and it can induce cell differentiation, proliferation, and migration in solid tumors and is associated with a poor clinical prognosis. However, the role and mechanism of STMN1 in hepatocellular carcinoma remain unclear.

AIM

To assess the expression of STMN1 gene in hepatocellular carcinoma and its relationship with the clinical characteristics and prognosis of patients, and to explore the molecular mechanism of STMN1 gene in this malignancy.

METHODS

Clinical information and high-throughput RNA-sequencing data of hepatocellular carcinoma patients were downloaded from The Cancer Genome Atlas (<https://portal.gdc.cancer.gov>, TCGA) database. R (v3.6.2) software was used to analyze the expression of STMN1 gene in hepatocellular carcinoma tissues, and its relationship with clinical characteristics of patients was analyzed. Univariate and multivariate Cox regression models were used to analyze the prognostic value of STMN1 in hepatocellular carcinoma. Gene enrichment analysis was used to analyze STMN1 expression-related pathway mechanisms. ssGSEA method was used to analyze the infiltration of 24 immune cell types in tumors, and to explore the relationship between STMN1 and immune cells.

RESULTS

STMN1 was highly expressed in tumor tissues ($P < 0.001$). The diagnostic value of STMN1 was assessed by ROC curve analysis, and the area under the ROC curve (AUC) was 0.971. The predictive ability of STMN1 had high accuracy. Chi-square test or Fisher exact test revealed that STMN1 expression was significantly associated with overall survival

rate ($P = 0.013$), T stage ($P = 0.002$), TNM stage ($P = 0.008$), age ($P = 0.006$), and tumor grade ($P < 0.001$). The overall survival rate, progression-free survival rate, and disease-specific survival rate of the high STMN1 gene expression group were lower than those of the low expression group ($P < 0.01$). Cox regression analysis showed that the high expression of STMN1 was an independent risk factor for the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma (hazard ratio = 1.808, 95% confidence interval: 1.288-2.234, $P = 0.014$). GSEA analysis showed that STMN1 gene in hepatocellular carcinoma is mainly involved in cell cycle, oocyte meiosis, T cell receptor signaling pathway, natural killer cell-mediated cytotoxicity, and spliceosome. Immune infiltration analysis showed that STMN1 expression was positively correlated with helper T cells 2, follicular helper T cells, and helper T cells, and was negatively correlated with neutrophils, helper T cells 17, and dendritic cells.

CONCLUSION

The expression of STMN1 gene is up-regulated in hepatocellular carcinoma, which is associated with a poor prognosis of patients. It is an independent prognostic factor for hepatocellular carcinoma patients and is expected to become a potential molecular marker of this malignancy.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Bioinformatics; STMN1 gene

Citation: Cui Y, Yun T, Zhao GG. Bioinformatics analysis of clinical significance of STMN1 gene in prognosis and immune infiltration in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(9): 411-419

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/411.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.411>

摘要

背景

STMN1(stathmin 1)是一种属于微管失稳蛋白家族的基因,被功能性肿瘤抑制蛋白p53转录抑制。STMN1首次被鉴定为一种细胞磷酸化蛋白,并于1983年在白血病中过度表达。STMN1在多种癌症中被发现上调,如非小细胞肺癌、乳腺癌和胃癌,其可以在实体肿瘤中诱导细胞分化、增殖和迁移,并与不良的临床预后相关。然而,STMN1在肝细胞癌中的作用和机制仍不清楚。

目的

研究STMN1基因在肝细胞癌中的表达情况以及其表达与患者临床特征和预后的关系,探究STMN1基因在肝细胞癌中作用的分子机制。

方法

从癌症基因组图谱(<https://portal.gdc.cancer.gov>, TCGA)

数据库下载肝细胞癌患者的临床信息和高通量RNA测序数据。利用R(v3.6.2)软件分析STMN1基因在肝细胞癌组织的表达情况,并分析其与患者临床特征的关系;用单因素和多因素Cox回归模型分析研究STMN1在肝细胞癌中的预后价值;基因富集分析用于分析STMN1表达相关通路机制;使用单样本基因富集分析(single sample gene set enrichment analysis, ssGSEA)方法分析了肿瘤中24种免疫细胞类型的浸润,并探讨STMN1与免疫细胞的关系。

结果

对肝细胞癌和正常组织中的STMN1表达进行了分析,揭示了STMN1在肿瘤组织中高表达($P < 0.001$);采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析STMN1的诊断价值,ROC曲线下面积(AUC)为0.971,结果表明STMN1的预测能力有较高准确性;采用卡方检验或Fisher精确检验分析STMN1基因低表达组和高表达组在总体生存率($P = 0.013$)、T分期($P = 0.002$)、TNM分期($P = 0.008$)、年龄($P = 0.006$)和肿瘤分级($P < 0.001$)方面比较,差异具有统计学意义;STMN1基因高表达组的总生存率、无进展生存率以及疾病特异性生存率均低于低表达组($P < 0.01$);Cox回归分析显示STMN1的高表达是肝细胞癌患者预后的独立危险因素[HR = 1.808(1.288-2.234), $P = 0.014$];GSEA分析结果表明,STMN1基因在肝细胞癌中主要参与细胞周期、卵母细胞减数分裂、T细胞受体信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性及剪接体等;免疫浸润分析显示:STMN1表达与辅助T细胞2、滤泡辅助T细胞和辅助性T细胞密切相关,与中性粒细胞、辅助T细胞17、树突状细胞等密切负相关。

结论

STMN1基因在肝细胞癌中表达上调,并与患者的不良预后相关,为肝细胞癌患者的独立预后因素,有望成为肝细胞癌的潜在分子标志物。

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

关键词: 肝癌; 生物信息学; STMN1 基因

核心提要: STMN1(stathmin 1)是一种属于微管失稳蛋白家族的基因,被功能性肿瘤抑制蛋白p53转录抑制。本研究通过生物信息学手段证实STMN1基因在肝癌中呈高表达,并且其高表达与肝癌患者生存预后差有关,同时其与肿瘤微环境中免疫细胞浸润相关。

文献来源: 崔玉, 运涛, 赵国刚. 基于生物信息学分析STMN1基因在肝细胞癌中预后及免疫浸润的临床意义. 世界华人消化杂志 2022; 30(9): 411-419

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/411.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.411>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是癌症相关死亡的第四大原因^[1]. HCC通常由乙型肝炎(hepatitis B virus, HBV)感染和慢性肝病引起, 导致关键驱动基因(如p53和CTNNB)的基因畸变^[2]. 虽然系统化治疗显著提高了肝癌患者的五年生存率, 但探索肝癌的潜在分子机制对于帮助制定更有效的治疗策略是非常必要的.

STMN1(stathmin 1)是一种属于微管失稳蛋白家族^[3-5]的基因, 被功能性肿瘤抑制蛋白p53^[6]转录抑制. STMN1首次被鉴定为一种细胞磷酸化蛋白, 并于1983年在白血病中过度表达^[7]. STMN1在多种癌症中被发现上调, 如非小细胞肺癌、乳腺癌和胃癌, 其可以在实体肿瘤中诱导细胞分化、增殖和迁移, 并与不良的临床预后相关^[8,9]. 然而, STMN1在肝细胞癌中的作用和机制仍不清楚.

本研究中, 我们探索了STMN1基因在肝细胞癌中的表达情况. 此外我们探索了STMN1表达与肝细胞癌预后和免疫浸润的相关性, 以期为肝细胞癌的诊治提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 从癌症基因图谱(<https://portal.gdc.cancer.gov>, TCGA)数据库下载肝细胞癌患者的临床信息和高通量RNA测序数据. 共424份STMN1基因表达谱样本(374份HCC样本和50份癌旁样本).

使用R语言包将肝细胞癌的原始转录组测序数据(level 3, HTSeq-FPKM)转换为TPM(transcripts per million reads)格式的数据进行差异分析和生存分析. 在后续分析中, 根据Z-score标准化的中值(4.681), 将肝细胞癌分为高STMN1表达组和低STMN1表达组分析STMN1基因表达与患者临床特征的关系.

1.2 方法 STMN1基因表达与患者临床特征及预后关系的分析. 我们使用R软件, 利用pROC包[1.17.0.1版本](用于分析)和ggplot2包[3.3.3版本](用于可视化)分析了来自TCGA肝细胞癌项目中RNAseq数据, 以明确STMN1在预测肝细胞癌能力的准确性; 使用Kaplan-Meier法分析高表达组和低表达组患者总体生存率、无进展生存率和无病生存率的差异, 利用survminer包[0.4.9版本]和survival包[3.2-10版本]用于可视化及生存资料的统计分析. 用单因素和多因素Cox回归分析研究STMN1在肝细胞癌中的预后价值, 利用survival包[3.2-10版本]用于生存资料的统计分析.

1.3 STMN1基因富集分析 基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)^[10]方法用于分析STMN1表达相关通路, 数据集c2.cp.v7.2.symbols.gmt[Curated]用于

通路分析, 用缺省加权富集法进行富集分析, 随机组合1000次. 具有统计学意义的GSEA分析的阈值设置为校正后的 $P < 0.05$ 和 $FDR < 0.25$. 使用校正的 P 值和归一化的富集分数(NES)表征富集分析的结果. ggplot2包用于GSEA富集分析和可视化.

1.4 免疫浸润分析 24种不同免疫细胞类型的标记来自Bindea的研究^[11]. 使用ssGSEA方法分析了肿瘤中24种免疫细胞类型的浸润. 采用Spearman相关法分析STMN1与上述24种免疫细胞的相关程度, 以及STMN1高低表达组间免疫细胞浸润的分析. GSVA^[12]包用于可视化分析.

统计学处理 所有统计分析均在R(v3.6.2)软件中进行. Mann-Whitney U 检验用于分析肝细胞癌组织和正常组织的表达差异, 而配对样本 t 检验用于配对样本分析. 受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线用于分析STMN1表达是否可以作为诊断标志物. 卡方检验或Fisher精确检验用于分析STMN1表达与临床病理特征之间的关系. Cox风险回归分析用于评估STMN1表达的预后价值. 由于TCGA数据库中的临床信息不完整, 并非每个样本都记录了年龄、TNM分期、治疗结果等临床基线信息, 因此不可能对每个临床类别进行完整分析. 因此, 在结果部分的表格中, 样本总数与不同临床类别的样本数之间存在差异. 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 STMN1表达与临床特征的关系 对肝细胞癌和正常组织中的STMN1表达进行了分析, 揭示了STMN1在肿瘤组织中高表达($P < 0.001$, 图1A). 同时, 分析STMN1在肝细胞癌组织和配对相邻非肿瘤组织中的表达, 结果也表明STMN1在肿瘤组织中高表达($P < 0.001$, 图1B). 此外, 采用ROC曲线分析STMN1的诊断价值, ROC曲线下面积(area under ROC curve, AUC)为0.971, 结果表明同甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)相比STMN1的预测能力有较高准确性, 可能是一种潜在的诊断生物标志物(图1C).

此外, 采用卡方检验或Fisher精确检验分析STMN1表达与临床特征之间的关系. STMN1基因低表达组和高表达组在总体生存率($P = 0.013$)、T分期($P = 0.002$)、TNM分期($P = 0.008$)、年龄($P = 0.006$)和肿瘤分级($P < 0.001$)方面比较, 差异具有统计学意义(表1). 此外, STMN1表达的单变量Logistic回归也表明STMN1与临床特征之间存在密切关系, 包括T分期[OR = 2.219(1.469-3.372), $P < 0.001$], TNM分期[OR = 1.998(1.309-3.067), $P = 0.001$], 年龄[OR = 0.551 (0.365-0.830), $P = 0.005$]以及肿瘤分级[OR = 2.842 (1.837-4.443), $P < 0.001$] (表2). 在与N分期、M分期的关系中未发现显著差异[OR = 0.308 (0.015-

表 1 STMN1表达与肝细胞癌患者临床病理特征的关系(例)

临床特征	低表达组	高表达组	P	统计值	统计方法
总体生存期			0.013	6.24	Chisq.test
生存	134	110			
死亡	53	77			
T分期			0.002	14.59	Chisq.test
T1	109	74			
T2	37	58			
T3	32	48			
T4	6	7			
N分期			0.357		Fisher.test
N0	122	132			
N1	3	1			
M分期			1.000		Fisher.test
M0	132	136			
M1	2	2			
TNM分期			0.008		Fisher.test
I 期	101	72			
II 期	36	51			
III期	34	51			
IV期	3	2			
年龄			0.006	7.54	Chisq.test
≤60岁	75	102			
>60岁	112	84			
性别			0.269	1.22	Chisq.test
女性	55	66			
男性	132	121			
肿瘤分级			<0.001	26.71	Chisq.test
G1	36	19			
G2	102	76			
G3	45	79			
G4	1	11			

表 2 STMN1表达的单变量Logistic回归分析

临床特征	N	OR	95%CI	P
T分期 (T2&T3&T4 vs T1)	371	2.219	1.469–3.372	<0.001
N分期 (N1 vs N0)	258	0.308	0.015–2.442	0.311
M分期 (M1 vs M0)	272	0.971	0.115–8.185	0.976
TNM分期 (StageIV&StageIII&Stage II vs StageI)	350	1.998	1.309–3.067	0.001
年龄(>60 vs ≤60)	373	0.551	0.365–0.830	0.005
肿瘤分级(G3&G4 vs G1&G2)	369	2.842	1.837–4.443	<0.001

2.442), $P=0.311$]、[OR = 0.971(0.115-8.185), $P=0.976$].
2.2 STMN1在肝细胞癌中表达的预后价值 STMN1表达与总生存率(overall survival, OS)、无进展生存率(progress free survival, PFS)和疾病特异性生存率(disease specific survival, DSS)预后结果的关系如图2A-C所示: STMN1基因高表达组的总生存率、无进展生存率以及疾病特异性生存率均低于低表达组, 统计值分别为[危

险比(hazard ratio, HR) = 1.89(1.33-2.69), $P<0.001$, 图2A]、[HR = 1.88(1.40-2.52), $P<0.001$, 图2B]和[HR = 1.96(1.25-3.07), $P=0.004$, 图2C].
此外, 还进行了单因素Cox回归分析, 结果表明T分期、M分期、临床分期、肿瘤状态和STMN1高表达均为影响患者预后的因素($P<0.05$). 多因素Cox回归分析显示STMN1的高表达是肝细胞癌患者预后的独立危险因素

表 3 STMN1基因表达与患者预后的单因素和多因素Cox回归分析

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
T分期	2.126	1.481–3.052	<0.001	0.490	0.065–3.687	0.489
N分期	2.029	0.497–8.281	0.324			
M分期	4.077	1.281–12.973	0.017	2.481	0.574–10.725	0.224
TNM分期	2.090	1.429–3.055	<0.001	4.445	0.576–34.297	0.152
肿瘤状态	2.317	1.590–3.376	<0.001	1.842	1.149–2.952	0.011
年龄	1.205	0.850–1.708	0.295			
性别	0.793	0.557–1.130	0.200			
肿瘤分级	1.091	0.761–1.564	0.636			
STMN1基因表达	1.894	1.333–2.692	<0.001	1.808	1.129–2.896	0.014

表 4 GSEA富集结果分析

名称	ES	NES	P	FDR
KEGG细胞周期	0.66	2.14	0.025	0.019
KEGG卵母细胞减数分裂	0.564	1.804	0.025	0.019
KEGGT细胞受体信号通路	0.545	1.742	0.034	0.025
KEGG自然杀伤细胞介导的细胞毒性	0.505	1.645	0.034	0.025
KEGG剪接体	0.504	1.634	0.034	0.025

KEGG: 京都基因与基因组百科全书; ES: 富集分数; NES: 标准化富集分数; FDR: 错误发现率。

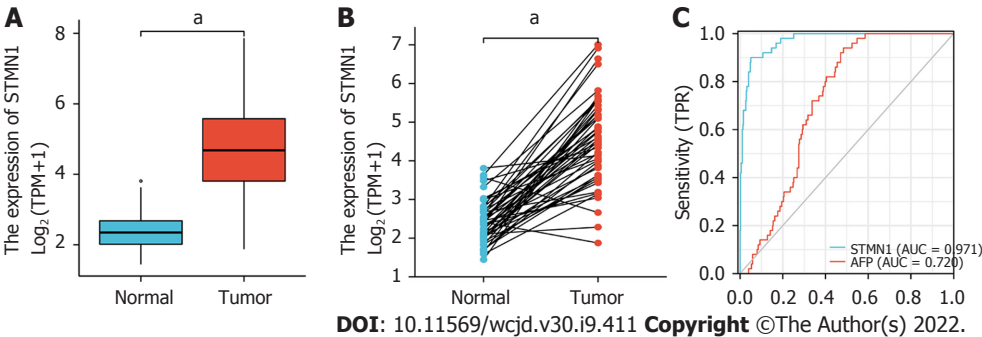


图 1 重组人微管解聚蛋白1(stathmin 1, STMN1)表达与肝细胞癌的关系. A: 肿瘤组织和正常组织之间STMN1表达水平的差异, $P < 0.001$; B: 肿瘤组织和癌旁组织中STMN1的差异表达, $P < 0.001$; C: 同AFP比较, STMN1表达对肝细胞癌的诊断价值. AFP: 甲胎蛋白。

素[HR = 1.808(1.288-2.234), $P = 0.014$, 表3]. 肿瘤状态和STMN1表达用于构建肝细胞癌的临床预后风险评分(图2D). 同时, 使用校准图评估模型的预测精度(图2E), 结果表明, STMN1表达水平可以更好地预测患者的1年、3年和5年生存率. 总之, 所有这些结果表明STMN1表达水平与肝细胞癌患者的预后相关.

2.3 STMN1表达的GSEA分析 GSEA富集分析用于确定STMN1低表达和高表达之间的功能和生物学途径. 根据标准化富集分数(NESs), 选择在STMN1基因表达方面最显著的富集信号通路(图3和表4). GSEA分析结果表明, STMN1基因在肝细胞癌中主要参与细胞周期、卵母细胞减数分裂、T细胞受体信号通路、自然杀伤细胞介导

的细胞毒性及剪接体等.

2.4 STMN1表达与免疫浸润的关系 接下来, 在肝细胞癌中评估STMN1表达与24种不同免疫细胞类型之间的关系. STMN1表达与辅助T细胞2、滤泡辅助T细胞和辅助性T细胞密切正相关, 与中性粒细胞、辅助T细胞17、树突状细胞等密切负相关(图4A). 进一步的研究表明, STMN1高低表达组间的免疫细胞包括TFH细胞、Th2细胞、中性粒细胞、NK CD56^{bright}细胞、pDC细胞、DC细胞等存在显著差异(图4B-D).

3 讨论

肝癌是全球第六大常见癌症, 也是第四大癌症死亡原因^[1,13].

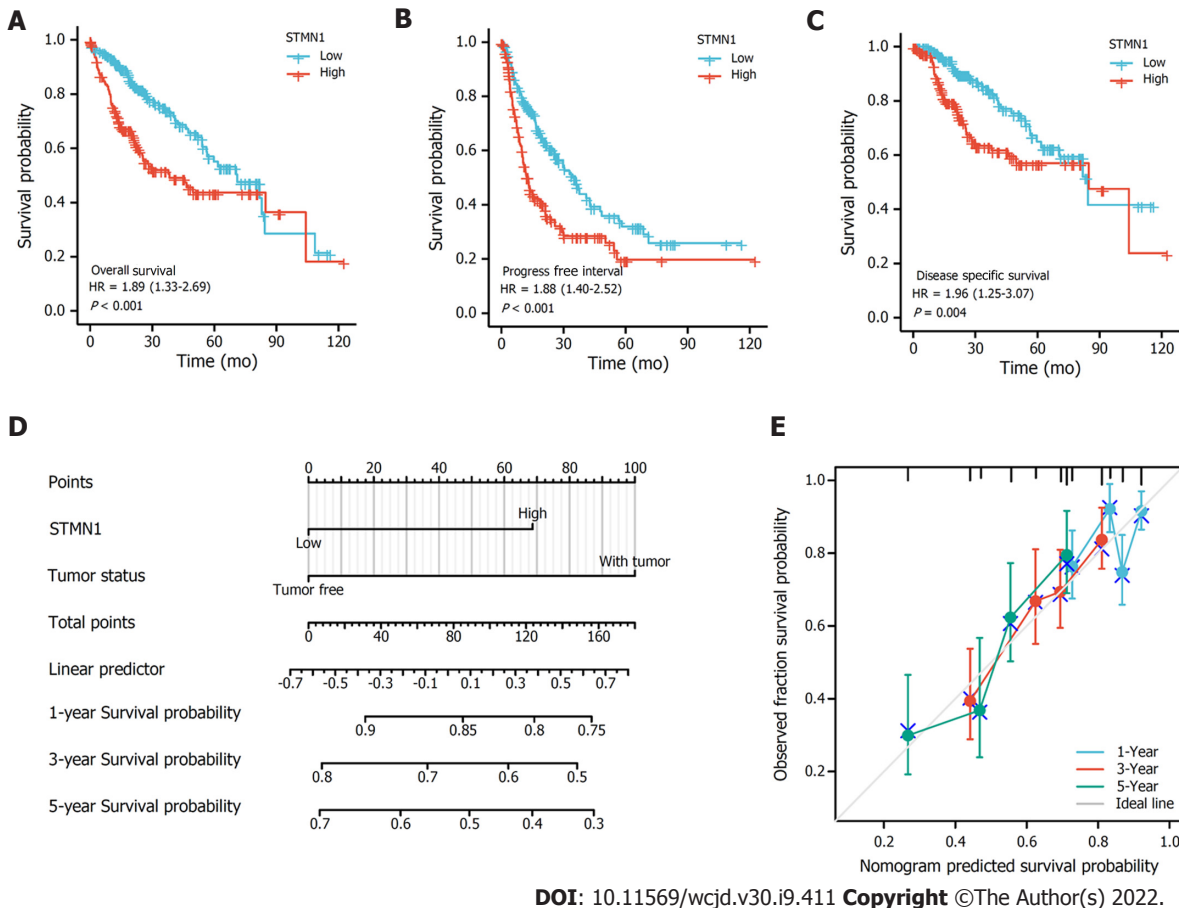
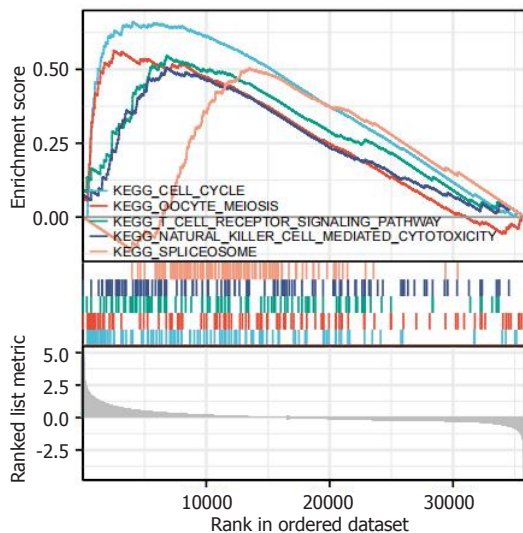


图 2 STMN1表达的预后分析. A-C与低表达STMN1的患者相比, 高表达STMN1的患者预后较差, A: STMN1表达与OS的关系, $P < 0.001$; B: STMN1表达与PFI的关系, $P < 0.001$; C: STMN1表达与DSS的关系, $P < 0.001$; D: 基于STMN1表达临床特征的多变量列线图分析; E: 校准图显示了使用多因素Cox回归分析构建的模型的预测性能. OS: 总生存率; PFI: 无进展生存率; DSS: 疾病特异性生存率.



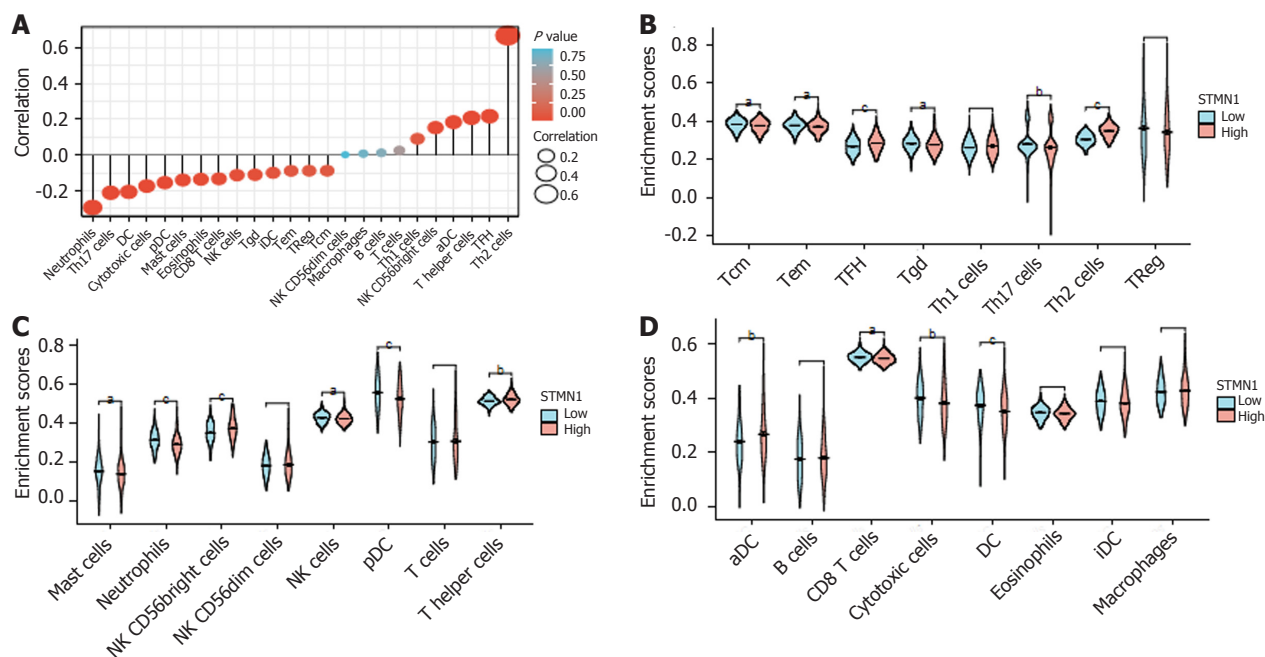
DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.411 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 3 GSEA富集结果分析.

慢性肝病和肝硬化是肝癌最重要的危险因素, 其中病毒性肝炎和过量饮酒是世界范围内的主要危险因素. 糖尿病和肥胖症等慢性疾病会增加患肝癌的风险. 研究还发

现^[14], 由于睾酮水平较高, 男性的发病率高于女性. 肝细胞癌占原发性肝癌的80%以上^[15], 是最常见的肝癌之一, 发病率和死亡率都很高. 大多数肝癌患者的预后较差, 虽然肝硬化患者的监测可用于早期肝肿瘤的诊断, 但大多数肝癌患者在诊断时已为晚期^[16], 这使得肝癌的治疗充满挑战. 目前, 只有原位肝移植或手术切除才能治愈^[14], 但治疗效果也取决于肿瘤的大小和位置以及肝脏的状态. 尽管化疗和放疗可以延长患者的总体生存期, 但由于肿瘤复发和癌细胞的耐药性, 结果仍然不令人满意^[17]. 因此, 发现肝癌组织中异常表达的蛋白并确定其作用机制, 将为肝癌的诊疗提供新的作用靶点.

STMN1最初被鉴定为一种对细胞信号(如生长因子^[18])作出磷酸化反应的细胞质蛋白. STMN1也是微管动力学的关键调节器, 通过结合微管蛋白二聚体^[19-21]使微管降解. STMN1参与多种疾病, 在细胞过程中发挥关键作用. 作为癌细胞生物学中的一个癌基因, STMN1在包括细胞增殖、分化和细胞周期在内的各种癌症进展中发挥作用. 据报道, 胰腺癌中的STMN1水平高于相应的正常组织^[22,23]. 在前列腺癌中STMN1的敲除导致细胞增殖和侵



DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.411 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 4 STMN1表达与免疫浸润的关系. A: STMN1表达与免疫细胞的关系; B-D: STMN1高表达组和低表达组中不同免疫细胞亚群的富集差异, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$.

衰、肿瘤生长和转移的减少^[24]. 在前列腺癌中, 将转染了抗STMN1腺病毒的癌细胞暴露于紫杉醇中可诱导完全抑制增殖和克隆形成, 并显著增加凋亡^[25]. 在胃癌中, STMN1的表达与癌症的可治愈性、复发和对辅助治疗的耐药性有关, STMN1基因的敲除抑制了胃癌细胞的增殖, 并使细胞对紫杉醇敏感^[26].

在本研究中, 笔者利用TCGA数据库, 发现在肝癌患者的癌症组织中STMN1 mRNA表达量高于正常组织. 单因素Logistic回归分析显示STMN1高表达与肿瘤T分期、TNM分期、年龄以及肿瘤分级相关. 以上结果说明STMN1高表达与肝癌的发生、发展相关. 其次, 采用ROC曲线分析STMN1的诊断价值, 表明其对肝癌的预测能力具有较高准确性. Kaplan-Meier生存曲线结果表明, STMN1高表达导致肝癌患者生存率下降, Cox回归分析显示STMN1表达量是患者预后的独立危险因素, 即STMN1高表达导致了肝癌患者的不良预后. GSEA分析结果表明, STMN1基因在肝细胞癌中主要参与细胞周期、卵母细胞减数分裂、T细胞受体信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性及剪接体等信号通路.

此外, 在肝细胞癌中我们分析了STMN1表达与24种不同免疫细胞类型之间的关系, 显示STMN1表达与辅助T细胞2、滤泡辅助T细胞和辅助性T细胞密切正相关, 与中性粒细胞、辅助T细胞17、树突状细胞等密切负相关, 但STMN1与肿瘤浸润免疫细胞的直接关系仍需要组织样本及细胞实验进一步研究.

4 结论

综上所述, STMN1在肝细胞癌中表达异常升高, 与患者的恶性进展特征相关, 有望成为肝细胞癌患者的独立预后因素和潜在分子治疗靶点. 但本研究结果为基于数据库挖掘分析, 具有一定的局限性, 关于STMN1基因是如何调控并促进肝癌的发生、发展及其与各相关信号通路之间的关系仍不甚明确, 尚需大量基础实验及临床试验进一步探讨.

文章亮点

实验背景

肝细胞癌是癌症相关死亡的第四大原因, 其通常由乙型肝炎感染和慢性肝病引起, 导致关键驱动基因的基因畸变. 虽然系统化治疗显著提高了肝癌患者的五年生存率, 但防控形势依旧严峻. 因此, 寻找新的肝癌标志物和潜在治疗靶点, 研究其在肝癌发病过程中的分子机制对于肝癌防控具有重要意义.

实验动机

通过生物信息学探索STMN1在肝细胞癌中的潜在临床意义.

实验目标

探究STMN1是否与肝细胞癌免疫浸润有关, 探索STMN1是否影响肝细胞癌患者的预后.

实验方法

通过生物信息学分析STMN1在肝细胞癌中的表达情况。探索STMN1对肝细胞癌患者预后的影响。分析STMN1表达与肝细胞癌免疫浸润的相关性。

实验结果

STMN1基因在肝细胞癌中呈高表达。STMN1高表达的肝癌患者预后差。STMN1表达与肝细胞癌的免疫细胞浸润相关。

实验结论

STMN1基因在肝癌患者呈高表达且与免疫浸润有关。

展望前景

STMN1基因可能为潜在的肝癌免疫治疗和预后标志物。

5 参考文献

- Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1450-1462 [PMID: 30970190 DOI: 10.1056/NEJMra1713263]
- Craig AJ, von Felden J, Garcia-Lezana T, Sarcognato S, Villanueva A. Tumour evolution in hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17: 139-152 [PMID: 31792430 DOI: 10.1038/s41575-019-0229-4]
- Holmfeldt P, Sellin ME, Gullberg M. Predominant regulators of tubulin monomer-polymer partitioning and their implication for cell polarization. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 3263-3276 [PMID: 19585080 DOI: 10.1007/s00018-009-0084-5]
- Sellin ME, Holmfeldt P, Stenmark S, Gullberg M. Global regulation of the interphase microtubule system by abundantly expressed Op18/stathmin. *Mol Biol Cell* 2008; 19: 2897-2906 [PMID: 18434595 DOI: 10.1091/mbc.e08-01-0058]
- Mistry SJ, Atweh GF. Role of stathmin in the regulation of the mitotic spindle: potential applications in cancer therapy. *Mt Sinai J Med* 2002; 69: 299-304 [PMID: 12415323]
- Rubin CI, Atweh GF. The role of stathmin in the regulation of the cell cycle. *J Cell Biochem* 2004; 93: 242-250 [PMID: 15368352 DOI: 10.1002/jcb.20187]
- Sobel A, Tashjian AH Jr. Distinct patterns of cytoplasmic protein phosphorylation related to regulation of synthesis and release of prolactin by GH cells. *J Biol Chem* 1983; 258: 10312-10324 [PMID: 6411711]
- Hsieh SY, Huang SF, Yu MC, Yeh TS, Chen TC, Lin YJ, Chang CJ, Sung CM, Lee YL, Hsu CY. Stathmin1 overexpression associated with polyploidy, tumor-cell invasion, early recurrence, and poor prognosis in human hepatoma. *Mol Carcinog* 2010; 49: 476-487 [PMID: 20232364 DOI: 10.1002/mc.20627]
- Zheng P, Liu YX, Chen L, Liu XH, Xiao ZQ, Zhao L, Li GQ, Zhou J, Ding YQ, Li JM. Stathmin, a new target of PRL-3 identified by proteomic methods, plays a key role in progression and metastasis of colorectal cancer. *J Proteome Res* 2010; 9: 4897-4905 [PMID: 20806969 DOI: 10.1021/pr100712t]
- Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, Paulovich A, Pomeroy SL, Golub TR, Lander ES, Mesirov JP. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 15545-15550 [PMID: 16199517 DOI: 10.1073/pnas.0506580102]
- Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Waldner M, Obenauf AC, Angell H, Fredriksen T, Lafontaine L, Berger A,

- Bruneval P, Fridman WH, Becker C, Pagès F, Speicher MR, Trajanoski Z, Galon J. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer. *Immunity* 2013; 39: 782-795 [PMID: 24138885 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.10.003]
- Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSVA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data. *BMC Bioinformatics* 2013; 14: 7 [PMID: 23323831 DOI: 10.1186/1471-2105-14-7]
- 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]
- Balogh J, Victor D 3rd, Asham EH, Burroughs SG, Boktour M, Saharia A, Li X, Ghobrial RM, Monsour HP Jr. Hepatocellular carcinoma: a review. *J Hepatocell Carcinoma* 2016; 3: 41-53 [PMID: 27785449 DOI: 10.2147/JHC.S61146]
- Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, Amadou A, Plymth A, Roberts LR. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 589-604 [PMID: 31439937 DOI: 10.1038/s41575-019-0186-y]
- In der Stroth L, Tharehalli U, Günes C, Lechel A. Telomeres and Telomerase in the Development of Liver Cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 32722302 DOI: 10.3390/cancers12082048]
- Allemann P, Demartines N, Bouzourene H, Tempia A, Halkic N. Long-term outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma larger than 10 cm. *World J Surg* 2013; 37: 452-458 [PMID: 23188527 DOI: 10.1007/s00268-012-1840-5]
- Cassimeris L. The oncoprotein 18/stathmin family of microtubule destabilizers. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14: 18-24 [PMID: 11792540 DOI: 10.1016/s0955-0674(01)00289-7]
- Ringhoff DN, Cassimeris L. Gene expression profiles in mouse embryo fibroblasts lacking stathmin, a microtubule regulatory protein, reveal changes in the expression of genes contributing to cell motility. *BMC Genomics* 2009; 10: 343 [PMID: 19643027 DOI: 10.1186/1471-2164-10-343]
- Steinmetz MO. Structure and thermodynamics of the tubulin-stathmin interaction. *J Struct Biol* 2007; 158: 137-147 [PMID: 17029844 DOI: 10.1016/j.jsb.2006.07.018]
- Yip YY, Yeap YY, Bogoyevitch MA, Ng DC. cAMP-dependent protein kinase and c-Jun N-terminal kinase mediate stathmin phosphorylation for the maintenance of interphase microtubules during osmotic stress. *J Biol Chem* 2014; 289: 2157-2169 [PMID: 24302736 DOI: 10.1074/jbc.M113.470682]
- Suzuki K, Watanabe A, Araki K, Yokobori T, Harimoto N, Gantumur D, Hagiwara K, Yamanaka T, Ishii N, Tsukagoshi M, Igarashi T, Kubo N, Gombodorj N, Nishiyama M, Hosouchi Y, Kuwano H, Shirabe K. High STMN1 Expression Is Associated with Tumor Differentiation and Metastasis in Clinical Patients with Pancreatic Cancer. *Anticancer Res* 2018; 38: 939-944 [PMID: 29374725 DOI: 10.21873/anticancer.12307]
- Li J, Hu G, Kong F, Wu K, Song K, He J, Sun W. Elevated STMN1 Expression Correlates with Poor Prognosis in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res* 2015; 21: 1013-1020 [PMID: 25791566 DOI: 10.1007/s12253-015-9930-y]
- Chakravarthi BVSK, Chandrashekar DS, Agarwal S, Balasubramanya SAH, Pathi SS, Goswami MI, Jing X, Wang R, Mehra R, Asangani IA, Chinnaiyan AM, Manne U, Sonpavde G, Netto GJ, Gordetsky J, Varambally S. miR-34a Regulates Expression of the Stathmin-1 Oncoprotein and Prostate Cancer Progression. *Mol Cancer Res* 2018; 16: 1125-1137 [PMID: 29025958 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-17-0230]
- Mistry SJ, Atweh GF. Therapeutic interactions between stathmin inhibition and chemotherapeutic agents in prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 3248-3257 [PMID: 17172428 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-06-0227]
- Bai T, Yokobori T, Altan B, Ide M, Mochiki E, Yanai M, Kimura

A, Kogure N, Yanoma T, Suzuki M, Bao P, Kaira K, Asao T, Katayama A, Handa T, Gombodorj N, Nishiyama M, Oyama T, Ogata K, Kuwano H. High STMN1 level is associated with

chemo-resistance and poor prognosis in gastric cancer patients. *Br J Cancer* 2017; 116: 1177-1185 [PMID: 28334732 DOI: 10.1038/bjc.2017.76]

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。

口腔恶性黑色素瘤伴胃转移出血1例报道

许一帆, 金善恩

许一帆, 浙江中医药大学 浙江省杭州市 310000

金善恩, 浙江省人民医院普外科 浙江省杭州市 310000

许一帆, 住院医师, 研究方向为急诊与危重症.

基金项目: 浙江省卫生健康科技计划, No. 2021KY443.

作者贡献分布: 许一帆与金善恩对此文所作贡献均等; 此课题由金善恩设计; 信息收集由金善恩及许一帆完成; 病例分析由金善恩及许一帆完成; 写作由许一帆完成.

通讯作者: 金善恩, 主任医师, 310000, 浙江省杭州市拱墅区上塘路158号, 浙江省人民医院普外科. jinsanen623@163.com

收稿日期: 2022-02-27

修回日期: 2022-03-19

接受日期: 2022-04-19

在线出版日期: 2022-05-08

Oral malignant melanoma with gastric metastasis and hemorrhage: A case report

Yi-Fan Xu, Shan-En Jin

Yi-Fan Xu, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Shan-En Jin, General Surgery Department, People's Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Supported by: Health Science and Technology Program of Zhejiang Province, No. 2021KY443.

Corresponding author: Shan-En Jin, M.D., General Surgery Department, People's Hospital, No. 158 Shangtong Road, Gongshu District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. jinsanen623@163.com

Received: 2022-02-27

Revised: 2022-03-19

Accepted: 2022-04-19

Published online: 2022-05-08

Abstract

BACKGROUND

Although the gastrointestinal tract is a relatively common site of melanoma metastases, reports of digestive tract hemorrhage caused by melanoma are very rare. The metastatic route is still unclear, though it is considered as implant metastasis in oral malignant melanoma.

CASE SUMMARY

We report the case of an 88-year-old man who was admitted to our hospital with hematemesis and melena. By endoscopic inspection, he was diagnosed with active hemorrhage caused by primary gastric cancer or gastric stromal tumor. Eventually, he underwent surgical resection treatment and was discharged. At the outpatient review 3 wk postoperatively, it was noted that an oral melanoma which had been overlooked preoperatively had enlarged several times and was eventually considered to be the primary focus of the gastrointestinal melanoma. The patient passed away at home after 1 mo.

CONCLUSION

In the present case, an oral cavity mass was found but not further identified, which caused misdiagnosis. The possibility of malignant melanoma should be considered when encountering a gastrointestinal mass, especially when combined with mucocutaneous melanoma. In patients who have pure cutaneous melanoma, attention should also be paid to their gastrointestinal symptoms, with regular gastrointestinal endoscopy or systemic examination performed.

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

Key Words: Stomach; Melanoma; Gastrointestinal hemorrhage; Gastroscopy

Citation: Xu YF, Jin SE. Oral malignant melanoma with gastric metastasis and hemorrhage: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(9): 420-424

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/420.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.420>

摘要

背景

胃肠道是黑色素瘤转移相对常见的部位, 但胃黑色素瘤引起的大出血非常罕见, 而且其转移途径值得探讨, 考虑为口腔恶性黑色素瘤的种植转移。

病例简介

我们医院报道了一例因呕血黑便1 d入院的88岁男性。经检查初步诊断为胃癌或胃间质瘤破裂伴活动性出血, 予手术切除治疗后好转出院。术后3 wk门诊复查时发现, 术前被忽视的口腔黑色素瘤已增大为当时数倍, 最终考虑为口腔黑色素瘤胃转移。1 mo后患者在家中过世。

结论

发现了口腔肿物但未进一步识别, 造成了误诊, 值得反思也应引起其他临床医生的重视。在遇到消化道肿物时应想到恶性黑色素瘤的可能, 尤其合并有皮肤黏膜黑色素瘤时更应加强怀疑。在遇到单纯皮肤黑色素瘤的患者, 也应关注其胃肠道症状主诉, 定期行消化内镜检查或全身筛查。

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

关键词: 胃肿瘤; 黑色素瘤; 消化道出血; 胃镜

核心提要: 本例为首发症状消化道大出血的胃黑色素瘤患者, 初诊时伴有口腔黑色素瘤但未引起怀疑, 通过术后病理最终诊断为口腔恶性黑色素瘤的种植转移, 转移途径属实罕见, 提供一种新的临床思路。

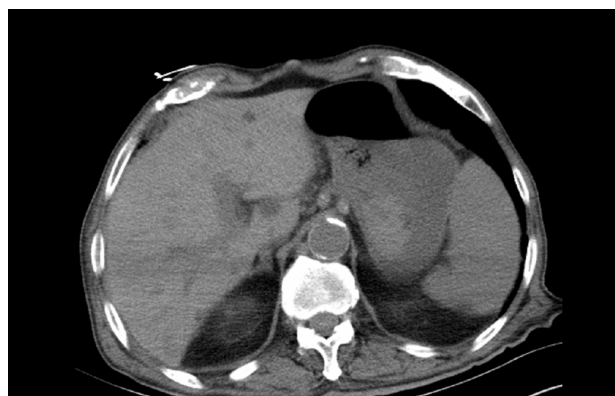
文献来源: 许一帆, 金善恩. 口腔恶性黑色素瘤伴胃转移出血1例报道. 世界华人消化杂志 2022; 30(9): 420-424

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i9/420.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i9.420>

0 引言

黑色素瘤是一种高度恶性的肿瘤, 多发生于皮肤、眼部, 也可见于黏膜和内脏。它可以转移到身体任何器官, 消化道转移不在少数, 其中以小肠转移最多见^[1-3], 胃部相对罕见^[4]。由于临床医生对消化道黑色素瘤认识较少, 其发生频率较低和位置隐秘而经常被忽视, 导致漏诊或误



DOI: 10.11569/wjcd.v30.i9.420 **Copyright** ©The Author(s) 2022.

图1 腹部CT胃部可疑病灶。

诊, 术前误诊率可达73.64%^[5]。且大多数消化道黑色素瘤被发现时多伴转移(占68.87%)^[5], 失去最佳的治疗时间。现分享一例我院收治的胃黑色素瘤伴大出血患者, 其转移途径也较特殊, 为广大临床工作者提供参考。

1 病例简介

患者男性88岁, 因呕血伴黑便1 d就诊。患者1 d前因呕血黑便在当地医院就诊, 诊断为胃癌活动性出血, 行1次内镜止血治疗及多次输血治疗, 因再度呕血及重度贫血于2021-01-14转来我院急诊科。入院后患者呕鲜红色血2-3次, 总量约700 mL, 解2次水样黑便, 伴乏力, 晕眩感, 无腹痛腹胀, 无恶心呕吐, 无畏寒发热。近期体重无明显下降。既往前列腺恶性肿瘤病史, 伴多发骨转移; 6年前心肌梗死行PCI术, 长期口服波立维、阿司匹林治疗, 因消化道出血后停药; 高血压30年, 口服药物血压控制稳定。

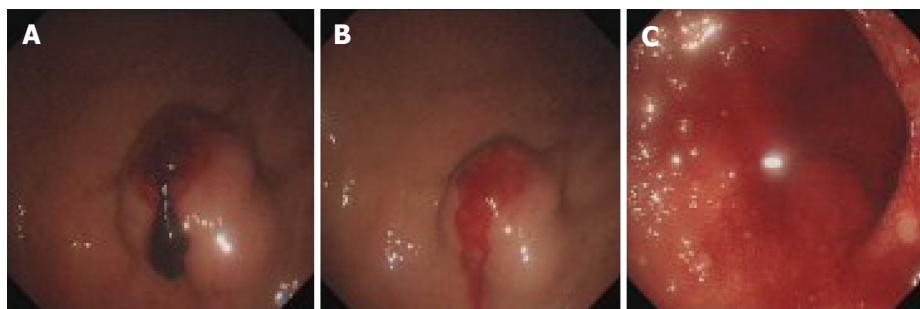
入院后体格检查: 神志清, 精神软, 口唇黏膜、眼睑结膜苍白, 口腔黏膜可见一圆形黑色肿物, 约1 cm×1 cm, 无破溃, 浅表淋巴结未触及肿大, 心肺未见异常。腹软, 未触及包块, 无压痛反跳痛, 肠鸣音正常。查血红蛋白45 g/L, 其他化验结果未见明显异常, 急诊CT提示(图1): 胃部可疑高密度影, 急诊胃镜提示(图2): 胃体中下部大弯侧见一黏膜下息肉样隆起, 大小约2.5 cm, 无颜色改变, 顶部破溃伴活动性出血。

2 多学科讨论

消化科会诊: 考虑为肿瘤出血, 内镜下止血效果不佳, 建议介入止血或手术止血。

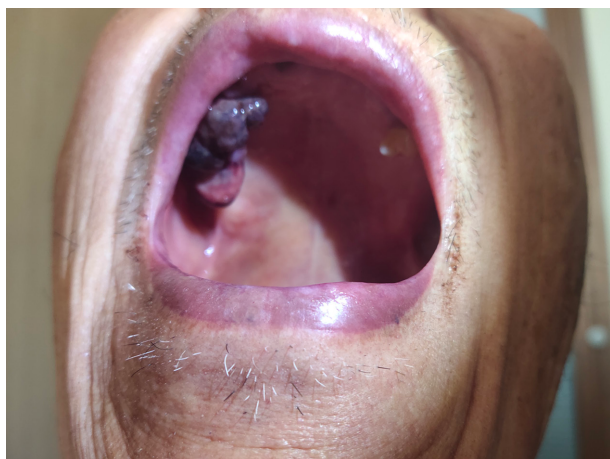
介入科会诊: 患者有栓塞止血指征, 但止血效果不确切。

胃肠外科会诊: 虽然患者有前列腺癌病史, 但胃转移几率极小。考虑为胃间质瘤或原发性胃癌破裂出血, 有手术指征。



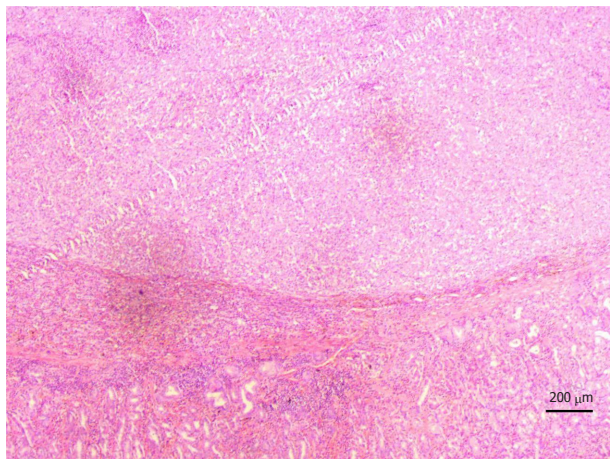
DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.420 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 2 胃镜探查快照可见一息肉样隆起伴活动性出血。A: 胃体中下部大弯侧见一粘膜下息肉样隆起, 大小约2.5 cm, 无颜色改变, 顶部覆盖血痂; B: 血痂脱落后仍有活动性出血; C: 可见大量血性胃液。



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.420 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 3 患者在门诊复查时口腔内肿物(约3 cm × 2 cm × 2 cm)生长迅速。



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.420 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 4 术后病理提示转移性恶性黑色素瘤(× 40)。

3 诊断

(1)胃恶性肿瘤伴出血; (2)重度贫血; (3)心肌梗死PCI术后; (4)前列腺恶性肿瘤个人史; (5)口腔肿物。

4 治疗

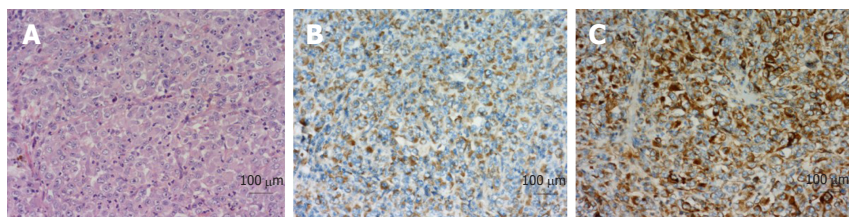
患者消化道大出血伴重度贫血, 内镜及保守治疗效果不显著。当天行急诊手术予胃部分切除, 术中见: 胃体大弯侧后壁可见大小约2.5 cm × 1.0 cm内生性肿块, 边界清, 未侵及浆膜外。病理切开可见一灰白结节, 大小约1.8 cm × 1.5 cm × 1.3 cm, 切面灰白实性。患者高龄且出血量大, 术后转ICU监护治疗。2021-01-18转回普通病房。2021-01-24患者病情好转出院, 口腔肿物未予特殊处理。

5 结果和随访

2021-02-07患者门诊复查时, 发现口腔黑色素瘤(图3), 生长迅速, 已增大至3 cm × 2 cm × 2 cm, 呈菜花样, 为3 wk前数倍大小。同时查阅术后病理(图4): 首先考虑转移性恶性黑色素瘤。免疫组化染色结果(图5): (第1次)A3-2: NKX3.1(-)、MLH1(+)、MSH2(+)、MSH6(+)、PMS2(+)、ERG(-)、AR(-)、P504S(-)、PSA(-); (第2次)A3-2: HMB45(Melanoma)(-)、S100(-)、CD31(-)、CD117(-)、DOG1(-)、TFE3(-)、CAM5.2(+)、SMA(-)、Vimentin(+)、CgA(-)、melan-A(+); (第3次)A3-2: CD30(-)、ALK(1A4)(-)、EMA(+)、CD2(-)、CD20(-)、CD3(-)、CD5(-)、CD7(-)、CD8(-)、CD4(-)、TIA-1(-)、Perforin(-)、CD1a(-)、CD34(-)、CD21(-)、CK(Pan)(+)。结合该患者术后病理, 最终诊断为口腔恶性黑色素瘤伴胃转移。患者拒绝术后免疫及口腔肿物进一步治疗。1 mo后患者因全身衰竭在家中过世。

6 讨论

黑色素瘤占有恶性肿瘤的1%-3%^[6], 其中1%-2%出现在消化道, 消化道黑色素瘤人群中总发病率为(2-2.6)例/100万人每年, 男性患者居多^[7-9]。它是一种黏膜黑色素瘤, 比皮肤黑色素瘤更具有侵袭性, 中位生存率为(6.2-9.6) mo^[10], 5年生存率为25%, 且受疾病侵犯程度影响, 结直肠癌黑色



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i9.420 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 5 免疫组化染色(×400). A: HE(+); B: Melan-A(+); C: VIM(+).

素瘤为4.3%-17.4%^[11], 食管和胃的甚至更短^[12]. 其低生存率与诊断疾病延误和缺乏标准化治疗有关^[13].

消化道黑色素瘤恶性程度高、侵袭性强, 早期诊断显得尤为重要, 并需要临床医生对恶性黑色素瘤有一定的认识. 作为首发症状, 消化道黑色素瘤同其他肿瘤一样缺乏特异性: 常见腹痛、恶心呕吐、黑便、贫血, 其次呕血、穿孔症状少见, 食管病变可出现吞咽困难, 肠道病变可出现肠梗阻. 倘若患者合并可见的皮肤黏膜黑色素瘤, 则应高度怀疑胃肠道转移性黑色素瘤.

大多数消化道黑色素瘤患者在初次就诊时通过影像学检查发现, CT对消化道黑色素瘤的诊断有一定价值, 敏感性约为65%^[14]. 内镜检查及活检是诊断的主要手段. 大多数胃肠道黑色素瘤无典型的内镜下表现, 但都有迹可循, 经验丰富的内镜操作者可早期识别或怀疑该病, 而初学者可能会漏诊或误诊. 据国内文献报道^[5], 内镜下表现隆起形最为多见(65.42%), 形态规则可呈息肉样或扁平隆起, 形态不规则呈菜花样、蕈伞样、桑椹样. 结节样、溃疡样相对少见; 肿瘤颜色褐色最为常见(36.71%), 其次为黑色、灰白色、蓝色, 少数为暗红色、紫黑色. 病变可被误诊为痔疮、腺瘤或息肉, 采用免疫组织化学染色的病理学可以明确, 多点活检可以减少误诊的机会^[15]. 超声内镜可以评估胃肠道黑色素瘤浸润深度, 帮助建立临床分期和明确治疗方案^[15]. 正电子发射计算机断层显像(PET-CT)检查有助于提高转移灶的检出率^[16].

临床上判断黑色素瘤是原发还是继发对后续治疗很关键, 但想彻底明确黑色素瘤的病变来源是很困难的. 恶性黑色素瘤具有高度侵袭性, 有向任何器官转移的倾向, 病程难以预测, 一般先由淋巴道蔓延至局部淋巴结及软组织, 随后可经血行转移至肝、肺及皮肤等器官. 除此之外临床中还不乏通过局部播散种植转移的案例, 例如含有恶性黑色素瘤细胞的脓液流经的体表, 也可生长出恶性黑色素瘤. 与皮肤黑色素瘤相比, 黏膜黑色素瘤更具侵袭性, 这与黏膜丰富的淋巴管和血管供应有关^[17].

回顾病史, 该患者的消化道黑色素瘤来源值得探讨. 患者在内镜检查发现胃部病灶时, 口腔内有1 cm×1 cm

黑色肿物, 笔者认为该口腔肿物是胃黑色素瘤的原发灶, 原因如下: (1)两处恶性肿瘤用同病同源论解释, 首先应考虑口腔恶性黑色素瘤为原发灶, 胃恶性黑色素瘤为转移灶. 就转移途径而言, 血行及淋巴转移至胃部的概率极小, 所以更有可能是患者通过吞咽唾液动作将肿瘤细胞转运到胃肠道, 形成的种植转移. 恶性黑色素瘤侵袭性强, 种植转移可能性很大; (2)原发性胃肠道黑色素瘤的免疫组化通常有S100、HMB45、Melan A和MITF的表达^[18], 该患者免疫组化结果和我院病理报告均倾向于转移灶; (3)查体过程中未在患者皮肤黏膜发现其他可疑的黑色素瘤, 所以两处恶性肿瘤均为转移灶也不考虑. 综上所述, 笔者认为该患者的胃恶性黑色素瘤为口腔恶性黑色素瘤种植转移的结果, 是一个罕见的转移案例.

反观治疗策略, 若能第一时间诊断为胃转移性恶性黑色素瘤, 则采取相对保守的治疗方案较为合适. 对于该病人而言, 胃部肿瘤较小, 且是顶部破溃, 优先选择内镜下止血内镜; 患者高龄, 手术对其打击较大, 且转移性恶性黑色素瘤发现时多为晚期, 手术根治不彻底, 手术创伤甚至可能加速原发灶的进展.

对于其他患者而言, 尽管胃肠道转移黑色素瘤被发现时多已处病情晚期, 但手术切除仍然被认为是一种有效姑息治疗的手段, 尤其当患者出现急性症状时, 如大出血、穿孔、肠梗阻等. 国内外有多篇文献报道证实^[3,19-24], 手术切除治疗在延长生存期以及症状改善方面起着重要的积极作用. 化疗和放疗对胃肠道黑色素瘤的预后影响暂没有定论^[23].

7 结论

综上所述, 我们发现了口腔肿物但未进一步识别, 以及忽略了它与胃肠道病变的关联性, 造成了误诊, 这也应引起其他临床医生的重视. 消化道黑色素瘤虽然较少见, 但恶性程度高, 侵袭性强, 早期诊断尤为重要. 临床医生在遇到消化道肿物时应想到恶性黑色素瘤的可能, 尤其当患者合并有皮肤黏膜黑色素瘤时, 更应思考两者的关联性, 加强怀疑^[25]. 在遇到单纯皮肤黑色素瘤的患者, 也应关注其胃肠道症状主诉, 定期行消化内镜检查, 或行

全身筛查.

8 参考文献

- Lens M, Bataille V, Krivokapic Z. Melanoma of the small intestine. *Lancet Oncol* 2009; 10: 516-521 [PMID: 19410196 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70036-1.]
- López RG, Santomé PM, Porto EI, Moreiras MI, Gómez CG, Villanueva JM, Canosa MA, Veiga OR, Gutiérrez AE, Ares IM, Val FA. Intestinal perforation due to cutaneous malignant melanoma metastatic implants. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103: 386-388 [PMID: 21770691 DOI: 10.4321/s1130-01082011000700014.]
- Kohoutova D, Worku D, Aziz H, Teare J, Weir J, Larkin J. Malignant Melanoma of the Gastrointestinal Tract: Symptoms, Diagnosis, and Current Treatment Options. *Cells* 2021; 10 [PMID: 33562484 DOI: 10.3390/cells10020327]
- Malladi V, Palanivelu C, Mathew S, Rajan PS, Jani K, Senthilkumar R, Senthilkumaran S, Kavalkat AJ. Malignant melanoma metastatic to the stomach and duodenum. *Indian J Gastroenterol* 2005; 24: 133 [PMID: 16041121]
- 张彤, 刘辉, 严艳. 中国原发性消化道黑色素瘤临床特点汇总分析. *中国内镜杂志* 2016; 22: 47-51 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2016.09.011]
- Augustyn A, de Leon ED, Yopp AC. Primary gastric melanoma: case report of a rare malignancy. *Rare Tumors* 2015; 7: 5683 [PMID: 25918612 DOI: 10.4081/rt.2015.5683]
- Schaefer T, Satzger I, Gutzmer R. Clinics, prognosis and new therapeutic options in patients with mucosal melanoma: A retrospective analysis of 75 patients. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e5753 [PMID: 28072717 DOI: 10.1097/MD.0000000000005753]
- Marcoval J, Moreno A, Peyrí J. Cutaneous infiltration by cancer. *J Am Acad Dermatol* 2007; 57: 577-580 [PMID: 17368634 DOI: 10.1016/j.jaad.2007.01.034]
- McLaughlin CC, Wu XC, Jemal A, Martin HJ, Roche LM, Chen VW. Incidence of noncutaneous melanomas in the US. *Cancer* 2005; 103: 1000-1007 [PMID: 15651058 DOI: 10.1002/cncr.20866]
- Schuchter LM, Green R, Fraker D. Primary and metastatic diseases in malignant melanoma of the gastrointestinal tract. *Curr Opin Oncol* 2000; 12: 181-185 [PMID: 10750731 DOI: 10.1097/00001622-200003000-00014]
- Tokuhara K, Nakatani K, Tanimura H, Yoshioka K, Kiyohara T, Kon M. A first reported case of metastatic anorectal amelanotic melanoma with a marked response to anti-PD-1 antibody nivolumab: A case report. *Int J Surg Case Rep* 2017; 31: 188-192 [PMID: 28171845 DOI: 10.1016/j.ijscr.2017.01.028]
- Rathi PM, Gautam S, Sharma S. Primary Malignant Melanoma of the Oesophagus. *J Assoc Physicians India* 2015; 63: 74-75 [PMID: 27666909]
- Kahl AR, Gao X, Chioreso C, Goffredo P, Hassan I, Charlton ME, Lin C. Presentation, Management, and Prognosis of Primary Gastrointestinal Melanoma: A Population-Based Study. *J Surg Res* 2021; 260: 46-55 [PMID: 33316759 DOI: 10.1016/j.jss.2020.11.048]
- Liang KV, Sanderson SO, Nowakowski GS, Arora AS. Metastatic malignant melanoma of the gastrointestinal tract. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 511-516 [PMID: 16610571 DOI: 10.4065/81.4.511]
- Wang S, Sun S, Liu X, Ge N, Wang G, Guo J, Liu W, Hu J. Endoscopic diagnosis of gastrointestinal melanoma. *Scand J Gastroenterol* 2020; 55: 330-337 [PMID: 32191553 DOI: 10.1080/00365521.2020.1734074]
- Othman AE, Eigentler TK, Bier G, Pfannenberger C, Bösmüller H, Thiel C, Garbe C, Nikolaou K, Klumpp B. Imaging of gastrointestinal melanoma metastases: Correlation with surgery and histopathology of resected specimen. *Eur Radiol* 2017; 27: 2538-2545 [PMID: 27752834 DOI: 10.1007/s00330-016-4625-7]
- Sachs DL, Lowe L, Chang AE, Carson E, Johnson TM. Do primary small intestinal melanomas exist? Report of a case. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41: 1042-1044 [PMID: 10570398 DOI: 10.1016/s0190-9622(99)70273-2]
- La Selva D, Kozarek RA, Dorer RK, Rocha FG, Gluck M. Primary and metastatic melanoma of the GI tract: clinical presentation, endoscopic findings, and patient outcomes. *Surg Endosc* 2020; 34: 4456-4462 [PMID: 31659505 DOI: 10.1007/s00464-019-07225-8]
- 蒲紫鹃, 周力, 陈晓琴. 恶性黑色素瘤胃肠道转移5例报告并文献复习. *贵州医药* 2015; 2: 159-160 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2015.02.024]
- Khalil DN, Carvajal RD. Treatments for noncutaneous melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2014; 28: 507-521 [PMID: 24880944 DOI: 10.1016/j.hoc.2014.02.006]
- Myint ZW, Goel G. Role of modern immunotherapy in gastrointestinal malignancies: a review of current clinical progress. *J Hematol Oncol* 2017; 10: 86 [PMID: 28434400 DOI: 10.1186/s13045-017-0454-7]
- Hanna TP, Nguyen P, Baetz T, Booth CM, Eisenhauer E. A Population-based Study of Survival Impact of New Targeted and Immune-based Therapies for Metastatic or Unresectable Melanoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2018; 30: 609-617 [PMID: 30196844 DOI: 10.1016/j.clon.2018.05.005]
- Zheng Y, Cong C, Su C, Sun Y, Xing L. Epidemiology and survival outcomes of primary gastrointestinal melanoma: a SEER-based population study. *Int J Clin Oncol* 2020; 25: 1951-1959 [PMID: 32740718 DOI: 10.1007/s10147-020-01759-x]
- Kumano K, Enomoto T, Kitaguchi D, Owada Y, Ohara Y, Oda T. Intussusception induced by gastrointestinal metastasis of malignant melanoma: A case report. *Int J Surg Case Rep* 2020; 71: 102-106 [PMID: 32446225 DOI: 10.1016/j.ijscr.2020.03.026]
- Syed HR, Shekar S, Aravanti A. Melanoma and the Gastrointestinal (GI) Tract: Maintaining a High Index of Suspicion. *Cureus* 2021; 13: e13408 [PMID: 33628704 DOI: 10.7759/cureus.13408]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



1 投稿总则

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

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

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

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

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

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下: 7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-3991568

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

E-mail: j.l.wang@wjgnet.com

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

2 手稿要求

2.1 总体标准 手稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则以及GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求, 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

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

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm (应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax不能写成Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括生物学中拉丁学名的属名与种名(包括亚属、亚种、变种), 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang (命名者勿划横线); 常

数K; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验, 概率*P*和相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *n*-butyl acetate (醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide (N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol (邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline (3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine (右旋苯丙胺), *l*-dopa (左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid (对氨基水杨酸); 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m* (质量), *V* (体积), *F* (力), *p* (压力), *W* (功), *v* (速度), *Q* (热量), *E* (电场强度), *S* (面积), *t* (时间), *z* (酶活性, kat), *t* (摄氏温度, °C), *D* (吸收剂量, Gy), *A* (放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c* (浓度, mol/L), *j* (体积分数, mL/L), *w* (质量分数, mg/g), *b* (质量摩尔浓度, mol/g), *l* (长度), *b* (宽度), *h* (高度), *d* (厚度), *R* (半径), *D* (直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量, 如30 kDa改为*Mr* 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5

周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位 IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO₂应为50 mL/L CO₂; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)应用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 统计学符号包括: (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*v*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中, 在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P*<0.05或^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^c*P*<0.05和^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05和^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密密度, 例如6347意指6000分之一的精密密度. 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 , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献

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

