

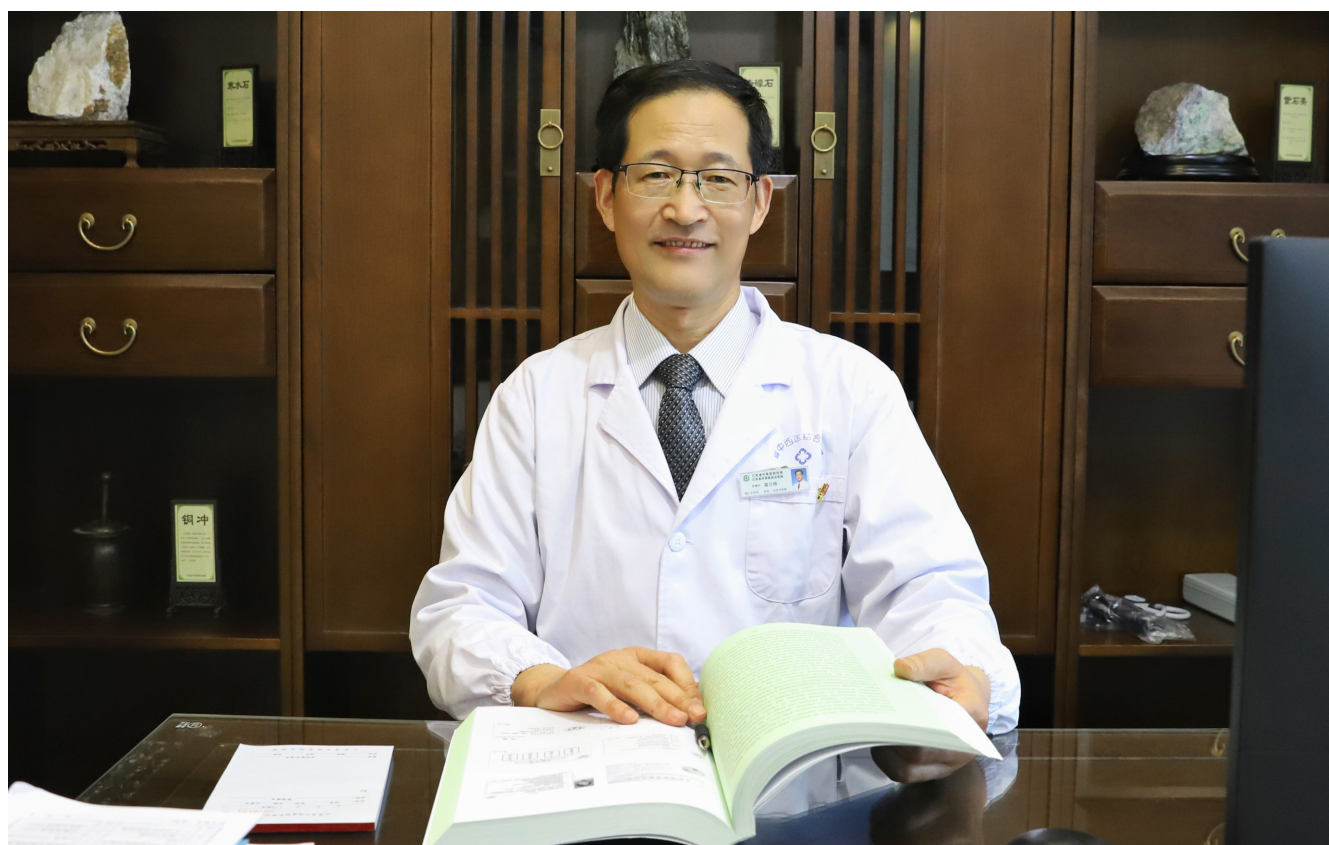
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2022 年 7 月 8 日 第 30 卷 第 13 期 (Volume 30 Number 13)



13 / 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。



述评

- 555 肠道菌群中苷水解酶的研究进展
黄莉莉, 唐圆, 谢果珍, 谭周进
- 562 肠道菌群相关短链脂肪酸的研究进展
李翠茹, 彭买姣, 谭周进

基础研究

- 571 lncRNA NNT-AS1调控miR-518a-3p抑制IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制
张晶, 王博, 王红霞, 孔凡铭, 李小江, 贾英杰
- 579 山竹果皮中总氧杂蒽酮通过调控miR-338-3p抑制胃癌细胞AGS增殖、迁移侵袭及炎症反应的实验研究
王芬芬, 王秀芳, 胡剑浩, 王银娟

临床研究

- 587 早期食管病变内镜黏膜下剥离术后辅助治疗人群的预测模型
古丽斯坦·阿布拉, 宋文轩, 刘航, 任祥凤, 陈鑫

文献综述

- 599 心血管疾病患者发生消化道出血后抗血小板药物管理
宋晓婷, 许文涛, 李洋, 祁兴顺

消 息

- 586 《世界华人消化杂志》参考文献要求
598 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
604 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

霍介格, 主任中医师, 博士生导师, 江苏省中西医结合医院肿瘤科主任, 江苏省中医消化肿瘤临床医学创新中心主任. 主持国家自然科学基金等省部级课题20余项, 发表论文近200篇, 其中以第一或通讯作者发表SCI 27篇, 出版著作11部, 获国家发明专利7项, 省部级奖励7项. 江苏省名中医, 江苏省中医领军人才, 江苏省中青年科技领军人才. 目前主要从事消化系统肿瘤的中西医结合临床与科研.

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 2022-07-08

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 13 July 8, 2022

EDITORIAL

- 555 Progress in research of glycoside hydrolases in the intestine
Huang LL, Tang Y, Xie GZ, Tan ZJ
- 562 Progress in research of intestinal microbiota related short chain fatty acids
Li CR, Peng MJ, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 571 Long noncoding RNA NNT-AS1 inhibits IL-17-induced proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-518a-3p
Zhang J, Wang B, Wang HX, Kong FM, Li XJ, Jia YJ
- 579 Total xanthone in mangosteen inhibits cell proliferation, migration, invasion, and inflammatory response in gastric cancer cells by regulating miR-338-3p
Wang FF, Wang XF, Hu JH, Wang YJ

CLINICAL RESEARCH

- 587 Prediction model for selection of adjuvant therapy population after endoscopic submucosal dissection for early esophageal lesions
Abula G, Song WX, Liu H, Ren XF, Chen X

REVIEW

- 599 Management of antiplatelet drugs after gastrointestinal bleeding in patients with cardiovascular disease
Song XT, Xu WT, Li Y, Qi XS

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 30 Number 13 July 8, 2022

COVER

Editor-in-Chief of *World Chinese Journal of Digestology*, Jie-Ge Huo, Chief TCM Physician, Doctoral Supervisor, Director of the Oncology Department, Jiangsu Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, No. 100 Hongshan Road, Nanjing 210028, Jiangsu Province, China. hjg16688@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 July 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.

肠道菌群中苷水解酶的研究进展

黄莉莉, 唐圆, 谢果珍, 谭周进

黄莉莉, 唐圆, 谢果珍, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

黄莉莉, 硕士研究生, 研究方向为方剂配伍疗效的微生物学机理研究.

基金项目: 湖南省自然科学基金青年项目, No. 2020JJ5426.

作者贡献分布: 本文综述由黄莉莉完成; 唐圆整理资料; 谢果珍和谭周进审校.

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

收稿日期: 2022-04-02

修回日期: 2022-04-27

接受日期: 2022-05-25

在线出版日期: 2022-07-08

Progress in research of glycoside hydrolases in the intestine

Li-Li Huang, Yuan Tang, Guo-Zhen Xie, Zhou-Jin Tan

Li-Li Huang, Yuan Tang, Guo-Zhen Xie, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: Youth Project of Hunan Natural Science Foundation, No. 2020jj5426.

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

Received: 2022-04-02

Revised: 2022-04-27

Accepted: 2022-05-25

Published online: 2022-07-08

Abstract

Glycoside hydrolases are a class of enzymes that hydrolyze glycosides and play an important role in the metabolic transformation of glycosides in the intestine, but the number

of glycoside hydrolases encoded and expressed in the body is limited, and most glycoside hydrolases are produced from intestinal bacteria genes. Gut microbiota and the secreted glycoside hydrolases participate in the deglycosylation of glycosides and improve their bioavailability. In this paper, we review the definition and types of glucoside hydrolases, their sources from the gut microbiota, and transformation of glycosides by the gut microbiota. We also discuss the relationship between the gut microbiota, glucoside hydrolases, and glucoside deglycosylation transformation products, with an aim to provide a reference for efficient production of enzymes and glycoside conversion products, and mining of new drug resources.

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

Key Words: Glycoside hydrolase; Glycosides; Gut microbiota; Microbial transformation

Citation: Huang LL, Tang Y, Xie GZ, Tan ZJ. Progress in research of glycoside hydrolases in the intestine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(13): 555-561

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/555.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i13.555>

摘要

苷水解酶是水解苷类化合物的一类酶, 对苷类化合物在肠道中的代谢转化具有重要作用, 但机体自身基因编码表达的苷水解酶的数量有限, 绝大部分苷水解酶由肠道菌群基因编码产生. 肠道菌群及其分泌的苷水解酶参与了苷类化合物的脱糖转化并提高其生物利用度, 大多数苷类化合物经脱糖转化后生成药效更强的次级苷或苷元从而提高生物利用度, 也有少数产生毒性. 本文综述了苷水解酶的定义、种类、肠道微生物来源和其对苷类化合物的转化, 并探讨了肠道菌群、苷水解酶及苷脱糖转化产物之间的关系, 为实现

苷水解酶及苷转化产物的高效生产、挖掘新药资源提供参考。

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

关键词: 苷水解酶; 苷类化合物; 肠道菌群; 微生物转化

核心提要: 由肠道菌群分泌的苷水解酶能将苷类化合物脱糖转化成生物利用度更高的次级苷和苷元, 但肠道菌群、苷水解酶及苷脱糖转化产物之间的关系还有待进一步明确。

文献来源: 黄莉莉, 唐圆, 谢果珍, 谭周进. 肠道菌群中苷水解酶的研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(13): 555-561

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/555.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.555>

0 引言

苷类化合物广泛存在于天然药物中, 并作为一类重要的活性成分广受关注. 研究证实苷类成分具有抗炎、抗肿瘤、提高机体免疫力等重要的药理活性. 苷类化合物由苷元及糖基或糖衍生物构成, 极性较大, 生物利用度低. 苷类成分通常被视为“前药”, 而真正起作用的是极性较小的次级苷或苷元. 因此, 苷类化合物在体内的转化研究成为阐明药物的作用机理及挖掘新药的重要基础. 因此, 本综述主要关注肠道菌群中苷水解酶的种类、来源及作用, 以期对苷类药物的研究提供参考。

1 苷水解酶的定义及种类

凡是能改变苷类化合物的结构及生物利用度的一类酶均可称为苷转化酶. 由于其对中药苷类成分药效的发挥产生重要的作用而被广泛关注. 苷转化酶对黄酮苷(黄芩苷、槲皮素、橙皮苷、柚皮苷、芦丁、葛根素等)的转化主要包括糖苷键水解、甲基化反应及羟基化反应, 对蒽苷(人参皂苷、栀子苷等)转化涉及糖苷键水解、羟基化、酯化反应和氧化反应^[1]. 可见苷转化酶对苷类化合物的代谢转化过程涉及了甲基化、羟基化、水解反应和氧化还原反应, 并以水解反应为主, 氧化还原反应为辅^[2]. 羟化酶、酯酶和甲基化酶、氮还原酶、硝基还原酶和P450同工酶参与了苷类化合物在肠道中的代谢和转化, 因其几乎不由肠道菌群分泌, 所以本综述不作重点讨论。

苷水解酶是指参与苷类化合物水解反应的一类酶, 主要作用于不同位点的糖苷键, 其在功能上属于苷转化酶的一类, 在结构上属于碳水化合物活性酶(carbohydrate active enzymes, CAZymes). CAZymes目

前涵盖的酶类包括糖苷水解酶(glycoside hydrolases, GHs)、糖基转移酶(glycosyl transferases, GTs)、多糖裂解酶(polysaccharide lyases, PLs)、碳水化合物酯酶(carbohydrate esterases, CEs)和辅酶(auxiliary activities, AAs). 其中酯酶主要用于天然多羟基化合物(如人参皂苷、薯蓣皂苷等)的选择性酯化, 而糖苷水解酶和多糖裂解酶主要作用于糖苷键^[3]. 多糖裂解酶通过 β 排除机制降解含糖醛酸的多糖长链参与碳水化合物主链的降解, 在裂解点生成不饱和烯醛酸残基和新的还原端, 其对底物的转化过程不需要水分子的参与, 多糖裂解酶通常作用于海洋多糖等复杂碳水化合物的裂解. 糖苷水解酶是一类特异性水解糖苷键的酶, 通过插入水分子水解糖苷类化合物中糖基之间或糖基与非糖基之间的糖苷键, 产生糖半缩醛或半缩酮以及相应的游离糖苷配基^[4]. 目前研究较多的苷水解酶有: β -D-葡萄糖苷酶(β -D-glucosidase, EC3.2.1.21)、 β -D-葡萄糖醛酸酶(β -D-glucuronidase, EC 3.2.1.31)、 β -木糖苷酶(β -xylosidase, EC 3.2.1.37)、 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase, EC3.2.1.23)、 α -L-鼠李糖苷酶(α -L-rhamnosidase, EC 3.2.1.40).

2 苷水解酶的来源

苷水解酶主要由肠道菌群或机体自身的基因编码, 如 β -D-葡萄糖醛酸酶既可来源于肝脏, 又可来源于肠道菌群; β -半乳糖苷酶既可由小肠黏膜上皮细胞分泌, 也可由肠道菌群分泌. 然而动物和人类基因组编码的苷水解酶数量有限, 据统计, 人类基因组编码的糖苷水解酶约97种. 肠道菌群作为人体重要的“微生态器官”, 是苷水解酶的主要来源。

肠道菌群是以互惠共生的方式生活在人体肠道中的复杂微生物群落, 其结构受到宿主遗传、饮食、环境、药物等因素的影响. 已报道的肠道菌群超过50个菌门, 人体肠道菌群的优势菌门为厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes), 占肠道微生物的90%. 研究表明^[5], 肠道菌群中双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、大肠杆菌属(*Escherichia coli*)等细菌和曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)等真菌均可表达苷水解酶. 有些肠菌能分泌多种苷水解酶, 如乳酸菌(*Lactobacillus*)能分泌 β -D-葡萄糖苷酶和 β -半乳糖苷酶, 而拟杆菌能分泌超过260种糖苷水解酶。

2.1 β -D-葡萄糖苷酶 β -D-葡萄糖苷酶主要分布在糖苷水解酶第1、2、3、5、9、30和116家族中, 其中GH1家族多为细菌、植物来源, GH3家族多为真菌来源, 来源不同的 β -D-葡萄糖苷酶结构及组成差异很大. β -D-葡萄糖苷酶的微生物来源主要有霉菌、酵母菌(*Saccharomyces*)和乳酸菌等. 人肠道细菌中厚壁菌门、拟杆菌门和放线

菌门(Actinobacteria)均可表达 β -D-葡萄糖苷酶, 其中双歧杆菌和多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)对其有较高的表达。Yang等人^[6]发现芽孢杆菌(*Bacillus* sp. 52)、拟杆菌(*Bacteroides* sp. 45、42)和韦荣氏菌(*Veillonella* sp. 32)均能分泌 β -D-葡萄糖苷酶, 且*Veillonella* sp. 32和*Bacteroides* sp. 42的产酶活性高于*Bacteroides* sp. 45和*Bacillus* sp. 52。Shin和Siddiqi等人^[7,8]还报道了*Gordonia terrae*、*Arachidococcus ginsenosidimutans*、*Paenibacillus mucilaginosus*和*Caldicellulosiruptor bescii*均能分泌 β -D-葡萄糖苷酶, 且能转化人参皂苷。

2.2 β -D-葡萄糖醛酸酶 β -D-葡萄糖醛酸酶主要分布在糖苷水解酶第2和79家族中。30多年前首次在大肠杆菌中被发现。大肠杆菌对 β -D-葡萄糖醛酸酶具有高度的特异性, 因此 β -D-葡萄糖醛酸酶阳性可作为判断大肠杆菌存在的重要指标。后来陆续发现葡萄球菌(*Staphylococcus*)、乳酸菌和瘤胃球菌(*Ruminococcus*)等细菌和青霉菌、曲霉菌和酵母菌等真菌均可表达 β -D-葡萄糖醛酸酶。Wang等人^[9]总结报道了厚壁菌门的产气荚膜梭菌(*Perfringens*)、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)和拟杆菌门的脆弱类杆菌(*Bacteroides fragilis*)来源的 β -D-葡萄糖醛酸酶。Xu等人^[10]还报道了丝状真菌*Talaromyces pinophilus* Li-93来源的 β -D-葡萄糖醛酸酶, 且能精准的将甘草酸(glycyrrhizic acid, GL)转化为单葡萄糖醛酸甘草次酸(glycyrrhetic acid monoglucuronide, GAMG)。

2.3 β -木糖苷酶 β -木糖苷酶主要分布在糖苷水解酶第1、3、5、28、30、39、43、51、52、54、116和120家族中, 其中来自GH3和GH39家族中的多种 β -木糖苷酶不仅具有催化活性, 还具有转糖基活性, 采用保留型催化机制将木糖基转移到糖苷类受体的基团上, 形成带有木糖基的生物活性物质。 β -木糖苷酶的微生物来源主要是细菌和真菌, 真菌中以丝状真菌(*Mycelial fungus*)为主, 能产生多种 β -木糖苷酶, 双歧杆菌(*Bifidobacterium*)和酵母菌中比较少见^[11]。肠道中芽孢杆菌(*Bacillus halodurans*)、嗜热脂肪芽孢杆菌(*Stearothermophilus*)、解糖热纤维菌(*Caldocellum saccharolyticum*)、新月柄杆菌(*Caulobacter crescentus*)、粪球菌(*Clostridium stercorarium*)、厌氧嗜热杆菌(*Thermoanaerobacterium saccharolyticum*)均可表达 β -木糖苷酶^[12]。

2.4 β -半乳糖苷酶 β -半乳糖苷酶主要分布在糖苷水解酶第1、2、3、35、42、50和59家族中。 β -半乳糖苷酶的微生物来源主要有曲霉属、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、双歧杆菌属以及大肠杆菌属等^[13]。其中来自霉菌和克鲁维酵母菌的 β -半乳糖苷酶因其具备食品安全性已被广泛应用于

工业生产^[29]。 β -半乳糖苷酶在肠道中主要由双歧杆菌、乳酸菌和嗜热链球菌等肠道益生菌产生, 如罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)、长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)、两歧双歧杆菌(*B. bifidum*)和乳酸菌(*L. plantarum* 70810)。Li等人^[14]发现, 嗜热链球菌分泌的 β -半乳糖苷酶可抑制体外培养的结直肠癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡。同时, 嗜热链球菌通过分泌的 β -半乳糖苷酶增加了肠道益生菌(双歧杆菌和乳酸菌)的丰度。

2.5 α -L-鼠李糖苷酶 α -L-鼠李糖苷酶主要分布在糖苷水解酶第28、78和106家族, 广泛分布于机体的细菌(如芽孢杆菌属、拟杆菌属、乳杆菌属等)和自然界的真菌(如曲霉属、青霉属、木霉属(*Trichoderma* sp))中, 研究表明多种益生菌, 如嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、乳球菌(*Lactococcus Schleifer*)、双歧杆菌等均可表达 α -L-鼠李糖苷酶, 细菌中以乳酸菌来源数量最多^[15]。短双歧杆菌(*Bifidobacterium breve*)来源的 α -L-鼠李糖苷酶具有广泛的底物特异性, 可用于多种天然苷类化合物的去鼠李糖基化, Amaretti等人^[16]筛选了33株双歧杆菌菌株, 通过研究其对橙皮苷的水解过程证明只有链状双歧杆菌(*Bifidobacterium catenulatum*)和伪链状双歧杆菌(*Bifidobacterium pseudoatenulatum*)含有表达 α -L-鼠李糖苷酶的基因。目前已报道的肠菌来源的 α -L-鼠李糖苷酶最适pH大多呈中性或偏酸性, 但梭菌(*Clostridium stercorarium*)和嗜热细菌(*Thermomicrobia bacterium* PRI-1686)来源的 α -L-鼠李糖苷酶最适pH偏碱性。也有研究表明多形拟杆菌来源的 α -L-鼠李糖苷酶的1个基因座包含2个 α -L-鼠李糖苷酶基因(BtRha78D和BtRha78E)^[17], 这两个基因的酶学性质有利于黄酮类化合物脱糖基转化。苷水解酶的具体来源及其性质见表1。

3 苷水解酶对苷类化合物的转化

中药苷类化合物在肠道中的转化需要多种酶共同参与。如京尼平苷在肠道的转化过程需要苷水解酶和酯酶的共同参与: 京尼平苷的环烯醚萜苷首先被 β -D-葡萄糖苷酶水解为京尼平, 然后再被酯酶转化成京尼平苷酸。苷水解酶根据其结构和底物特异性的不同能转化不同的苷类化合物。许多中药中的糖苷类成分必须去除糖基形成相应的次级苷或苷元才能真正发挥药效, 但并非所有的苷类化合物经水解后都能增强药性, 有的苷类化合物经苷水解酶水解后会产生毒性, 如 β -D-葡萄糖苷酶能将本身没有毒性的氰苷水解生成糖和对应的羟基腈, α -羟基腈裂解酶再将羟基腈化合物转化成氢氰酸和醛酮化合物从而产生毒性(图1)^[39]。

3.1 β -D-葡萄糖苷酶 β -D-葡萄糖苷酶属于纤维素酶类,

表 1 苷水解酶的来源及其对苷类化合物的转化

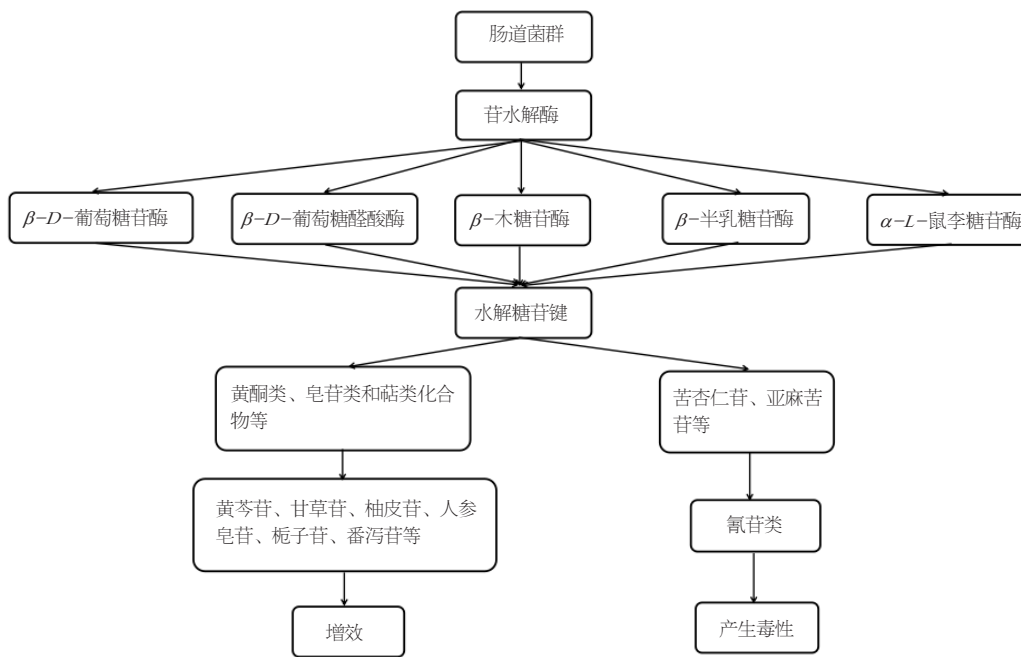
苷水解酶	来源	底物	产物	参考文献
β -D-glucosidase	<i>Bifidobacterium</i> sp. strain SEN	番泻苷	番泻苷元	[18]
	<i>Bacillus</i> sp.strain AU3b4(MF612187.1)	人参皂苷Rb ₁	稀有人参皂苷CK	[19]
	<i>Paenibacillus</i> sp. MBT213; <i>Bacillus safensis</i>	人参皂苷Rb ₁	人参皂苷 Rd	[20]
	<i>Lactobacillus plantarum</i> KFY02	虎杖苷	白藜芦醇	[21]
	<i>Eubacterium</i> sp. A-44	京尼平苷	京尼平	[22]
	<i>Cohnella thermotolerans</i>	人参皂苷Rb ₁	稀有人参皂苷CK	[23]
	<i>Bifidobacterium lactis</i> Bi-07	人参皂苷Rb ₁	人参皂苷F2	[24]
	<i>penicillium decumbens</i>	人参皂苷Rb ₁	人参皂苷Rh ₂	[25]
	<i>Extracellular A. usamii</i>	桔梗苷E和桔梗素D3	桔梗素D	[26]
	<i>Bacillus subtilis</i> JY24	黄芩苷	黄芩素	[27]
β -D-glucuronidase	<i>E. coli</i> K12	黄芩苷	黄芩素	[28]
	<i>Talaromyces pinophilus</i> Li-93	甘草酸	单葡萄糖醛酸甘草次酸	[10]
	<i>Eubacterium</i> L-8	甘草酸	甘草次酸	[29]
β -xylosidase	<i>Bifidobacterium breve</i> K-110	人参皂苷Ra ₁	人参皂苷Rb ₂	[30]
	<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i>	三七皂苷R1、R2	人参皂苷Rg1和Rh1	[31]
	<i>Dictyoglomus thermophilum</i>	黄芪甲苷	环黄芪醇	[32]
β -galactosidase	<i>Lactobacillus ginsenosidimutans</i> EMM1 3041	人参皂苷Rb ₁	人参皂苷Rg ₃	[33]
	<i>Aspergillus</i> sp.	人参皂苷Rg ₃	人参皂苷Rh ₂	[34]
	<i>Enterobacter cloacae</i>	红景天苷	酪醇半乳糖苷	[35]
	<i>Aspergillus nidulans</i>	橙皮苷	橙皮素单葡萄糖苷	[36]
α -L-rhamnosidase	<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	芦丁	异槲皮苷	[37]
	<i>Bacteroides</i> sp. 22	芦丁	槲皮素-3-o-葡萄糖苷	[8]
	<i>Absidia</i> sp.G3	人参皂苷Re	人参皂苷Rg ₁	[38]

能水解芳香基或羟基与糖基原子团之间的糖苷键,同时释放出 β -D-葡萄糖和相应的配基。 β -D-葡萄糖苷酶主要作用于 β -1, 4-葡萄糖苷键,也能作用于 β -(1, 1)、(1, 2)、(1, 3)、(1, 6)糖苷键,其底物专一性较差,对多种蒽醌苷、黄酮苷和萜苷都有高效的水解作用,可有效水解人参皂苷、柴胡皂苷、甘草苷、番泻苷、虎杖苷、京尼平苷、龙胆苦苷等。梔子的主要药效成分京尼平具有消炎、利胆、退黄等药理作用,但其在梔子中的含量很低(0.005%-0.01%),而梔子的另一种苷类成分京尼平苷的含量则达到(3.0%-8.0%), β -D-葡萄糖苷酶能在肠道中将京尼平苷水解为京尼平,从而发挥药理作用^[22]。 β -D-葡萄糖苷酶能水解虎杖苷的 β -1, 4-葡萄糖苷键将其转化为具有保护心血管和抗氧化等药理作用的白藜芦醇; β -D-葡萄糖苷酶能高效地水解大豆异黄酮,得到具有提高人体免疫力的异黄酮苷元; β -D-葡萄糖苷酶通过去除人参皂苷C₃/C₆和C₂₀位点上的单糖,将天然人参皂苷脱糖基转化为次级苷,同时也将普通皂苷转化为稀有皂苷,是参与多种稀有人参皂苷制备的重要酶。 β -D-葡萄糖苷酶还能将番泻苷转化为具有泻下作用的大黄酸蒽酮。其中 β -D-葡萄糖苷酶对番泻苷的转化途径有两条:一是 β -D-葡萄糖苷酶先将番泻苷水解为番泻苷8-O-单葡萄糖

苷,后者再脱去一个葡萄糖并通过还原反应生成大黄酸蒽酮;二是番泻苷先被还原成大黄酸蒽酮葡萄糖苷,再由 β -D-葡萄糖苷酶水解生成大黄酸蒽酮^[40]。大黄酸蒽酮能激活结肠巨噬细胞增加前列腺素E2(PGE2)释放,从而降低水通道蛋白3(aquaporin 3, AQP3)的表达,促进结肠中水分分解滞留从而导致腹泻。

3.2 β -D-葡萄糖醛酸酶 β -D-葡萄糖醛酸酶可催化各种类型葡萄糖醛酸结合物发生水解反应并释放出 β -葡萄糖醛酸和相应配基。对含 β -1,4-葡萄糖醛酸键的黄芩苷、汉黄芩苷和GL具有较好的水解作用。研究表明^[41], β -D-葡萄糖醛酸酶在黄芩素和黄芩苷的“肠肝循环”代谢中起重要作用,黄芩素极性较小,易经小肠吸收,经II相代谢酶作用生成黄芩苷,后者又可经胆汁和肠黏膜转运至肠腔,被肠道菌群水解成黄芩素。甘草的主要药性成分GL的C₃位连接两个葡萄糖醛酸基,GL的水解途径包括两种:去掉两个葡萄糖醛酸基和外端一个葡萄糖醛酸基,分别生成甘草次酸(glycyrrhetic acid, GA)和GAMG, GAMG的抗炎、抗过敏等药理活性均高于GL。 β -D-葡萄糖醛酸酶能定向水解GL中的 β -1,2-糖苷键生成GAMG,是酶法制备GAMG的主要途径^[42]。

3.3 β -木糖苷酶 β -木糖苷酶是一种外切酶,能切除某些



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.555 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 1 肠道中苷水解酶对苷类化合物的转化。

天然物质上的木糖基团, 从而生成具有生物活性的物质, 近年来的研究发现微生物来源的 β -木糖苷酶可以水解蒽类、甾体等苷元与木糖形成的糖苷键, 释放出苷元。三七皂苷 R_1 和 R_2 都含有一个木糖基, 其木糖基由一个 β -1,2-糖苷键和一个糖基相连, β -木糖苷酶能切除三七皂苷 R_1 和 R_2 木糖基中的 β -1,2-糖苷键, 生成具有抗过敏、抗氧化、抗炎等功效的人参皂苷 R_g 和 R_h , Shin等人^[31]首次报道了酶法生产人参皂苷 R_g 和 R_h , *Thermophilum thermosaccharolyticum*表达的 β -木糖苷酶在4 h和18 h内分别将2 g三七皂苷 R_1 和 R_2 完全转化为1.69 g人参皂苷 R_g 和1.63 g人参皂苷 R_h , 摩尔转化率为100%。 β -木糖苷酶能与 β -D-葡萄糖苷酶分别切除黄芪甲苷IV(ASI)上 C_3 位的木糖基和 C_6 位的葡萄糖基生成抗衰老等药理作用更强的环黄芪醇(CA), 但目前关于 β -木糖苷酶转化黄芪甲苷IV的报道很少, 且转化黄芪甲苷IV的 β -木糖苷酶的尚未发现有肠道微生物来源。

3.4 β -半乳糖苷酶 β -半乳糖苷酶能水解 β -1,4-糖苷键, 具有高度底物专一性, 要求底物的半乳糖基必须以 β -糖苷键与多糖部分相连。具有水解乳糖和转糖苷两种功能。人参皂苷 R_h 能诱导癌细胞凋亡, 具备较高的抗癌活性。 β -半乳糖苷酶能水解 R_g 的3位外侧葡萄糖而不水解内侧葡萄糖从而将 R_g 转化为 R_h 。研究表明^[33,34], *Aspergillus sp.*和*Aspergillus oryzae*来源的 β -半乳糖苷酶均可用于 R_h 的制备, 且来源于*Aspergillus oryzae*的 β -半乳糖苷酶活性更高, 当以25 g/L和6.27 g/L的 R_g 为底物, 转化率分别为

90.6%和100%。红景天苷的类似物半乳糖型红景天苷的抗氧化、抗炎、抗疲劳、心脏和神经保护等药理作用优于红景天苷, 但目前酶法制备半乳糖型红景天苷的产率较低, 不适于大批量生产, β -半乳糖苷酶能通过转糖苷功能将红景天苷的苷元—酪醇糖基化生成神经保护和心血管保护作用更强的半乳糖型红景天苷^[35], 为半乳糖型红景天苷的规模化生产奠定了基础。

3.5 α -L-鼠李糖苷酶 α -L-鼠李糖苷酶是一类催化水解非还原性末端 α -L-鼠李糖残基的糖苷水解酶, 主要作用于 α -(1,2)和 α -(1,6)葡萄糖苷键, 也能作用于 α -(1,3)和 α -(1,4)糖苷键。 α -L-鼠李糖苷酶可水解切割黄酮苷化合物芦丁、橘皮苷、柚皮苷, 人参皂苷化合物 R_g 和 R_e , 柴胡皂苷C等末端的 α -L-鼠李糖基。 α -L-鼠李糖苷酶可水解芦丁生成抗氧化、抗增殖和抗衰老作用更强的异槲皮素。 α -L-鼠李糖苷酶参与芦丁的脱糖基反应有两种途径: 其一为 α -L-鼠李糖苷酶先将芦丁水解成异槲皮苷, 异槲皮苷再被 β -D-葡萄糖苷酶进一步水解成苷元槲皮素, 其二为 α -L-鼠李糖苷酶和 β -D-葡萄糖苷酶直接将芦丁转化为无色花青素。 α -L-鼠李糖苷酶能将柚皮苷水解为普鲁宁, 普鲁宁在 β -D-葡萄糖苷酶作用下进一步转化为具有抗细胞凋亡等作用的柚皮素^[37,43], α -L-鼠李糖苷酶能水解人参皂苷 R_e 的 C_6 位末端上的一个 α -鼠李糖基, 生成能发挥抗中枢神经系统和抗心脑血管系统疾病的人参皂苷 R_g 。还能水解人参皂苷 R_g 的 C_6 位末端上的一个 α -鼠李糖基生成具有抗炎、抗氧化、免疫调节作用的人参皂

苷Rh₁.

4 思考与讨论

酶解法具有条件温和, 操作简单, 价格低廉等优点, 可在体外用酶解法富集生物利用度和药理活性更好的苷元, 并开发为新药. 然而目前自然界现有的苷水解酶大多存在产量低、稳定性差、底物专一性不强、易产生副产物等问题, 不适合定向催化, 也难以实现工业大批量生产. 因此实现苷水解酶的高效生产成了近年来研究的热点. 基因工程和酶工程等现代生物技术的发展成为苷水解酶工业化生产的有力工具. 利用基因重组从微生物中分离出能表达苷水解酶的基因, 将该编码基因导入到“工程菌”中实现同源或异源表达, 从而获得高酶活、耐热或耐酸碱的苷水解酶. 还可通过基因定点突变、体外分子定向进化等方式对苷水解酶分子进行定向改造, 让其更高效的用于工业生产和食品药品开发中. 如 *Thermotoga petrophila* 来源的耐热 β -D-葡萄糖苷酶基因 *tp bgl B* (Gen Bank: ABQ46916.1) 已经在大肠杆菌中实现了异源表达, 并应用于人参皂苷与黄芩苷的生物制备^[44]. Xu等人^[45]从丝状真菌(*Talaromyces pinophilus* Li-93)中分离得到一种表达 β -D-葡萄糖醛酸酶的基因: *tpgus79a*, 其能特异、精确地将GL转化为GAMG, 无中间产物生成, 将其克隆并在*Pichia*酵母中实现了异源表达, 克服了 β -D-葡萄糖醛酸酶底物特异性低的问题, 也为后续GAMG分离纯化降低了难度.

司磊等人^[46]在体外利用肠道菌群分泌的 β -D-葡萄糖醛酸酶将黄芩苷转化为黄芩素, 黄芩素比黄芩苷口服给药后更易吸收, 且黄芩素的抗炎、解热、镇痛等药理作用优于黄芩苷. 刘沛等人^[47]用三黄颗粒中的黄芩素代替黄芩苷制备的素代三黄颗粒其药理作用优于三黄颗粒, 为黄芩素代替黄芩苷制备中药复方制剂提供了参考. 人参皂苷Rg₃能够诱导癌细胞凋亡和抑制癌细胞转移, 在体内外均有较强的抗肿瘤的活性, 但其在人参中含量极少, 目前制备Rg₃的主要途径是利用微生物分泌的 β -D-葡萄糖苷酶水解人参皂苷Rb₁生成Rg₃. 苏敏等人^[48]从kefir粒中分离出一株产 β -D-葡萄糖苷酶的马克斯克鲁维酵母菌, 能将人参皂苷Rb₁转化为Rg₃, 并对酶解工艺进行优化, 使人参皂苷Rg₃的含量比未发酵时提高了3.48倍, 为人参皂苷Rg₃的高效生产提供了途径.

5 结论

研究肠道菌群中的苷水解酶及其对苷类化合物的转化过程, 将有利于筛选高表达苷转化酶的菌株, 明确编码苷水解酶的基因, 选择合适的“工程菌”实现苷水解酶的工业化生产, 进一步用于苷的体外转化, 为新药开发

提供支持.

6 参考文献

- 1 谢果珍, 惠华英, 彭买蛟, 谭周进. 肠道微生物对苷类化合物的脱糖转化及意义. 世界华人消化杂志 2018; 26: 221-227 [DOI: 10.11569/wjcd.v26.i4.221]
- 2 Gong X, Li X, Bo A, Shi RY, Li QY, Lei LJ, Zhang L, Li MH. The interactions between gut microbiota and bioactive ingredients of traditional Chinese medicines: A review. *Pharmacol Res* 2020; 157: 104824 [PMID: 32344049 DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104824]
- 3 Luis AS, Martens EC. Interrogating gut bacterial genomes for discovery of novel carbohydrate degrading enzymes. *Curr Opin Chem Biol* 2018; 47: 126-133 [PMID: 30326425 DOI: 10.1016/j.cbpa.2018.09.012]
- 4 张浩雯, 曹浩, 王钰璐, 辛凤姣. 人体肠道菌群来源碳水化合物活性酶(CAZYmes)研究进展. 生物化学与生物物理进展 2020; 47: 607 [DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0059]
- 5 谢果珍, 黄莉莉, 张水寒, 谭周进. 肠道微生物代谢苷类化合物的研究进展. 天然产物研究与开发 2022; 1-19
- 6 Yang J, Qian D, Jiang S, Shang EX, Guo J, Duan JA. Identification of rutin deglycosylated metabolites produced by human intestinal bacteria using UPLC-Q-TOF/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2012; 898: 95-100 [PMID: 22583754 DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.04.024]
- 7 朱大伟, 王宇, 李玉花. 真菌 β -葡萄糖苷酶在转化人参皂苷单体中的应用进展. 天然产物研究与开发 2017; 29: 1053-1061 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.026]
- 8 Siddiqi MZ, Ximenes HA, Song BK, Park HY, Lee WH, Han H, Im WT. Enhanced production of ginsenoside Rh2(S) from PPD-type major ginsenosides using BglSk cloned from *Saccharibacillus kuerlensis* together with two glycosidase in series. *Saudi J Biol Sci* 2021; 28: 4668-4676 [PMID: 34354454 DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.04.079]
- 9 Wang P, Jia Y, Wu R, Chen Z, Yan R. Human gut bacterial β -glucuronidase inhibition: An emerging approach to manage medication therapy. *Biochem Pharmacol* 2021; 190: 114566 [PMID: 33865833 DOI: 10.1016/j.bcp.2021.114566]
- 10 Xu Y, Feng X, Jia J, Chen X, Jiang T, Rasool A, Lv B, Qu L, Li C. A Novel β -Glucuronidase from *Talaromyces pinophilus* Li-93 Precisely Hydrolyzes Glycyrrhizin into Glycyrrhetic Acid 3-O-Mono- β -d-Glucuronide. *Appl Environ Microbiol* 2018; 84 [PMID: 30054355 DOI: 10.1128/AEM.00755-18]
- 11 李娜, 张蕊, 黄遵锡, 周峻沛. “ β -木糖苷酶的生物活性物质转化功能研究进展.” 微生物学通报 2020; 47: 2290-2299 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.200201]
- 12 Shin KC, Seo MJ, Oh DK. Characterization of β -xylosidase from *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* and its application to the production of ginsenosides Rg1 and Rh 1 from notoginsenosides R 1 and R 2. *Biotechnol Lett* 2014; 36: 2275-2281 [PMID: 25048230 DOI: 10.1007/s10529-014-1604-4]
- 13 Hyun YJ, Kim B, Kim DH. Cloning and characterization of ginsenoside Ra1-hydrolyzing beta-D-xylosidase from *Bifidobacterium breve* K-110. *J Microbiol Biotechnol* 2012; 22: 535-540 [PMID: 22534302 DOI: 10.4014/jmb.1110.10001]
- 14 Li Q, Hu W, Liu WX, Zhao LY, Huang D, Liu XD, Chan H, Zhang Y, Zeng JD, Coker OO, Kang W, Ng SSM, Zhang L, Wong SH, Gin T, Chan MTV, Wu JL, Yu J, Wu WKK. *Streptococcus thermophilus* Inhibits Colorectal Tumorigenesis Through Secreting β -Galactosidase. *Gastroenterology* 2021; 160: 1179-1193. e14 [PMID: 32920015 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.09.003]
- 15 Mueller M, Zartl B, Schleritzko A, Stenzl M, Viernstein H, Unger FM. Rhamnosidase activity of selected probiotics and their ability to hydrolyse flavonoid rhamnoglucosides. *Bioprocess Biosyst Eng* 2018; 41: 221-228 [PMID: 29124335 DOI: 10.1007/s00449-017-

- 1860-5]
- 16 Amaretti A, Raimondi S, Leonardi A, Quartieri A, Rossi M. Hydrolysis of the rutinose-conjugates flavonoids rutin and hesperidin by the gut microbiota and bifidobacteria. *Nutrients* 2015; 7: 2788-2800 [PMID: 25875120 DOI: 10.3390/nu7042788]
- 17 李彬春, 吉亚茹, 李艳琴, 丁国斌. 多形拟杆菌 α -L-鼠李糖苷酶序列分析与酶学性质. *中国生物化学与分子生物学报* 2017; 33: 391-399 [DOI: 10.13865/j.cnki.cjmb.2017.04.12]
- 18 Akao T, Che QM, Kobashi K, Yang L, Hattori M, Namba T. Isolation of a human intestinal anaerobe, Bifidobacterium sp. strain SEN, capable of hydrolyzing sennosides to sennidins. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 1041-1043 [PMID: 8161172 DOI: 10.1128/aem.60.3.1041-1043]
- 19 徐凤娇. 具有人参皂苷转化能力的微生物的筛选及其对Rb1的转化研究. 烟台大学, 2020
- 20 Renchinkhand G, Cho SH, Urgamal M, Park YW, Nam JH, Bae HC, Song GY, Nam MS. Characterization of Paenibacillus sp. MBT213 Isolated from Raw Milk and Its Ability to Convert Ginsenoside Rb₁ into Ginsenoside Rd from Panax ginseng. *Korean J Food Sci Anim Resour* 2017; 37: 735-742 [PMID: 29147097 DOI: 10.5851/kosfa.2017.37.5.735]
- 21 何成, 吴言, 孟春雨, 肖亚中, 方泽民, 房伟. 新型 β -葡萄糖苷酶 BglD2 异源表达及水解虎杖苷能力. *生物工程学报* 2021; 37: 580-592 [DOI: 10.13345/j.cjbe.200314]
- 22 Long X, Zeng X, Tan F, Yi R, Pan Y, Zhou X, Mu J, Zhao X. Lactobacillus plantarum KFY04 prevents obesity in mice through the PPAR pathway and alleviates oxidative damage and inflammation. *Food Funct* 2020; 11: 5460-5472 [PMID: 32490861 DOI: 10.1039/d0fo00519c]
- 23 张庆锋, 吕世鑫, 江雨欣, 王丹丹, 王洪涛. 产 β -葡萄糖苷酶微生物的筛选鉴定及其在人参皂苷 Compound K 转化中的应用. *山东农业科学* 2021; 53: 63-69 [DOI: 10.14083/j.jssn.1001-4942.2021.11.010]
- 24 Tan JS, Yeo CR, Popovich DG. Fermentation of protopanaxadiol type ginsenosides (PD) with probiotic Bifidobacterium lactis and Lactobacillus rhamnosus. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017; 101: 5427-5437 [PMID: 28478490 DOI: 10.1007/s00253-017-8295-4]
- 25 Kim SY, Lee HN, Hong SJ, Kang HJ, Cho JY, Kim D, Ameer K, Kim YM. Enhanced biotransformation of the minor ginsenosides in red ginseng extract by Penicillium decumbens β -glucosidase. *Enzyme Microb Technol* 2022; 153: 109941 [PMID: 34785432 DOI: 10.1016/j.enzmictec.2021.109941]
- 26 Ahn HJ, You HJ, Park MS, Johnston TV, Ku S, Ji GE. Biocatalysis of Platycoside E and Platycodin D3 Using Fungal Extracellular β -Glucosidase Responsible for Rapid Platycodin D Production. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 30205574 DOI: 10.3390/ijms19092671]
- 27 孔利华, 高书锋, 雷平, 王升平, 周映华, 龚平, 曾发蛟, 缪东, 周小玲, 曾奥, 舒燕, 邵理洋, 刘惠知. 产 β -葡萄糖醛酸苷酶菌株胃肠道耐受性与酶学特性研究. *家畜生态学报* 2020; 41: 59-64
- 28 周琪, 窦同意, 丁乐乐, 曲明佳, 翁仔森, 吴大畅, 侯洁. β -葡萄糖醛酸苷酶的重组表达及对黄芩苷的生物转化. *大连医科大学学报* 2017; 39: 110-115
- 29 Kim DH, Hong SW, Kim BT, Bae EA, Park HY, Han MJ. Biotransformation of glycyrrhizin by human intestinal bacteria and its relation to biological activities. *Arch Pharm Res* 2000; 23: 172-177 [PMID: 10836746 DOI: 10.1007/BF02975509]
- 30 Hyun YJ, Kim B, Kim DH. Cloning and characterization of ginsenoside Ra1-hydrolyzing beta-D-xylosidase from Bifidobacterium breve K-110. *J Microbiol Biotechnol* 2012; 22: 535-540 [PMID: 22534302 DOI: 10.4014/jmb.1110.10001]
- 31 Shin KC, Seo MJ, Oh DK. Characterization of β -xylosidase from Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum and its application to the production of ginsenosides Rg1 and Rh 1 from notoginsenosides R 1 and R 2. *Biotechnol Lett* 2014; 36: 2275-2281 [PMID: 25048230 DOI: 10.1007/s10529-014-1604-4]
- 32 Li Q, Wu T, Qi Z, Zhao L, Pei J, Tang F. Characterization of a novel thermostable and xylose-tolerant GH 39 β -xylosidase from Dictyoglomus thermophilum. *BMC Biotechnol* 2018; 18: 29 [PMID: 29783967 DOI: 10.1186/s12896-018-0440-3]
- 33 Siddiqi MZ, Srinivasan S, Park HY, Im WT. Exploration and Characterization of Novel Glycoside Hydrolases from the Whole Genome of Lactobacillus ginsenosidimutans and Enriched Production of Minor Ginsenoside Rg3(S) by a Recombinant Enzymatic Process. *Biomolecules* 2020; 10 [PMID: 32059542 DOI: 10.3390/biom10020288]
- 34 Shin KC, Oh DK. Classification of glycosidases that hydrolyze the specific positions and types of sugar moieties in ginsenosides. *Crit Rev Biotechnol* 2016; 36: 1036-1049 [PMID: 26383974 DOI: 10.3109/07388551.2015.1083942]
- 35 齐亭亭. β -半乳糖苷酶和环糊精葡萄糖基转移酶合成糖苷化合物的研究. 山东大学, 2017
- 36 叶德晓, 黄佳俊, 卢宇靖, 林育成, 李慧灵, 谭景航, 周金林. α -L-鼠李糖苷酶 AnRhaE 在毕赤酵母中的表达及应用. *食品与发酵工业* 2021; 47: 25-30 [DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025498]
- 37 Zhang R, Zhang BL, Xie T, Li GC, Tuo Y, Xiang YT. Biotransformation of rutin to isoquercitrin using recombinant α -L-rhamnosidase from Bifidobacterium breve. *Biotechnol Lett* 2015; 37: 1257-1264 [PMID: 25724715 DOI: 10.1007/s10529-015-1792-6]
- 38 韩冰, 付绍平, 金凤燮, 鱼红闪. 两种菌产两种不同天然苷类 α -鼠李糖苷酶的研究. *大连工业大学学报* 2008; 2: 105-109
- 39 刘易. 中成药中甾苷类有毒成分的筛查、定量测定和体外转化研究. 中国人民解放军军事医学科学院, 2016
- 40 Hasegawa H, Sung JH, Matsumiya S, Uchiyama M. Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med* 1996; 62: 453-457 [PMID: 8923812 DOI: 10.1055/s-2006-957938]
- 41 Noh K, Kang Y, Nepal MR, Jeong KS, Oh DG, Kang MJ, Lee S, Kang W, Jeong HG, Jeong TC. Role of Intestinal Microbiota in Baicalin-Induced Drug Interaction and Its Pharmacokinetics. *Molecules* 2016; 21: 337 [PMID: 26978333 DOI: 10.3390/molecules21030337]
- 42 刘美琴. 甘草酸转化单葡萄糖醛酸甘草次酸中催化酶的选择. *云南化工* 2018; 45: 128
- 43 房仙颖, 章伟唯, 萧伟, 赵林果. 异槲皮素的制备及研究进展. *天然产物研究与开发* 2020; 32: 708-717 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.4.022]
- 44 裴雯雯, 曾艳, 刘娟娟, 张建刚, 王敏, 孙媛霞. β -葡萄糖苷酶的枯草芽孢杆菌表达、酶学性质分析及其在宝藜苷 I 制备中的应用. *食品工业科技* 2022; 43: 133-140 [DOI: 10.13386/j.jssn1002-0306.2021080167]
- 45 Xu Y, Feng X, Jia J, Chen X, Jiang T, Rasool A, Lv B, Qu L, Li C. A Novel β -Glucuronidase from Talaromyces pinophilus Li-93 Precisely Hydrolyzes Glycyrrhizin into Glycyrrhetic Acid 3-O-Mono- β -d-Glucuronide. *Appl Environ Microbiol* 2018; 84 [PMID: 30054355 DOI: 10.1128/AEM.00755-18]
- 46 刘伶文, 司磊, 任树勇, 刘永红. 人肠道菌对黄芩苷的生物转化. *天然产物研究与发* 2012; 24: 1437-1440 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2012.10.026]
- 47 刘沛, 马乐, 王琼, 常金花, 刘翠哲, 苗光新. 三黄颗粒中黄芩素代替黄芩苷的药理比较. *中成药* 2015; 37: 265-268
- 48 苏敏, 朴春红, 梁德春, 初琦, 王玉华, 王尚, 陈月, 胡洋, 霍越. 产 β -葡萄糖苷酶酵母菌的分离鉴定及其在人参皂苷 Rg3 转化中的应用. *食品科学* 2018; 39: 172-178

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



肠道菌群相关短链脂肪酸的研究进展

李翠茹, 彭买姣, 谭周进

李翠茹, 彭买姣, 谭周进, 湖南中医药大学微生物教研室 湖南省长沙市 410208

李翠茹, 硕士研究生, 主要从事中医药对脾胃病疗效的微生物生态机制的研究。

基金项目: 湖南省自然科学基金, No. 2021JJ40403.

作者贡献分布: 本文综述由李翠茹完成; 谭周进和彭买姣审校。

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

收稿日期: 2022-04-08

修回日期: 2022-04-25

接受日期: 2022-05-25

在线出版日期: 2022-07-08

Progress in research of intestinal microbiota related short chain fatty acids

Cui-Ru Li, Mai-Jiao Peng, Zhou-Jin Tan

Cui-Ru Li, Mai-Jiao Peng, Zhou-Jin Tan, School of Medicine, College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Yuelu District, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: Hunan Natural Science Foundation, No. 2021JJ40403.

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

Received: 2022-04-08

Revised: 2022-04-25

Accepted: 2022-05-25

Published online: 2022-07-08

Abstract

Short chain fatty acids (SCFAs) are the end products of the fermentation of difficult-to-digest carbohydrates in the small intestine by gut microbes. Dietary fiber, resistant starch, and oligosaccharides are the main substrates for

SCFAs production, while undigested proteins or peptides may also be substrates for intestinal microbe SCFAs. Acetic acid, propionic acid, and butyric acid are the most abundant SCFAs in the intestinal tract, while the contents of formic acid, pentanoic acid, and hexanoic acid are significantly lower. As one of the main metabolites of intestinal flora, SCFAs play an important role in maintaining water and electrolyte balance, regulating intestinal flora balance, improving intestinal function, exerting anti-inflammatory and anti-tumor effects, and regulating gene expression. In this paper, we briefly introduce the generation, action mechanism, absorption, and metabolism of SCFAs, and summarize the related substrates producing SCFAs and the main effects of SCFAs on the intestinal tract, as well as the effects of SCFAs on various organs of the body, with an aim to provide theoretical guidance for clinical application of SCFAs in the intervention of various diseases.

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

Key Words: Short chain fatty acids; Substrate; Function; Mechanism; Gut microbiota

Citation: Li CR, Peng MJ, Tan ZJ. Progress in research of intestinal microbiota related short chain fatty acids. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(13): 562-570

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/562.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i13.562>

摘要

短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)是小肠内难以消化的碳水化合物经肠道微生物发酵的最终产物。膳食纤维、抗性淀粉、低聚糖等是生产SCFAs的主要底物, 未消化的蛋白质或多肽也可能是肠道微生物SCFAs的底物。乙酸、丙酸和丁酸是肠道中最丰富的SCFAs, 而甲酸、戊酸和己酸的含量明显较低。作为肠道菌群的主要代谢产物之一, SCFAs在肠道中发挥着

维持水电解质平衡、调节肠道菌群平衡、改善肠道功能、抗炎、抗肿瘤和调控基因表达等重要作用。本文简要介绍了SCFAs的产生、作用机制、吸收及代谢等方面,着重对产生SCFAs的相关底物以及SCFAs对肠道的主要功效进行总结,并归纳了SCFAs对机体各器官的影响,从而为临床应用SCFAs干预各种疾病提供理论指导。

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

关键词: 短链脂肪酸; 底物; 功效; 机制; 肠道微生物

核心提要: 短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)是肠道菌群的重要代谢产物之一,具有重要的生理功能,可以保护肠黏膜屏障、抑制肿瘤细胞增殖和分化、降低肠道炎症反应、维持肠道内环境稳定,对高血压、炎症性肠病、肠易激综合征、结肠癌和非酒精性脂肪性肝病等疾病有着一定的治疗作用。近年来人们对SCFAs的关注度越来越高,通过对SCFAs的作用机制、相关底物、对肠道的主要功效、吸收及代谢、对机体健康等方面文献进行不断归纳总结,对临床应用SCFAs干预各种疾病有着重要作用。

文献来源: 李翠茹, 彭买斌, 谭周进. 肠道菌群相关短链脂肪酸的研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(13): 562-570

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/562.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.562>

0 引言

肠道微生物群对人体肠道健康起着重要作用,其受到饮食的调节,特别是人体可利用的碳水化合物。碳水化合物的微生物分解是一个厌氧过程,称为发酵。现阶段有研究表明,膳食中的多糖,包括淀粉和非淀粉多糖(膳食纤维),在人体小肠中无法消化,可能会由生活在盲肠和结肠中的厌氧菌发酵,产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)作为其主要的最终产物,可以为肠道微生物的生长和维持肠道细胞功能提供能量,对人体多个器官和代谢产生较大的影响,对人类健康至关重要。饮食对肠道微生物群的组成和短链脂肪酸的浓度也有着深远的影响。近年大量研究发现,SCFAs具有维持水电解质平衡、调节肠道菌群平衡、改善肠道功能、抗炎、抗肿瘤和调控基因表达等重要作用。

1 SCFAs概述

1.1 SCFAs的来源和组成 SCFAs又称挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFA),是由1-6个碳原子组成的有机脂肪酸,是肠道菌群的重要产物之一,主要是由胃消化吸

收的食物残渣中的碳水化合物(膳食纤维、抗性淀粉、低聚糖等)经结肠内厌氧菌酵解产生,少量来自于蛋白质(膳食蛋白和内源性蛋白)降解和氨基酸发酵(表1^[1]),主要包括乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐等。

SCFAs的主要产生部位在结肠,其在结肠内的浓度为(20-140) mmol/L[其中远端结肠的浓度约为(20-70) mmol/L,近端结肠的浓度约为(70-140) mmol/L]^[2]。SCFAs的浓度取决于肠道微生物组成、肠道传递时间、SCFAs的宿主-微生物代谢通量和宿主饲料中的纤维含量^[3],在近端结肠和盲肠中SCFAs的浓度最高。在一项为期4 wk的人类干预研究中,每天补充抗性淀粉30 g,餐后全身乙酸盐和丙酸盐浓度分别增加到280 μmol/L和13 μmol/L^[4]。人体内肠道菌群主要分为四大类:厚壁菌门(Firmicutes,占肠道菌群总量的60%)、拟杆菌门(Bacteroidetes,占肠道菌群总量的20%)、变形菌门(Proteobacteria,占肠道菌群总量的5%-10%)和放线菌门(Actinobacteria,占肠道菌群总量的3%),其中Firmicutes和Bacteroidetes是产生SCFAs的两门优势菌^[5],在结肠中,乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐的含量约占SCFAs总量的90%左右^[3],且三者比例固定,约为60:20:20^[6]。细菌连续的代谢活动导致结肠内仅存在极微量的氧,进而形成一个适合厌氧微生物繁衍的环境。复杂的碳水化合物经过连续水解成简单的糖,并受到菌群进一步代谢,最终成为多种发酵产物,如SCFAs、甲烷、氢、二氧化碳及其他有机酸等。

1.2 SCFAs的合成和分布 SCFAs可由肠道菌群通过不同的代谢途径产生。在结肠中普遍存在的厌氧条件下,碳水化合物将优先在近端结肠中被微生物水解成单糖,然后通过Embden Meyerof途径发酵成磷酸烯醇丙酮酸,然后将磷酸烯醇丙酮酸中间体通过不同的反应生成SCFAs^[7]。乙酸盐可由大量的肠道厌氧菌通过乙酰辅酶A,或通过Wood-Ljungdahl途径生成;丙酸可以通过琥珀酸、丙烯酸酯或丙二醇途径产生;丁酸通常是由两个乙酰辅酶A分子通过丁酸激酶或丁基辅酶A:乙酸辅酶A转移酶缩合而成;乙酸盐与其他SCFAs相比,一般在结肠中达到最高水平^[7]。

在盲肠、升结肠或横结肠吸收的SCFAs进入肠系膜上静脉,在降结肠和乙状结肠吸收的SCFAs进入肠系膜下静脉,后进入门静脉和肝脏;在乙状结肠和直肠吸收的SCFAs也可以通过盆腔丛绕过肝脏,流入下腔静脉,从而直接进入体循环^[8]。

1.3 影响SCFAs生成的因素 影响SCFAs生成的因素主要包括:肠道微生物种类和数量、底物的来源、底物利用率、肠道内pH环境、在肠道内转运时间长短、肠道气体的产生、宿主自身因素等。不同微生物作用产生的SCFAs的数量和类型均不相同。微生物的生长需要一定

表 1 结肠中某些氨基酸发酵厌氧菌的机制和有机酸产物

细菌/ $\log_{10} \cdot g^{-1}$ 干重粪便	氨基酸基质	生成的有机酸
梭菌(9.8)	谷氨酸、赖氨酸、甘氨酸、缬氨酸、苏氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸	乙酸、丁酸、甲酸、异丁酸、2-甲基丁酸、异戊酸、苯乙酸、羟基-苯乙酸、羟基-苯丙酸、吲哚乙酸、吲哚丙酸
迟缓真杆菌(9.3)	精氨酸、瓜氨酸	乙酸、乳酸、琥珀酸
梭杆菌(8.4)	谷氨酸、赖氨酸	乙酸、丁酸
氨基酸球菌(8.5)	谷氨酸	乙酸、丁酸
消化链球菌(10)	谷氨酸	乙酸、丁酸
产黑素普雷沃氏菌(9.6)	谷氨酸	乙酸、丁酸

表 2 肠道内主要细菌数量及代谢产物

菌属	粪便中平均菌数 $\log_{10}$ (CFU/g)	主要发酵产物
拟杆菌属	11.3	乙酸、丁酸、琥珀酸
双歧杆菌属	10.2	乙酸、乳酸、甲酸
真杆菌属	10.7	乙酸、丁酸、乳酸
瘤胃球菌属	10.2	乙酸
消化链球菌属	10.1	乙酸、乳酸
梭菌属	9.8	乙酸、丙酸、丁酸、乳酸
乳杆菌属	9.6	乳酸
链球菌属	8.3	乙酸、乳酸

的温度、pH环境: 在肠道内, 不同微生物适宜生长的pH环境不同, 进而影响SCFAs产生, 而肠道pH会随着SCFAs的产生而变化; 宿主体温升降与否影响着微生物的生长与繁殖, 最终影响微生物发酵的终产物, 温度还可影响微生物合成的方向^[9]. 实验研究表明^[10,11], 碳水化合物底物的不同, 发酵产生的SCFAs比例和生理作用也不同. 肠道中各种气体在发酵过程中会产生各种化学反应, 进而影响SCFAs的生成^[12,13].

2 SCFAs的种类及作用

微生物发酵后产生的SCFAs参与人体内不同器官的代谢并发挥各自的功效. 发酵基质的数量、种类、降解速率、降解程度以及肠道菌群和宿主生理状态等因素都会影响SCFAs的种类和数量. 结肠细菌的种类或培养条件, 对SCFAs的类型数量有很大的影响(表2)^[14].

2.1 乙酸 在机体内, 乙酸盐是结肠内多数厌氧菌发酵小肠未消化吸收的碳水化合物产生的主要代谢产物, 也是胆固醇合成的主要底物, 可提供人体日总能量的10%, 是细菌为宿主提供能量的主要来源^[14]. 除未消化吸收的碳水化合物, 乙酸盐也是结肠内蛋白质降解和氨基酸发酵后的主要产物. 在肠道厌氧菌作用下, 谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、脯氨酸、甘氨酸和

丝氨酸都可以通过氨基酸脱氨基作用生成乙酸盐^[15]. 乙酸盐通过门静脉进入肝脏, 在肝脏中的代谢较少, 故而小部分留在肝脏, 大部分系统地释放到体循环中, 随血液运输到各个组织^[8,16], 与丙酸(1-13) $\mu\text{mol/L}$ 和丁酸(1-12) $\mu\text{mol/L}$ 相比, 乙酸盐在肝脏中吸收最多, 并达到最高的外周浓度(19-160) $\mu\text{mol/L}$ ^[8].

2.2 丙酸 丙酸盐经结肠吸收后, 通过门静脉进入肝脏, 随后由肝细胞代谢, 参与丙酮酸逆转化为葡萄糖的过程. 肝脏是胆固醇体内合成的主要场所, HMG-CoA还原酶是肝细胞合成胆固醇过程中的限速酶, 催化生成甲羟戊酸, 抑制HMG-CoA还原酶能阻碍胆固醇合成^[17]. 屠友金等^[18]将丙酸钠添加到肥育猪饲料中, 研究其胆固醇代谢, 结果显示, 丙酸盐的添加能够降低血清中胆固醇的含量, 同时还能显著降低肝脏中HMG-CoA还原酶的活性.

2.3 丁酸 丁酸盐能被结肠上皮细胞吸收利用, 是肠道主要能源, 多存在于结肠和盲肠中, 为分离的结肠细胞提供约60%-70%的能量需求^[8]. 丁酸盐还能维持结肠黏膜的完整性、调节基因表达、抑制肿瘤细胞的增殖分化、维持肠道内环境稳定, 对结肠炎和结肠癌起到预防作用. 韩蕊蕊^[19]通过检测HT-29及Caco-2细胞株中丁酸钠对miR-203和NEDD9表达水平的影响, 得出丁酸盐可通过miR-203/NEDD9通路抑制直肠癌细胞增殖, 诱导细胞

凋亡, 抑制细胞侵袭作用。

3 SCFAs在肠道中的转运和作用机制

3.1 在肠道中的转运 SCFAs主要依靠单羧酸转运蛋白1(monocarboxylate transporter 1, MCT1)和钠偶联的单羧酸转运蛋白1(sodium-coupled monocarboxylate transporter 1, SMCT1)在肠道中进行转运。MCT1是一种H⁺偶联的低亲和力转运蛋白, 在结肠基底外侧膜和结肠上皮顶膜中表达, 发生电性的SCFA-H⁺共转运^[13], 也能以质子相互依赖的方式转运乳酸和丙酮酸^[7], SMCT1是一种Na⁺偶联的高亲和力转运蛋白, 仅在结肠上皮顶膜表达, 发生电性的SCFA-2Na⁺的共转运^[13], SMCT1优先转运丁酸盐, 并以较慢的速度运输丙酸盐和乙酸盐^[20], 转运后, SCFAs可自由地从结肠上皮细胞流入管腔或从管腔流入细胞^[13]。

3.2 作用机制 SCFAs主要通过以下两种机制调节肠道功能: 抑制组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)来调节基因表达, 结合SCFAs受体来影响肠道功能。在结肠中, SCFAs受体主要包括G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPRs)41、GPR42、GPR43、GPR109A、GPR164等。GPR41主要由丙酸激活, 其次是丁酸和乙酸; GPR43被乙酸、丙酸、丁酸以相似的速率激活; 在肠道上皮细胞、脂肪细胞和免疫细胞中表达的GPR109A被发现对丁酸有反应^[8]。GPR41和GPR43识别乙酸盐、丁酸盐和丙酸盐的亲合力在物种间存在差异, 而只有丁酸盐激活GPR109A, 丙酸盐和丁酸盐激活GPR41和丁酸激活GPR109A会抑制环磷酸腺苷的积累以及蛋白激酶A和丝裂原活化蛋白激酶的激活^[20]。SCFAs抑制HDAC, 一方面促进巨噬细胞(Macrophages, mo)等细胞的分泌, Toll样受体(toll-like receptor, TLR)4等受体的表达、白介素(interleukin, IL)-10等抗炎因子的释放^[13]; 另一方面抑制核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-8等细胞因子的表达^[13]。

4 底物对SCFAs产生的影响

人类肠道微生物群在食物的直接摄入中起着重要作用, 同时在哺乳动物的营养系统中也起着重要作用。大多数食物的吸收和消化发生在胃肠道, 肠道微生物群的组成部分共生菌在其中发挥着非常重要的作用, 其在蛋白质、脂质和更重要的碳水化合物代谢中也发挥着作用。这些共生菌将碳水化合物(主要是宿主不易消化的碳水化合物, 如非淀粉多糖、抗性淀粉、低聚糖等)发酵成CO₂、H₂和CH₄, 以及主要是乙酸、丙酸和丁酸的SCFAs。在肠道中产生的大多数SCFAs随后被宿主吸收, 并为其提供能量。

由于大肠近端碳源尤其是易消化的碳水化合物消耗快, 当残留物向肠道远端移动时, 细菌对底物利用率逐渐减少^[21](SCFAs在直肠和近端结肠的浓度最高, 在远端结肠的浓度下降)。大量实验研究表明, 碳水化合物底物的不同, 酵解产生的SCFAs的总量和比例不同, 对肠道的生理作用也不同。秦雪梅等^[10]通过体外培养, 分析低聚果糖、低聚半乳糖和聚葡萄糖对婴儿肠道菌群的益生作用, 通过测定不同时间代谢产物的pH来判断低聚糖和水溶性膳食纤维的抗发酵能力和被降解速率, 分析代谢产物中SCFAs含量, 发现3种碳源的SCFAs总量和比例各不相同, SCFAs含量都有所增加, 其中聚葡萄糖组的丁酸盐含量很少。姚圣蜜等^[11]通过对受试者进行氢呼气试验, 分析不同底物发酵后的气体和SCFAs变化情况, 分别以底物低聚果糖、低聚半乳糖、木糖醇进行体内发酵2 h, 测得各底物血浆总SCFAs的含量和比例各不相同, 其中摄入木糖醇后2 h的丁酸浓度较基础浓度升高。

4.1 非淀粉多糖 非淀粉多糖(non-starch polysaccharides, NSP)是由若干个单糖通过糖苷键连接而成的多聚体, 包括纤维素、果胶、半纤维素、树胶、β-葡聚糖、果聚糖以及半乳糖等, 是大多膳食纤维的主要组成部分, 主要存在于谷物的皮壳、蔬菜和水果中。不同碳水化合物会影响肠道中不同菌群的发酵能力, 故而不同的多糖发酵可以产生不同总量和比例的SCFAs。王金全等^[22]通过试验发现在肉仔鸡日粮中添加小麦NSP作为微生物发酵底物对肉仔鸡肠道微生物, 特别是厌氧菌微生物产生了增殖效应, 但却抑制了其他微生物的生长, 造成肠道内微生物结构发生改变, 从而改善肠道微生物平衡状态。燕麦β-葡聚糖的添加可使小鼠肠道和粪便中的双歧杆菌和乳酸杆菌增殖^[23]。白俊英^[24]通过研究燕麦β-葡聚糖对肠道菌群代谢的影响, 测定粪便样品中SCFAs含量, 得出补充β-葡聚糖能显著逆转因葡聚糖硫酸钠处理导致的小鼠肠道中乙酸、丙酸和丁酸含量的降低, 进而缓解葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎症。易中华等^[25]以玉米、小麦、豆粕、小麦麸等的NSP提取物进行体外发酵试验, 试验得出以上NSP提取物均在不同程度上提高了SCFAs的产量(尤其是乙酸, 随着发酵时间增加丁酸比例也逐渐增加)以及产生速率。

4.2 抗性淀粉 抗性淀粉(resistant starch, RS)被定义为淀粉中不被小肠降解和吸收, 并到达大肠用作发酵底物的部分, 又称抗酶解淀粉及难消化淀粉, 可被结肠的菌群酵解为SCFAs, 主要存在于谷类、豆类及香蕉等水果中, 特别是高直链淀粉的玉米淀粉含抗性淀粉高达60%。利用人类粪便接种物进行体外发酵研究的数据表明, 淀粉发酵有利于SCFAs的产生, 可能有利于宿主的生长。

增加SCFAs的产量, 特别是丁酸, 通常对人体健康有益。SCFAs可以降低结肠中的pH值, 从而防止致病菌的过度生长^[26]。张铁涛等^[27]模拟大肠的微生物环境, 以健康成人和婴儿新鲜粪便提取物对青香蕉抗性淀粉进行发酵, 随着发酵时间的延长, 发酵产物中SCFAs的总量及丁酸含量逐渐增加(丁酸含量增加显著), 且婴儿新鲜粪便提取物发酵产生的SCFAs总量明显高于同等条件下成人新鲜粪便提取物的发酵产物, 进一步验证了抗性淀粉在肠道内的发酵特性。He等^[26]采用体外发酵系统, 通过添加不同水平的玉米抗性淀粉, 研究玉米抗性淀粉对猪大肠蛋白发酵特性的影响。研究结果表明, 玉米抗性淀粉的加入提高了产气量和SCFAs的浓度, 降低了盲肠和结肠的pH值(SCFAs浓度的增加是pH降低的主要原因)。添加玉米抗性淀粉可促进体外发酵, 增强体外发酵的效果, 在盲肠和结肠培养12 h和24 h时, 总短链脂肪酸、乙酸、丙酸和丁酸浓度均有所增加, 因此, 添加玉米抗性淀粉可改变发酵模式, 有利于营养物质的消化。

4.3 低聚糖 又称寡糖, 由2-10个单糖通过糖苷键连接形成, 包括果寡糖、低聚乳糖、异麦芽糖、乳果糖、大豆寡糖、龙胆寡糖等, 分为普通型和功能型低聚糖。普通型低聚糖能够被机体消化吸收, 而功能型低聚糖由于在机体内缺乏对应的水解酶而不能被消化吸收, 最终被肠道厌氧菌发酵进而产生短链脂肪酸。母乳喂养的婴儿产乙酸盐占96%左右, 接近于总SCFAs, 几乎不产丁酸盐, 故而和母乳喂养状态最接近的被认为益生作用最好, 秦雪梅^[28]通过实验研究表明, 小鼠服用低聚果糖后, 肠道内有益菌双歧杆菌、乳酸菌明显增加, 且低聚糖组代谢产物的乙酸盐含量较高, 丁酸盐含量较少, 与母乳喂养接近, 进一步验证低聚糖对婴儿的益生作用。李艳莉^[29]通过体外发酵实验表明, 灌胃低聚糖溶液后小鼠回肠中乳酸盐和乙酸盐含量均有所增加, 故而低聚糖的添加能促进肠道菌群酵解代谢, 且培养基中低聚果糖或低聚半乳糖的添加较未添加的培养基对婴儿肠道益生菌的生长繁殖效果更好。

5 SCFAs吸收及代谢

SCFAs生成后大部分被结肠细胞迅速且几乎完全吸收, 或通过门静脉进入肝脏, 或进入体循环, 只有一小部分(约5%-10%)通过粪便排出。正常生理状况下, SCFAs大多数以阴离子(SCFA⁻)形式存在于肠腔内, 吸收需要肠腔内的阳离子, 机体对SCFAs的吸收主要有分子弥散性吸收和离子转运吸收2种^[30], 故而SCFAs在肠内吸收的主要途径为: (1)分子弥散性形式吸收: 在近端结肠通过Na⁺/H⁺交换, 把细胞内的H⁺泵到肠腔, 同时刺激肠腔中Na⁺的吸收; 在远端结肠与K⁺-H⁺交换耦联。丁酸可通过向肠道

上皮细胞供能以增加细胞内CO₂的量, 再经碳酸酐酶作用进而产生H⁺, 以促进Na⁺/H⁺交换的进行^[30,31]; (2)离子转运吸收: 主要以SCFA⁻/HCO₃⁻交换为主^[30]。三种不同的SCFAs在结肠不同节段吸收率不同, 乙酸在盲肠与近端结肠吸收最高, 丁酸在远端结肠吸收最高。

SCFAs在不同的位置被吸收然后被机体利用, 三种SCFAs在体内代谢途径不同: (1)乙酸主要在肌肉、肝脏、心脏、脑内代谢; 少量的乙酸被肌肉细胞利用以供能, 50%-70%的乙酸被肝脏吸收利用; (2)丙酸主要被肝脏吸收, 参与糖异生作用, 能够抑制胆固醇的合成; 肝细胞利用丙酸和丁酸合成糖类物质; (3)丁酸利用率最高, 主要参与糖异生、酮体生成及三酰甘油合成等, 间接影响糖类和脂类的代谢; 盲肠和结肠上皮细胞利用丁酸提供能量^[9,14]。

6 SCFAs在肠道中发挥的生理功能及其作用机制

近年大量研究发现, SCFAs对肠道不仅具有氧化功能作用, 还具有维持水电解质平衡、调节肠道菌群平衡、改善肠道功能、抗炎、抗肿瘤和调控基因表达等重要作用。

6.1 维持水电解质平衡(促进肠道电解质平衡和对水的吸收) 水和电解质平衡主要指机体每日摄取和排出的水量以及钠量(细胞外液主要的电解质)是否保持平衡和如何保持平衡。SCFAs都属于弱酸, 在消化道pH正常的情况下, 发酵产生的95%以上的SCFAs主要以离子(SCFA⁻)形式存在于肠道环境中。机体对SCFAs的吸收主要有分子弥散性吸收和离子转运吸收2种, 因乙酸和丙酸具有水溶性, 故认为乙酸和丙酸大多以离子交换吸收为主。而丁酸具有水溶性和脂溶性, 认为丁酸以离子交换吸收多, 但以分子弥散性吸收为首选^[30]。SCFAs对水和钠吸收有着重要作用, 其中丁酸在肠道中主要以HSCFA形式吸收, 而SCFAs以分子弥散性形式吸收时, 需要通过Na⁺/H⁺交换, 把细胞内的H⁺泵到肠腔, 同时刺激肠腔中Na⁺的吸收。同时丁酸可通过向肠道上皮细胞供能来增加细胞内CO₂的量, 再经碳酸酐酶作用进而产生H⁺, 以促进Na⁺/H⁺交换的进行; 由于离子状态的SCFAs吸收主要以SCFA⁻/HCO₃⁻交换为主, 故而与丁酸相比, 乙酸和丙酸促进水钠吸收的作用就稍弱些^[30]。综上, SCFAs两种形式的吸收促进了HCO₃⁻的分泌和Na⁺、水的吸收, 对维持肠道水电解质平衡起着重要作用。

Rabbani等^[32]通过为家兔灌注SCFAs后观察到, SCFAs能显著减少家兔结肠中水分的分泌, 其中丁酸对家兔结肠中水分分泌量的减少最显著, 其次是丙酸、乙酸。该实验结果表明, 丁酸能显著减少家兔体内Na⁺、K⁺和Cl⁻的分泌; 丙酸可减少家兔体内HCO₃⁻的分泌; 乙酸能

显著抑制 Na^+ 和 Cl^- 的分泌,但其抑制 K^+ 、 HCO_3^- 分泌的程度与对照组无差异。故而SCFAs能减少由霍乱毒素诱导的家兔近端结肠中水和电解质的分泌,进而有利于维持家兔机体中水电解质的平衡。

6.2 调节肠道微生态平衡(调节肠道内的pH值) 在肠道内,大肠杆菌、葡萄球菌、沙门菌等致病菌或条件致病菌适宜生长的pH环境为6.0-7.0,当处于pH环境低于4.0时基本失活,而乳酸菌等益生菌最适宜生长的pH环境为3.0-4.5; SCFAs主要以阴离子(SCFA $^-$)的形式存在于肠道环境中,当肠道内SCFAs浓度升高时,可释放出 H^+ 降低肠道酸碱度,进而降低肠道内的pH值,从而促进肠道内益生菌的生长增殖,抑制大肠杆菌、链球菌、沙门菌等致病菌或条件致病菌的生长^[33,34]。在肠道pH环境下,质子化形式的SCFAs可通过扩散作用进入病原微生物细胞内解离出 H^+ ,使膜内外pH差值缩小,从而影响细菌细胞的正常生理活动^[34]。综上,SCFAs可以在一定程度上降低肠道pH(主要是通过释放 H^+),进而抑制病原微生物的活力来促进肠道微生态平衡。

盲襻综合征是指小肠襻的内容物淤滞,且因SCFAs含量升高,肠道内pH值下降,酸性环境下耐酸菌种(如乳酸杆菌)大量繁殖,产生D、L-乳酸(D、L-乳酸被吸收入血,导致体内D、L-乳酸浓度明显升高),致使肠道环境发生改变,从而造成的吸收不良综合征^[35]。谭力等^[35]通过建立盲襻综合征大鼠模型进行实验得知,实验组血浆D、L-乳酸和SCFAs水平随着时间的延长而显著上升,且在第4周使显著高于对照组,肠液菌落4周后达到 $1.1 \times 10^9/\text{mL}$,能较好地反映肠液菌群的增殖程度,以达到调节肠道正常菌群平衡的目的。

6.3 改善肠道功能(保护肠道黏膜屏障) 王艳梅等^[36]通过实验研究表明,老龄小鼠的肠内容物SCFAs水平及反映肠黏膜细胞正常功能的钠葡萄糖共转运载体-1表达水平明显低于成年小鼠,而血浆内毒素和D-乳酸水平明显高于成年小鼠,内毒素和D-乳酸易位入血增加,说明肠屏障功能出现障碍,其机制与肠道内低水平SCFAs降低肠黏膜细胞的正常功能有关。完全胃肠外营养是临床营养支持的重要手段,但该手段对肠黏膜有直接的抑制作用,且导致肠功能下降,丁亚萍等^[37]通过建立完全胃肠外营养和结肠吻合的大鼠模型,研究表明化疗组结肠黏膜细胞增殖期百分比以及增殖指数均显著低于对照组和SCFAs组,从而得出添加SCFAs的完全胃肠外营养能促进术后化疗大鼠结肠黏膜细胞的增殖。也有实验研究证实,低浓度的SCFAs对维持肠黏膜屏障的完整性有益,但高浓度的SCFAs却能通过破坏肠黏膜屏障从而导致胃肠道损伤^[38]。

6.4 抗炎作用(对肠道炎症的抑制作用) 内皮细胞活化

是炎症反应的一个重要特征,内皮细胞的活化会促使免疫细胞黏附分子(E-选择素、细胞间黏附分子-1,和血管细胞黏附分子-1等)基因的表达,从而导致白细胞黏附血管内皮,向组织中转移,进而扩大炎症反应。近年来研究表明,SCFAs可通过促进组蛋白乙酰化或激活GPRs^[39]、激活过氧化物酶体增殖物激活受体^[40]、抑制NF- κ B信号通路^[41]、促进T细胞凋亡^[42]、促进抗菌肽的产生^[43]以及信号传导及转录活化因子-3表达下调^[44]来抑制炎症因子的表达或缓解炎症^[45]。

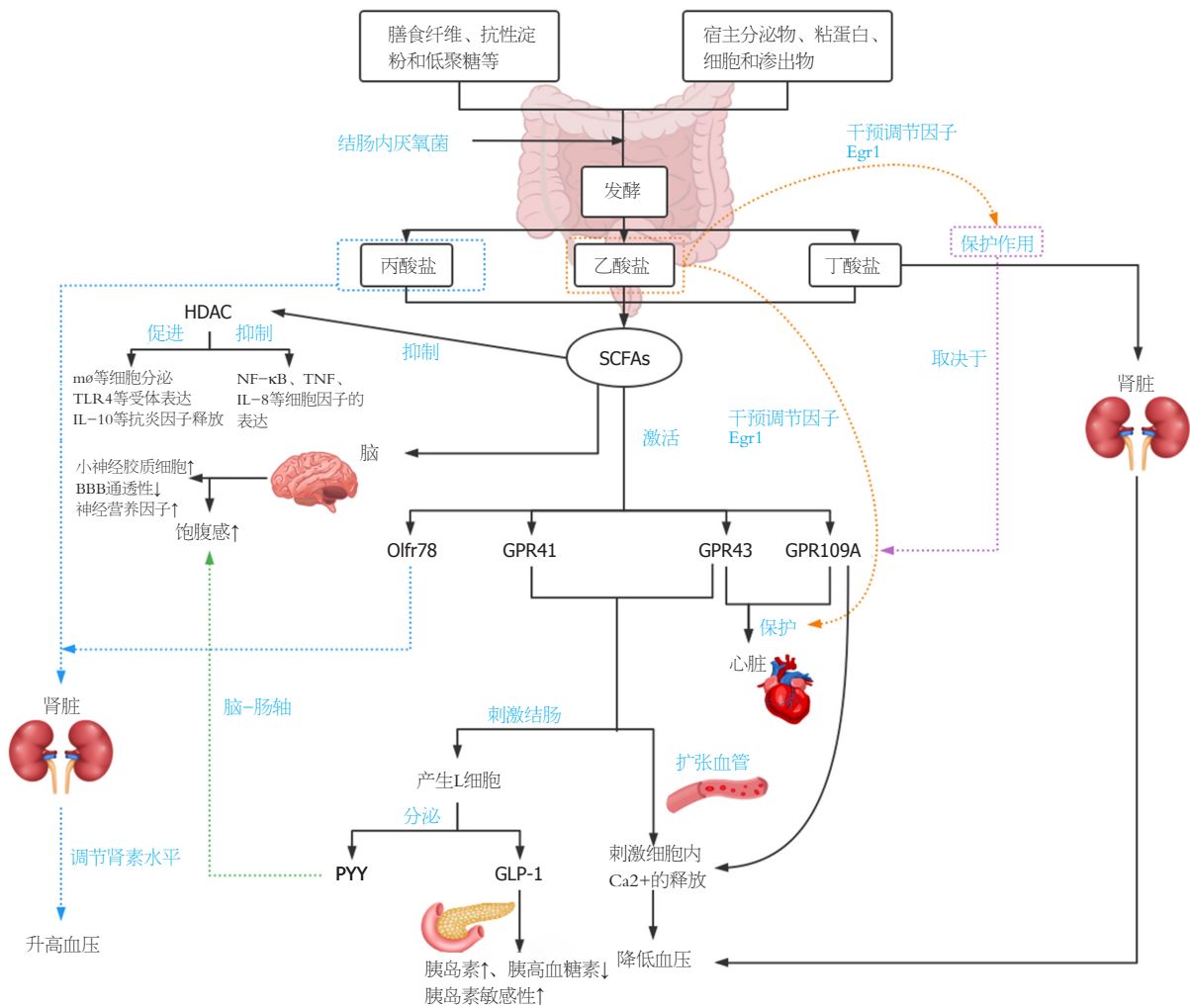
6.5 抗肿瘤作用(对癌细胞的抑制作用) 傅红等^[46]以人高分化结肠癌Caco-2为模型,分析SCFAs对人结肠癌细胞增殖、分化与转移的影响,结果表明3种SCFAs均显著延长肿瘤细胞倍增时间,增强癌细胞分化标志物组蛋白酶的表达,并明显抑制癌细胞的转移,从而得出:SCFAs通过抑制癌细胞的增殖、分化和转移而起到抗肿瘤的作用。Kobayashi等^[47]研究发现,丙酸盐和铂化合物协同作用,能通过激活GPR41信号通路减少HDAC,增加自分泌TNF- α 的表达,从而显著诱导肝癌细胞凋亡。Hague等^[48]研究发现,生理浓度下,乙酸、丙酸、丁酸均能诱导细胞凋亡,抑制结直肠癌肿瘤细胞的生长增殖,其中丁酸诱导的效果最好;实验中发现4株癌细胞株中有2株对丁酸诱导的细胞凋亡具有较强的耐药性,说明有一些癌细胞可能进化出了保护细胞不受丁酸诱导凋亡的机制。

6.6 调控基因表达 SCFAs对宿主的代谢、分化、增殖有广泛的影响,主要是由于其对基因调控的影响。SCFAs可通过抑制HDAC直接影响基因的转录和表达。研究表明^[49-51],丁酸盐调节了5%-20%的人类基因的表达。在细胞内,丁酸盐和丙酸盐对赖氨酸和HDAC活性具有很强的抑制能力,其中丁酸盐比丙酸盐更强^[52,53]。此外,丁酸盐被代谢为乙酰辅酶A,乙酰辅酶A通过进一步增强组蛋白乙酰化来刺激组蛋白乙酰转移酶。

丁酸盐调节许多转运蛋白的表达,包括MCT1和SMCT1,因此可能会增加电解质交换和自身的转运。丁酸通过抑制Na-K-2Cl共转运蛋白的表达来阻断 Cl^- 的分泌,并通过HDAC的抑制和一种特异性蛋白依赖途径来增加 Na^+/H^+ 转运蛋白NHE3的表达^[20]。

7 SCFAs对机体各器官的影响

GPR41与GPR43作为SCFAs受体被激活后可促进细胞内 Ca^{2+} 释放,进而降低血压^[54]。丁酸盐通过保留肾小球基底膜足细胞和减轻肾小球硬化和组织炎症改善蛋白尿。GPR109A在足细胞中表达,通过小鼠实验表明丁酸酯的保护作用取决于GPR109A的表达,GPR109A的激活最终导致 Ca^{2+} 通量进入细胞质,增加细胞内 Ca^{2+} 水平, Ca^{2+} 平衡的调节对于维持足细胞功能和细胞骨架组织至关重要。



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.562 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 1 SCFAs对机体各器官的影响. SCFAs: 短链脂肪酸; HDAC: 组蛋白去乙酰化酶; Egr1: 早期生长反应蛋白1; TLR4: Toll样受体4; mG: 巨噬细胞; IL-10: 白介素-10; NF- κ B: 核因子- κ B; TNF: 肿瘤坏死因子; IL-8: 白介素-8; BBB: 血脑屏障; Olfr78: 嗅觉受体78; GPR41: G蛋白偶联受体41; GPR43: G蛋白偶联受体43; GPR109A: G蛋白偶联受体109A; PYY: 酪酪肽; GLP-1: 胰高血糖素样肽-1.

要, 同时也可降低血压^[55]. 丁酸盐和GPR109A在肾脏疾病的发病机制中发挥作用, 并为饮食、肠道菌群和肾脏疾病之间提供重要的分子连接之一. 低纤维西化饮食的不利影响可能通过SCFAs不足和GPR43/GPR109A信号通路导致高血压, 故而保持一个健康的、产生SCFAs的微生物群对心血管健康很重要. 将SCFAs引入纤维耗尽的小鼠对高血压、心肌肥厚和纤维化的发展有保护作用, SCFAs的心脏保护作用通过同源SCFA受体GPR43/GPR109A介导^[56]. Pluznick等^[57]通过研究发现两个感觉受体: 嗅觉受体78(olfactory receptor 78, Olfr78)和GPR41, 是新型的血压调节器. Olfr78和GPR41均为SCFAs的受体, 研究发现丙酸以Olfr78依赖的方式修饰肾素释放, 并通过Olfr78和GPR41调节外周阻力(血管张力), 从而影响血压, 其中GPR41有助于丙酸的降压作用, 相反, Olfr78拮抗丙酸的降压作用, 即升高血压^[57]. 早期生长反应蛋白1(early growth response protein 1, Egr1)是参与心肌肥

厚、心肾纤维化和炎症的主要心血管调节因子, 高纤维和乙酸盐对心肾的保护作用伴随着心脏和肾脏调节因子Egr1的下调^[58]. SCFAs能够激活GPR41和GPR43, 刺激结肠内分泌胰高血糖素样肽-1(glucagonlike peptide-1, GLP-1)和酪酪肽(peptide tyrosine tyrosine, PYY)等肠道激素. GLP-1可以促进机体分泌胰岛素, 降低胰高血糖素的分泌并增强机体对胰岛素的敏感性; PYY可以调节肠道运动减缓胃排空, 产生饱腹感, 减少机体摄入食物^[59]. SCFAs可通过调控小胶质细胞、影响神经递质和神经营养因子浓度、影响神经屏障(blood brain barrier, BBB)的结构完整性和功能的正常发挥以及HDCA对机体脑卒中中进行保护^[60](图1).

8 结论

SCFAs作为肠道厌氧菌发酵未消化碳水化合物的主要产物, 是肠道菌群的重要代谢产物之一, 对机体肠道具有

维持水电解质平衡、调节肠道菌群平衡、改善肠道功能、抗炎、抗肿瘤、调节免疫和调控基因表达等重要作用, 对高血压、炎症性肠病、肠易激综合征、结肠癌和非酒精性脂肪性肝病等疾病有着一定的治疗作用。

肠道健康受微生物群落组成和饮食成分的细菌代谢最终产物的影响, 故调整并改善日常膳食结构进而调节肠道内SCFAs的产生, 可维持肠道内环境稳定, 使肠道微生态系统处于良好状态, 维持机体的健康。通过继续进一步深入探究肠道SCFAs相关底物、作用机制及代谢机制, 对今后开展相关研究具有一定指导意义, 也可为临床治疗相关疾病提供研究方向。

9 参考文献

- 陈燕, 曹郁生, 刘晓华. 短链脂肪酸与肠道菌群. 江西科学 2006; 1: 38-40+69 [DOI: 10.13990/j.issn1001-3679.2006.01.010]
- Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 1987; 28: 1221-1227 [PMID: 3678950 DOI: 10.1136/gut.28.10.1221]
- Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol* 2016; 16: 341-352 [PMID: 27231050 DOI: 10.1038/nri.2016.42]
- Robertson MD, Bickerton AS, Dennis AL, Vidal H, Frayn KN. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 559-567 [PMID: 16155268 DOI: 10.1093/ajcn.82.3.559]
- 费嘉, 罗军涛, 章小英, 于晓巍, 叶建平. 短链脂肪酸在肠道菌群调节人体能量代谢中的作用. 中华糖尿病杂志 2018; 10: 370-373
- Garcia A, Olmo B, Lopez-Gonzalez A, Cornejo L, Ruperez FJ, Barbas C. Capillary electrophoresis for short chain organic acids in faeces Reference values in a Mediterranean elderly population. *J Pharm Biomed Anal* 2008; 46: 356-361 [PMID: 18055154 DOI: 10.1016/j.jpba.2007.10.026]
- Blaak EE, Canfora EE, Theis S, Frost G, Groen AK, Mithieux G, Nauta A, Scott K, Stahl B, van Harselaar J, van Tol R, Vaughan EE, Verbeke K. Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Benef Microbes* 2020; 11: 411-455 [PMID: 32865024 DOI: 10.3920/BM2020.0057]
- Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11: 577-591 [PMID: 26260141 DOI: 10.1038/nrendo.2015.128]
- 任傲, 童勤, 张彬. 短链脂肪酸的生成及其吸收机制. 广东饲料 2015; 24: 28-29
- 秦雪梅, 刘静, 霍贵成. 低聚糖与水溶性膳食纤维对婴儿肠道菌群益生作用研究. 食品科技 2011; 36: 96-100 [DOI: 10.13684/j.cnki.spkj.2011.06.038]
- 姚圣蜜. FODMAPs在健康人群体内发酵的对比研究. 浙江大学 2017
- Zheng L, Kelly CJ, Battista KD, Schaefer R, Lanis JM, Alexeev EE, Wang RX, Onyiah JC, Kominsky DJ, Colgan SP. Microbial-Derived Butyrate Promotes Epithelial Barrier Function through IL-10 Receptor-Dependent Repression of Claudin-2. *J Immunol* 2017; 199: 2976-2984 [PMID: 28893958 DOI: 10.4049/jimmunol.1700105]
- 杭露, 周盐, 孟杨杨, 冯雅, 王殷妹, 袁建业. 短链脂肪酸与肠易激综合征关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29: 1102-1109 [DOI: 10.11569/wjcd.v29.i19.1102]
- 刘松珍, 张雁, 张名位, 孙远明, 魏振承. 肠道短链脂肪酸产生机制及生理功能的研究进展. 广东农业科学 2013; 40: 99-103 [DOI: 10.16768/j.issn.1004-874x.2013.11.025]
- 陈福, 何邵平, 田科雄, 贺建华. 短链脂肪酸的生理功能及其在畜禽生产中的应用. 动物营养学报 2019; 31: 3039-3048
- Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol* 2014; 121: 91-119 [PMID: 24388214 DOI: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9]
- Kikuchi T, Nagata Y, Abe T. In vitro and in vivo antiproliferative effects of simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on human glioma cells. *J Neurooncol* 1997; 34: 233-239 [PMID: 9258815 DOI: 10.1023/a:1005753523949]
- 屠友金, 胡彩虹. 低聚果糖和丙酸钠对肥育猪胆固醇代谢的影响. 中国粮油学报 2005; 20: 65-68
- 韩蕊蕊. 丁酸钠上调miR-203抑制结肠癌细胞增殖. 郑州大学 2017
- Martin-Gallausiaux C, Marinelli L, Blottière HM, Larraufie P, Lapaque N. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proc Nutr Soc* 2021; 80: 37-49 [PMID: 32238208 DOI: 10.1017/S0029665120006916]
- 王子花, 申瑞玲, 李文全. 短链脂肪酸的产生及作用. 畜牧兽医科技信息 2007; 2: 12-13
- 王金全, 蔡辉益, 周岩华, 刘国华, 张妹, 印遇龙. 小麦日粮非淀粉多糖和木聚糖酶对肉仔鸡肠道微生物区系的影响. 畜牧兽医学报 2005; 36: 1014-1020
- 申瑞玲, 王章存, 姚惠源. 燕麦β-葡聚糖对小鼠肠道菌群的影响. 食品科学 2005; 26: 208-212
- 白俊英. 肠道微生物代谢燕麦β-葡聚糖及对小鼠肠道炎症的影响. 江南大学 2021 [DOI: 10.27169/d.cnki.gwqgu.2021.001914]
- 易中华, 朱年华, 黎观红, 宋小珍, 潘珂, 瞿明仁. 鸡饲料中非淀粉多糖体外发酵特性评价的比较研究. 饲料工业 2011; 32: 43-46
- He X, Sun W, Ge T, Mu C, Zhu W. An increase in corn resistant starch decreases protein fermentation and modulates gut microbiota during in vitro cultivation of pig large intestinal inocula. *Anim Nutr* 2017; 3: 219-224 [PMID: 29767145 DOI: 10.1016/j.aninu.2017.06.004]
- 张铁涛, 徐云升, 武天明. 青香蕉抗性淀粉体外发酵特性研究. 农产品加工(学刊) 2011; 2: 11-14
- 秦雪梅. 低聚糖对婴儿肠道消化率的影响研究. 东北农业大学, 2011
- 李艳莉. 低聚糖对婴儿肠道菌群的益生功能. 东北农业大学, 2012
- 赵怀宝, 任玉龙. 短链脂肪酸在动物体内的生理特点和功能. 饲料研究 2016; 3: 29-32 [DOI: 10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2016.03.007]
- 耿珊珊, 蔡东联. 短链脂肪酸对结肠肿瘤细胞增殖分化的影响. 肠外与肠内营养 2005; 12: 295-298
- Rabbani GH, Albert MJ, Rahman H, Chowdhury AK. Short-chain fatty acids inhibit fluid and electrolyte loss induced by cholera toxin in proximal colon of rabbit in vivo. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1547-1553 [PMID: 10492131 DOI: 10.1023/a:1026650624193]
- 何荣香, 唐红艳, 杨玲, 马玉静, 欧阳富龙, 贺建华. 短链脂肪酸在单胃动物肠道中的生理功能及其作用机制的研究进展. 中国畜牧杂志 2020; 56: 1-5 [DOI: 10.19556/j.0258-7033.20191212-03]
- Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, Tobe T, Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K, Kikuchi J, Morita H, Hattori M, Ohno H. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* 2011; 469: 543-547 [PMID: 21270894 DOI: 10.1038/nature09646]
- 谭力, 周济宏, 王羽, 赵小平, 李幼生, 刘放南. 盲襻综合征大鼠D-, L-乳酸和短链脂肪酸的代谢. 肠外与肠内营养 2007; 14: 201-204
- 王艳梅, 韩易, 王红. 老龄小鼠肠短链脂肪酸对肠屏障功能的影响. 上海医学 2008; 31: 352-355
- 丁亚萍, 许勤, 王建华, 沈历宗, 肇毅, 王玲, 吴文溪. 添加短链脂肪酸的TPN对术后化疗大鼠结肠粘膜细胞增殖作用的研究. 实用临床医药杂志 2006; 10: 38-41
- 侯龙龙, 李仲荣. 肠黏膜屏障及短链脂肪酸对其影响的研究进展. 临床小儿外科杂志 2015; 14: 331-334

- 39 Cox MA, Jackson J, Stanton M, Rojas-Triana A, Bober L, Lavery M, Yang X, Zhu F, Liu J, Wang S, Monsma F, Vassileva G, Maguire M, Gustafson E, Bayne M, Chou CC, Lundell D, Jenh CH. Short-chain fatty acids act as antiinflammatory mediators by regulating prostaglandin E(2) and cytokines. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5549-5557 [PMID: 19938193 DOI: 10.3748/wjg.15.5549]
- 40 Kinoshita M, Suzuki Y, Saito Y. Butyrate reduces colonic paracellular permeability by enhancing PPARgamma activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 827-831 [PMID: 12054544 DOI: 10.1016/S0006-291X(02)00294-2]
- 41 Lee C, Kim BG, Kim JH, Chun J, Im JP, Kim JS. Sodium butyrate inhibits the NF-kappa B signaling pathway and histone deacetylation, and attenuates experimental colitis in an IL-10 independent manner. *Int Immunopharmacol* 2017; 51: 47-56 [PMID: 28802151 DOI: 10.1016/j.intimp.2017.07.023]
- 42 Ogawa K, Yasumura S, Atarashi Y, Minemura M, Miyazaki T, Iwamoto M, Higuchi K, Watanabe A. Sodium butyrate enhances Fas-mediated apoptosis of human hepatoma cells. *J Hepatol* 2004; 40: 278-284 [PMID: 14739099 DOI: 10.1016/j.jhep.2003.09.021]
- 43 Xiong H, Guo B, Gan Z, Song D, Lu Z, Yi H, Wu Y, Wang Y, Du H. Butyrate upregulates endogenous host defense peptides to enhance disease resistance in piglets via histone deacetylase inhibition. *Sci Rep* 2016; 6: 27070 [PMID: 27230284 DOI: 10.1038/srep27070]
- 44 Kanauchi O, Serizawa I, Araki Y, Suzuki A, Andoh A, Fujiyama Y, Mitsuyama K, Takaki K, Toyonaga A, Sata M, Bamba T. Germinated barley foodstuff, a prebiotic product, ameliorates inflammation of colitis through modulation of the enteric environment. *J Gastroenterol* 2003; 38: 134-141 [PMID: 12640526 DOI: 10.1007/s005350300022]
- 45 冉舒文, 慕春龙, 朱伟云. 丁酸抑制溃疡性结肠炎分子机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2018; 26: 856-861 [DOI: 10.11569/wcjd.v26.i14.856]
- 46 傅红, 师英强, 莫善航. 短链脂肪酸对人结肠癌Caco-2细胞增殖分化的影响与临床意义. *中华消化杂志* 2003; 23: 21-23
- 47 Kobayashi M, Mikami D, Uwada J, Yazawa T, Kamiyama K, Kimura H, Taniguchi T, Iwano M. A short-chain fatty acid, propionate, enhances the cytotoxic effect of cisplatin by modulating GPR41 signaling pathways in HepG2 cells. *Oncotarget* 2018; 9: 31342-31354 [PMID: 30140374 DOI: 10.18632/oncotarget.25809]
- 48 Hague A, Elder DJ, Hicks DJ, Paraskeva C. Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. *Int J Cancer* 1995; 60: 400-406 [PMID: 7829251 DOI: 10.1002/ijc.2910600322]
- 49 Basson MD, Liu YW, Hanly AM, Emenaker NJ, Shenoy SG, Gould Rothberg BE. Identification and comparative analysis of human colonocyte short-chain fatty acid response genes. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 501-512 [PMID: 11077326 DOI: 10.1016/s1091-255x(00)80093-1]
- 50 Rada-Iglesias A, Enroth S, Ameur A, Koch CM, Clelland GK, Respuela-Alonso P, Wilcox S, Dovey OM, Ellis PD, Langford CF, Dunham I, Komorowski J, Wadelius C. Butyrate mediates decrease of histone acetylation centered on transcription start sites and down-regulation of associated genes. *Genome Res* 2007; 17: 708-719 [PMID: 17567991 DOI: 10.1101/gr.5540007]
- 51 Donohoe DR, Collins LB, Wali A, Bigler R, Sun W, Bultman SJ. The Warburg effect dictates the mechanism of butyrate-mediated histone acetylation and cell proliferation. *Mol Cell* 2012; 48: 612-626 [PMID: 23063526 DOI: 10.1016/j.molcel.2012.08.033]
- 52 Candido EP, Reeves R, Davie JR. Sodium butyrate inhibits histone deacetylation in cultured cells. *Cell* 1978; 14: 105-113 [PMID: 667927 DOI: 10.1016/0092-8674(78)90305-7]
- 53 Sealy L, Chalkley R. The effect of sodium butyrate on histone modification. *Cell* 1978; 14: 115-121 [PMID: 667928 DOI: 10.1016/0092-8674(78)90306-9]
- 54 Le Poul E, Loison C, Struyf S, Springael JY, Lannoy V, Decobecq ME, Brezillon S, Dupriez V, Vassart G, Van Damme J, Parmentier M, Detheux M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *J Biol Chem* 2003; 278: 25481-25489 [PMID: 12711604 DOI: 10.1074/jbc.M301403200]
- 55 Felizardo RJE, de Almeida DC, Pereira RL, Watanabe IKM, Doimo NTS, Ribeiro WR, Cenedeze MA, Hiyane MI, Amano MT, Braga TT, Ferreira CM, Parmigiani RB, Andrade-Oliveira V, Volpini RA, Vinolo MAR, Mariño E, Robert R, Mackay CR, Camara NOS. Gut microbial metabolite butyrate protects against proteinuric kidney disease through epigenetic- and GPR109a-mediated mechanisms. *FASEB J* 2019; 33: 11894-11908 [PMID: 31366236 DOI: 10.1096/fj.201901080R]
- 56 Kaye DM, Shihata WA, Jama HA, Tsyganov K, Ziemann M, Kiriazis H, Horlock D, Vijay A, Giam B, Vinh A, Johnson C, Fiedler A, Donner D, Snelson M, Coughlan MT, Phillips S, Du XJ, El-Osta A, Drummond G, Lambert GW, Spector TD, Valdes AM, Mackay CR, Marques FZ. Deficiency of Prebiotic Fiber and Insufficient Signaling Through Gut Metabolite-Sensing Receptors Leads to Cardiovascular Disease. *Circulation* 2020; 141: 1393-1403 [PMID: 32093510 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043081]
- 57 Pluznick J. A novel SCFA receptor, the microbiota, and blood pressure regulation. *Gut Microbes* 2014; 5: 202-207 [PMID: 24429443 DOI: 10.4161/gmic.27492]
- 58 Marques FZ, Nelson E, Chu PY, Horlock D, Fiedler A, Ziemann M, Tan JK, Kuruppu S, Rajapakse NW, El-Osta A, Mackay CR, Kaye DM. High-Fiber Diet and Acetate Supplementation Change the Gut Microbiota and Prevent the Development of Hypertension and Heart Failure in Hypertensive Mice. *Circulation* 2017; 135: 964-977 [PMID: 27927713 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024545]
- 59 王璐璐, 刘玥宏, 朱继开, 钟煜, 李利生, 徐敬东. 短链脂肪酸在疾病治疗中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 1179-1186 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i13.1179]
- 60 刘环环, 李瑞青, 苏凯奇, 袁洁, 李琪, 冯晓东. 短链脂肪酸对脑卒中的保护作用机制及其与脑卒中后认知障碍关系的研究进展. *中国全科医学* 2022; 25: 380-386

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



lncRNA NNT-AS1调控miR-518a-3p抑制IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制

张晶, 王博, 王红霞, 孔凡铭, 李小江, 贾英杰

张晶, 孔凡铭, 李小江, 贾英杰, 天津中医药大学第一附属医院肿瘤科 天津市 300380

王红霞, 天津中医药大学第一附属医院消化科 天津市 300380

王博, 天津市第三中心医院急诊科 天津市 300380

张晶, 主治医师, 研究方向为中西医结合肿瘤、肿瘤免疫.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81503392.

作者贡献分布: 此课题由张晶、王博、王红霞、孔凡铭、李小江、贾英杰设计; 研究过程张晶、王博、王红霞、孔凡铭、李小江、贾英杰共同操作完成; 研究用试剂及分析工具由张晶、王博、王红霞提供; 数据分析由孔凡铭、李小江、贾英杰完成; 本论文写作由张晶完成.

通讯作者: 张晶, 主治医师, 300380, 天津市西青区昌凌路88号, 天津中医药大学第一附属医院肿瘤科. zhang.jing.1216@163.com

收稿日期: 2022-04-08

修回日期: 2022-04-29

接受日期: 2022-06-21

在线出版日期: 2022-07-08

Long noncoding RNA NNT-AS1 inhibits IL-17-induced proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-518a-3p

Jing Zhang, Bo Wang, Hong-Xia Wang, Fan-Ming Kong, Xiao-Jiang Li, Ying-Jie Jia

Jing Zhang, Fan-Ming Kong, Xiao-Jiang Li, Ying-Jie Jia, Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300380

Hong-Xia Wang, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300380

Bo Wang, Department of Emergency Medicine, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300380

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81503392.

Corresponding author: Jing Zhang, Attending Physician, Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, No. 88 Changling Road, Xiqing District, Tianjin 300380, China. zhang.jing.1216@163.com

Received: 2022-04-08

Revised: 2022-04-29

Accepted: 2022-06-21

Published online: 2022-07-08

Abstract

BACKGROUND

Interleukin 17 (IL-17) is a cytokine secreted in many cell types, which is related to the development of tumor cells. The expression of the long noncoding RNA (lncRNA) nicotinamide nucleotide transhydrogenase antisense RNA1 (NNT-AS1) is up-regulated in gastric cancer tissues. NNT-AS1 may inhibit the proliferation and invasion of gastric cancer cells and arrest cell cycle progression by reducing the expression of miR-363. The regulatory mechanism of NNT-AS1 and IL-17 on gastric cancer cells is still not completely clear.

AIM

To explore the molecular mechanism by which NNT-AS1 inhibits IL-17-induced proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells.

METHODS

IL-17 was used to treat gastric cancer AGS cells, and the cells were divided into Con group, IL-17 group, IL-17 + si-NC group, IL-17 + si-lncRNA NNT-AS1 group, IL-17 + si-lncRNA NNT-AS1 + anti-miR-NC group, and IL-17 + si-lncRNA NNT-AS1 + anti-miR-518a-3p group. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect miR-518a-3p and NNT-AS1 expression. Colony

forming assay and Transwell assay were performed to detect AGS cell proliferation, migration, and invasion. Western blot was used to detect relevant protein expression. Dual luciferase assay was used to detect the relationship of miR-518a-3p and NNT-AS1.

RESULTS

Compared with the Con group, the number of cell colonies, the number of migrating cells, and the number of invasive cells in the IL-17 group increased, the expression of Ki-67, N-cadherin, and MMP2 proteins increased, the expression of E-cadherin protein decreased, the expression of NNT-AS1 increased, and the expression of miR-518a-3p decreased. Down-regulation of NNT-AS1 decreased the number of cell colonies formed, the number of migrating cells, and the number of invasive cells in gastric cancer cells treated with IL-17, decreased the expression of Ki-67, matrix metalloproteinase 2 (MMP2), and N-cadherin proteins, and increased the expression of E-cadherin protein. NNT-AS1 targets and regulates the expression of miR-518a-3p. Inhibition of miR-518a-3p can reverse the effect of down-regulation of NNT-AS1 on IL-17-induced proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells.

CONCLUSION

NNT-AS1 inhibits IL-17-induced gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion possibly by regulating the expression of miR-518a-3p.

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

Key Words: Gastric cancer; Proliferation; Migration; invasion

Citation: Zhang J, Wang B, Wang HX, Kong FM, Li XJ, Jia YJ. Long noncoding RNA NNT-AS1 inhibits IL-17-induced proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-518a-3p. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(13): 571-578
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/571.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.571>

摘要

背景

白细胞介素17(interleukin 17, IL-17)是多细胞分泌因子,与肿瘤细胞发展有关, lncRNA NNT-AS1胃癌组织中lncRNA NNT-AS1表达上调, lncRNA NNT-AS1可能通过降低miR-363的表达抑制胃癌细胞增殖和侵袭,并阻滞细胞周期的发展.关于lncRNA NNT-AS1与IL-17调控作用对胃癌细胞研究尚不明确.

目的

探究长链非编码RNA烟酰胺核苷酸转氢酶反义RNA1(lncRNA NNT-AS1)调控miR-518a-3p抑制IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制.

方法

使用IL-17处理胃癌细胞AGS,将细胞分为对照(Con)组、IL-17组、IL-17+si-NC组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-NC组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-518a-3p组.实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测miR-518a-3p和lncRNA NNT-AS1表达水平;克隆实验、Transwell检测AGS细胞增殖、迁移、侵袭;蛋白印迹法(Western blot)检测增殖、转移蛋白表达;双荧光素酶实验检测miR-518a-3p和lncRNA NNT-AS1关系.

结果

与Con组相比, IL-17组克隆细胞数、迁移细胞数、侵袭细胞数增多, lncRNA NNT-AS1表达水平、细胞核增殖抗原标记物(Ki-67)、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)蛋白表达升高, miR-518a-3p表达水平、上皮钙黏蛋白(E-cadherin)蛋白表达降低.下调lncRNA NNT-AS1降低IL-17处理胃癌细胞克隆细胞数、迁移细胞数、侵袭细胞数,下调Ki-67、N-cadherin、MMP2蛋白表达,上调E-cadherin蛋白表达增加. lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p的表达,抑制miR-518a-3p可以逆转下调NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响.

结论

lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p抑制IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭.

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

关键词: 胃癌; 增殖; 迁移; 侵袭

核心提要: lncRNA NNT-AS1通过调控miR-363抑制胃癌细胞增殖和侵袭,并阻滞细胞周期.关于lncRNA NNT-AS1与白细胞介素17(interleukin 17, IL-17)调控作用对胃癌细胞研究尚不明确.在线生物信息学软件预测miR-518a-3p是NNT-AS1靶基因,在三阴性乳腺癌、结直肠癌中miR-518a-3p表达下调,但是在胃癌中未知.

文献来源: 张晶, 王博, 王红霞, 孔凡铭, 李江, 贾英杰. lncRNA NNT-AS1调控miR-518a-3p抑制IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制. *世界华人消化杂志* 2022; 30(13): 571-578

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/571.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.571>

0 引言

胃癌是常见的恶性消化系统肿瘤,据统计资料显示,2020年全球范围内病死率高达7.7%,而中国高达2.1%,

虽然外科手术、放疗或化疗在治疗胃癌中已经取得了改善,但是胃癌发病机制十分复杂,致使患者5年后生存期限未超过30%^[1,2]。白细胞介素17(interleukin 17, IL-17)是多细胞分泌因子,与肿瘤细胞发展有关^[3],研究显示,胃癌血清中高表达,与患者分化程度、淋巴结转移有关^[4]。lncRNA是一种定义为长度超过200核苷酸的非编码RNA分子的转录本,因为没有完整的开放阅读框,不具备编码蛋白的能力^[5]。lncRNA烟酰胺核苷酸转氢酶-反义RNA1 (NNT-AS1)在癌症中发挥着重要作用,胃癌组织中lncRNA NNT-AS1表达增加, lncRNA NNT-AS1可能通过降低miR-363的表达抑制胃癌细胞增殖和侵袭,并阻滞细胞周期的发展^[6]。然而关于lncRNA NNT-AS1与IL-17调控作用对胃癌细胞研究尚不明确。通过在线生物信息学软件预测显示, miR-518a-3p是NNT-AS1靶基因之一,在三阴性乳腺癌、结直肠癌中miR-518a-3p表达下调,与患者较短生存期有关, miR-518a-3p过表达可抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭^[7,8],但是对胃癌的研究尚不清楚。本研究使用IL-17处理胃癌细胞,观察lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p对IL-17诱导的胃癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌AGS细胞购于中科院细胞中心; IL-17购于碧云天生物; si-lncRNA NNT-AS1、anti-miR-NC、si-NC、anti-miR-518a-3p、引物购于上海吉玛公司; 胎牛血清、DMEM培养基购于美国Hyclone公司; ECL试剂、双荧光素酶活性试剂盒、BCA试剂盒购于北京索莱宝公司; Trizol试剂盒、荧光定量试剂盒、逆转录试剂盒购于大连宝生生物公司; Matrigel基质胶、Transwell小室购于上海泽迈生物公司; 神经钙黏蛋白(N-cadherin)抗体、上皮钙黏蛋白(E-cadherin)抗体、细胞核增殖抗原标记物(Ki-67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、二抗购于上海赛信通公司; Lipofectamin 2000试剂盒购于美国invitrogen公司。

1.2 方法 胃癌细胞AGS用10%胎牛血清的DMEM培养基内,培养箱内进行孵育。取对数期胃癌细胞AGS,细胞分为Con组、IL-17组、IL-17+si-NC组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-NC组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-518a-3p组。其中Con组未经进行IL-17处理细胞, IL-17组: 使用100 μg/L的IL-17处理细胞; IL-17+si-NC组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-NC组、IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-518a-3p组: 将

si-NC、si-lncRNA NNT-AS1、si-lncRNA NNT-AS1和anti-miR-NC、si-lncRNA NNT-A和S1+anti-miR-518a-3p转染细胞,使用100 μg/L的IL-17处理细胞。按照Lipofectamin 2000试剂盒进行。

1.3 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测lncRNA NNT-AS1和miR-518a-3p表达水平 取各组AGS细胞培养24 h, Trizol试剂加细胞中提取总RNA, 逆转录合成cDNA, 配置反应体系: 1 μL cDNA、0.5 μL上下游引物、10 μL 2×miRcute miRNA premix, 使用RNase-Free ddH₂O补充至20 μL。用GAPDH、U6作内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计lncRNA算NNT-AS1和miR-518a-3p表达水平。

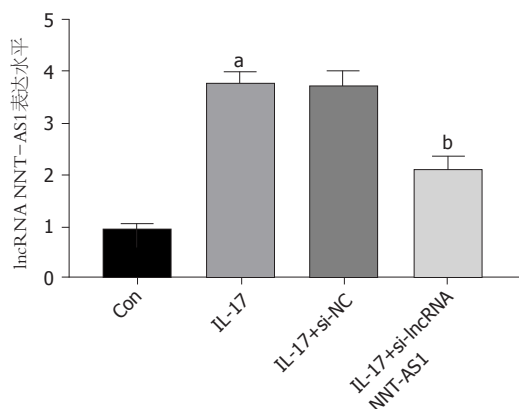
1.4 克隆实验检测细胞增殖活性 取对数期胃癌细胞AGS按照1.2法处理细胞, 将细胞按照500个/孔接种6孔板中, 细胞放到恒温培养箱内培养14 d, 有克隆形成时停止培养。使用4%多聚甲醛固定细胞, 结晶紫染色, 漂洗细胞, 待自然晾干后, 使用显微镜观察细胞克隆数。

1.5 Transwell检测细胞迁移、侵袭 迁移实验: 各组AGS细胞培养48 h, 用不含血清培养基重悬细胞(2×10^4 个/mL), Transwell上室添加细胞悬液200 μL, 下室加500 μL含血清培养基, 培养24 h, 取出小室使用棉签擦掉未穿膜的细胞, 用多聚甲醛固定细胞, 再用结晶紫染色, 显微镜观察细胞迁移数。侵袭实验: 将50 μL的Matrigel基质胶稀释液铺至Transwell上室内, 凝固5 h, 后续实验同迁移实验一致。

1.6 蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测Ki-67、E-cadherin、N-cadherin、MMP2蛋白表达 收集培养24 h各组AGS细胞, 加放射免疫沉淀法(RIPA)试剂提取细胞总蛋白, BCA法检测蛋白浓度, 经过聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白样品, 结束后转膜, 脱脂奶粉封闭1 h, 将聚偏二氟乙烯(PVDF)膜放在稀释好的一抗溶液中(Ki-67、E-cadherin、N-cadherin、MMP2, 稀释1:600), 4 °C孵育过夜, 加稀释浓度为1:3000的二抗溶液, 室温孵育1 h, 加电化学发光(ECL)试剂显色, 曝光。使用Image J软件分析蛋白条带灰度值。

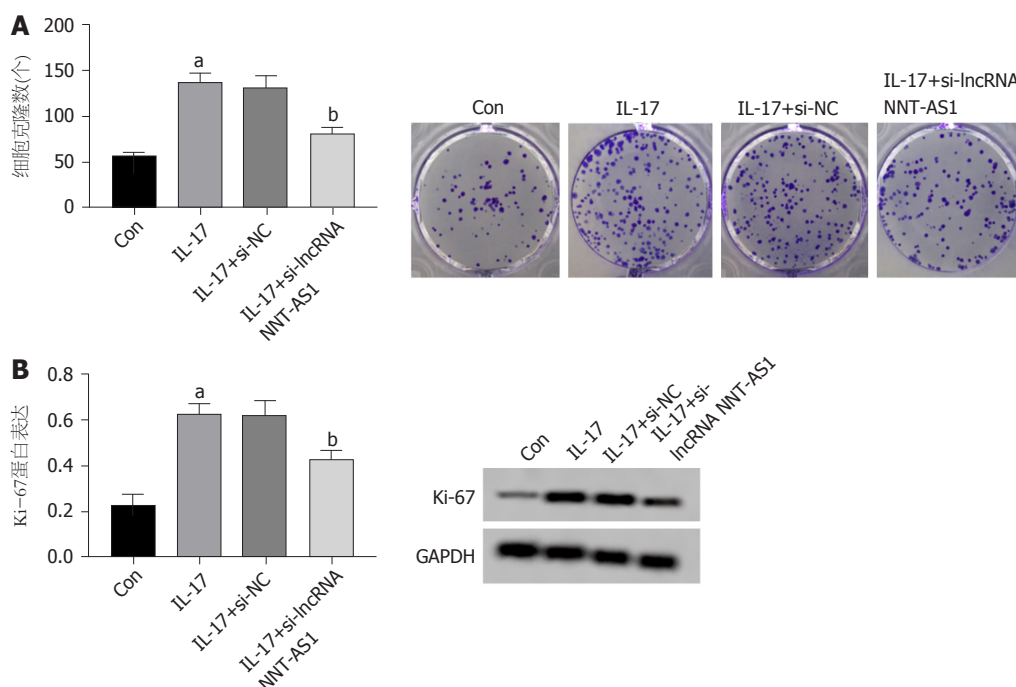
1.7 双荧光素酶实验检测miR-518a-3p和lncRNA NNT-AS1关系 构建miR-518a-3p相互结合位点lncRNA NNT-AS1的荧光素酶载体, 将突变型、野生型报告载体(lncRNA NNT-AS1 MUT、lncRNA NNT-AS1 WT)分别与miR-NC或miR-518a-3p转染至胃癌细胞AGS中, 转染按照脂质体法, 转染48 h, 根据双荧光素酶活性检测试剂盒操作进行, SpectraMax Mini多功能酶标仪(美谷分子仪器有限公司)检测各组荧光素酶活性。其中萤火虫荧光素酶活性值为内参, 计算各组荧光素酶活性。

统计学处理 实验采用SPSS 19.0软件分析处理数据, 结果以(mean±SD)表示, 多组间比较用单因素方差



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.571 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 1 上调NNT-AS1对IL-17处理胃癌细胞后lncRNA NNT-AS1表达水平(mean ± SD, $n = 9$). Con: 对照组, IL-17: 白细胞介素-17组; IL-17+si-NC: IL-17+阴性对照; IL-17+si-lncRNA NNT-AS1: IL-17+lncRNA NNT-AS1干扰序列; 与Con组相比, ^a $P < 0.05$; 与IL-17+si-NC组相比, ^b $P < 0.05$.



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.571 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 2 下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖的影响(mean ± SD, $n = 9$). A: 克隆图; B: Western Blot检查Ki-67蛋白表达. Con: 对照组, IL-17: 白细胞介素-17组; IL-17+si-NC: IL-17+阴性对照; IL-17+si-lncRNA NNT-AS1: IL-17+lncRNA NNT-AS1干扰序列; Ki-67: 细胞增殖抗原标记物; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶. 与Con组相比, ^a $P < 0.05$; 与IL-17+si-NC组相比, ^b $P < 0.05$.

分析, 两组间比较用 t 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 IL-17处理胃癌细胞降低lncRNA NNT-AS1 与Con组比较, IL-17组lncRNA NNT-S1表达水平显著升高($P < 0.05$); 与IL-17+si-NC组相比, IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组lncRNA NNT-S1表达水平显著降低($P < 0.05$). 图1.

2.2 下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖的影响 与Con组比较, IL-17组Ki-67蛋白表达、克隆细

胞数显著升高($P < 0.05$); 与IL-17+si-NC组相比, IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组、克隆细胞数Ki-67蛋白表达显著降低($P < 0.05$). 图2.

2.3 下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞迁移和侵袭的影响 与Con组比较, IL-17组迁移细胞数、侵袭细胞数增多($P < 0.05$), E-cadherin蛋白表达降低($P < 0.05$), N-cadherin、MMP2蛋白表达升高($P < 0.05$); 与IL-17+si-NC组相比, IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组迁移细胞数、侵袭细胞数减少($P < 0.05$), N-cadherin、MMP2蛋白表达

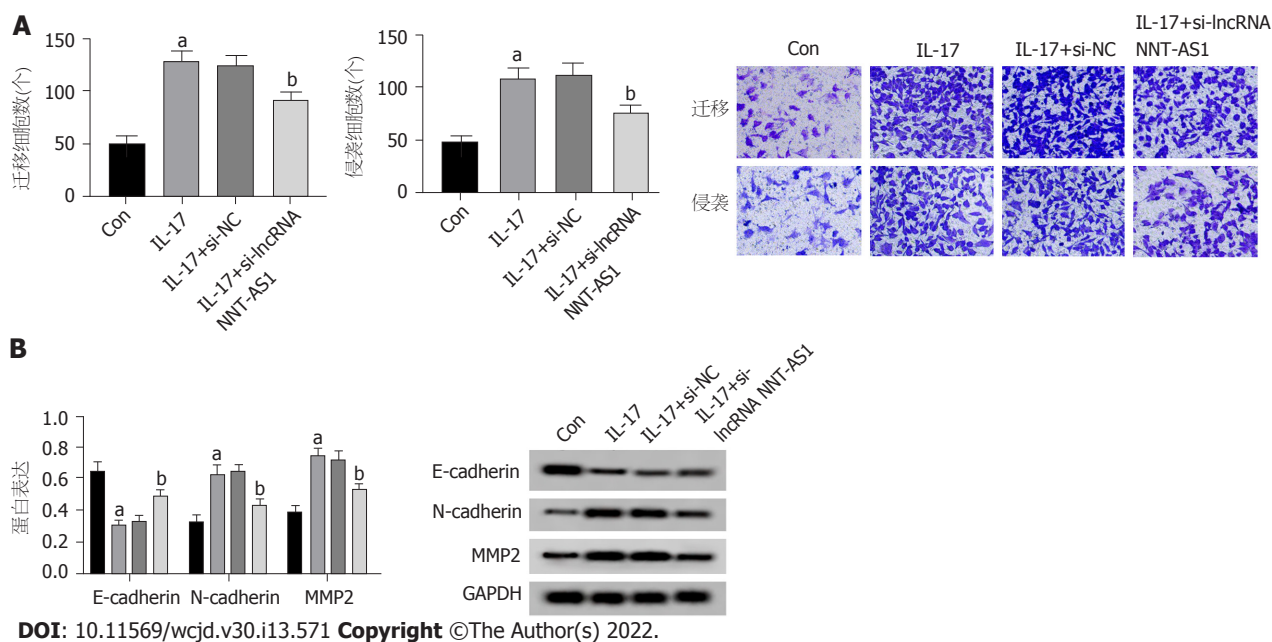


图 3 下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞迁移和侵袭的影响(mean $\pm$ SD, $n = 9$). A: 迁移、侵袭图; B: Western Blot检测E-cadherin、N-cadherin、MMP2蛋白表达. Con: 对照组, IL-17: 白细胞介素-17组; IL-17+si-NC: IL-17+阴性对照; IL-17+si-lncRNA NNT-AS1: IL-17+ lncRNA NNT-AS1干扰序列; N-cadherin: 神经钙黏蛋白; E-cadherin: 上皮钙黏蛋白; MMP2: 基质金属蛋白酶2. 与Con组相比, ^a $P < 0.05$; 与IL-17+si-NC组相比, ^b $P < 0.05$.

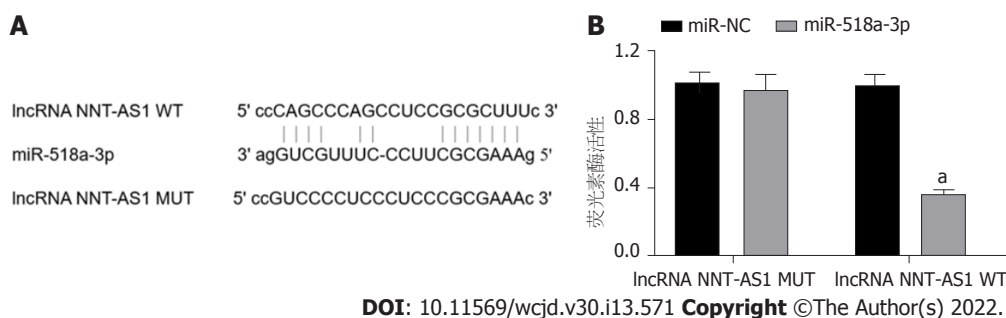


图 4 lncRNA NNT-AS1和miR-518a-3p结合位点. A: NNT-AS1和miR-518a-3p结合位点; B: 双荧光素酶报告实验.

降低($P < 0.05$), E-cadherin蛋白表达升高($P < 0.05$). 图3.

2.4 lncRNA NNT-AS1调控miR-518a-3p的表达 在线生物信息学网站预测显示, lncRNA NNT-AS1和miR-518a-3p存在相互结合位点, 见图3. 与miR-NC组相比, miR-518a-3p组lncRNA NNT-AS1 MUT荧光素酶活性差异不显著, lncRNA NNT-AS1 WT荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$). 图4.

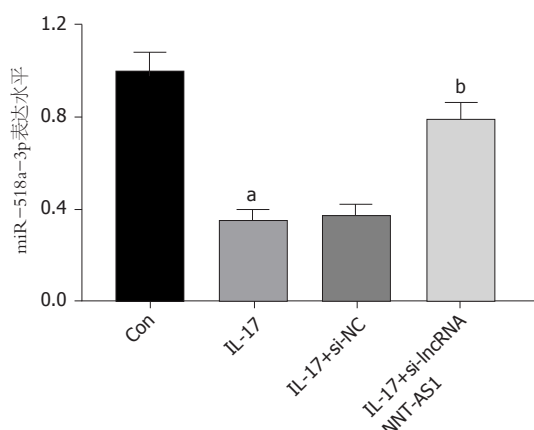
2.5 下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞后miR-518a-3p表达 与Con组比较, IL-17组miR-518a-3p表达水平显著降低($P < 0.05$); 与IL-17+si-NC组相比, IL-17+si-lncRNA NNT-AS1组miR-518a-3p表达水平显著增加($P < 0.05$). 图5.

2.6 抑制miR-518a-3p可以逆转下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响 与IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-NC组相比, IL-17+si-

lncRNA NNT-AS1+anti-miR-518a-3p组克隆细胞数、迁移细胞数、侵袭细胞数增多($P < 0.05$), Ki-67、N-cadherin、MMP2蛋白表达升高, E-cadherin蛋白表达降低($P < 0.05$). 图6. 并根据以上结果, 绘制了lncRNA NNT-AS1在胃癌细胞中分子机制图, 图7.

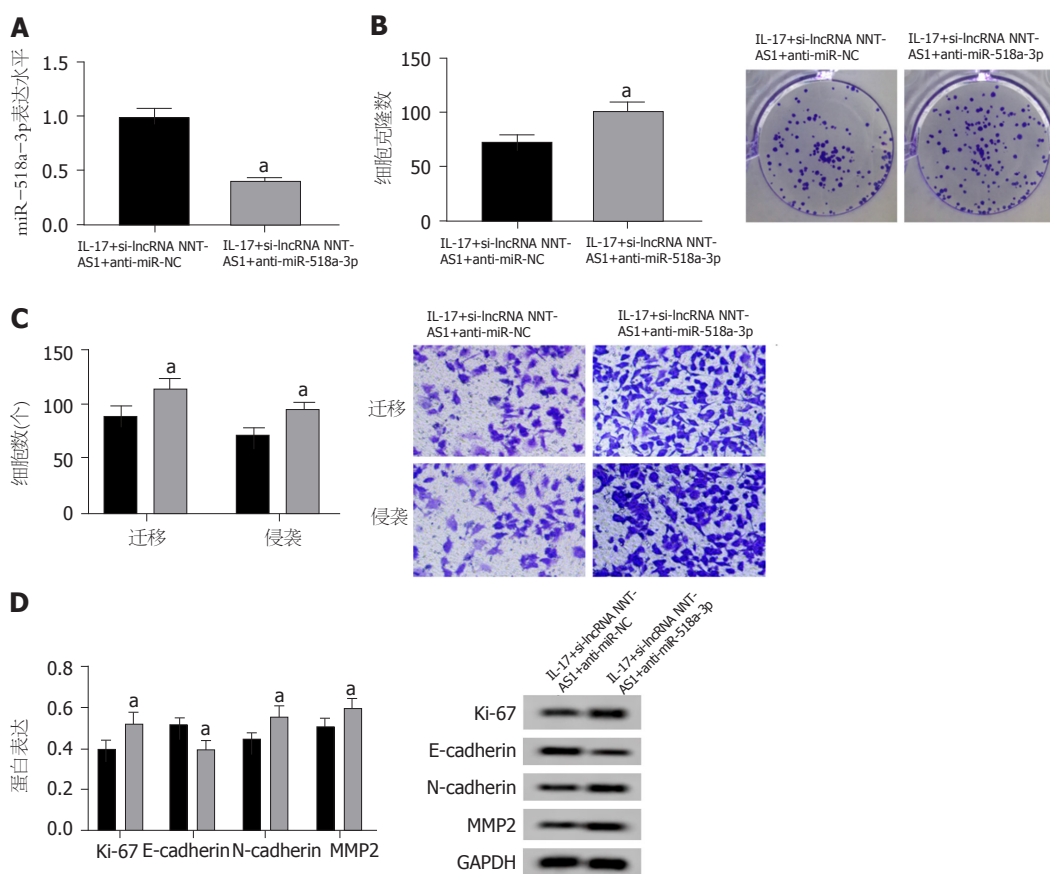
3 讨论

IL-17是Th17细胞分泌的炎症因子, 在肿瘤组织中表达上调, 与肿瘤微环境中血管形成有关系^[9]. 研究结果证明^[10], IL-17与胃癌发展密切相关, 研究显示, IL-17对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭的抑制作用. 本研究结果显示, IL-17处理胃癌细胞AGS, 克隆细胞数、迁移细胞数、侵袭细胞数增多, 下调E-cadherin蛋白表达, 上调Ki-67、N-cadherin、MMP2蛋白表达, 提示IL-17能诱导胃癌细胞增殖、侵袭和侵袭, 这与之前的研究结果^[10]一致.



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.571 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 5 下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞后miR-518a-3p表达(mean $\pm$ SD, $n = 9$). Con: 对照组, IL-17: 白细胞介素-17组; IL-17+si-NC: IL-17+阴性对照; IL-17+si-lncRNA NNT-AS1: IL-17+lncRNA NNT-AS1干扰序列; 与miR-NC组相比, $^aP < 0.05$.

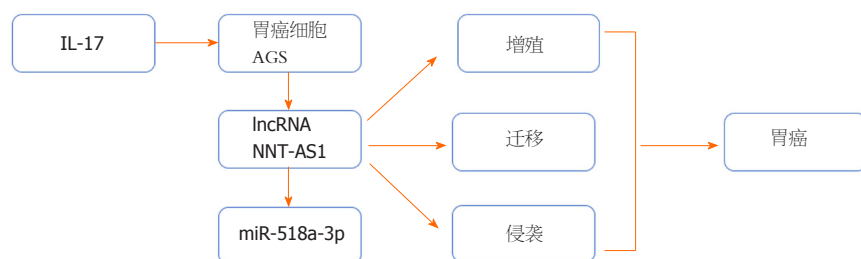


DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.571 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 6 抑制miR-518a-3p可以逆转下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean $\pm$ SD, $n = 9$). A: miR-518a-3p 表达水平; B: 克隆图; C: 迁移、侵袭图; D: Western Blot检测Ki-67、E-cadherin、N-cadherin、MMP2蛋白表达. IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-NC: IL-17+lncRNA NNT-AS1干扰序列+抑制物对照; IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-518a-3p: IL-17+lncRNA NNT-AS1干扰序列+ miR-518a-3p抑制物; IL-17: 白细胞介素-17; Ki-67: 细胞核增殖抗原标记物; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; N-cadherin: 神经钙黏蛋白; E-cadherin: 上皮钙黏蛋白; MMP2: 基质金属蛋白酶2. 与IL-17+si-lncRNA NNT-AS1+anti-miR-NC组相比, $^aP < 0.05$.

lncRNA是多功能非编码调控转录本, lncRNA NNT-AS1是一种新发现的促癌非编码RNA分子, 既往的研究结果显示, 在乳腺癌、卵巢癌、胶质瘤等癌症中异常表

达, 与患者总生存期、TNM分期等有关^[11-13]. 前列腺癌研究结果显示, lncRNA NNT-AS1表达水平在前列腺癌细胞中表达增加, 沉默lncRNA NNT-AS1能够抑制前列腺



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.571 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 7 机制示意图. IL-17: 白细胞介素-17.

癌细胞增殖、迁移和侵袭, 并诱导细胞凋亡^[14]. 在胃癌组织和细胞中lncRNA NNT-AS1表达增加, 与患者较差的预后有关, lncRNA NNT-AS1通过降低miR-424抑制胃癌细胞增殖和侵袭, 阻滞细胞周期发展^[15]. 胃癌细胞中, lncRNA NNT-AS1还能够通过调控miR-142-5p/性别决定基因-区域转录因子4(SOX4)轴抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭, 并促进细胞凋亡^[16]. 以上说明lncRNA NNT-AS1与肿瘤发展相关, 且在胃癌中起促癌作用, 但是关于lncRNA NNT-AS1与IL-17的调控作用不清楚. 本研究结果显示, IL-17处理胃癌细胞后lncRNA NNT-AS1表达增加, 下调lncRNA NNT-AS1降低了IL-17诱导胃癌细胞中lncRNA NNT-AS1表达水平, 提示lncRNA NNT-AS1可能与IL-17诱导胃癌细胞有关. 下调lncRNA NNT-AS1减少IL-17诱导胃癌细胞克隆细胞数、迁移细胞数、侵袭细胞数, 增加E-cadherin蛋白表达, 降低Ki-67、N-cadherin、MMP2相关蛋白表达, 提示下调lncRNA NNT-AS1抑制IL-17诱导的胃癌细胞增殖、迁移和侵袭.

lncRNA还能够作为竞争性内源RNA调控miRNA表达参与肿瘤的发展^[17], 在本研究中, 通过双荧光素酶报告实验和RT-qPCR实验验证lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p的表达. miR-518a-3p在癌症中低表达, 如在非小细胞肺癌细胞中表达降低, LINC00461可充当miR-518a-3p海绵抑制非小细胞肺癌细胞增殖和转移^[18]. 在口腔鳞癌细胞中miR-518a-3p表达降低, 功能实验显示, lncRNA HOXA11-AS可能通过降低miR-518a-3p抑制口腔鳞癌细胞增殖、侵袭, 并阻碍细胞周期发展^[19]. 本研究发现, IL-17处理胃癌细胞后降低miR-518a-3p表达, 下调lncRNA NNT-AS1增加IL-17处理胃癌细胞后miR-518a-3p, 说明lncRNA NNT-AS1靶向负调控miR-518a-3p. 进一步实验结果显示, 抑制miR-518a-3p可以逆转下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用, 提示lncRNA NNT-AS1靶向负调控miR-518a-3p影响IL-17诱导的胃癌细胞增殖、迁移、侵袭.

4 结论

综上所述, 下调lncRNA NNT-AS1能抑制IL-17诱导的胃癌细胞增殖、迁移和侵袭, 可能与上调miR-518a-3p有关, 旨在为胃癌诊断提供新的作用靶点. 本研究也存在不足之处, 关于lncRNA NNT-AS1体内实验需要我們进行后续实验研究.

文章亮点

实验背景

胃癌是常见的恶性消化系统肿瘤, 虽然外科手术、放疗或化疗在治疗胃癌中已经取得了改善, 但是胃癌发病机制十分复杂, 致使患者5年预后生存期限未超过30%. 白细胞介素17(interleukin 17, IL-17)是多细胞分泌因子, 与肿瘤细胞发展有关, 其在胃癌血清中高表达, 与患者分化程度、淋巴结转移有关. lncRNA是一种定义为长度超过200核苷酸的非编码RNA分子的转录本, 可靶向miRNA影响IL-17诱导的胃癌细胞发展.

实验动机

IL-17是多细胞分泌因子, 在胃癌血清中高表达, 而lncRNA NNT-AS1在胃癌组织中表达增加, lncRNA NNT-AS1可能通过降低miR-363的表达抑制胃癌细胞增殖和侵袭, 并阻滞细胞周期的发展. lncRNA NNT-AS1与IL-17调控作用对胃癌细胞研究尚不明确. 通过在线生物信息学软件预测显示, miR-518a-3p是NNT-AS1靶基因之一, miR-518a-3p在三阴性乳腺癌、结直肠癌中表达下调, 本研究观察lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p对IL-17诱导的胃癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响.

实验目标

验证lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p对IL-17处理胃癌细胞增殖、迁移、侵袭的作用.

实验方法

RT-qPCR检测miR-518a-3p和lncRNA NNT-AS1表达水平; 克隆实验、Transwell检测AGS细胞增殖、迁移、侵袭; Western Blot检测增殖、转移蛋白表达; 双荧光素酶实验检测miR-518a-3p和lncRNA NNT-AS1关系。

实验结果

IL-17能诱导胃癌细胞增殖、侵袭和侵袭; 下调lncRNA NNT-AS1抑制IL-17诱导的胃癌细胞增殖、迁移和侵袭; lncRNA NNT-AS1靶向负调控miR-518a-3p。进一步实验结果显示, 抑制miR-518a-3p可以逆转下调lncRNA NNT-AS1对IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用。

实验结论

lncRNA NNT-AS1靶向调控miR-518a-3p抑制IL-17诱导胃癌细胞增殖、迁移和侵袭。

展望前景

旨在为胃癌诊断提供新的作用靶点。

5 参考文献

- 1 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71: 209-249 [PMID: 33538338 DOI: 10.3322/caac.21660]
- 2 Xia C, Dong X, Li H, Cao M, Sun D, He S, Yang F, Yan X, Zhang S, Li N, Chen W. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants. *Chin Med J (Engl)* 2022; 135: 584-590 [PMID: 35143424 DOI: 10.1097/CM9.0000000000002108]
- 3 Li X, Bechara R, Zhao J, McGeachy MJ, Gaffen SL. IL-17 receptor-based signaling and implications for disease. *Nat Immunol* 2019; 20: 1594-1602 [PMID: 31745337 DOI: 10.1038/s41590-019-0514-y]
- 4 牟晓映, 高美华, 韩春华. 胃癌患者外周血Th17细胞、血清IL-17、IL-6水平检测及临床意义. *海南医学* 2020; 31: 3155-3158 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2020.24.008]
- 5 Ali T, Grote P. Beyond the RNA-dependent function of lncRNA genes. *Elife* 2020; 9 [PMID: 33095159 DOI: 10.7554/eLife.60583]
- 6 Wang X, Ren M, Li Y, Hu J, Lu G, Ma W, Guo D, Lu X, He S. Long noncoding RNA NNT-AS1 promotes gastric cancer proliferation and invasion by regulating microRNA-363 expression. *J Cell Biochem* 2019; 120: 5704-5712 [PMID: 30324628 DOI: 10.1002/jcb.27855]
- 7 Gan L, Yang H, Xiong Z, Yang Z, Wang T, Lyu G. miR-518a-

- 3p Suppresses Triple-Negative Breast Cancer Invasion and Migration Through Regulation of TMEM2. *Technol Cancer Res Treat* 2020; 19: 1533033820977523 [PMID: 33251982 DOI: 10.1177/1533033820977523]
- 8 Qu LL, He L, Zhao X, Xu W. Downregulation of miR-518a-3p activates the NIK-dependent NF- κ B pathway in colorectal cancer. *Int J Mol Med* 2015; 35: 1266-1272 [PMID: 25812680 DOI: 10.3892/ijmm.2015.2145]
- 9 Wang X, Yang L, Huang F, Zhang Q, Liu S, Ma L, You Z. Inflammatory cytokines IL-17 and TNF- α up-regulate PD-L1 expression in human prostate and colon cancer cells. *Immunol Lett* 2017; 184: 7-14 [PMID: 28223102 DOI: 10.1016/j.imlet.2017.02.006]
- 10 母润红, 艾一玫, 李雨澎, 林睿, 叶思萍, 马方, 郭笑. 重组人IL-17A在胃癌组织中的表达及其对胃癌BGC-823细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响. *吉林大学学报(医学版)* 2021; 47: 1510-1517 [DOI: 10.13481/j.1671-587X.20210622]
- 11 Zhou C, Duan S. The Role of Long Non-Coding RNA NNT-AS1 in Neoplastic Disease. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 33113895 DOI: 10.3390/cancers12113086]
- 12 李俊兰, 陈欢, 李瑶. 卵巢癌组织中酰胺核苷酸反义转氢酶及RNA1表达观察患者预后影响因素分析. *山东医药* 2021; 61: 10-14 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2021.18.003]
- 13 Zheng D, Chen D, Lin F, Wang X, Lu L, Luo S, Chen J, Xu X. LncRNA NNT-AS1 promote glioma cell proliferation and metastases through miR-494-3p/PRMT1 axis. *Cell Cycle* 2020; 19: 1621-1631 [PMID: 32420808 DOI: 10.1080/15384101.2020.1762037]
- 14 Yao C, Cheng X, Guo X, Lu X, Bu F, Xu Y. NNT-AS1 modulates prostate cancer cell proliferation, apoptosis and migration through miR-496/DDIT4 axis. *Cancer Cell Int* 2020; 20: 463 [PMID: 32982585 DOI: 10.1186/s12935-020-01505-3]
- 15 Chen B, Zhao Q, Guan L, Lv H, Bie L, Huang J, Chen XB. Long non-coding RNA NNT-AS1 sponges miR-424/E2F1 to promote the tumorigenesis and cell cycle progression of gastric cancer. *J Cell Mol Med* 2018; 22: 4751-4759 [PMID: 30006956 DOI: 10.1111/jcmm.13726]
- 16 Zhang J, Zhang K, Hou Y. Long non-coding RNA NNT-AS1 knockdown represses the progression of gastric cancer via modulating the miR-142-5p/SOX4/Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Mol Med Rep* 2020; 22: 687-696 [PMID: 32468065 DOI: 10.3892/mmr.2020.11158]
- 17 Paraskevopoulou MD, Hatzigeorgiou AG. Analyzing MiRNA-LncRNA Interactions. *Methods Mol Biol* 2016; 1402: 271-286 [PMID: 26721498 DOI: 10.1007/978-1-4939-3378-5_21]
- 18 Wang Z, Lu Y, Sheng B, Ding Y, Cheng X. Long-noncoding RNA LINC00461 promotes proliferation and invasion of non-small cell lung cancer cells via targeting miR-518a-3p/WDR1 pathway. *J Recept Signal Transduct Res* 2022; 42: 80-87 [PMID: 33233986 DOI: 10.1080/10799893.2020.1850786]
- 19 Li B, Wang W, Miao S, Li G, Lv Y, Xiang C, Pei R. HOXA11-AS promotes the progression of oral squamous cell carcinoma by targeting the miR-518a-3p/PDK1 axis. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 140 [PMID: 31139017 DOI: 10.1186/s12935-019-0838-6]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



山竹果皮中总氧杂蒽酮通过调控miR-338-3p抑制胃癌细胞AGS增殖、迁移侵袭及炎症反应的实验研究

王芬芬, 王秀芳, 胡剑浩, 王银娟

王芬芬, 王秀芳, 胡剑浩, 王银娟, 绍兴文理学院附属医院消化内科 浙江省绍兴市 312000

王芬芬, 主治医师, 研究方向为消化内科.

作者贡献分布: 此课题由王芬芬、王秀芳、胡剑浩、王银娟设计; 研究过程由王芬芬、王秀芳、胡剑浩、王银娟操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王芬芬、王秀芳、胡剑浩提供; 本论文写作由王芬芬完成.

通讯作者: 王芬芬, 主治医师, 312000, 浙江省绍兴市中兴南路999号, 绍兴文理学院附属医院消化内科. wff2022@126.com

收稿日期: 2022-04-08

修回日期: 2022-05-09

接受日期: 2022-06-21

在线出版日期: 2022-07-08

Total xanthone in mangosteen inhibits cell proliferation, migration, invasion, and inflammatory response in gastric cancer cells by regulating miR-338-3p

Fen-Fen Wang, Xiu-Fang Wang, Jian-Hao Hu, Yin-Juan Wang

Fen-Fen Wang, Xiu-Fang Wang, Jian-Hao Hu, Yin-Juan Wang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Shaoxing University of Arts and Sciences, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Fen-Fen Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, No. 999 Zhongxing South Road, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China. wff2022@126.com

Received: 2022-04-08

Revised: 2022-05-09

Accepted: 2022-06-21

Published online: 2022-07-08

Abstract BACKGROUND

Total xanthone in mangosteen has antitumor effect, but its effect on the biological behavior of gastric cancer cells is still unknown. MicroRNAs (miRNAs) can play an important regulatory role in the occurrence and development of gastric cancer and may be a potential target for gastric cancer treatment, but whether they could be potential targets for total xanthone in mangosteen in the treatment of gastric cancer is unknown.

AIM

To explore the effect of total xanthone in mangosteen on the biological behavior of gastric cancer AGS cells and the possible mechanism involved.

METHODS

Human gastric cancer AGS cells were randomly divided into the following groups: NC group, low-dose xanthone group, medium-dose xanthone group, high-dose xanthone group, miR-NC group, miR-338-3p group, high-dose xanthone + anti-miR-NC group, and high-dose xanthone group + anti-miR-338-3p group. MTT and Transwell assays were used to detect cell proliferation, migration, and invasion. ELISA was used to detect the levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β . qRT-PCR was used to detect the expression of miR-338-3p.

RESULTS

After treatment with total xanthone in mangosteen, cell viability and the levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β were decreased ($P < 0.05$), the number of migrating and invasive cells was decreased ($P < 0.05$), and the expression of miR-

338-3p was increased ($P < 0.05$). After transfection with miR-338-3p mimic, cell viability and the levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β were decreased ($P < 0.05$), and the number of migrating and invasive cells was decreased ($P < 0.05$). Transfection with anti-miR-338-3p could reverse the effect of total xanthone in mangosteen on the biological behavior of AGS cells.

CONCLUSION

Total xanthone in mangosteen can inhibit the proliferation, migration, invasion, and inflammatory response of gastric cancer cells by promoting the expression of miR-338-3p.

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

Key Words: Gastric cancer; Mangosteen; Peel; Total xanthone; miR-338-3p; Cell proliferation; Migration; Invasion

Citation: Wang FF, Wang XF, Hu JH, Wang YJ. Total xanthone in mangosteen inhibits cell proliferation, migration, invasion, and inflammatory response in gastric cancer cells by regulating miR-338-3p. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(13): 579-586
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/579.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.579>

摘要

背景

山竹果皮中总氧杂蒽酮具有抗肿瘤作用,但其对胃癌细胞生物学行为的影响尚未可知,miRNA在胃癌发生发展过程中可发挥重要调控作用,并可能作为胃癌治疗的潜在靶点,但其是否可作为山竹果皮中总氧杂蒽酮治疗胃癌的潜在靶点尚未可知。

目的

探讨山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞AGS生物学行为的影响及其可能作用机制。

方法

以人胃癌细胞AGS为研究对象,随机分组:NC组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、miR-NC组、miR-338-3p组、高剂量组+anti-miR-NC组、高剂量组+anti-miR-338-3p组;MTT法、Transwell实验分别检测细胞增殖、迁移及侵袭;ELISA法检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的水平;qRT-PCR法检测miR-338-3p的表达量。

结果

山竹果皮中总氧杂蒽酮处理后细胞活力、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平降低($P < 0.05$),迁移及侵袭细胞数减少($P < 0.05$),miR-338-3p的表达量升高($P < 0.05$);转染miR-338-3p mimics后细胞活力、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平降低($P < 0.05$),迁移及侵袭细胞数减少($P < 0.05$);

转染anti-miR-338-3p可逆转山竹果皮中总氧杂蒽酮对AGS细胞生物学行为的作用。

结论

山竹果皮中总氧杂蒽酮可通过促进miR-338-3p表达而抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及炎症反应。

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

关键词: 胃癌; 山竹; 果皮; 总氧杂蒽酮; miR-338-3p; 细胞增殖; 迁移侵袭; 炎症

核心提要: 山竹果皮中含有多种氧杂蒽酮衍生物,其具有抗肿瘤、抗氧化等作用,miR-338-3p在胃癌组织中表达下调,并可能参与胃癌发生及发展过程,但miR-338-3p是否可作为山竹果皮中总氧杂蒽酮治疗胃癌的潜在靶点尚未可知,本研究主要探讨山竹果皮中总氧杂蒽酮是否可通过调控miR-338-3p的表达而影响胃癌细胞生物学行为。

文献来源: 王芬芬, 王秀芳, 胡剑浩, 王银娟. 山竹果皮中总氧杂蒽酮通过调控miR-338-3p抑制胃癌细胞AGS增殖、迁移侵袭及炎症反应的实验研究. *世界华人消化杂志* 2022; 30(13): 579-586

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/579.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.579>

0 引言

胃癌是临床常见的一种恶性肿瘤,其具有复发率高与死亡率高等特点,化疗、放疗等治疗手段具有毒副作用,患者易产生耐药性与抵抗性从而降低治疗效果,患者预后较差^[1,2]。从天然植物中提取的活性成分具有抗肿瘤作用,研究表明,部分中医药具有抗胃癌作用^[3,4]。山竹又称山竹子,山竹果皮中含有多种氧杂蒽酮衍生物,其具有抗肿瘤、抗氧化等作用,研究表明,山竹果皮提取物可抑制非小细胞肺癌细胞增殖、迁移及侵袭^[5]。但山竹果皮中总氧杂蒽酮与胃癌相关研究报道相对较少。微小RNA(miRNA)可通过调控细胞增殖及转移等过程而发挥作用,研究表明,miR-338-3p在胃癌组织中表达下调,并可能参与胃癌发生及发展过程^[6]。但miR-338-3p是否可作为山竹果皮中总氧杂蒽酮治疗胃癌的潜在靶点尚未可知。因此,本研究主要探讨山竹果皮中总氧杂蒽酮是否可通过调控miR-338-3p的表达而影响胃癌细胞生物学行为。

1 材料和方法

1.1 材料 山竹果皮粉末(扶风斯诺特生物科技有限公司);人胃癌细胞AGS(宁波明舟生物科技有限公司);Trizol试剂、Lipofectamine™ 3000 Transfection Reagent(美国Invitrogen);反转录与荧光定量PCR试剂(美国Thermo

Fisher); miR-NC、miR-338-3p mimics、anti-miR-NC、anti-miR-338-3p(广州锐博生物); MTT试剂、Transwell小室、Matrigel基质胶(北京索莱宝科技有限公司); 兔抗人基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP2)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP9)抗体与二抗(美国Abcam); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)检测试剂盒(上海酶联生物)。

1.2 方法

1.2.1 提取山竹果皮中总氧杂蒽酮: 称取50 g山竹果皮粉末, 加入85%乙醇500 mL, 室温孵育24 h, 过滤后提取上清液, 旋蒸至少量, 采用乙酸乙酯萃取, 吸取上清液, 经过硅胶柱, 采用正己烷和乙酸乙酯(5:1)洗脱, 液体烘干后得到山竹果皮中总氧杂蒽酮99.6 mg, 加入DMSO溶解后置于冰箱内备用, 将山竹果皮中总氧杂蒽酮稀释至100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 、400 $\mu\text{mol/L}$ ^[7]。

1.2.2 实验分组: AGS细胞加入含有不同浓度(100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 、400 $\mu\text{mol/L}$)山竹果皮中总氧杂蒽酮的DMEM培养基培养24 h, 分别记为低剂量组、中剂量组、高剂量组。同时将正常培养的AGS细胞记为NC组。采用脂质体转染法将miR-NC、miR-338-3p mimics分别转染至AGS细胞, 分别记为miR-NC组、miR-338-3p组。采用脂质体转染法将anti-miR-NC、anti-miR-338-3p分别转染至AGS细胞, 转染成功后加入含有浓度为400 $\mu\text{mol/L}$ 山竹果皮中总氧杂蒽酮的DMEM培养基培养24 h, 分别记为高剂量组+anti-miR-NC组、高剂量组+anti-miR-338-3p组。

1.2.3 MTT检测细胞增殖: 收集各组AGS细胞加入MTT溶液20 μL , 于培养箱继续培养4 h, 弃上清, 每孔加入150 μL DMSO, 避光振荡孵育5 min, 应用酶标仪检测各孔在490 nm处的吸光度值(A)。

1.2.4 Transwell实验检测细胞迁移与侵袭: 迁移实验: 取各组AGS细胞接种于上室, 取600 μL 含有10%胎牛血清的培养液加入下室, 培养24 h, 多聚甲醛固定20 min, 0.1%结晶紫染色15 min, 于显微镜下统计迁移细胞数。侵袭实验: 小室包被Matrigel基质胶稀释液后固定5 h, 后续实验步骤同细胞迁移实验。

1.2.5 ELISA法检测TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平: 收集各组AGS细胞培养上清液, 采用ELISA法检测TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.6 qRT-PCR检测miR-338-3p的表达水平: 采用Trizol试剂分别提取各组AGS细胞总RNA, 应用紫外分光光度计测定RNA浓度。反转录合成cDNA, 以cDNA为模板进行qRT-PCR扩增, 应用ABI StepOnePlus荧光定量PCR仪检测miR-338-3p相对表达量。

1.2.7 Western blot检测MMP2、MMP9蛋白表达量: 提取各组AGS细胞总蛋白, BCA法检测蛋白浓度。取40 μg 蛋白进行SDS-PAGE电泳, 转膜后用5%脱脂牛奶封闭2 h, 加入1:1000稀释的MMP2、MMP9一抗与内参 β -actin抗体(1:2000)稀释液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 加入1:3000稀释的二抗稀释液后室温孵育2 h, 应用Quantity One软件对蛋白条带进行定量。

统计学处理 采用SPSS 21.0统计学软件分析数据, 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对AGS细胞增殖、迁移和侵袭的影响 与NC组比较, 低剂量组、中剂量组、高剂量组细胞MMP2、MMP9蛋白水平和细胞活力降低($P<0.05$), 迁移及侵袭细胞数减少($P<0.05$), 图1, 表1。

2.2 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对AGS细胞炎症反应的影响 与NC组比较, 低剂量组、中剂量组、高剂量组TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平降低($P<0.05$), 表2。

2.3 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对miR-338-3p表达的影响 与GES-1细胞比较, AGS细胞中miR-338-3p表达量降低; 与NC组比较, 低剂量组、中剂量组、高剂量组miR-338-3p的表达量升高($P<0.05$), 表3, 表4。

2.4 miR-338-3p抑制胃癌细胞细胞AGS增殖、迁移和侵袭以及细胞炎症反应 与miR-NC组比较, miR-338-3p组细胞MMP2、MMP9蛋白水平和细胞活力降低($P<0.05$), 迁移及侵袭细胞数减少($P<0.05$), TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平降低($P<0.05$), 图2, 表5。

2.5 anti-miR-338-3p可以逆转山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞细胞AGS增殖、迁移、侵袭以及炎症反应的影响 与高剂量组+anti-miR-NC组比较, 高剂量组+anti-miR-338-3p组细胞MMP2、MMP9水平和细胞活力升高($P<0.05$), 迁移及侵袭细胞数增多($P<0.05$), TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平升高($P<0.05$), 图3, 表6。

3 讨论

胃癌发病机制较为复杂, 分子靶向治疗成为胃癌的潜在治疗方法, 目前中医药可通过调控基因或信号通路表达而发挥抗胃癌作用^[8]。miRNA在胃癌中表达异常, 并可通过靶向调控靶基因表达而参与胃癌发生及发展过程, 还可能作为胃癌靶向治疗的潜在靶点^[9,10]。但miRNA是否可作为中医药治疗胃癌的潜在靶点尚未阐明。

山竹果皮中总氧杂蒽酮具有抗肿瘤作用, 并可抑制结肠癌细胞增殖及促进细胞凋亡^[11,12]。本研究结果

表 1 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对AGS细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	A值	细胞迁移数量(个)	细胞侵袭数量(个)
NC	1.086 ± 0.10	227 ± 18.15	163 ± 14.01
低剂量组	0.824 ± 0.08 ^a	187 ± 15.63 ^a	135 ± 11.28 ^a
中剂量组	0.645 ± 0.07 ^a	134 ± 11.14 ^a	93 ± 8.18 ^a
高剂量组	0.513 ± 0.05 ^a	101 ± 8.26 ^a	78 ± 6.27 ^a
F	92.980	146.541	126.682
P	0.000	0.000	0.000

NC: 对照组; 与NC组比较, ^aP<0.05.

表 2 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对AGS细胞炎症反应的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	TNF-α(ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-1β(ng/L)
NC	371.25 ± 30.54	83.96 ± 7.53	28.67 ± 2.37
低剂量组	317.94 ± 27.14 ^a	61.47 ± 5.34 ^a	22.64 ± 1.91 ^a
中剂量组	223.17 ± 20.54 ^a	40.89 ± 3.61 ^a	13.85 ± 1.06 ^a
高剂量组	162.33 ± 11.52 ^a	29.78 ± 2.39 ^a	9.68 ± 0.92 ^a
F	142.069	197.599	234.774
P	0.000	0.000	0.000

NC: 对照组; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-6: 白介素-6; IL-1β: 白介素-1β; 与NC组比较, ^aP<0.05.

表 3 miR-338-3p在正常胃黏膜上皮细胞GES-1和胃癌AGS细胞中的表达(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-338-3p
GES-1	1.00 ± 0.08
AGS	0.35 ± 0.03 ^a
t	22.823
P	0.000

与GES-1细胞比较, ^aP<0.05.

表 4 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对miR-338-3p表达的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-338-3p
NC	1.00 ± 0.10
低剂量组	1.83 ± 0.15 ^a
中剂量组	2.21 ± 0.19 ^a
高剂量组	2.43 ± 0.22 ^a
F	121.813
P	0.000

NC: 对照组; 与NC组比较, ^aP<0.05.

显示, 山竹果皮中总氧杂蒽酮处理后胃癌细胞活力降低, 提示山竹果皮中总氧杂蒽酮可抑制胃癌细胞增殖. MMP2、MMP9属于基质金属蛋白酶, 其水平升高可降解细胞外基质沉积从而促进细胞转移^[13]. 本研究结果显

示, 山竹果皮中总氧杂蒽酮可降低胃癌细胞迁移及侵袭能力, 并可抑制MMP2、MMP9表达, 提示山竹果皮中总氧杂蒽酮可抑制胃癌细胞迁移及侵袭. 慢性炎症与胃癌密切相关, TNF-α、IL-6、IL-1β等炎症因子释放可促进

表 5 miR-338-3p抑制胃癌细胞细胞AGS增殖、迁移和侵袭以及细胞炎症反应(mean $\pm$ SD, $n = 9$)

组别	miR-338-3p	A值	细胞迁移数量(个)	细胞侵袭数量(个)	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-1 β (ng/L)
miR-NC	1.00 $\pm$ 0.10	1.091 $\pm$ 0.10	225 $\pm$ 17.93	166 $\pm$ 13.58	375.91 $\pm$ 28.34	84.22 $\pm$ 7.01	28.02 $\pm$ 1.91
miR-338-3p	2.45 $\pm$ 0.04 ^a	0.513 $\pm$ 0.05 ^a	118 $\pm$ 9.83 ^a	73 $\pm$ 6.34 ^a	83.96 $\pm$ 7.25 ^a	24.65 $\pm$ 1.96 ^a	10.25 $\pm$ 0.87 ^a
<i>t</i>	40.389	15.509	15.698	18.616	29.941	24.552	25.400
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-6: 白介素-6; IL-1 β : 白介素-1 β ; 与miR-NC组比较, ^a $P < 0.05$.

表 6 anti-miR-338-3p可以逆转山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞细胞AGS增殖、迁移、侵袭以及炎症反应的影响(mean $\pm$ SD, $n = 9$)

组别	miR-338-3p	A值	细胞迁移数量(个)	细胞侵袭数量(个)	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-1 β (ng/L)
高剂量组+anti-miR-NC	1.00 $\pm$ 0.09	0.518 $\pm$ 0.06	104 $\pm$ 9.03	75 $\pm$ 7.05	164.87 $\pm$ 12.05	29.53 $\pm$ 2.31	9.76 $\pm$ 0.85
高剂量组+anti-miR-338-3p	0.43 $\pm$ 0.04 ^a	1.125 $\pm$ 0.10 ^a	236 $\pm$ 18.67 ^a	158 $\pm$ 12.42 ^a	405.97 $\pm$ 36.98 ^a	80.29 $\pm$ 7.38 ^a	26.18 $\pm$ 2.31 ^a
<i>t</i>	17.362	15.615	19.094	17.435	18.597	19.692	20.013
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-6: 白介素-6; IL-1 β : 白介素-1 β ; 与高剂量组+anti-miR-NC组比较, ^a $P < 0.05$.

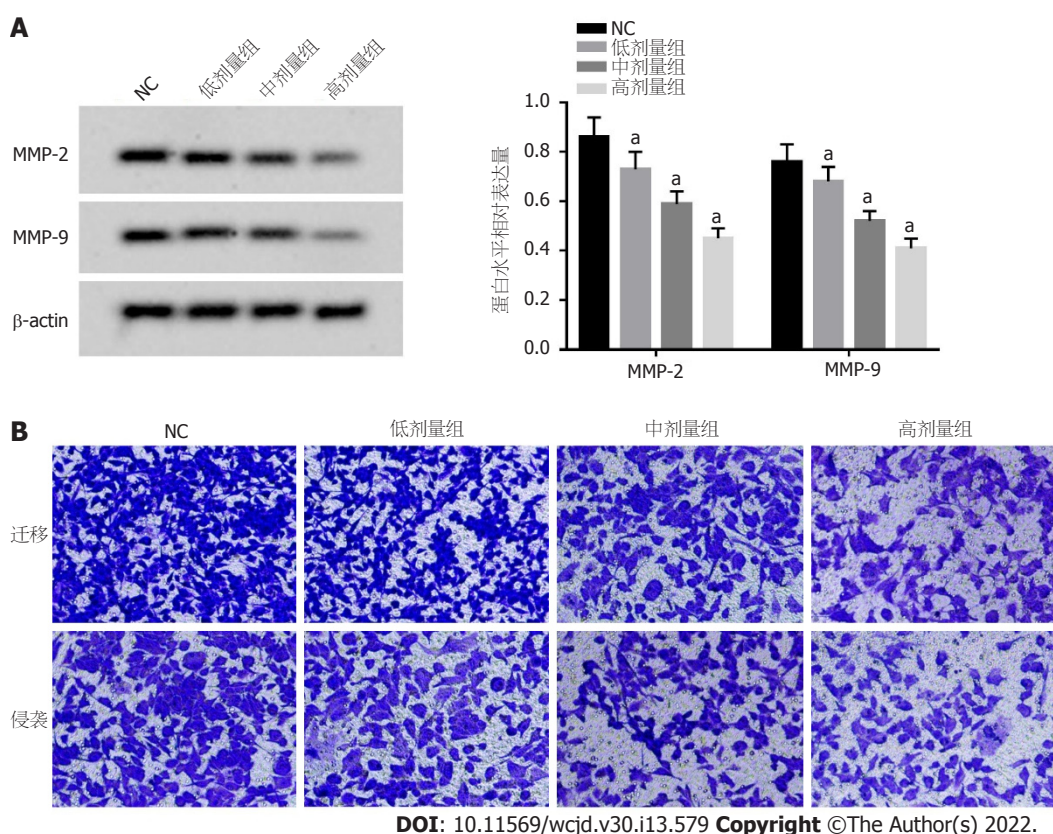
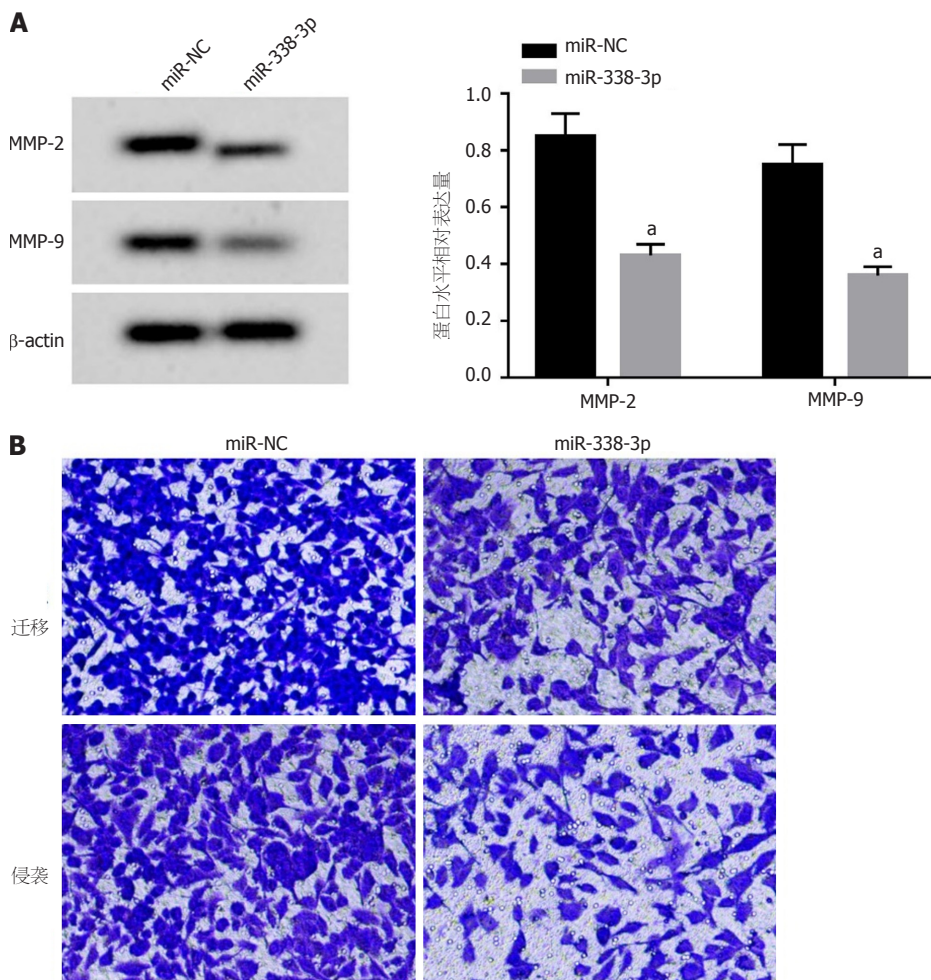


图 1 不同浓度山竹果皮中总氧杂蒽酮对AGS细胞增殖、迁移和侵袭的影响. A: Western Blot检测MMP2、MMP9蛋白的表达; B: Transwell检测AGS细胞迁移和侵袭; 与NC组比较, ^a $P < 0.05$; NC: 对照组; MMP-2: 基质金属蛋白酶-2; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9; β -actin: β 肌动蛋白; ^a $P < 0.05$, 与对照组比较.

胃癌发展^[14]. 本研究结果显示, 山竹果皮中总氧杂蒽酮处理后胃癌细胞中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的水平降低, 提示山竹果皮中总氧杂蒽酮可抑制胃癌细胞炎症反应进

而减缓胃癌发展进程.

miR-338-3p通过下调ADAM17而抑制人下咽癌细胞迁移和侵袭^[15]. miR-338-3p在胃癌中表达下调, 上调其



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.579 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 2 miR-338-3p抑制胃癌细胞AGS迁移和侵袭. A: Western Blot检测MMP2、MMP9蛋白的表达; B: Transwell检测AGS细胞迁移和侵袭; MMP-2: 基质金属蛋白酶-2; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9; β -actin: β 肌动蛋白; 与miR-NC组比较, $P < 0.05$.

表达可抑制胃癌细胞增殖及转移^[16]. miR-338-3p过表达可抑制肺癌细胞增殖及侵袭^[17]. 本研究结果显示, 山竹果皮中总氧杂蒽酮处理后胃癌细胞中miR-338-3p的表达量升高, 抑制miR-338-3p表达可拮抗山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞生物学行为的作用. 提示山竹果皮中总氧杂蒽酮可通过促进miR-338-3p表达而抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及炎症反应.

4 结论

综上所述, 山竹果皮中总氧杂蒽酮可通过上调miR-338-3p表达而抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及炎症反应进而减缓胃癌发展进程, miR-338-3p可能作为山竹果皮中总氧杂蒽酮治疗胃癌的潜在靶点. 但山竹果皮中总氧杂蒽酮是否可通过调控其他基因而发挥抗胃癌作用尚需进一步探究.

文章亮点

实验背景

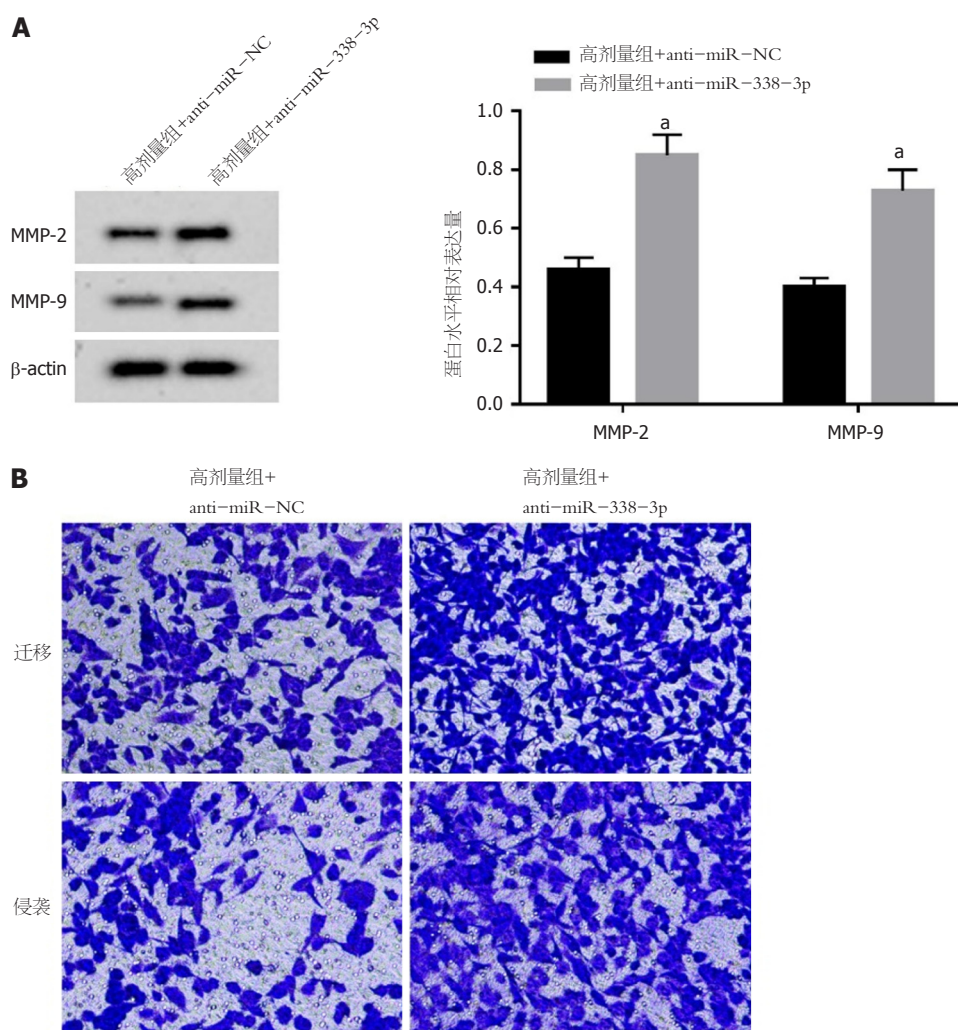
中药及其提取物对胃癌等肿瘤细胞增殖、转移等具有抑制作用, 但山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞生物学行为的影响及其可能作用机制尚未明确.

实验动机

山竹果皮中总氧杂蒽酮调节胃癌细胞生物学行为的机制尚未可知, 已知miR-338-3p可作为胃癌靶向治疗的潜在靶点, 但其与山竹果皮中总氧杂蒽酮相关性尚未可知.

实验目标

山竹果皮中总氧杂蒽酮可通过调控miR-338-3p表达影响胃癌细胞生物学行为.



DOI: 10.11569/wjcd.v30.i13.579 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 3 anti-miR-338-3p可以逆转山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞细胞AGS迁移、侵袭的影响. A: Western Blot检测MMP2、MMP9蛋白的表达; B: Transwell检测AGS细胞迁移和侵袭; MMP-2: 基质金属蛋白酶-2; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9; β -actin: β 肌动蛋白; 与高剂量组+anti-miR-NC组比较, ^a $P < 0.05$.

实验方法

以人胃癌细胞AGS为研究对象, 随机分组: NC组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、miR-NC组、miR-338-3p组、高剂量组+anti-miR-NC组、高剂量组+anti-miR-338-3p组; MTT法、Transwell实验分别检测细胞增殖、迁移及侵袭; ELISA法检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的水平; qRT-PCR法检测miR-338-3p的表达量

实验结果

山竹果皮中总氧杂蒽酮可抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及炎症反应, 并可促进miR-338-3p表达, 抑制miR-338-3p表达可减弱山竹果皮中总氧杂蒽酮对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及炎症反应的抑制作用.

实验结论

山竹果皮中总氧杂蒽酮可通过上调miR-338-3p表达而抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及炎症反应.

展望前景

山竹果皮中总氧杂蒽酮可能用于治疗胃癌, 减缓胃癌发展进程.

5 参考文献

- Zhang Q, Wang X, Cao S, Sun Y, He X, Jiang B, Yu Y, Duan J, Qiu F, Kang N. Berberine represses human gastric cancer cell growth in vitro and in vivo by inducing cytoskeletal autophagy via inhibition of MAPK/mTOR/p70S6K and Akt signaling pathways. *Biomed Pharmacother* 2020; 128: 110245 [PMID: 32454290 DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110245]
- Zhang X, Qin Y, Pan Z, Li M, Liu X, Chen X, Qu G, Zhou L, Xu M, Zheng Q, Li D. Cannabidiol Induces Cell Cycle Arrest and Cell Apoptosis in Human Gastric Cancer SGC-7901 Cells. *Biomolecules*

- 2019; 9 [PMID: 31349651 DOI: 10.3390/biom9080302]
- 3 Yuan M, Zou X, Liu S, Xu X, Wang H, Zhu M, Xie X, Wang H, Wu J, Sun Q. Modified Jian-pi-yang-zheng decoction inhibits gastric cancer progression via the macrophage immune checkpoint PI3K. *Biomed Pharmacother* 2020; 129: 110440 [PMID: 32768942 DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110440.]
- 4 Xu J, Chen Y, Yang R, Zhou T, Ke W, Si Y, Yang S, Zhang T, Liu X, Zhang L, Xiang K, Guo Y, Liu Y. Cucurbitacin B inhibits gastric cancer progression by suppressing STAT3 activity. *Arch Biochem Biophys* 2020; 684: 108314 [PMID: 32088220 DOI: 10.1016/j.ab.2020.108314]
- 5 麦惠如, 麦敬芳, 麦燕芳. 山竹果皮提取物抑制非小细胞肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究. *河北医药* 2020; 42: 56-59 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2020.18.011]
- 6 刘超, 王薇, 韩梅, 唐勇. miR-338-3p在胃癌组织中的表达及其意义. *新疆医科大学学报* 2016; 39: 308-311 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-5551.2016.03.011]
- 7 赖燕燕, 黄应雯, 黄丹琦, 伍兰岚, 罗彬尤, 李晓龙. 山竹果皮中总氧杂蒽酮对人鼻咽癌CNE2细胞增殖及凋亡的影响. *医药导报* 2016; 35: 20-24 [DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2016.01.006]
- 8 Yu J, Song S, Jiao J, Liu X, Zhu H, Xiu L, Sun D, Li Q, Yue X. ZiYinHuaTan Recipe Inhibits Cell Proliferation and Promotes Apoptosis in Gastric Cancer by Suppressing PI3K/AKT Pathway. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 2018162 [PMID: 32382534 DOI: 10.1155/2020/2018162.]
- 9 Li Y, Liu Y, Yao J, Li R, Fan X. Downregulation of miR-484 is associated with poor prognosis and tumor progression of gastric cancer. *Diagn Pathol* 2020; 15: 25 [PMID: 32192507 DOI: 10.1186/s13000-020-00946-8]
- 10 He X, Zou K. MiRNA-96-5p contributed to the proliferation of gastric cancer cells by targeting FOXO3. *J Biochem* 2020; 167: 101-108 [PMID: 31598681 DOI: 10.1093/jb/mvz080]
- 11 陈素华, 马天江, 张智慧, 张磊, 史磊. 山竹果皮总氧杂蒽酮通过调控肝癌增殖因子1表达抑制结肠癌细胞增殖并诱导凋亡. *癌症进展* 2020; 18: 1640-1644 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2020.18.16.07]
- 12 Taokaew S, Chiaoprakobkij N, Siripong P, Sanchavanakit N, Pavasant P, Phisalaphong M. Multifunctional cellulosic nanofiber film with enhanced antimicrobial and anticancer properties by incorporation of ethanolic extract of *Garcinia mangostana* peel. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2021; 120: 111783 [PMID: 33545910 DOI: 10.1016/j.msec.2020.111783]
- 13 Su YZ, Cui MF, Du J, Song B. LncRNA DCST1-AS1 regulated cell proliferation, migration, invasion and apoptosis in gastric cancer by targeting miR-605-3p. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2021; 25: 6827 [PMID: 34859842 DOI: 10.26355/eurev_202111_27225]
- 14 张振山, 姚天宇, 许迪. 幽门螺杆菌感染激活NF- κ B信号通路促进胃癌SGC-7901细胞炎症因子释放. *基因组学与应用生物学* 2019; 38: 493-498 [DOI: 10.13417/j.gab.038.000971]
- 15 Hong Y, Chen X, Liang Z, Xu Z, Li Y, Pan Y. MiR-338-3p inhibits cell migration and invasion in human hypopharyngeal cancer via downregulation of ADAM17. *Anticancer Drugs* 2020; 31: 925-931 [PMID: 32889897 DOI: 10.1097/CAD.0000000000000919]
- 16 Lu H, Zhang Q, Sun Y, Wu D, Liu L. LINC00689 induces gastric cancer progression via modulating the miR-338-3p/HOXA3 axis. *J Gene Med* 2020; 22: e3275 [PMID: 32926751 DOI: 10.1002/jgm.3275.]
- 17 Liu J, Cao L, Zhao N, Feng Y, Yu Z, Li Y, Teng C, Hu J, Li T. miR-338-3p inhibits A549 lung cancer cell proliferation and invasion by targeting AKT and β -catenin signaling pathways. *Mol Med Rep* 2019; 20: 33-40 [PMID: 31115502 DOI: 10.3892/mmr.2019.10215]

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》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,研究^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6,7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊:序号,作者(列出全体作者)。文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。

早期食管病变内镜黏膜下剥离术后辅助治疗人群的预测模型

古丽斯坦·阿布拉, 宋文轩, 刘航, 任祥凤, 陈鑫

古丽斯坦·阿布拉, 宋文轩, 刘航, 任祥凤, 陈鑫, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

古丽斯坦·阿布拉, 在读硕士研究生, 主要研究消化道早癌方向.

作者贡献分布: 此课题由古丽斯坦·阿布拉、陈鑫设计; 收集数据由宋文轩、刘航完成; 数据整理及统计学分析由古丽斯坦·阿布拉、任祥凤完成; 本文由古丽斯坦·阿布拉撰写; 陈鑫审校.

通讯作者: 陈鑫, 教授, 主任医师, 博士生导师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化内科. xchen03@tmu.edu.cn

收稿日期: 2022-04-08

修回日期: 2022-05-29

接受日期: 2022-06-01

在线出版日期: 2022-07-08

Prediction model for selection of adjuvant therapy population after endoscopic submucosal dissection for early esophageal lesions

Gulisitan Abula, Wen-Xuan Song, Hang Liu, Xiang-Feng Ren, Xin Chen

Gulisitan Abula, Wen-Xuan Song, Hang Liu, Xiang-Feng Ren, Xin Chen, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Xin Chen, Chief Physician, Doctoral Supervisor, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. xchen03@tmu.edu.cn

Received: 2022-04-08

Revised: 2022-05-29

Accepted: 2022-06-01

Published online: 2022-07-08

Abstract

BACKGROUND

Endoscopic treatment is the first choice for early esophageal

lesions without obvious metastasis or infiltration, especially endoscopic submucosal dissection (ESD). However, the occurrence of non-curative resection, recurrence, or metastasis after ESD is inevitable, which may require adjuvant therapy such as additional surgery or chemoradiotherapy.

AIM

To analyze the risk factors for additional surgery or chemoradiotherapy after ESD for early esophageal lesions, and explore the effect of curative resection on additional adjuvant therapy.

METHODS

Patients who underwent ESD for stage T1 esophageal cancer (EC) and precancerous lesions were analyzed retrospectively. Postoperative recurrence, metastasis, and adjuvant treatment were followed, and a prediction model for adjuvant treatment population selection was established.

RESULTS

Non-curative resection was correlated with patient age, proportion of lesions, and microscopic size ($P < 0.05$), among which the proportion of lesions $> 2/3$ (odds ratio [OR] = 7.958, $P = 0.007$) was an independent risk factor. Two of curative and ten of non-curative resection cases received additional treatment, indicating that further treatment after ESD might be required regardless of whether curative resection was performed. Patient age, proportion of lesions, lesion lifting, differentiation, vascular invasion, and tumor invasion depth were correlated with the need for further treatment ($P < 0.05$). Age ≥ 70 years (OR = 4.210, $P = 0.049$), poor lifting (OR = 18.171, $P = 0.047$), and depth of tumor up to SM2 (OR = 38.781, $P = 0.012$) were independent risk factors. The AUC of the nomogram model was 0.864 (95%CI: 0.766-0.962); the specificity and sensitivity were 95.8% and 75.0%, respectively. Calibration curve analysis, decision

curve analysis, and Hosmer and Lemeshow test ($\chi^2 = 1.5954$, $P = 0.991$) showed that the predictive value of the model was acceptable.

CONCLUSION

For patients with stage T1 EC and precancerous lesions, whether further surgery or chemoradiotherapy is needed after ESD should be comprehensively considered.

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

Key Words: Esophageal cancer; Precancerous lesions; Endoscopic submucosal dissection; Noncurative resection; Nomogram

Citation: Abula G, Song WX, Liu H, Ren XF, Chen X. Prediction model for selection of adjuvant therapy population after endoscopic submucosal dissection for early esophageal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(13): 587-598
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/587.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.587>

摘要 背景

早期食管病变在无明显转移或浸润时均可以首选内镜下治疗, 尤其是内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD), 然而术后非治愈性切除、复发或转移等不良事件的发生是不可避免的, 可能需要追加手术或放化疗等辅助治疗。

目的

分析ESD治疗早期食管病变后需要追加手术或放化疗的危险因素, 并探讨治愈性切除对追加辅助治疗的影响。

方法

回顾性分析本中心因T1期食管癌及癌前病变行ESD者, 随访患者术后复发、转移以及辅助治疗的情况, 并建立辅助治疗人群选择的预测模型。

结果

患者年龄、病灶环周比例、镜下大小与ESD术后非治愈性切除相关($P < 0.05$), 而且环周比例 $>2/3$ (OR = 7.958, $P = 0.007$)是独立危险因素。治愈性/非治愈性切除者中分别有2例/10例追加了手术或放化疗, 即不论是否为治愈性切除均有辅助治疗者。年龄、环周比例、病灶抬举情况、分化情况、脉管侵袭、浸润深度等与ESD术后需要辅助治疗相关($P < 0.05$), 年龄 ≥ 70 岁(OR = 4.210, $P = 0.049$)、病灶抬举不良(OR = 18.171, $P = 0.047$)、浸润至SM2层(OR = 38.781, $P = 0.012$)是独立危险因素。列线图模型的曲线下面积为0.864(95%CI: 0.766-0.962), 特异度和灵敏度分别为

95.8%和75.0%, 校准曲线、决策曲线、Hosmer and Lemeshow检验($\chi^2 = 1.5954$, $P = 0.991$)等显示该模型预测价值尚可。

结论

T1期食管癌及癌前病变者在ESD术后不能仅靠病理为非治愈性而追加手术或放化疗, 而应结合患者情况、内镜表现及术后病理等综合评估。

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

关键词: 食管癌; 癌前病变; 内镜黏膜下剥离术; 非治愈性切除; 列线图

核心提要: T1期食管癌及癌前病变患者内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)术后不论是治愈性或非治愈性切除均可能需要进一步追加手术或放化疗, 而患者年龄较大、病灶抬举不良、浸润至SM2层等可增加需要辅助治疗的风险。

文献来源: 古丽斯坦·阿布拉, 宋文轩, 刘航, 任祥凤, 陈鑫. 早期食管病变内镜黏膜下剥离术后辅助治疗人群的预测模型. *世界华人消化杂志* 2022; 30(13): 587-598

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/587.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.587>

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是消化系统常见的恶性肿瘤^[1], 其早期患者多无症状, 有症状而就诊时已发展到中晚期^[2], 因此早诊早治是目前提高食管癌生存率、降低死亡率的有效途径。随着消化内镜学的不断发展, 近年来对T1期食管癌及其癌前病变行内镜下治疗已成为趋势, 研究显示其5年生存率可达85%-95%^[3,4], 且与外科手术疗效相当^[3,5,6], 具有创伤小、痛苦少、恢复快的优势。因此, 目前只要是早期无明显转移或浸润的食管癌患者均首选内镜治疗。ESD是内镜下黏膜切除(endoscopic mucosal resection, EMR)基础上逐渐发展起来的新技术, 可以对较大的病灶实现整体切除并进行精确的组织学检查, 优于EMR^[7-9]。但ESD术后非治愈性切除、复发、转移等不良事件的发生仍然是不可避免的^[10]。

近期指南表明, ESD术后非治愈性切除者, 应进一步追加外科根治术或放化疗等辅助治疗, 从而预防复发或转移的发生^[11]。然而, 在临床工作中也常发现对这类患者进行补救外科手术治疗后经病理学评估证实无局部残留或淋巴结转移证据。因此, 目前对于未达到治愈性切除的患者, 其诊疗管理尚存在较大争议, 是否需要追加治疗以及选择适合辅助治疗的人群是临床医师面临

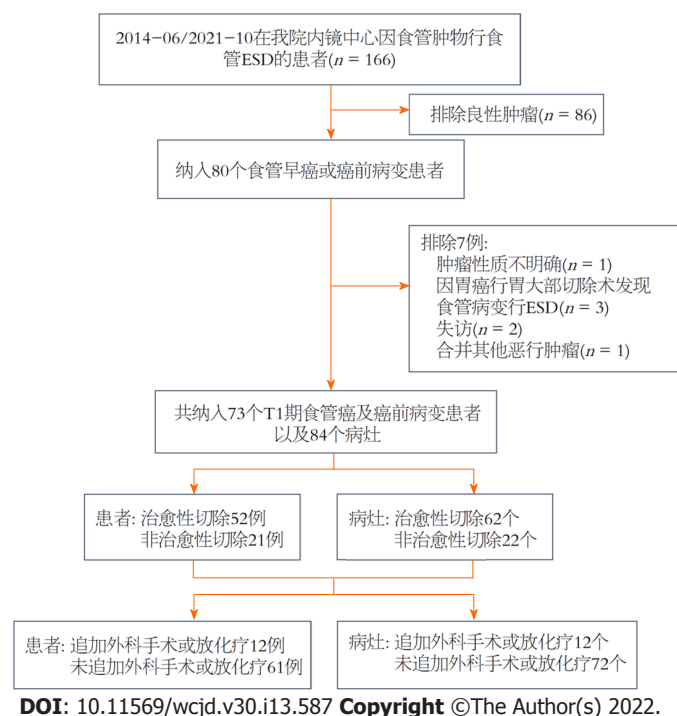


图1 研究对象纳入流程图. ESD: 内镜黏膜下剥离术.

的主要问题. 而且, 结合患者一般情况、术中表现及术后病理结果来预测术后是否应该追加辅助治疗必要性的研究较少.

故本研究对73例T1期食管癌及癌前病变患者的临床病理特征情况进行了回顾性分析, 并长期随访这些患者, 建立了ESD术后需要进行辅助治疗人群的选择的预测模型, 给临床医师提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料

回顾性分析本中心自2014-06/2021-10行食管ESD手术, 术后经病理证实为T1期食管癌及癌前病变的患者. 纳入标准: (1)术前经超声内镜、放大内镜、组织活检等初步判断为符合内镜下切除的绝对或相对适应症; (2)经CT或B超考虑为cN0; (3)患者资料完整. 排除标准: (1)既往有明确的胃癌或食管癌病史; (2)合并其他恶性肿瘤; (3)有淋巴结转移或远处转移(流程图见图1).

所有纳入本研究的患者术前均详细告知其ESD和传统外科食管全切除术两种方法的利弊及可能发生的潜在风险、远期并发症等, 所有患者均为自愿选择ESD治疗并签署知情同意书.

收集内容包括患者一般资料、病灶特征、病理结果、随访情况等, 患者经门诊或电话进行随访, 门诊随访以复查内镜检查为主, 电话随访内容包括患者术后一般情况、复查情况(是否复发、转移)、是否追加手术或放化疗等情况. 随访截止时间到2021-10.

1.2 方法

1.2.1 ESD步骤:

ESD术前所有患者均完善肠道准备, 有条件者行全身麻醉. 使用内镜(GIF-H260; 日本Olympus公司)进行ESD, 放大内镜、窄带成像等再一次明确病灶情况, 用高频电刀(ERBE ICC-200; 爱尔博电子医疗仪器公司)、氩气高频电刀(CV-2000Y; 康威电子技术有限公司)等黏膜下标记并逐步剥离病灶. 切除后的标本用细针固定, 标记口侧或肛侧, 10%福尔马林固定, 送至病理检查. 所有内镜检查及ESD手术均由经验丰富的内镜医师进行.

1.2.2 组织病理学评估:

病理医师将固定后的标本用1%-5%碘溶液染色, 以显示黏膜表面不染色区域, 明确病变范围. 以2毫米间隔连续平行切片, 进行脱水、浸蜡、石蜡包埋等制片处理, 行常规HE染色, 并对切除的标本进行准确的病理诊断. 诊断内容包括标本大小、病变大小、组织学类型、浸润深度、切缘情况、脉管侵犯情况等.

1.2.3 变量定义:

肿瘤浸润深度: 肿瘤局限于黏膜层者称为M期癌, 浸润至黏膜下层未达固有肌层者称为SM期癌. 内镜下分型: 根据早期食管癌巴黎分型可分为3种类型, 即0-I型(隆起型)、0-II型(平坦型)、0-III型(凹陷型). 0-II型又可分为0-IIa型(浅表隆起型)、0-IIb型(完全平坦型)型和0-IIc型(浅表凹陷型). 整块切除: 病灶在内镜下被整块切除并获得单块标本. 完全切除/R0切除: 内镜下切除标本的侧切缘和基底切缘均无肿瘤

表 1 治愈性与非治愈性切除的特征比较

	治愈性切除($n = 62$)	非治愈性切除($n = 22$)	P 值
年龄, $n(\%)$			0.005
<70岁	55(88.7%)	13(59.1%)	
≥ 70 岁	7(11.3%)	9(40.9%)	
环周比例, $n(\%)$			<0.001
<1/2	44(71.0%)	5(22.7%)	
1/2–2/3	11(17.7%)	6(27.3%)	
>2/3	7(11.3%)	11(50.0%)	
病灶位置, $n(\%)$			0.381
胸上段	4(5.5%)	2(9.1%)	
胸中段	33(53.2%)	8(36.4%)	
胸下段	25(40.3%)	12(54.5%)	
镜下病灶大小, $n(\%)$			0.041
<2 cm	42(67.7%)	9(40.9%)	
≥ 2 cm	20(32.3%)	13(59.1%)	
外观形态, $n(\%)$			0.857
I 型	4(6.5%)	1(4.5%)	
0–II a型	16(25.8%)	5(22.7%)	
0–II b型	27(43.5%)	8(36.4%)	
0–II c型	4(6.5%)	2(9.1%)	
多类型	11(17.7%)	6(27.3%)	
伴有溃疡, $n(\%)$			0.219
无	38(61.3%)	10(45.5%)	
有	24(38.7%)	12(54.5%)	
病灶抬举情况, $n(\%)$			0.371
良好	58(93.5%)	19(86.4%)	
不良	4(6.5%)	3(13.6%)	

残留。治愈性切除: (1)属于R0切除; (2)黏膜内癌或黏膜下层浸润深度不超过200 μm (SM1)的黏膜下癌; (3)无脉管浸润; (4)组织学类型为高、中分化。当不满足上述四项中的任意一项即可定义为非治愈性切除。残留: 术后6 mo以内原切除部位及周围1 cm内黏膜发现肿瘤病灶。局部复发: 手术6 mo以后在原切除部位及周围1 cm内黏膜发现肿瘤病灶。异时性癌: 指EGC内镜治疗12 mo后, 原发部位外的新发肿瘤。

统计学处理 利用独立样本 t 检验、 u 检验、 χ^2 检验或 F 检验等比较各组之间的差异, 通过Logistic回归模型分析非治愈性切除及ESD术后需要追加手术或放化疗的危险因素, 并通过列线图预测模型将适合辅助治疗人群进行可视化。采用一致性指数(C-index)、受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)及其曲线下面积(area under the curve, AUC)、校准曲线和Hosmer and Lemeshow检验等对该模型进行内部验证并评价模型预测能力, 用临床决策曲线评价该模型的临床实用性。所有检验结果 $P < 0.05$ 即定义为有统计学意义。所有的统计分析均使用了26.0版

SPSS(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)和R语言(R version 4.1.2 for windows)完成。

2 结果

2.1 患者及病灶基线特征 最终将73例患者、84个病灶(65例是单个病灶、5例为2个病灶、3例为3个病灶)纳入本研究中, 其中男性54例(74%)、女性19例(26%), 平均年龄 64.55 ± 7.913 , 病灶整块切除率为84/84(100%), R0切除率为72/84(85.7%), 治愈性切除率为62/84(73.8%), 手术总时长 $65.0(42, 103)$ min。病理结果示癌前病变62例(74.7%), T1期鳞癌20例(24.1%), 腺癌1例(1.2%), 分化差者5例(6.0%), 肿瘤局限在黏膜层者69例(82.1%), 浸润至黏膜下层者15例(17.9%), 切缘阳性12例(14.3%), 脉管侵袭阳性3例(3.6%)。

2.2 治愈性和非治愈性切除 将84个病灶分为治愈性切除组($n = 62$)和非治愈性切除组($n = 22$), 对两组在ESD术前病人情况及ESD术中镜下病灶特征方面进行比较, 并将有统计学意义的因素纳入二元Logistic回归模型中(表1)。首先, 单因素Logistic回归结果显示, 年龄 ≥ 70 岁、

表 2 非治愈性切除的二元Logistic回归分析结果

	单因素分析			多因素分析		
	OR	95CI%	P值	OR	95CI%	P值
年龄						
<70岁	1.000	—		1.000	—	
≥70岁	5.440	1.709–17.317	0.004	2.824	0.710–11.225	0.140
性别						
男	1.000	—				
女	1.944	0.650–5.820	0.234			
环周比例						
<1/2	1.000	—		1.000	—	
1/2–2/3	4.800	1.234–18.671	0.024	3.128	0.708–13.827	0.133
>2/3	13.829	3.678–52.986	<0.001	7.958	1.757–36.053	0.007
病灶抬举						
阳性	1.000	—				
不良	2.289	0.470–11.161	0.305			
病灶位置						
胸上段	1.000	—				
胸中段	0.485	0.075–3.130	0.447			
胸下段	0.960	0.154–5.994	0.965			
镜下大小						
<2 cm	1.000	—		1.000	—	
≥2 cm	3.033	1.113–8.270	0.030	1.682	0.486–5.822	0.420
外观形态						
I型	1.000	—				
IIa型	1.250	0.112–13.924	0.856			
IIb型	1.185	0.115–12.169	0.886			
IIc型	2.000	0.125–31.975	0.624			
多类型	2.182	0.197–24.208	0.525			
伴有溃疡						
无	1.000	—				
有	1.900	0.711–5.075	0.200			

“—”：参考；CI：置信区间；OR：比值比。

环周比例1/2-2/3、病灶大小≥2 cm与非治愈性切除相关($P<0.05$)，其中，病灶环周比例>2/3具有显著相关性($P<0.01$)。将上述影响因素纳入多元Logistic回归分析后显示，病灶环周比例>2/3食管管壁是T1期食管癌及癌前病变ESD术后非治愈性切除的独立危险因素(表2)。

2.3 追加手术或放化疗

2.3.1 追加辅助治疗的情况及原因：对所有纳入研究的患者进行长期随访，中位随访时间39 mo，最长随访时间86 mo。病灶残留率8/73(10.9%)，局部复发率3/73(4.1%)，远处脏器转移率2/73(2.7%)，死亡率4/73(5.5%)。12例(16.4%)于ESD术后追加手术或放疗，5例追加外科手术，7例追加放疗，具体追加治疗原因及情况见表3。追加组和未追加组死亡率(16.7% vs 3.3%， $P=0.124$)之间无统计学差异。

21例非治愈性切除患者有10例追加治疗，而52例治

愈性切除者中有2例追加补救治疗，即治愈性和非治愈性切除患者中均有进一步手术或放化疗者。

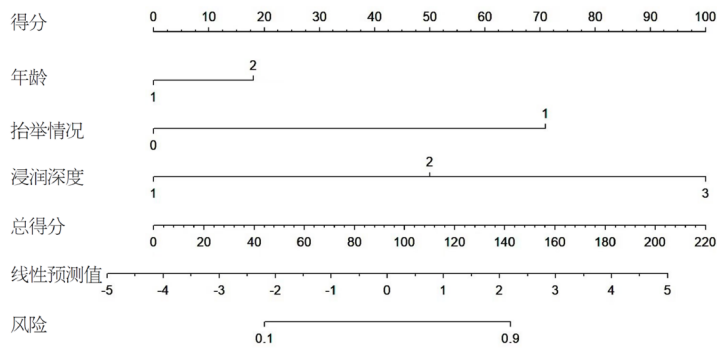
2.3.2 追加和未追加组之间的比较：本研究进一步将追加($n=12$)和未追加手术或放化疗组($n=72$)的病灶情况进行了比较，发现两组在年龄、环周比例、病灶抬举情况、肿瘤分化、肿瘤浸润深度等方面具有统计学差异($P<0.05$)，其中肿瘤分化情况以及肿瘤浸润深度具有显著相关性($P<0.01$)，表4。

2.3.3 追加辅助治疗的危险因素分析：单因素Logistic分析结果显示，肿瘤浸润深度达SM2层与ESD术后需要进一步手术或放化疗显著相关($P<0.001$)，除此之外，年龄≥70岁、环周比例>1/2、病灶抬举不良、肿瘤分化不良、脉管侵袭阳性、肿瘤浸润至SM层与ESD术后需要进一步手术或放化疗相关($P<0.05$)。而多因素Logistic回归分析

表 3 12例追加手术或放化疗患者的情况及原因

编号	病灶抬举	病理类型	浸润深度	切缘	脉管侵袭	治愈性	追加治疗类型	原因
1	+	高 ¹	M3	+	-	非 ⁶	放疗	转移
2	-	原 ²	M1	+	-	非	外科手术	残留
3	+	原	M3	-	-	是 ⁷	外科手术	残留, 浸润至SM2
4	-	中 ³	SM2	+	+	非	外科手术	残留
5	+	低 ⁴	SM2	-	-	非	放疗	残留
6	+	低	SM2	-	-	非	放疗	异时性癌
7	+	低	SM2	-	-	非	外科手术	复发
8	+	中腺 ⁵	SM2	-	+	非	放疗	残留
9	-	低	SM2	-	-	非	外科手术	复发
10	-	中	SM1	-	-	是	放疗	肺转移
11	+	中	SM2	-	-	非	放疗	残留
12	+	中	SM2	+	-	非	放疗	残留

¹: 高分化鳞癌; ²: 原位癌; ³: 中分化鳞癌; ⁴: 低分化鳞癌; ⁵: 中分化腺癌; ⁶: 非治愈性切除; ⁷: 治愈性切除.



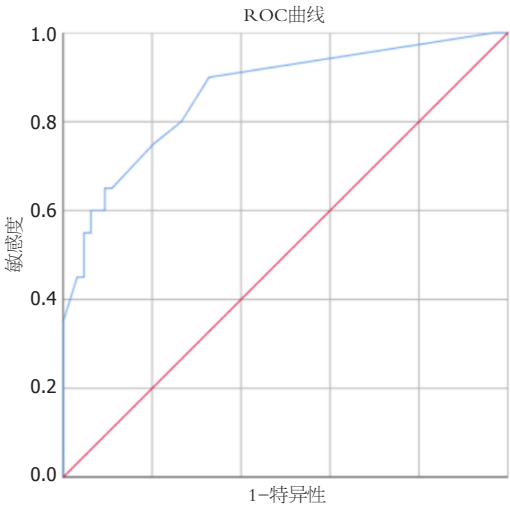
DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.587 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 2 ESD术后需要追加手术或放化疗的列线图预测模型. 变量: 年龄1: <70岁, 年龄2: ≥70岁; 病灶抬举情况: 0: 良好, 1: 不良; 肿瘤浸润深度: 1: M层, 2: SM1层, 3: SM2层. ESD: 内镜黏膜下剥离术.

结果显示, 患者年龄≥70岁、术中病灶抬举不良、肿瘤浸润深度达SM2层是T1期食管癌及癌前病变ESD术后需要进一步追加辅助治疗的独立危险因素, 表5.

2.3.4 列线图预测模型的建立: 本研究用上述多因素Logistic回归分析后 $P<0.05$ 的变量(包括年龄、术中病灶抬举情况、肿瘤浸润深度)建立列线图模型(图2). 模型中每个变量的不同指标分别对应相应的得分, 比如: 一个患者年龄在70岁以上为18分, ESD术中发现该患者病灶抬举不良为72分、术后病理结果示浸润深度达SM2层为100分, 则总分为190分, 说明该患者有90%以上的可能性需要在ESD术后进一步辅助治疗, 否则可能会导致复发、转移等不良事件发生率的增加.

2.3.5 预测模型的内部验证及评价: 该模型的一致性指数为0.923(95%CI: 0.822-1.000), ROC曲线(图3)的AUC为0.864(95%CI: 0.766-0.962), 特异度和灵敏度分别为95.8%和75.0%, 说明该模型具有良好的区分度. Hosmer and



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i13.587 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 3 列线图预测模型的ROC曲线. ROC: 受试者工作特征曲线.

表 4 追加和未追加外科手术或放化疗的病灶特征比较

	总计	未追加组	追加组	P值
年龄				0.046
<70岁	68(81.0%)	61(84.7%)	7(58.3%)	
≥70岁	16(19.0%)	11(15.3%)	5(41.7%)	
病灶位置				0.244
上	6(7.1%)	6(8.3%)	0(0%)	
中	41(48.8%)	37(51.4%)	4(33.3%)	
下	37(44.0%)	29(40.3%)	8(66.7%)	
环周比例				0.002
<1/2	49(58.3%)	47(65.3%)	2(16.7%)	
1/2–2/3	17(20.2%)	13(18.1%)	4(33.3%)	
>2/3	18(21.4%)	12(16.7%)	6(50.0%)	
外观形态				0.250
I 型	5(6.0%)	4(5.6%)	1(8.3%)	
II a型	21(25.0%)	19(26.4%)	2(16.7%)	
II b型	35(41.7%)	32(44.4%)	3(25.0%)	
II c型	6(7.1%)	5(6.9%)	1(8.3%)	
多分型	17(20.2%)	12(16.7%)	5(41.7%)	
伴有溃疡				1.000
无	48(57.1%)	41(56.9%)	7(58.3%)	
有	36(42.9%)	31(43.1%)	5(41.7%)	
抬举情况				0.007
阳性	77(91.7%)	69(95.8%)	8(66.7%)	
不良	7(8.3%)	3(4.2%)	4(33.3%)	
分化情况				<0.001
良好	79(94.0%)	71(98.6%)	8(66.7%)	
不良	5(6.0%)	1(1.4%)	4(33.3%)	
肿瘤浸润深度				<0.001
M1	53(63.1%)	52(72.2%)	1(8.3%)	
M2	10(11.9%)	10(13.9%)	0(0%)	
M3	6(7.1%)	5(6.9%)	1(8.3%)	
SM1	3(3.6%)	1(1.4%)	2(16.7%)	
SM2	12(14.3%)	4(5.6%)	8(66.7%)	
肿瘤大小				0.478
<10 mm	10(11.9%)	10(13.9%)	0(0%)	
10 mm–20 mm	41(48.8%)	35(48.6%)	6(50.0%)	
20 mm–30 mm	16(19.0%)	14(19.4%)	2(16.7%)	
>30 mm	17(20.2%)	13(18.1%)	4(33.3%)	
切缘				0.064
(–)	72(85.7%)	64(88.9%)	8(66.7%)	
(+)	12(14.3%)	8(11.1%)	4(33.3%)	
距水平切缘(mm)	3.0(2.0,5.0)	3.0(2.0,8.0)	5.0(2.0,6.5)	0.531
距垂直切缘(mm)	0.8(0.23,5.0)	5.0(0.8,8.0)	0.55(0.2,3.9)	0.568
脉管侵袭				0.052
(–)	81(96.4%)	71(98.6%)	10(83.3%)	
(+)	3(3.6%)	1(1.4%)	2(16.7%)	
治愈性切除				<0.001
是	62(73.8%)	60(83.3%)	2(16.7%)	
否	22(26.2%)	12(16.7%)	10(83.3%)	

表 5 需要追加手术或放化疗的危险因素分析

	单因素分析			多因素分析		
	OR	95%CI	P	OR	95%CI	P
年龄						
<70岁	1.000	—		1.000	—	
≥70岁	3.961	1.063–14.754	0.040	4.210	2.219–39.691	0.049
环周比例						
<1/2	1.000	—		1.000	—	
1/2–2/3	7.231	1.189–43.967	0.032	6.047	0.238–153.118	0.275
>2/3	11.750	2.101–65.703	0.005	5.111	0.197–132.306	0.326
抬举情况						
阳性	1.000	—		1.000	—	
不良	11.500	2.173–60.867	0.004	18.171	1.044–316.387	0.047
分化程度						
良好	1.000	—		1.000	—	
不良	35.500	3.524–357.643	0.002	5.081	0.177–146.072	0.343
浸润深度						
M	1.000	—		1.000	—	
SM1	67.000	4.148–1082.278	0.003	45.428	0.735–2807.22	0.070
SM2	67.000	10.546–425.660	<0.001	38.781	2.221–677.322	0.012
脉管侵袭						
(–)	1.000	—		1.000	—	
(+)	14.200	1.177–171.282	0.037	8.475	0.065–1102.47	0.390

“—”：参考；CI：置信区间；OR：比值比。

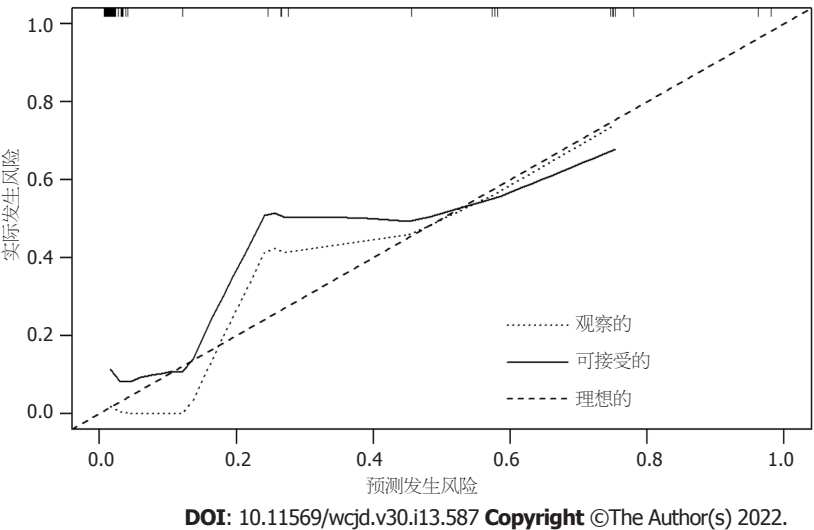


图 4 预测模型的校准曲线。

Lemeshow检验($\chi^2 = 1.5954$, 自由度 = 8, $P = 0.991$)表示该模型具有良好的拟合度。模型校准曲线(图4)显示与离线曲线拟合度尚可, 说明模型具有一定的预测价值。决策曲线(图5)显示该模型具有良好临床实用性。

3 讨论

食管癌是全球范围内死亡率较高的消化道癌症之一^[1],

治疗效果差^[12-14], 早诊早治是目前提高食管癌治疗效果的最有效途径。在过去, 根治性切除术伴淋巴结清扫一直是治疗早期食管肿瘤的金标准, 然而它与术后较高的死亡率相关^[15]。而近年来对于T1期食管癌及其癌前病变行内镜下治疗已经成为趋势, 根据研究报道显示其5年生存率与外科手术相当^[3,5], 而且具有保留正常的消化道结构、创伤小、恢复快、花费低、住院时间短、易

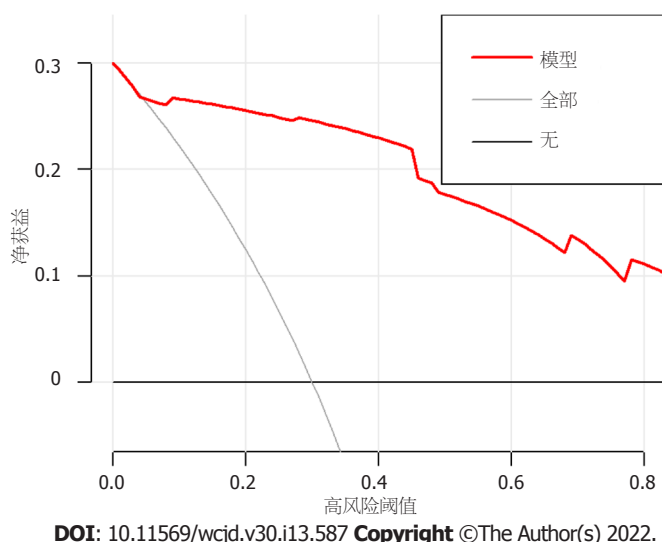


图5 预测模型的决策曲线。

于被人们接受等优点。其中, EMR和ESD的应用最广泛, ESD又优于EMR, 因为ESD可以对较大的病灶实现整体切除^[7-9,16], 从而获得包括肿瘤浸润深度、分化程度和是否有淋巴管或血管浸润在内的病理信息。因此, 目前对于较大的病灶, 只要无ESD相对或绝对禁忌症, 均可行ESD治疗。然而, 其术后非治愈性切除、复发、转移等不良事件的发生仍然是不可避免的^[10]。最近的指南表明, ESD术后为非治愈性切除的患者, 需要进一步追加外科手术或放化疗, 从而预防复发、转移的发生^[11]。然而, 结合患者情况、镜下病灶情况及术后病理结果来预测追加治疗必要性的研究较少, 因此我们开展了这项研究。首先, 在本研究中病灶的完整切除率为72/84(85.7%), 整块切除率为84/84(100%), 治愈性切除率为62/84(73.8%)。而根据国内外报道, 其完整切除率、整块切除率、治愈性切除率分别为96.35% vs 84.5%、98.96% vs 96.7%、92.45% vs 76.20%^[19,20], 本中心的疗效与国内有所差别, 可能是因为本研究样本量少、技术发展情况等相关。

本研究中发现22个非治愈性病灶中有12个切缘阳性、3个脉管侵袭阳性、5个肿瘤分化不良、11个浸润深度至SM2层, 与治愈性切除组相比均具有统计学差异($P<0.05$)。这与以前的研究结果类似^[18,21], 他们的结果均提示这四项与非治愈性切除明显相关。而本研究主要基于是否能内镜下即判断该患者的治愈性/非治愈性结果, 于是将术中病灶情况纳入回归分析后发现, 患者年龄 >70 岁、环周比例 $>1/2$ 、镜下病灶大小 >2 cm与非治愈性切除相关, 而环周比例 $>2/3$ 是独立危险因素。首先, 纳入本研究的患者中年龄 >70 岁者占19%, 有高龄化趋势, 然而也不除外由选择偏倚引起的^[22], 因为年龄较大的患者手术风险较高, 更倾向于选择内镜下治疗。其次, 研究

表明非治愈性切除的可能性随着肿瘤大小的增加而增加^[22,23], 这与本研究的结果类似, 可能是因为肿瘤越大、手术剥离难度越大。最后, 本研究认为病灶实际环周比例可能比内镜医师判断的环周比例更大, 标记及切除范围过小, 导致病灶残留。因此建议ESD前应充分利用色素内镜、NBI、FICE、EUS等明确及准确标记病变范围, 提高治愈性切除率。

既往有研究指出, 表浅性食管癌在ESD术后发现切缘阳性、肿瘤大小较大、浸润深度较深, 会导致非治愈性切除, 这时就需要接受外科手术或放化疗等辅助治疗^[18,23,24]。然而在本研究中, 21例非治愈性切除者中, 最终追加治疗的只有10例, 11例未追加者在后续随访中也未发现复发或转移, 52例治愈性切除者中却有2例因复发和转移等原因而追加治疗。因此, 结合本研究结果认为治愈性切除者也存在复发、或转移的风险, 判断ESD术后是否需要进一步治疗不能仅靠ESD术后为非治愈性切除而决定。

于是本研究抛开治愈或非治愈因素, 对ESD术后追加和未追加治疗的患者进行了分析, 发现73例中有8例残留、3例局部复发、2例远处转移, 其中12例追加了辅助治疗, 5例追加外科手术, 7例追加放疗。我们进一步分析需要追加辅助治疗的危险因素, 发现年龄 ≥ 70 岁、环周比例 $>1/2$ 、病灶抬举不良、肿瘤分化不良、脉管侵袭阳性、肿瘤浸润深度达SM2层等与ESD术后需要追加辅助治疗相关, 其中, 肿瘤浸润至SM2层具有显著相关性($P<0.01$)。而多因素分析发现, 年龄 ≥ 70 岁、术中病灶抬举不良、肿瘤浸润深度达SM2层是独立危险因素。认为该结果的原因可能有几种, (1)Qi等人^[25]指出在中国 ≥ 60 岁者往往拒绝辅助治疗, 因为其副作用会使人衰弱, 然

而Yamashina等^[26]指出年龄是影响ESD术后生存率的独立危险因素。本中心认为, 虽然大龄患者追加外科手术或放化疗的副作用大, 但是未追加者生存率可能更低; (2)由于在行ESD前, 都会常规行内镜+活检以判断肿瘤的性质, 然而先前的这种操作会导致黏膜下组织发生纤维化、粘连等, 导致ESD时病灶抬举不充分, 甚至导致切除不干净; (3)已有大量研究表明肿瘤浸润深度与ESD术后的生存、复发及转移等密切相关^[18,27], 这与我们的结果类似。因此, 本研究认为, 病理结果发现肿瘤浸润至SM2层时需要追加辅助治疗。

在既往研究中已有学者表明内镜治疗后放化疗辅助是早期食管癌的一种替代治疗选择^[28], 而且与外科手术有相当的总体生存率^[29,30]。内镜下可切除主要的病变并确定浸润深度, 而放化疗可通过对肿瘤浸润风险的区域淋巴结、阳性切缘或深部病变进行局部控制, 从而提高生存率^[28,31-33]。在我们的研究中, 有7例行放疗治疗, 由于随访时间较短, 我们没能得到放疗后长期治疗的效果, 后续我们将进行大中心、长期随访的研究来证实ESD术后放化疗的疗效。

本研究存在一定的局限性值得讨论。首先, 这是一项单中心、样本量少的回顾性研究, 研究设计可能存在选择和信息偏差, 而且有几名患者因失访或资料缺失而被排除, 最终纳入研究的患者数量比较少, 导致我们的统计学结果中OR值及95%CI等较大。其次, 部分患者于外院行内镜复查以及辅助治疗, 电话随访其复查及辅助治疗的结果可能导致了纳入资料的准确性受到一定的影响。最后, 由于研究的局限性, 我们的模型的结果应谨慎解释。

4 结论

T1期食管癌及癌前病变患者在ESD术后仍然具有一定的复发、转移等风险, 可能需要进一步追加外科根治性手术或放化疗等辅助治疗, 从而减少不良事件的发生, 降低肿瘤进展及死亡率。然而, 临床上不能仅靠ESD术后病理结果为非治愈性切除而决定下一步治疗方案, 而是应结合患者术前情况、内镜下表现及术后病理结果等综合评估需要辅助治疗的必要性。

文章亮点

实验背景

食管癌是死亡率较高的一种消化系统肿瘤, 早诊早治可提高患者生存率。目前对于T1期食管癌及癌前病变且无远处或淋巴结转移的患者均可首选内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)治疗, 然而多项研究表明ESD后可能会发生非治愈性切除、复发或转移,

而是否需要追加辅助治疗以及选择辅助治疗人群的研究较少。

实验动机

探讨T1期食管癌及癌前病变患者ESD术后需要追加辅助治疗的危险因素, 并分析治愈性切除对追加辅助治疗的影响, 为选择适合辅助治疗人群提供思路。

实验目标

建立ESD术后适合辅助治疗人群的选择的预测模型, 给临床医师提供参考依据。

实验方法

通过回顾性分析非治愈性切除及ESD术后需要追加手术或放化疗的危险因素, 建立列线图预测模型将适合辅助治疗人群进行可视化, 并对该模型进行内部验证、评价模型预测能力以及临床实用性。

实验结果

早期食管病变ESD术后不论是否为治愈性切除均可能需要追加辅助治疗, 患者年龄较大、术中病灶抬举不良、肿瘤浸润至SM2层等可增加需要辅助治疗的概率。

实验结论

本研究结果与既往指南有所差异, 比如指南建议T1期食管病变ESD术后为非治愈性切除者, 则需追加外科手术或放化疗来预防复发转移, 而本研究发现不论是否为治愈性切除均可能需要追加治疗。因此临床上应结合患者情况、镜下表现及术后病理等综合评估追加治疗的必要性, 对于不同的早期食管病变患者, 应个体化识别其高危因素并指导治疗进一步方案。

展望前景

目前对早期食管病变ESD术后追加治疗必要性的研究较少, 需进一步多中心大样本的临床研究进一步论证, 从而在临床上更快更准确的识别适合辅助治疗的人群, 使患者获益。

5 参考文献

- 1 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71: 209-249 [PMID: 33538338 DOI: 10.3322/caac.21660]
- 2 Smyth EC, Lagergren J, Fitzgerald RC, Lordick F, Shah MA, Lagergren P, Cunningham D. Oesophageal cancer. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3: 17048 [PMID: 28748917 DOI: 10.1038/nrdp.2017.48]
- 3 Nishizawa T, Suzuki H. Long-Term Outcomes of Endoscopic Submucosal Dissection for Superficial Esophageal Squamous

- Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 33023117 DOI: 10.3390/cancers12102849]
- 4 Nagami Y, Ominami M, Shiba M, Minamino H, Fukunaga S, Kameda N, Sugimori S, Machida H, Tanigawa T, Yamagami H, Watanabe T, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T. The five-year survival rate after endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal squamous cell neoplasia. *Dig Liver Dis* 2017; 49: 427-433 [PMID: 28096057 DOI: 10.1016/j.dld.2016.12.009]
- 5 Min YW, Lee H, Song BG, Min BH, Kim HK, Choi YS, Lee JH, Hwang NY, Carriere KC, Rhee PL, Kim JJ, Zo JI, Shim YM. Comparison of endoscopic submucosal dissection and surgery for superficial esophageal squamous cell carcinoma: a propensity score-matched analysis. *Gastrointest Endosc* 2018; 88: 624-633 [PMID: 29750981 DOI: 10.1016/j.gie.2018.04.2360]
- 6 Yamauchi K, Iwamuro M, Nakagawa M, Takenaka R, Matsueda K, Inaba T, Yoshioka M, Toyokawa T, Tanaka S, Kanzaki H, Kawano S, Kawahara Y, Shirakawa Y, Okada H; Okayama Gut Study Group. Long-term outcomes of endoscopic versus surgical resection for MM-SM1 esophageal squamous cell carcinoma using propensity score analysis. *Esophagus* 2021; 18: 72-80 [PMID: 32876825 DOI: 10.1007/s10388-020-00775-0]
- 7 Yang D, Othman M, Draganov PV. Endoscopic Mucosal Resection vs Endoscopic Submucosal Dissection For Barrett's Esophagus and Colorectal Neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019; 17: 1019-1028 [PMID: 30267866 DOI: 10.1016/j.cgh.2018.09.030]
- 8 Berger A, Rahmi G, Perrod G, Pioche M, Canard JM, Cesbron-Métivier E, Boursier J, Samaha E, Vienne A, Lépilliez V, Cellier C. Long-term follow-up after endoscopic resection for superficial esophageal squamous cell carcinoma: a multicenter Western study. *Endoscopy* 2019; 51: 298-306 [PMID: 30261535 DOI: 10.1055/a-0732-5317]
- 9 Kawashima K, Abe S, Koga M, Nonaka S, Suzuki H, Yoshinaga S, Oda I, Hikichi T, Ohira H, Saito Y. Optimal selection of endoscopic resection in patients with esophageal squamous cell carcinoma: endoscopic mucosal resection versus endoscopic submucosal dissection according to lesion size. *Dis Esophagus* 2021; 34 [PMID: 32959874 DOI: 10.1093/dote/doaa096]
- 10 Joseph A, Draganov P, Maluf-Filho F, Aihara H, Fukami N, Sharma NR, Chak A, Yang D, Jawaid S, Dumot J, Alaber O, Chua T, Singh R, Mejia-Perez LK, Lyu R, Zhang X, Kamath S, Jang S, Murthy S, Vargo J, Bhatt A. Outcomes for endoscopic submucosal dissection of pathologically staged T1b esophageal cancer: a multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2022 [PMID: 35217020 DOI: 10.1016/j.gie.2022.02.018]
- 11 中国食管鳞癌前状态及癌前病变诊治策略专家共识. 中华消化内镜杂志 2020; 37: 853-867
- 12 di Pietro M, Canto MI, Fitzgerald RC. Endoscopic Management of Early Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: Screening, Diagnosis, and Therapy. *Gastroenterology* 2018; 154: 421-436 [PMID: 28778650 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.07.041]
- 13 Levy A, Wagner AD, Chagari C, Moehler M, Verheij M, Durand-Labrunie J, Kissel M, Chirat E, Burtin P, Ducreux M, Boige V, Nilsson M, Boku N, Chau I, Deutsch E. Palliation of dysphagia in metastatic oesogastric cancers: An international multidisciplinary position. *Eur J Cancer* 2020; 135: 103-112 [PMID: 32563014 DOI: 10.1016/j.ejca.2020.04.032]
- 14 Saddoughi SA, Reinersman JM, Zhukov YO, Taswell J, Mara K, Harmsen SW, Blackmon SH, Cassivi SD, Nichols F 3rd, Shen KR, Wigle DA, Allen MS. Survival After Surgical Resection of Stage IV Esophageal Cancer. *Ann Thorac Surg* 2017; 103: 261-266 [PMID: 27623270 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2016.06.070]
- 15 Boshier PR, Klevebro F, Savva KV, Waller A, Hage L, Hanna GB, Low DE. Assessment of Health Related Quality of Life and Digestive Symptoms in Long-term, Disease Free Survivors After Esophagectomy. *Ann Surg* 2022; 275: e140-e147 [PMID: 32068555 DOI: 10.1097/SLA.0000000000003829]
- 16 Han C, Sun Y. Efficacy and safety of endoscopic submucosal dissection versus endoscopic mucosal resection for superficial esophageal carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Dis Esophagus* 2021; 34 [PMID: 32895709 DOI: 10.1093/dote/doaa081]
- 17 Duan X, Shang X, Yue J, Ma Z, Chen C, Tang P, Jiang H, Yu Z. A nomogram to predict lymph node metastasis risk for early esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2021; 21: 431 [PMID: 33879102 DOI: 10.1186/s12885-021-08077-z]
- 18 Liu Z, Zhang J, Su Y, Pan J, Yang Y, Huang B, Zhao J, Li Z. Additional Esophagectomy Following Noncurative Endoscopic Resection for Early Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Multicenter Retrospective Study. *Ann Surg Oncol* 2021; 28: 7149-7159 [PMID: 34269944 DOI: 10.1245/s10434-021-10467-3]
- 19 Probst A, Aust D, Märkl B, Anthuber M, Messmann H. Early esophageal cancer in Europe: endoscopic treatment by endoscopic submucosal dissection. *Endoscopy* 2015; 47: 113-121 [PMID: 25479563 DOI: 10.1055/s-0034-1391086]
- 20 Jin XF, Chai TH, Gai W, Chen ZS, Guo JQ. Multiband Mucosectomy Versus Endoscopic Submucosal Dissection for Treatment of Squamous Intraepithelial Neoplasia of the Esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 948-955 [PMID: 27108794 DOI: 10.1016/j.cgh.2016.04.018]
- 21 Omae M, Fujisaki J, Horiuchi Y, Yoshizawa N, Matsuo Y, Kubota M, Suganuma T, Okada K, Ishiyama A, Hirasawa T, Yamamoto Y, Tsuchida T, Hoshino E, Igarashi M. Safety, efficacy, and long-term outcomes for endoscopic submucosal dissection of early esophagogastric junction cancer. *Gastric Cancer* 2013; 16: 147-154 [PMID: 22692465 DOI: 10.1007/s10120-012-0162-5]
- 22 Libânio D, Pimentel-Nunes P, Afonso LP, Henrique R, Dinis-Ribeiro M. Long-Term Outcomes of Gastric Endoscopic Submucosal Dissection: Focus on Metachronous and Non-Curative Resection Management. *GE Port J Gastroenterol* 2017; 24: 31-39 [PMID: 28868336 DOI: 10.1159/000450874]
- 23 Wen J, Linghu E, Yang Y, Liu Q, Wang X, Du H, Wang H, Meng J, Lu Z. Relevant risk factors and prognostic impact of positive resection margins after endoscopic submucosal dissection of superficial esophageal squamous cell neoplasia. *Surg Endosc* 2014; 28: 1653-1659 [PMID: 24380990 DOI: 10.1007/s00464-013-3366-9]
- 24 Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Ponchon T, Repici A, Vieth M, De Ceglie A, Amato A, Berr F, Bhandari P, Bialek A, Conio M, Haringsma J, Langner C, Meisner S, Messmann H, Morino M, Neuhaus H, Piessevaux H, Rugge M, Saunders BP, Robaszkiewicz M, Seewald S, Kashin S, Dumonceau JM, Hassan C, Deprez PH. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy* 2015; 47: 829-854 [PMID: 26317585 DOI: 10.1055/s-0034-1392882]
- 25 Qi ZP, Chen T, Li B, Ren Z, Yao LQ, Shi Q, Cai SL, Zhong YS, Zhou PH. Endoscopic submucosal dissection for early esophageal cancer in elderly patients with relative indications for endoscopic treatment. *Endoscopy* 2018; 50: 839-845 [PMID: 29548040 DOI: 10.1055/a-0577-2560]
- 26 Yamashina T, Ishihara R, Nagai K, Matsuura N, Matsui F, Ito T, Fujii M, Yamamoto S, Hanaoka N, Takeuchi Y, Higashino K, Uedo N, Iishi H. Long-term outcome and metastatic risk after endoscopic resection of superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 544-551 [PMID: 23399555 DOI: 10.1038/ajg.2013.8]
- 27 Hattata W, Koike T, Takahashi S, Shimada T, Hikichi T, Toya Y, Tanaka I, Onozato Y, Hamada K, Fukushima D, Watanabe K, Kayaba S, Ito H, Mikami T, Oikawa T, Takahashi Y, Kondo Y, Yoshimura T, Shiroki T, Nagino K, Hanabata N, Funakubo A, Hirasawa D, Ohira T, Nakamura J, Matsumoto T, Nakamura T, Nakaya N, Iijima K, Fukuda S, Masamune A; Tohoku GI Endoscopy Group. Risk of metastatic recurrence after endoscopic

- resection for esophageal squamous cell carcinoma invading into the muscularis mucosa or submucosa: a multicenter retrospective study. *J Gastroenterol* 2021; 56: 620-632 [PMID: 33881632 DOI: 10.1007/s00535-021-01787-y]
- 28 Kam TY, Kountouri M, Roth A, Frossard JL, Huber O, Mönig S, Zilli T. Endoscopic resection with adjuvant chemo-radiotherapy for superficial esophageal squamous cell carcinoma: A critical review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 124: 61-65 [PMID: 29548487 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.02.011]
 - 29 Wang CY, Chen BH, Lee CH, Le PH, Tsou YK, Lin CH. cT1N0M0 Esophageal Squamous Cell Carcinoma Invades the Muscularis Mucosa or Submucosa: Comparison of the Results of Endoscopic Submucosal Dissection and Esophagectomy. *Cancers (Basel)* 2022; 14 [PMID: 35053586 DOI: 10.3390/cancers14020424]
 - 30 Huang B, Xu MC, Pennathur A, Li Z, Liu Z, Wu Q, Wang J, Luo K, Bai J, Wei Z, Xiang J, Fang W, Zhang J. Endoscopic resection with adjuvant treatment versus esophagectomy for early-stage esophageal cancer. *Surg Endosc* 2022; 36: 1868-1875 [PMID: 33893544 DOI: 10.1007/s00464-021-08466-2]
 - 31 Yu S, Zhang W, Ni W, Xiao Z, Wang Q, Zhou Z, Feng Q, Zhang H, Chen D, Liang J, Lv J, Hui Z, He J, Gao S, Sun K, Fang D, Liu X, Li Y. A propensity-score matching analysis comparing long-term survival of surgery alone and postoperative treatment for patients in node positive or stage III esophageal squamous cell carcinoma after R0 esophagectomy. *Radiother Oncol* 2019; 140: 159-166 [PMID: 31302346 DOI: 10.1016/j.radonc.2019.06.020]
 - 32 Ikeda A, Hoshi N, Yoshizaki T, Fujishima Y, Ishida T, Morita Y, Ejima Y, Toyonaga T, Kakechi Y, Yokosaki H, Azuma T. Endoscopic Submucosal Dissection (ESD) with Additional Therapy for Superficial Esophageal Cancer with Submucosal Invasion. *Intern Med* 2015; 54: 2803-2813 [PMID: 26567992 DOI: 10.2169/internalmedicine.54.3591]
 - 33 Kang J, Chang JY, Sun X, Men Y, Zeng H, Hui Z. Role of Postoperative Concurrent Chemoradiotherapy for Esophageal Carcinoma: A meta-analysis of 2165 Patients. *J Cancer* 2018; 9: 584-593 [PMID: 29483964 DOI: 10.7150/jca.20940]

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。

心血管疾病患者发生消化道出血后抗血小板药物管理

宋晓婷, 许文涛, 李洋, 祁兴顺

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

宋晓婷, 大连医科大学研究生院 辽宁省大连市 116044

许文涛, 沈阳药科大学研究生院 辽宁省沈阳市 110016

李洋, 北部战区总医院心内科 辽宁省沈阳市 110016

宋晓婷, 硕士, 主要从事消化系统疾病方面的研究.

作者贡献分布: 本文由宋晓婷查阅文献及撰写; 许文涛、李洋校正文章书写及格式; 祁兴顺审核.

通讯作者: 祁兴顺, 博士, 博士后, 副主任, 副主任医师, 110840, 中国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: 2022-04-20

修回日期: 2022-05-24

接受日期: 2022-06-21

在线出版日期: 2022-07-08

Management of antiplatelet drugs after gastrointestinal bleeding in patients with cardiovascular disease

Xiao-Ting Song, Wen-Tao Xu, Yang Li, Xing-Shun Qi

Xiao-Ting Song, Wen-Tao Xu, Xing-Shun Qi, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Xiao-Ting Song, Graduate School of Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Wen-Tao Xu, Postgraduate College, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Yang Li, Department of Cardiology, General Hospital of Northern Theater Command, 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: 2022-04-20

Revised: 2022-05-24

Accepted: 2022-06-21

Published online: 2022-07-08

Abstract

Gastrointestinal bleeding (GIB) is one of the common clinical emergencies and is usually caused by the long-term use of antiplatelet drugs. With the increase in the prevalence of cardiovascular disease (CVD), there are a growing number of patients with GIB secondary to antiplatelet drugs. In this setting, the discontinuation and resumption of antiplatelet drugs in patients with GIB who are receiving antiplatelet drugs for CVD has become a hot research topic. This article aims to comprehensively review the management of antiplatelet drugs after GIB in patients with CVD using aspirin or P2Y₁₂ receptor antagonist alone as well as dual antiplatelet therapy (DAPT) to guide clinical practice.

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

Key Words: Gastrointestinal bleeding; Cardiovascular disease; Aspirin; P2Y₁₂ receptor antagonist; Dual antiplatelet therapy

Citation: Song XT, Xu WT, Li Y, Qi XS. Management of antiplatelet drugs after gastrointestinal bleeding in patients with cardiovascular disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(13): 599-604

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/599.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i13.599>

摘要

消化道出血(gastrointestinal bleeding, GIB)是临床常见的急症之一, 通常可由长期使用抗血小板药物导致. 随着心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)患病率的增加, 抗血小板药物导致发生GIB的患者数量也随

之增加. 使用抗血小板药物的CVD患者发生GIB时, 抗血小板药物是否停用以及如何恢复使用是当前的研究热点. 本文旨在全面回顾单用阿司匹林或P2Y12受体拮抗剂以及双联抗血小板治疗(dual antiplatelet therapy, DAPT)的CVD患者发生GIB后抗血小板药物管理的研究证据, 以指导临床实践.

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

关键词: 消化道出血; 心血管疾病; 阿司匹林; P2Y12受体拮抗剂; 双联抗血小板药物

核心提要: 心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)患者发生消化道出血(gastrointestinal bleeding, GIB)后抗血小板药物的管理尤为复杂. 本文通过全面回顾相关文献, 详细介绍了CVD患者在发生GIB后是否停用抗血小板药物以及如何恢复使用这些药物, 以期临床实践提供指导.

文献来源: 宋晓婷, 许文涛, 李洋, 祁兴顺. 心血管疾病患者发生消化道出血后抗血小板药物管理. 世界华人消化杂志 2022; 30(13): 599–604

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i13/599.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i13.599>

0 引言

消化道出血(gastrointestinal bleeding, GIB)是临床常见的急症之一, 按出血部位可分为上消化道出血(upper gastrointestinal bleeding, UGIB)和下消化道出血(lower gastrointestinal bleeding, LGIB), UGIB和LGIB的年发病率分别为84-172/10万和33-87/10万^[1]. 与UGIB相比, LGIB有更低的死亡率^[2]. 长期使用抗血栓药物是GIB常见的病因之一^[3]. 其中, 抗血小板药物是临床最常使用的抗血栓药物之一, 其常用于预防和治疗心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)^[1]. 随着CVD患病率的增加, 抗血小板药物导致GIB的患者数量也在增加^[4]. 发生GIB后, 继续使用抗血小板药物会增加再出血事件的风险, 而停止使用抗血小板药物会增加心血管事件和死亡的风险^[5]. 因此, CVD患者发生GIB后如何管理抗血小板药物存在严峻挑战. 目前鲜有研究就如何应对发生GIB后抗血小板药物的管理提供具体建议. 本文主要通过概述CVD患者发生GIB后抗血小板药物管理相关文献证据, 以指导临床实践.

1 抗血小板药物

临床常用的抗血小板药物包括阿司匹林和P2Y12受体拮抗剂(氯吡格雷、替格瑞洛以及普拉格雷)^[6]. 双联抗血小板治疗(dual antiplatelet therapy, DAPT)指的是阿司匹林联合一种P2Y12受体拮抗剂, 常用于经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术后或急性冠

脉综合征的患者, 以降低新发的动脉粥样硬化血栓形成事件的风险^[7]. 然而, 抗血小板药物会导致胃肠道黏膜损伤. 其中, 阿司匹林致胃肠道黏膜损伤机制包括局部和全身作用. 阿司匹林呈弱酸性, 直接作用于胃肠道黏膜表面造成黏膜损伤; 它也可通过抑制COX-1活性, 降低内源性前列腺素的合成, 减少黏膜血流量, 减少黏液及碳酸氢盐的分泌, 使黏膜防御能力下降, 导致胃肠道溃疡和出血^[8]. P2Y12受体拮抗剂抑制血小板释放血管内皮生长因子, 使黏膜损伤修复受阻, 延迟胃溃疡的修复或诱导其复发, 加剧胃肠黏膜损伤, 从而导致出血^[9]. 与氯吡格雷相比, 普拉格雷和替格瑞洛抗血栓效果更优, 但出血发生率较高^[10]. 此外, 虽然DAPT具有协同作用, 能进一步降低心血管事件的发生率, 但其也会增加消化性溃疡及出血风险^[11-13].

2 CVD患者发生GIB后阿司匹林的管理

2.1 阿司匹林用于CVD一级预防 CVD一级预防是指对有CVD危险因素如高血压、糖尿病和吸烟等的人群进行预防以防止CVD发生^[14]. 我国和美国心血管疾病指南不建议阿司匹林用于年龄<40岁和>70岁CVD人群的一级预防; 40-70岁CVD人群需根据具体情况来判断是否需要一级预防^[15,16]. 另外, 欧洲指南也不建议阿司匹林用于CVD的一级预防^[17]. 因此, 临床上使用阿司匹林进行一级预防的患者较少. 同样地, 有关使用阿司匹林进行一级预防的CVD患者发生GIB后如何管理阿司匹林的研究也相对匮乏. 目前已有两部指南分别对这类患者发生UGIB和LGIB后阿司匹林的管理策略给予了具体建议. 欧洲消化内镜学会(European Society of Gastrointestinal Endoscopy, ESGE)指南建议, 发生急性UGIB后, 应暂时停用阿司匹林; 仔细重新评估血栓和出血风险后, 可重新开始使用^[18]. 英国胃肠病学学会(British Society of Gastroenterology, BSG)指南建议, 发生急性LGIB后, 可永久停用阿司匹林^[19].

2.2 阿司匹林用于CVD二级预防 CVD二级预防是指对已患CVD的人群采取措施以控制疾病进展^[14]. 阿司匹林主要用于CVD的二级预防^[20], 这类人群发生GIB后如何管理阿司匹林是目前临床上急需解决的问题. 对于使用阿司匹林进行二级预防的CVD患者发生GIB后, 通常不停用阿司匹林; 若需停止, 应尽快恢复.

GIB患者继续使用阿司匹林可能利大于弊. 在一项回顾性队列研究中, 118例接受低剂量阿司匹林(low-dose aspirin, LDA)治疗心血管并发症的患者发生了消化性溃疡出血; 在随访期间的前6 mo, 与继续使用LDA治疗的患者相比, 停止LDA治疗的患者死亡或急性心血管事件的风险增加了6.9倍(HR = 6.9; 95%CI: 1.4-34.8)^[21]. 另

表 1 不同指南对CVD患者发生GIB后抗血小板药物管理的建议

	ESGE	BSG	APAGE/APSDE	ESC/EACTS	中国	韩国	日本
阿司匹林用于CVD一级预防	对于发生UGIB的患者应暂时停用阿司匹林	对于发生LGIB的患者可永久停用阿司匹林	—	—	—	—	—
阿司匹林用于CVD二级预防	尽可能继续使用阿司匹林; 对于发生UGIB的患者若因任何原因中断阿司匹林, 应尽快在3–5 d内重新使用; 而对于发生LGIB的患者最好在5 d内或者在达到止血或没有进一步出血的情况下尽早恢复使用	尽可能继续使用阿司匹林; 若停用, 在止血完成后立即恢复使用阿司匹林治疗	仅在无法进行紧急内镜检查且发生严重或危及生命的出血患者需停用阿司匹林; 在内镜止血治疗后3–5 d内尽早恢复阿司匹林	—	有血流动力学异常或积极治疗后仍出血的患者应停用阿司匹林	内镜止血治疗后尽快重新给予阿司匹林	高血栓风险的患者应继续使用阿司匹林
P2Y ₁₂ 受体拮抗剂用于CVD二级预防	—	—	—	—	—	内镜止血治疗后尽快重新给予P2Y ₁₂ 受体拮抗剂	高血栓风险的患者将P2Y ₁₂ 受体拮抗剂更换为阿司匹林
DAPT用于CVD二级预防	应继续使用阿司匹林, P2Y ₁₂ 受体拮抗剂可停用, 但应在5 d内尽快恢复使用	应继续使用阿司匹林, P2Y ₁₂ 受体拮抗剂可停用, 但应在5 d内尽快恢复使用	应继续使用阿司匹林, 在内镜下止血后停用第二种抗血小板药物5 d	中度、重度和危及生命的出血患者, 特别是UGIB患者, 应该考虑改用P2Y ₁₂ 受体拮抗剂的单联抗血小板治疗	发生轻度出血后, 无需停用DAPT; 发生明显出血后, 可先停用阿司匹林; 发生危及生命活动性出血后, 可停用所有抗血小板药物; 一般在有效止血3–5 d后恢复氯吡格雷, 5–7 d后恢复阿司匹林	内镜止血后重新使用阿司匹林; 早期咨询心脏病学专家恢复第二种抗血小板药物	应继续单独使用阿司匹林

CVD: 心血管疾病; GIB: 消化道出血; ESGE: 欧洲消化内镜学会; BSG: 英国胃肠病学学会; APAGE/APSDE: 亚太地区胃肠病学协会联合亚太消化内镜学会; ESC/EACTS: 欧洲心脏病学会联合欧洲心胸外科协会; UGIB: 上消化道出血; LGIB: 下消化道出血; DAPT: 双联抗血小板治疗。

一项随机对照研究将接受LDA治疗的消化性溃疡出血患者分为两组, 经内镜止血治疗后分别接受阿司匹林80 mg/d($n = 78$)和安慰剂($n = 78$)为期8 wk的维持治疗^[22]。结果显示, 阿司匹林组和安慰剂组30 d内溃疡出血复发率分别为10.3%和5.4%, 8 wk内全因死亡率分别为1.3%和12.9%。阿司匹林组因心血管、脑血管或胃肠道并发症导致的死亡率低于安慰剂组(1.3% vs 10.3%), 说明在消化性溃疡出血的患者中, 持续阿司匹林治疗可能会增加再出血风险, 但可能会降低死亡率。因此, 内镜可以控制的GIB患者没必要停用阿司匹林。ESGE和BSG指南建议, 使用阿司匹林用于二级预防的CVD患者发生急性

GIB后, 应尽可能继续使用阿司匹林^[18,19]。日本胃肠病学学会指南建议, 高血栓风险的患者发生消化性溃疡出血后, 应继续使用阿司匹林^[23]。而中国专家共识建议, 有血流动力学异常或积极治疗后仍出血的患者应停用阿司匹林^[9]。亚太地区胃肠病学协会联合亚太消化内镜学会(Asian Pacific Association of Gastroenterology and Asian Pacific Society for Digestive Endoscopy, APAGE/APSDE)指南建议, 仅在无法进行紧急内镜检查且发生严重或危及生命的出血患者需停用阿司匹林^[24]。

严重GIB患者不得不停用阿司匹林, 何时恢复使用值得进一步商榷。停止阿司匹林治疗5 d后, 会有50%的

新血小板产生, 显著增加血栓形成风险^[25]。基于此, ESGE指南认为, 对于发生UGIB的患者若因任何原因中断阿司匹林, 应尽快在3-5 d内重新使用, 而对于发生LGIB的患者最好在5 d内或者在达到止血或没有进一步出血的情况下尽早恢复使用^[18,26]。韩国指南建议^[27], 在对消化性溃疡出血进行内镜止血治疗后尽快重新给予阿司匹林; 而BSG指南建议, 在止血完成后立即恢复使用阿司匹林治疗^[19]。APAGE/APSDE指南建议, 最好在内镜止血治疗后3-5 d内尽早恢复阿司匹林^[24]。

3 CVD患者发生GIB后P2Y12受体拮抗剂的管理

目前P2Y12受体拮抗剂临床上主要使用氯吡格雷、替格瑞洛和普拉格雷。使用P2Y12受体拮抗剂的CVD患者易发生GIB^[28]。但关于发生GIB后如何管理P2Y12受体拮抗剂的研究证据仍缺乏, 目前有两项指南提供了相关的管理建议。韩国指南建议单用P2Y12受体拮抗剂的CVD患者发生GIB后在内镜止血后应尽快恢复使用^[27]。而日本指南建议对于存在高血栓风险的患者发生GIB后, 应将P2Y12受体拮抗剂更换为阿司匹林^[23]。

4 CVD患者发生GIB后双联抗血小板药物的管理

目前, 临床上有大量患者使用DAPT防治CVD, 这类患者有着较高的GIB风险; 若发生了GIB, DAPT的管理比较复杂。PCI支架植入的患者发生GIB应尽量继续使用DAPT; 但对于发生严重GIB的患者, 应考虑停用P2Y12受体拮抗剂而继续使用阿司匹林, 并在5 d内恢复P2Y12受体拮抗剂。

PCI支架植入后早期停用DAPT发生主要心血管事件的风险较高, 并且这种风险随着时间的延长而降低。一项真实世界研究纳入了5018例接受PCI支架植入的患者, 结果显示, 与持续使用DAPT的患者相比, 停用DAPT后发生主要心血管事件的风险明显增加; 停用DAPT后7 d、8-30 d和30 d以上的校正HR分别为7.04(95%CI: 3.31-14.95)、2.17(95%CI: 0.97-4.88)和1.3(95%CI: 0.97-1.76)^[29]。因此, 2016年发表的BSG/ESGE指南建议, 若PCI支架植入术后的前3 mo内发生GIB, 应尽可能不停用DAPT, 并进行内镜止血^[30]。2021年更新的BSG/ESGE指南建议, 对于接受PCI支架植入的患者发生急性GIB后, 应尽可能继续使用DAPT^[31]。

若接受DAPT用于二级预防的CVD患者发生严重GIB, 继续使用阿司匹林而停用P2Y12受体拮抗剂可能更优于两者同时停用和先停用P2Y12受体拮抗剂再停用阿司匹林。在一项纳入了84项研究的荟萃分析中, 若患者同时停用两种抗血小板药物, 发生血栓事件的中位时间为停用DAPT后的第7 d; 若患者先停用P2Y12受体

拮抗剂再停用阿司匹林, 发生血栓事件的中位时间也是7 d; 若停用P2Y12受体拮抗剂, 而继续使用阿司匹林, 发生血栓事件的中位时间为122 d。在停用两种药物的48例患者中, 36例(75%)血栓事件发生在停药后的10 d内, 而在94例停用P2Y12受体拮抗剂而继续使用阿司匹林的患者中, 只有6例(6%)血栓事件发生在停药后的10 d内^[32]。因此, ESGE和BSG指南建议, 若接受DAPT用于二级预防的CVD患者发生严重GIB, 应继续使用阿司匹林, P2Y12受体拮抗剂可停用, 但应在5 d内尽快恢复使用^[18,19,31]。其中, 替格瑞洛最好在止血后3 d恢复使用, 而重新开始使用氯吡格雷和普拉格雷的治疗可延迟至5 d。这种差异归因于不同抗血小板药物停药后的作用机制各异, 替格瑞洛停药后约3-5 d可恢复血小板功能, 而氯吡格雷和普拉格雷需要至少约5-7 d才能恢复血小板功能^[33]。

然而, 欧洲心脏病学会(European Society of Cardiology, ESC)在2018年与欧洲心胸外科协会(European Association for Cardio-Thoracic Surgery, EACTS)合作发表的关于冠心病DAPT的最新报告指出, 中度、重度和危及生命的出血患者, 特别是UGIB患者, 应该考虑改用P2Y12受体拮抗剂的单联抗血小板治疗^[34], 但却没有提及相关证据。而最近Han等人^[35]的一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照研究结果显示, 对于接受PCI支架植入的低出血风险患者, 继续单用阿司匹林和单用氯吡格雷治疗导致胃肠道粘膜损伤的发生率相似。中国专家共识建议, 对于使用DAPT的急性冠脉综合征患者, 发生轻度出血后, 无需停用DAPT; 发生明显出血(血红蛋白下降>30 g/L或需要住院治疗, 但未引起血流动力学异常)后, 可先停用阿司匹林; 发生危及生命的活动性出血后, 可停用所有抗血小板药物。有效止血且病情稳定后, 尽快恢复抗血小板治疗。一般在有效止血3-5 d后恢复氯吡格雷, 5-7 d后恢复阿司匹林。对于不能停用抗血小板治疗的急性非静脉曲张性UGIB患者, 需持续使用PPI治疗^[36,37]。

5 总结与展望

CVD患者发生GIB后抗血小板药物的管理尤为复杂, 应综合评估血栓与出血风险并及时调整抗血小板药物的管理策略。使用阿司匹林用于一级预防的CVD患者发生急性UGIB后, 应暂时停用阿司匹林, 而发生急性LGIB后, 可永久停用阿司匹林; 用于二级预防的CVD患者发生GIB后, 通常不停用阿司匹林, 若需停止, 应尽快恢复。使用P2Y12受体拮抗剂用于二级预防的CVD患者发生GIB后应在内镜止血后尽快恢复使用, 若存在高血栓风险, 应将P2Y12受体拮抗剂更换为阿司匹林。接受DAPT用于二级预防的CVD患者发生GIB后抗血小板的管理策略仍有较大争议, 但对于这类患者根据血栓和出血风险

进行风险评估后更早地恢复使用这些药物是有益的。目前, 仍然缺乏有关CVD患者发生GIB后如何管理抗血小板药物的研究。因此, 在发生GIB后是否停用抗血小板药物治疗以及如何恢复使用这些药物仍有待进一步探究。

6 参考文献

- Hosni M, Rahal M, Tamim H, Daniel F, Al Hashash J, Sharara AI, Soweid A, Shaib YH, Mourad FH, Wehbeh AN, Rockey DC, Barada K. Increased rebleeding and mortality in patients with gastrointestinal bleeding treated with anticoagulant drugs compared to antiplatelet drugs. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2021; 33: e490-e498 [PMID: 33867445 DOI: 10.1097/meg.0000000000002148]
- Laursen SB, Oakland K, Laine L, Bieber V, Marmo R, Redondo-Cerezo E, Dalton HR, Ngu J, Schultz M, Soncini M, Gralnek I, Jairath V, Murray IA, Stanley AJ. ABC score: a new risk score that accurately predicts mortality in acute upper and lower gastrointestinal bleeding: an international multicentre study. *Gut* 2021; 70: 707-716 [PMID: 32723845 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320002]
- Bouget J, Viglino D, Yvetot Q, Oger E. Major gastrointestinal bleeding and antithrombotics: Characteristics and management. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 5463-5473 [PMID: 33024397 DOI: 10.3748/wjg.v26.i36.5463]
- Iqbal AM, Lopez RA, Hai O. Antiplatelet Medications. 2022 May 8. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. [PMID: 30725747]
- Wang XX, Dong B, Hong B, Gong YQ, Wang W, Wang J, Zhou ZY, Jiang WJ. Long-term prognosis in patients continuing taking antithrombotics after peptic ulcer bleeding. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 723-729 [PMID: 28216980 DOI: 10.3748/wjg.v23.i4.723]
- Tscharre M, Michelson AD, Gremmel T. Novel Antiplatelet Agents in Cardiovascular Disease. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2020; 25: 191-200 [PMID: 31960728 DOI: 10.1177/1074248419899314]
- Sinnaeve PR, Adriaenssens T. Dual Antiplatelet Therapy De-escalation Strategies. *Am J Cardiol* 2021; 144 Suppl 1: S23-S31 [PMID: 33706987 DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.12.020]
- Wallace JL. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? *Physiol Rev* 2008; 88: 1547-1565 [PMID: 18923189 DOI: 10.1152/physrev.00004.2008]
- 中华心血管病杂志编辑委员会. 口服抗栓药物相关消化道损伤防治专家共识. *中华心血管病杂志* 2021; 4: 1-8 [DOI: 10.3760/cma.j.cn116031.2021.1000081]
- Di Minno A, Spadarella G, Prisco D, Scalera A, Ricciardi E, Di Minno G. Antithrombotic drugs, patient characteristics, and gastrointestinal bleeding: Clinical translation and areas of research. *Blood Rev* 2015; 29: 335-343 [PMID: 25866382 DOI: 10.1016/j.blre.2015.03.004]
- Jensen BE, Hansen JM, Junker AB, Lassen JF, Jensen SE, Schaffalitzky de Muckadell OB. High prevalence of ulcer bleeding risk factors in dual antiplatelet-treated patients after percutaneous coronary intervention. *Dan Med J* 2015; 62 [PMID: 26036886]
- ACTIVE Investigators., Connolly SJ, Pogue J, Hart RG, Hohnloser SH, Pfeffer M, Chrolavicius S, Yusuf S. Effect of clopidogrel added to aspirin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009; 360: 2066-2078 [PMID: 19336502 DOI: 10.1056/NEJMoa0901301]
- Squizzato A, Bellesini M, Takeda A, Middeldorp S, Donadini MP. Clopidogrel plus aspirin versus aspirin alone for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 12: CD005158 [PMID: 29240976 DOI: 10.1002/14651858.CD005158.pub4]
- Hong KN, Fuster V, Rosenson RS, Rosendorff C, Bhatt DL. How Low to Go With Glucose, Cholesterol, and Blood Pressure in Primary Prevention of CVD. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70: 2171-2185 [PMID: 29050566 DOI: 10.1016/j.jacc.2017.09.001]
- Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, Himmelfarb CD, Khera A, Lloyd-Jones D, McEvoy JW, Michos ED, Miedema MD, Muñoz D, Smith SC Jr, Virani SS, Williams KA Sr, Yeboah J, Ziaeian B. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* 2019; 140: e596-e646 [PMID: 30879355 DOI: 10.1161/cir.0000000000000678]
- 中国心血管病一级预防指南. *实用心脑血管病杂志* 2021; 29: 44+64
- Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney MT, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FDR, Løchen ML, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, van der Worp HB, van Dis I, Verschuren WMM, Binno S; ESC Scientific Document Group. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016; 37: 2315-2381 [PMID: 27222591 DOI: 10.1093/eurheartj/ehw106]
- Gralnek IM, Stanley AJ, Morris AJ, Camus M, Lau J, Lanas A, Laursen SB, Radaelli F, Papanikolaou IS, Cúrdia Gonçalves T, Dinis-Ribeiro M, Awadie H, Braun G, de Groot N, Udd M, Sanchez-Yague A, Neeman Z, van Hooft JE. Endoscopic diagnosis and management of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage (NVUGIH): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline - Update 2021. *Endoscopy* 2021; 53: 300-332 [PMID: 33567467 DOI: 10.1055/a-1369-5274]
- Oakland K, Chadwick G, East JE, Guy R, Humphries A, Jairath V, McPherson S, Metzner M, Morris AJ, Murphy MF, Tham T, Uberoi R, Veitch AM, Wheeler J, Regan C, Hoare J. Diagnosis and management of acute lower gastrointestinal bleeding: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut* 2019; 68: 776-789 [PMID: 30792244 DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317807]
- Maida M, Sferrazza S, Maida C, Morreale GC, Vitello A, Longo G, Garofalo V, Sinagra E. Management of antiplatelet or anticoagulant therapy in endoscopy: A review of literature. *World J Gastrointest Endosc* 2020; 12: 172-192 [PMID: 32843928 DOI: 10.4253/wjge.v12.i6.172]
- Derogar M, Sandblom G, Lundell L, Orsini N, Bottai M, Lu Y, Sadr-Azodi O. Discontinuation of low-dose aspirin therapy after peptic ulcer bleeding increases risk of death and acute cardiovascular events. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 38-42 [PMID: 22975385 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.08.034]
- Sung JJ, Lau JY, Ching JY, Wu JC, Lee YT, Chiu PW, Leung VK, Wong VW, Chan FK. Continuation of low-dose aspirin therapy in peptic ulcer bleeding: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2010; 152: 1-9 [PMID: 19949136 DOI: 10.7326/0003-4819-152-1-201001050-00179]
- Kamada T, Satoh K, Itoh T, Ito M, Iwamoto J, Okimoto T, Kanno T, Sugimoto M, Chiba T, Nomura S, Mieda M, Hiraishi H, Yoshino J, Takagi A, Watanabe S, Koike K. Evidence-based clinical practice guidelines for peptic ulcer disease 2020. *J Gastroenterol* 2021; 56: 303-322 [PMID: 33620586 DOI: 10.1007/s00535-021-01769-0]
- Chan FKL, Goh KL, Reddy N, Fujimoto K, Ho KY, Hokimoto S, Jeong YH, Kitazono T, Lee HS, Mahachai V, Tsoi KKF, Wu MS, Yan BP, Sugano K. Management of patients on antithrombotic agents undergoing emergency and elective endoscopy: joint Asian Pacific Association of Gastroenterology (APAGE) and Asian Pacific Society for Digestive Endoscopy (APSDE) practice guidelines. *Gut* 2018; 67: 405-417 [PMID: 29331946 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-315131]

- 25 Patrono C, Morais J, Baigent C, Collet JP, Fitzgerald D, Halvorsen S, Rocca B, Siegbahn A, Storey RF, Vilahur G. Antiplatelet Agents for the Treatment and Prevention of Coronary Atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70: 1760-1776 [PMID: 28958334 DOI: 10.1016/j.jacc.2017.08.037]
- 26 Triantafyllou K, Gkolfakis P, Gralnek IM, Oakland K, Manes G, Radaelli F, Awadie H, Camus Duboc M, Christodoulou D, Fedorov E, Guy RJ, Hollenbach M, Ibrahim M, Neeman Z, Regge D, Rodriguez de Santiago E, Tham TC, Thelin-Schmidt P, van Hooft JE. Diagnosis and management of acute lower gastrointestinal bleeding: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy* 2021; 53: 850-868 [PMID: 34062566 DOI: 10.1055/a-1496-8969]
- 27 Joo MK, Park CH, Kim JS, Park JM, Ahn JY, Lee BE, Lee JH, Yang HJ, Cho YK, Bang CS, Kim BJ, Jung HK, Kim BW, Lee YC; Korean College of Helicobacter and Upper Gastrointestinal Research. [Clinical Guidelines for Drug-induced Peptic Ulcer, 2020 Revised Edition]. *Korean J Gastroenterol* 2020; 76: 108-133 [PMID: 32969360 DOI: 10.4166/kjg.2020.76.3.108]
- 28 McFarlane M, Disney BR. Editorial - out with the old and in with the new? Gastrointestinal bleeding risk of P2Y12 inhibitors following acute coronary syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2020; 52: 887-888 [PMID: 32852831 DOI: 10.1111/apt.15912]
- 29 Mehran R, Baber U, Steg PG, Ariti C, Weisz G, Witzensbichler B, Henry TD, Kini AS, Stuckey T, Cohen DJ, Berger PB, Iakovou I, Dangas G, Waksman R, Antoniucci D, Sartori S, Krucoff MW, Hermiller JB, Shawl F, Gibson CM, Chieffo A, Alu M, Moliterno DJ, Colombo A, Pocock S. Cessation of dual antiplatelet treatment and cardiac events after percutaneous coronary intervention (PARIS): 2 year results from a prospective observational study. *Lancet* 2013; 382: 1714-1722 [PMID: 24004642 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61720-1]
- 30 Veitch AM, Vanbiervliet G, Gershlick AH, Boustiere C, Baglin TP, Smith LA, Radaelli F, Knight E, Gralnek IM, Hassan C, Dumonceau JM. Endoscopy in patients on antiplatelet or anticoagulant therapy, including direct oral anticoagulants: British Society of Gastroenterology (BSG) and European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) guidelines. *Endoscopy* 2016; 48: 385-402 [PMID: 26890676 DOI: 10.1055/s-0042-102652]
- 31 Veitch AM, Radaelli F, Ali Khan R, Dumonceau JM, Eaton D, Jerrome J, Lester W, Nylander D, Thoufeeq M, Vanbiervliet G, Wilkinson JR, van Hooft JE. Endoscopy in patients on antiplatelet or anticoagulant therapy: British Society of Gastroenterology (BSG) and European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) guideline update. *Endoscopy* 2021; 53: 947-969 [PMID: 34359080 DOI: 10.1055/a-1547-2282]
- 32 Preobrazhenskii DV. [Safety of short-term discontinuation of antiplatelet therapy in patients with drug-eluting stents]. *Kardiologiia* 2010; 50: 67 [PMID: 20144160]
- 33 Sadeghi A, Zali MR, Mohaghegh Shalmani H, Ketabi Moghadam P, Rajabnia Chenari M, Karimi MA, Salari S, Asadzadeh-Aghdai H. An algorithmic approach to gastrointestinal bleeding in patients receiving antithrombotic agents. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2020; 13: S8-S17 [PMID: 33584999]
- 34 Valgimigli M, Bueno H, Byrne RA, Collet JP, Costa F, Jeppsson A, Jüni P, Kastrati A, Kolh P, Mauri L, Montalescot G, Neumann FJ, Petricevic M, Roffi M, Steg PG, Windecker S, Zamorano JL, Levine GN; ESC Scientific Document Group; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG); ESC National Cardiac Societies. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 2018; 39: 213-260 [PMID: 28886622 DOI: 10.1093/eurheartj/ehx419]
- 35 Han Y, Liao Z, Li Y, Zhao X, Ma S, Bao D, Qiu M, Deng J, Wang J, Qu P, Jiang C, Jia S, Yang S, Ru L, Feng J, Gao W, Huang Y, Tao L, Han Y, Yang K, Wang X, Zhang W, Wang B, Li Y, Yang Y, Li J, Sheng J, Ma Y, Cui M, Ma S, Wang X, Li Z, Stone GW. Magnetically Controlled Capsule Endoscopy for Assessment of Antiplatelet Therapy-Induced Gastrointestinal Injury. *J Am Coll Cardiol* 2022; 79: 116-128 [PMID: 34752902 DOI: 10.1016/j.jacc.2021.10.028]
- 36 中国医师协会急诊医师分会, 中华医学会急诊医学分会, 全军急救医学专业委员会, 中国急诊专科医联体, 北京急诊医学学会. 急性上消化道出血急诊诊疗流程专家共识(2020版). *中华急诊医学杂志* 2021; 30: 15-24 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2021.01.006]
- 37 霍勇, 王拥军, 谷涌泉, 黄恺, 徐安定, 郑月宏, 葛均波. 常用口服抗血小板药物不耐受及低反应性人群诊疗专家共识. *中华心血管病杂志(网络版)* 2021; 4: 1-13 [DOI: 10.3760/cma.j.cn116031.2021.1000076]

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.

1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

