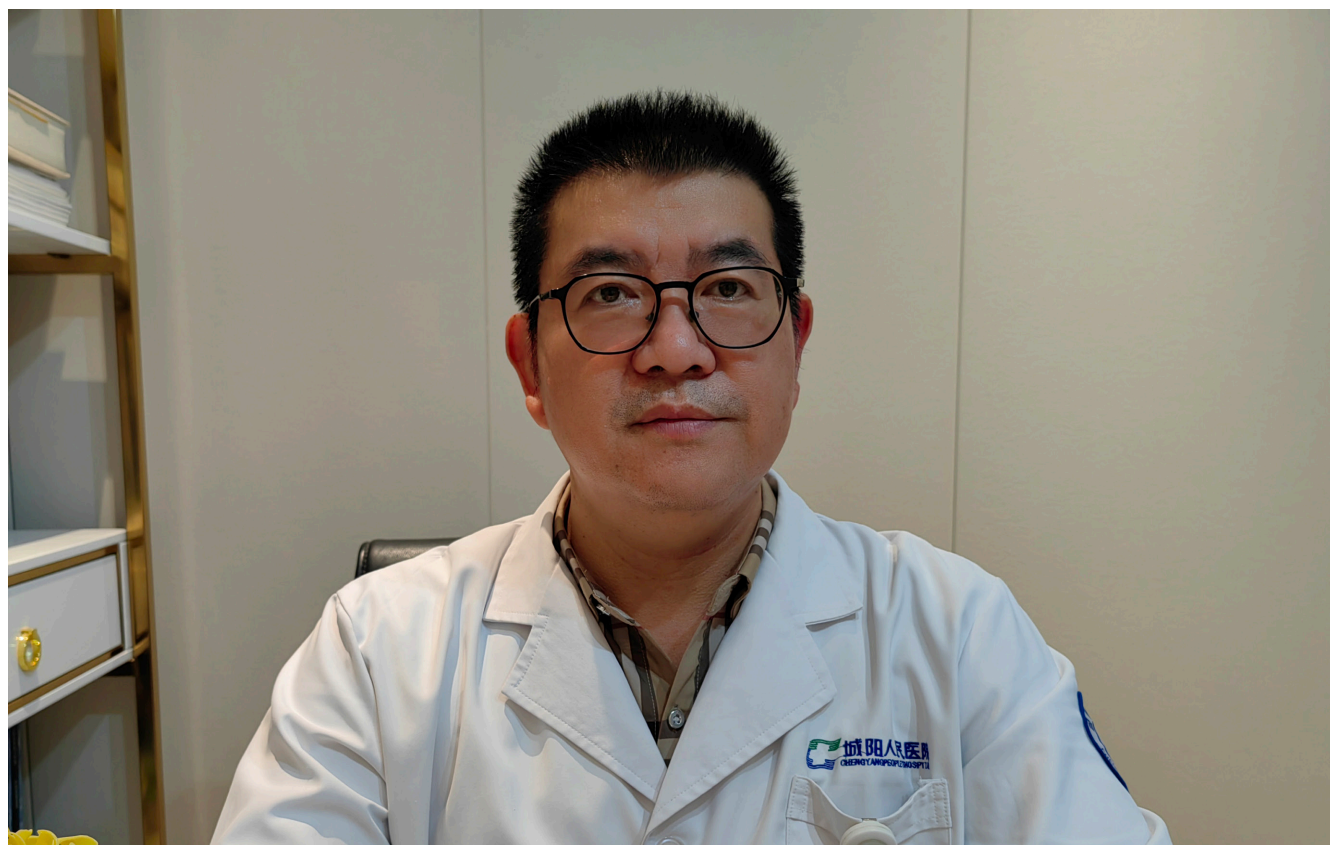


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2022 年 11 月 28 日 第 30 卷 第 22 期 (Volume 30 Number 22)



22 / 2022

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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



文献综述

- 971 肠道菌群与肝衰竭微生态调节治疗的研究进展
陈月桥, 刘家玲
- 978 血清学标志物对胰腺癌早期诊断及预后的预测价值
王一翔, 郭亚民, 王蕾, 吴世乐
- 984 重症急性胰腺炎微创治疗新进展与前景展望
马瑞光, 陈欣羽, 李真, 钟宁

基础研究

- 990 下调IL-32 γ 表达降低自然杀伤细胞对食管癌细胞的杀伤作用
虞伟妃, 汪笑秋, 赵丽萍, 周珏伊, 冯继红
- 997 lncRNA H19靶向miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬的影响
王春晖, 潘卓, 唐忠明

病例报告

- 1004 内镜下黏膜剥离术治疗直肠多发类癌1例
罗培培, 欧希龙

消 息

- 977 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯
989 《世界华人消化杂志》参考文献要求
1008 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

孙维会, 主任医师, 青岛市城阳人民医院感染科, 青岛大学医学院传染病硕士研究生导师. 青岛医学会肝病学科分会副主任委员, 山东省医学会肝病学科分会委员, 山东省医学会肝病学科分会脂肪肝学组副组长. 山东省医师协会感染病分会专业委员会常务委员. 擅长肝脏病以及各种感染病的诊断与治疗. 山东省内最早研究乙型肝炎病毒型肝炎母婴阻断的学者之一, 相关研究有数篇文章在国际和国内著名专业杂志发表. 获国家发明专利1项, 国家实用新型专利3项, 在国家及国际级杂志第一作者发表论文十余篇, 主编著作两部.

本期责任人

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2022-11-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[https://www.wjgnet.com/1009-3079/
editorialboard.htm](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 22 November 28, 2022

REVIEW

- 971 Advances in research of microbiome regulation as a therapy for liver failure
Chen YQ, Liu JL
- 978 Value of serological markers for early diagnosis and prognosis prediction of pancreatic cancer
Wang YX, Guo YM, Wang L, Wu SL
- 984 Minimally invasive management of severe acute pancreatitis: Current status and future perspectives
Ma RG, Chen XY, Li Z, Zhong N

BASIC RESEARCH

- 990 Down-regulation of IL-32 γ expression reduces killing effect of natural killer cells on esophageal carcinoma cells
Yu WF, Wang XQ, Zhao LP, Zhou JY, Feng JH
- 997 Effect of lncRNA H19 targeting miR-30a-5p on cell apoptosis, secretion of inflammatory factors, and autophagy in a caerulein-induced acute pancreatitis cell model
Wang CH, Pan Z, Tang ZM

CASE REPORT

- 1004 Endoscopic mucosal dissection for multiple rectal carcinoids: A case report
Luo PP, Ou XL

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 30 Number 22 November 28, 2022

COVER

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

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang* Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xu Guo* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

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

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

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

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: 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.

肠道菌群与肝衰竭微生态调节治疗的研究进展

陈月桥, 刘家玲

陈月桥, 刘家玲, 广西中医药大学第一附属医院肝病科 广西壮族自治区南宁市 530200

陈月桥, 主任医师, 主要研究方向为肝病的中医药防治研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 82160888和No. 82060848; 广西自然科学基金, No. 2022GXNSFAA035573; 广西自然科学基金, No. 2020GXNSFAA297070.

作者贡献分布: 本文综述由刘家玲完成; 陈月桥审校.

通讯作者: 陈月桥, 主任医师, 530200, 广西南宁市青秀区东葛路89-9号, 广西中医药大学第一附属医院肝病科. moonbridge118@163.com

收稿日期: 2022-08-15

修回日期: 2022-09-26

接受日期: 2022-10-24

在线出版日期: 2022-11-28

Advances in research of microbiome regulation as a therapy for liver failure

Yue-Qiao Chen, Jia-Ling Liu

Yue-Qiao Chen, Jia-Ling Liu, Department of Hepatology, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 82160888 and No. 82060848; Guangxi Natural Science Foundation, No. 2022GXNSFAA035573 and No. 2020GXNSFAA297070.

Corresponding author: Yue-Qiao Chen, Chief Physician, Department of Hepatology, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, No. 89-9, Dongge Road, Qingxiu District, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. moonbridge118@163.com

Received: 2022-08-15

Revised: 2022-09-26

Accepted: 2022-10-24

Published online: 2022-11-28

Abstract

The intestinal flora of the human body is complex and diverse, and the structure and composition of the intestinal micro-ecosystem formed by the intestinal flora are complicated. Studies have shown that the imbalance of the intestinal micro-ecosystem is closely related to the occurrence and development of liver failure, and the degree of intestinal microecological imbalance is significantly correlated with the severity of liver failure. Therefore, the role of intestinal microbiome regulation in the treatment of liver failure and the improvement of prognosis has increasingly attracting the attention of scholars. However, due to the complexity of the composition and structure of the intestinal flora and its mechanism of action involved in the development of liver failure, the application of intestinal microbiome regulation in the clinic is limited to a certain extent. In this paper, we review the research progress of microbiome regulation as a therapy for liver failure.

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

Key Words: Intestinal flora; Liver failure; Microecological regulation

Citation: Chen YQ, Liu JL. Advances in research of microbiome regulation as a therapy for liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(22): 971-977

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/971.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i22.971>

摘要

人体的肠道菌群复杂多样, 众多肠道菌群之间形成了结构及组成复杂的肠道微生态系统. 研究表明, 肠道微生态系统失衡与肝衰竭的发生、发展密切相关, 且肠道微生态失衡程度与肝衰竭严重程度有显著相关性.

因此, 肠道微生态调节在肝衰竭的治疗及改善预后中的重要作用日益凸显. 但由于肠道菌群组成及结构的复杂性及其参与肝衰竭发生发展的作用机制尚未十分明确, 使其在临床的规范应用受到一定限制, 本文就肠道菌群与肝衰竭微生态调节治疗的研究进展进行综述.

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

关键词: 肠道菌群; 肝衰竭; 微生态调节

核心提要: 肠道微生态制剂可从多方面改善肝衰竭, 因此, 在肝衰竭的治疗方面具有巨大潜力.

文献来源: 陈月桥, 刘家玲, 肠道菌群与肝衰竭微生态调节治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2022; 30(22): 971-977

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/971.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.971>

0 引言

肝衰竭(liver failure, LF)是各种损伤因素多重打击下使肝脏合成、代谢、解毒功能障碍所致的危重症候群. 肝肠轴理论的出现表明肝肠之间存在着紧密的生理病理关系, 肠道菌群数量庞大, 结构复杂, 众多菌群之间形成肠道微生态系统, 通过肝肠轴对肝衰竭的发生发展产生显著影响. 越来越多研究表明^[1,2], 肠道微生态失衡程度与肝衰竭严重程度有显著相关性, 因此, 微生态调节治疗或可成为肝衰竭患者极具潜力的治疗方法.

1 肠道菌群与肠道微生态

人体肠道菌群多样, 总量在400-1500之间变化^[3], 不同菌门、纲、目、科、属的肠道微生物之间形成了结构及组成复杂的肠道微生态系统, 其中, 包括以双歧杆菌、乳酸杆菌、枯草杆菌、地衣芽孢菌为主的有益菌和肠球菌、肠杆菌、大肠埃希菌等中间菌及铜绿假单胞菌、艰难梭菌等有害菌. 正常情况下, 肠道微生态系统随着年龄、饮食、生活环境等因素的变化而变化^[1,4], 各菌群之间及菌群与宿主之间维持动态平衡, 发挥营养、代谢、免疫、屏障保护等作用. 但在各种疾病及致病因素作用下, 肠道菌群的稳态被打破, 正常菌群也可转变成致病因素, 通过各种机制作用于人体, 导致各类疾病的发生. 基于肠道微生态系统, 肝肠轴、肠心轴、肠肺轴、肠脑轴及肝-肠-脑轴、肠-肾-脑轴等概念的提出, 表明了肠道微生态系统与机体器官的密切关系.

2 肝衰竭与肠道微生态

肝脏与大肠通过门静脉系统及肠系膜上下静脉形成解

剖及生理联系. 传统医学即有“心与胆相通, 肝与大肠相通”、“肝寄腑于大肠”的记载, 这与现代医学“肝-肠轴”概念相吻合. 肠道微生态紊乱时, 各种病原体、毒性物质等致病因素对肝功能造成直接损伤, 在肝细胞损伤基础上, 由肠道微生态紊乱产生过度持久的内毒素血症/炎症反应、微循环障碍使免疫细胞激活及细胞因子大量释放导致免疫平衡紊乱及炎症反应造成肝脏的“二次打击”, 加剧了肝细胞的凋亡、自噬、坏死. 可见“免疫失衡”“炎症打击”作为核心机制贯穿肝衰竭发生、发展的全过程. 肝衰竭患者肝功能严重受损, 使肠蠕动减弱、肠上皮细胞破坏, 肠道屏障受损、肝固有免疫功能减弱等, 导致肠道菌群组成及结构改变, 肠道微生态系统失衡; 而微生态系统失衡可通过内毒素及有毒代谢产物增加、细菌易位等产生“瀑布样效应”, 促进了病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)和天然免疫系统的激活, 造成“炎症二次打击”加剧肝损伤及内环境紊乱, 进一步影响肝衰竭进程. 因此, 肠道微生态失衡与肝衰竭之间互为因果, 且相互影响, 恶性循环, 从而加快疾病进程. 肝衰竭患者肠道微生态失衡主要表现为有益菌减少, 有害菌过度生长及条件致病菌转为致病菌, 加快疾病进展. 多个研究表明^[2,5], 肠道微生态失衡程度与肝衰竭严重程度有显著相关. 在一项前瞻性研究显示, 肝衰竭的发展及死亡率与肠道菌群组成有关, 预后较差患者的变形杆菌普遍较高^[6]; 另有研究表明^[6-8], 链球菌科、肠球菌科等致病菌分类的增加与肝衰竭患者死亡率高度相关, 巴氏杆菌科增加是慢加急性肝衰竭患者短期内死亡的重要危险因素.

3 肠道微生态的作用

3.1 稳定肠道屏障作用

肠道通过肠黏膜上皮屏障、免疫屏障、生物屏障保护机体免受有害微生物及病原体侵害, 其中, 肠黏膜上皮屏障是最重要的一道屏障. 肠道内有益菌可诱导杯状细胞分泌Occludin、Claudins、ZO1、MUC2等紧密连接蛋白(tight junction proteins, TJPs)与肠上皮细胞紧密连接, 构成了肠黏膜上皮屏障; 同时, TJPs为有益菌提供生态位点, 协助有益菌在肠道黏附定植, 形成“肠道定植抗力”, 发挥生物屏障作用^[9,10]; 有益菌还可通过分泌细菌酶C、C型凝集素、磷脂酶等抗菌肽, 抑制有害菌过度生长、提高肠上皮再生能力、调节免疫功能、为肠上皮供能、分泌粘液素等维持肠道稳态及肠道屏障的完整性^[11]. 肝衰竭时, 有益菌减少, 肠杆菌及大肠埃希菌等致病菌过度生长, 不仅改变肠道菌群的组成及结构, 还可通过干扰肠黏膜生化反应, 干扰紧密连接蛋白的合

成, 损害肠上皮细胞等改变肠道通透性, 导致肠道屏障破坏^[11,12].

3.2 调节免疫 胃肠道可容纳体内70%淋巴细胞群, 被认为是体内最大的免疫器官^[13], 在调节体内免疫稳态方面发挥其核心作用. 肠道免疫由IEC、淋巴细胞、肠道浆细胞分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, SIgA)等构成, SIgA等与肠道内革兰氏阴性菌结合形成抗原抗体复合物, 不仅能阻止有害菌与肠粘膜粘附, 还可中和已潜入细胞内的病毒. 研究发现^[14,15], 肠道菌群的适当定植, 可刺激模式识别受体在肠粘膜上皮细胞或免疫细胞上的表达, 诱导肠粘膜相关淋巴组织成熟. 如果良好的肠道菌群环境在生命早期未完全构建, 则会导致肠粘膜相关淋巴组织发育不全, 免疫细胞和细胞因子数量减少, 模式识别受体表达下调. 另外, 在一项无菌小鼠中进行的实验表明^[16,17], 由于肠道菌群的缺失, 导致小鼠功能性CD4⁺、CD25⁺及Tregs降低, 免疫细胞数量减少及淋巴结缩小等免疫发育不全、抗菌能力减弱表现, 这都表明肠道菌群在免疫系统的发育及免疫功能的正常发挥中起重要作用. 上皮层的固有层含有树突状细胞, 这是重要的抗原呈递细胞, 可调节体液和细胞肠道免疫^[18]. 肠道中的乳酸杆菌可刺激树突状细胞启动免疫应答, 防治细菌移位, 减低内毒素及肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor α , TNF- α)水平, 从而调节免疫. 可见, 肠道菌群在免疫功能的发育及完善, 免疫功能的正常发挥方面都起着重要作用.

3.3 改善肝功能 肝功能的受损是由病原体及毒性物质直接损害及免疫平衡失衡、炎症反应造成肝脏的“二次打击”引起的. 肠道微生态失衡导致“肠道定植抗力”下降, 肠粘膜通透性增加, 物理及生物屏障遭到破坏, 过度生长的肠球菌及酵母菌等有害菌的过度生长、肠黏膜通透性增加及肠道免疫功能受损等因素可导致病原体、毒性代谢产物通过门静脉进入肝脏, 导致肝脏直接损害^[19]. 革兰氏阴性菌细胞壁上的脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)可与模式识别受体Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)结合, LPS-TLR轴使巨噬细胞过度活化, 导致就巨噬细胞对LPS易感性增加, 持续的炎症反应促进了PAMPs释放并刺激细胞内信号级联反应导致肝脏“炎症二次打击”; 反过来, 巨噬细胞还可通过激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)来增加肠道通透性, 加剧了内毒素血症, 形成恶性循环, 最终导致肝功能的急剧恶化, 最终走向衰竭. 肠道内有益菌可通过调节免疫改善肝功能. 研究发现^[20,21], 乳酸菌和双歧杆菌可减轻TLR4炎症瀑布反应, 氧化应激和内毒素血症. Granisetron可通过拮

抗5-羟色胺3抑制LPS后巨噬细胞释放促炎因子, 缓解脓毒症诱导的小鼠肝损伤.

3.4 抑菌作用 肠道菌群通过维持肠道屏障稳定性、调节胆汁酸分泌与代谢、调节肠道pH值等达到抑菌作用. 如前文所述, 肠道菌群可通过各种途径维持肠道屏障的稳定性抑制致病菌的过度生长及侵害肠外机体. 肠道菌群不仅可以调节胆汁酸的分泌与代谢, 还可与胆汁酸合成的法尼醇衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR)促进血管生成素1(angiopoietin 1, ANG1)及RNase家族成员4(RNase A family 4, RNASE4)等抗菌肽生成, 保护机体不受有害菌的侵害, 此外, 胆汁酸的分泌与代谢与肠道PH值相关, 通过维持肠道酸性环境抑制细菌过度生长.

3.5 营养作用 肠道营养是肝脏营养代谢的主要来源, 对肝脏储备和再生能力起着重要作用. 肠道中99%-99.9%为厌氧菌, 需氧菌仅占0.1%-1%, 肠道菌群的平衡除了能使葡萄糖在肠道中充分吸收外, 还能合成维生素K及大部分水溶性B族维生素, 为机体提供能量及必要维生素, 此外, 食物在消化道通过棘皮动物门厌氧发酵产生乙酸、丙酸、丁酸等短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)是肠上皮细胞及肠道微生物的主要能量来源^[22,23]. 研究发现^[24-28], 肠道菌群失衡可导致棘皮动物科和苜蓿科等产生SCFAs微生物减少, SCFAs生成不足, 影响肠道供能, 肠道调节或可为肝衰竭患者营养支持治疗提供新思路.

3.6 调节脂质代谢 肠道菌群可通过增加肠道SCFAs的产生、调节肠道微生物群及其代谢产物、调节胆汁酸代谢等途径调节脂质代谢. 研究表明^[29], 肥胖小鼠较无菌小鼠肠道内SCFAs显著增加, 这可能与SCFAs可导致脂肪堆积有关. 此外, 在构建高脂肪/高胆固醇小鼠模型中, 小鼠肠道粘螺旋体, 脱硫弧菌和脱硫弧菌科依次增加, 而双歧杆菌和拟杆菌减少, 肠道细菌代谢物牛磺胆酸[(taurocholate acid, TCA), 可抑制胆固醇诱导的脂质堆积及细胞增殖]减少, 3-吲哚丙酸[(indole-3-propionic acid, IPA), 可加重胆固醇诱导的甘油三酯堆积]增加, 导致肝脏炎症及脂肪变性, 驱动非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)形成, 这种微生物及其代谢产物改变情况与高胆固醇血症患者肠道微生物改变相一致^[30], 表明膳食胆固醇通过调节肠道微生物群及其代谢物在驱动NAFLD发生及发展. 另外, 肠道菌群可通过调节胆汁酸代谢, 影响FXR和G蛋白偶联胆汁酸受体(takeda G-protein-coupled receptor 5, TGR5)等受体激活, 影响脂类吸收代谢, 而研究表明^[31,32], 这些受体的激活可特异性地降低了单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)和多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty

acid, PUFA)的肝脏水平。

4 肝衰竭微生态调节治疗的研究进展

研究表明^[33], 肠道菌群失衡与脂肪肝、肝纤维化、肝硬化、肝性脑病、肝衰竭等肝脏疾病密切相关。因而肠道微生态制剂在肝脏病的应用中具有广大的前景。肠道微生态制剂主要包括益生菌、益生元、合生元、抗菌素、粪便秘植(fecal microbiota transplantation, FMT)等。

益生菌是使用一定剂量后能对机体健康带来益处的活的微生物制剂^[34-36], 主要包括乳杆菌属、双歧杆菌属、肠球菌属、芽孢杆菌属等七个菌属为主的上百个菌种^[37], 益生菌可通过产生抗菌物质拮抗细菌生长、与病原体竞争黏膜上皮黏附和营养, 调节免疫及抑制毒素生长等途径改善宿主健康^[38,39]。邓桃枝等人^[12,40]使用双歧杆菌三联活菌治疗肝衰竭患者的临床观察研究显示, 治疗组口服益生菌后, 双歧杆菌、肠球菌、乳杆菌等肠道内优势菌群较对照组明显增加, 且治疗组TBIL、PT等肝功能生化指标较前改善, 血浆内毒素及白介素-1(interleukin-1, IL-1)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、TNF α 等细胞因子水平下降, CD4⁺百分率、CD4⁺/CD8⁺值显著上升。可见, 益生菌可通过调节肠道菌群结构及免疫功能, 减轻内毒素血症及过度炎症反应延缓肝衰竭进展。此外, 张月晓等人^[41,42]使用地衣芽孢杆菌活菌胶囊及酪酸梭菌活菌片等治疗肝衰竭也能不同程度的改善肠道菌群失调, 减轻内毒素血症, 改善肝功能。虽然益生菌的使用对肝衰竭患者的治疗有一定作用, 但在使用过程中, 益生菌菌株的选择、剂量与疗程、益生菌的安全性及功能性问题目前尚未有统一标准, 长期使用益生菌的疗效及安全性尚缺乏证据支持。

益生元是一种不可存活的食物成分, 可通过刺激肠道内微生物的生长及活性从而改变肠道微生物活性及构成, 达到改善宿主健康的目的^[36,37]。益生元主要为营养结肠的有益菌群提供碳水化合物, 可作为益生菌的替代产品或作为益生菌的额外支持; 包括乳果糖、低聚半乳糖、低聚果糖等低聚糖类, 种类多达数百种, 其中, 菊粉、低聚果糖等果聚糖最常用有效。研究发现^[43], 乳果糖可抑制细菌发酵从而诱导内源性氢产生达到抑制氧化应激及炎症, 促进肝细胞再生及功能恢复作用。一项肝衰竭神经炎症作用机制的研究显示^[44], 乳果糖可通过调节肠道菌群, 抑制全身炎症反应及小胶质细胞的活化, 降低脑内氨水平达到抑制肝衰竭肝性脑病患者神经炎症反应, 改善认知功能。

合生元是益生菌及益生元结合的复合制剂, 既可发挥益生菌的生理性细菌活性, 又可选择性的增加这种细菌的数量使益生菌作用更持久。因此, 合理选择适合的

益生菌及益生元组合是发挥联合作用的关键。目前, 以双歧杆菌和乳酸杆菌属益生菌与低聚果糖组合的合生元最为常用。一项益生菌和益生元对急性肝损伤有效性的荟萃分析显示^[45], 使用益生元及益生菌后, 回肠末端肠球菌等有害菌丰度减少, 内毒素水平降低, 紧密连接蛋白表达增加, 这表明益生菌和益生元的使用对肠道屏障的增强及内环境的稳态有改善作用。研究发现^[46], 补充干酪乳杆菌、双歧杆菌及嗜酸乳杆菌等益生菌联合低聚果糖组合的益生元后, 可抑制核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)并减少TNF- α 的产生, 可见, 合生元的正确选择可减轻肝脏炎症反应及内毒素血症, 改善肝功能。合生元产品同时具备益生菌及益生元的特性, 既克服了益生菌在肠道内难以存活问题, 还可更大限度发挥益生元作用。但在肝衰竭患者中由于肠道菌群的个体差异及合生元种类的多样性, 如何正确选择合适的合生元产品精准及个体化治疗仍然是一大难题。

抗生素能够清除肠道致病菌、抑制细菌移位、减少促炎细胞因子和内毒素释放。由于肝衰竭患者肠道微生态系统紊乱, 细菌易位及免疫功能紊乱等原因, 导致肝衰竭患者自发性腹膜炎、胆道感染、肺部感染等感染几率增加, 与肝衰竭严重程度成正相关, 并直接影响肝衰竭患者的预后^[47]。因此, 合理的抗感染方案在肝衰竭患者中显得尤为重要。在一项抗生素预处理的肝移植小鼠实验中发现^[48], 抗生素预处理的小鼠, 通过改变肠道微生物群, 增加肠道衍生物前列腺素E2(prostaglandin E₂, PGE₂)水平(一种肝细胞保护因子), 并降低内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激相关蛋白CHOP蛋白的水平, 降低ER应激, 从而减少移植后肝细胞死亡, 重建缺血再灌注损伤, 减轻肝损伤, 这与抗生素预处理肝衰竭肝移植患者的结果一致^[49-51]。虽然抗生素的使用对于肝衰竭患者细菌感染及肝移植方面有一定益处, 但是, 其广泛的副作用和细菌耐药性, 以及在杀灭病菌的同时, 也会杀灭有益菌, 使肠道菌群结构更加紊乱等问题, 需要我们严格把握适应症及禁忌症, 对抗生素种类的选择、剂量、疗程等制定合理方案, 并通过联合益生菌、益生元、粪便秘植等适当补充肠道微生物, 维护肠道微生态平衡, 避免恶性循环。

FMT是指将健康人粪便中的菌群移植到患者肠道内, 从而达到改善肠道微生态平衡。由于不同疾病的FMT治疗方案差异巨大, 为提高移植成功率, 捐赠者需经过严格的供体筛查。粪便秘植可经过内窥镜、胶囊、结肠镜、灌肠等方式输送到肠道内。在一项通过四氯化碳构建急性肝衰竭(acute hepatic failure, ALF)大鼠模型研究中^[52], 经过FMT治疗, ALF大鼠白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), TNF- α , Toll样受体9(toll-like receptor 9, TLR9)

等炎症介质及谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、直接胆红素、碱性磷酸酶等指标下降, 且肠道通透性及血氨水平下降。另外一项关于酒精相关性急性肝衰竭患者FMT疗效对比显示^[53,54], 治疗组的短期及中期生存率明显高于对照组, 且治疗组炎症指标较前下降。可见, FMT可通过改善肠黏膜通透性, 降低炎症反应及血氨水平来减轻肝损伤, 改善预后。

肠道菌群在肝衰竭的发生发展中起着重要作用, 但由于肠道菌群结构极易受饮食、生活环境、疾病等因素的影响以及肠道微生态制剂的多样性等, 使得微生态制剂种类、剂量、剂型的正确选择及个体化治疗方案的制定带来一定难度。现在越来越多研究者致力于研究肠道微生物的组成及其在人类健康和疾病中的作用, 旨在建立健康的肠道微生物群, 但肠道微生物组成、结构及其对疾病作用机制的极其复杂, 至今尚未能对健康的肠道微生物群有比较准确的定义。有赖于多学科、多机制的综合研究。

5 结论

基于肠道与肝脏之间解剖和生理的紧密关系, 肠道菌群可通过稳定肠道屏障、调节免疫、改善肝功能、抑制有害菌过度生长、营养及调节脂质代谢等对肝衰竭的发生发展起重要作用。肠道微生态制剂在肝衰竭的治疗方面具有巨大潜力, 随着肠道菌群及其参与肝衰竭发生发展的作用机制、肠道微生态治疗研究的不断深入, 肠道微生态调节治疗或可成为肝衰竭治疗的一种很有前景的疗法。

6 参考文献

- Cresci GA, Bawden E. Gut Microbiome: What We Do and Don't Know. *Nutr Clin Pract* 2015; 30: 734-746 [PMID: 26449893 DOI: 10.1177/0885533615609899]
- Moreau R, Clària J, Aguilar F, Fenaille F, Lozano JJ, Junot C, Colsch B, Caraceni P, Trebicka J, Pavesi M, Alessandria C, Nevens F, Saliba F, Welzel TM, Albillos A, Gustot T, Fernández J, Moreno C, Baldassarre M, Zaccherini G, Piano S, Montagnese S, Vargas V, Genescà J, Solà E, Bernal W, Butin N, Hautbergue T, Cholet S, Castelli F, Jansen C, Steib C, Campion D, Mookerjee R, Rodríguez-Gandía M, Soriano G, Durand F, Benten D, Bañares R, Stauber RE, Gronbaek H, Coenraad MJ, Ginès P, Gerbes A, Jalan R, Bernardi M, Arroyo V, Angeli P; CANONIC Study Investigators of the EASL Clif Consortium; Grifols Chair; European Foundation for the Study of Chronic Liver Failure (EF Clif). Blood metabolomics uncovers inflammation-associated mitochondrial dysfunction as a potential mechanism underlying ACLF. *J Hepatol* 2020; 72: 688-701 [PMID: 31778751 DOI: 10.1016/j.jhep.2019.11.009]
- Harmsen HJ, de Goffau MC. The Human Gut Microbiota. *Adv Exp Med Biol* 2016; 902: 95-108 [PMID: 27161353 DOI: 10.1007/978-3-319-31248-4_7]
- Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, Subramanian S, Seedorf H, Goodman AL, Clemente JC, Knight R, Heath AC, Leibel RL, Rosenbaum M, Gordon JI. The long-term stability of the human gut microbiota. *Science* 2013; 341: 1237439 [PMID: 23828941 DOI: 10.1126/science.1237439]
- Bajaj JS, Reddy KR, O'Leary JG, Vargas HE, Lai JC, Kamath PS, Tandon P, Wong F, Subramanian RM, Thuluvath P, Fagan A, White MB, Gavis EA, Sehrawat T, de la Rosa Rodriguez R, Thacker LR, Sikaroodi M, Garcia-Tsao G, Gillevet PM. Serum Levels of Metabolites Produced by Intestinal Microbes and Lipid Moieties Independently Associated With Acute-on-Chronic Liver Failure and Death in Patients With Cirrhosis. *Gastroenterology* 2020; 159: 1715-1730.e12 [PMID: 32687928 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.07.019]
- Bajaj JS, O'Leary JG, Reddy KR, Wong F, Olson JC, Subramanian RM, Brown G, Noble NA, Thacker LR, Kamath PS; NACSELD. Second infections independently increase mortality in hospitalized patients with cirrhosis: the North American consortium for the study of end-stage liver disease (NACSELD) experience. *Hepatology* 2012; 56: 2328-2335 [PMID: 22806618 DOI: 10.1002/hep.25947]
- Fernández J, Acevedo J, Wiest R, Gustot T, Amorós A, Deulofeu C, Reverter E, Martínez J, Saliba F, Jalan R, Welzel T, Pavesi M, Hernández-Tejero M, Ginès P, Arroyo V; European Foundation for the Study of Chronic Liver Failure. Bacterial and fungal infections in acute-on-chronic liver failure: prevalence, characteristics and impact on prognosis. *Gut* 2018; 67: 1870-1880 [PMID: 28847867 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314240]
- Llorente C, Jepsen P, Inamine T, Wang L, Bluemel S, Wang HJ, Loomba R, Bajaj JS, Schubert ML, Sikaroodi M, Gillevet PM, Xu J, Kisseleva T, Ho SB, DePew J, Du X, Sørensen HT, Vilstrup H, Nelson KE, Brenner DA, Fouts DE, Schnabl B. Gastric acid suppression promotes alcoholic liver disease by inducing overgrowth of intestinal *Enterococcus*. *Nat Commun* 2017; 8: 837 [PMID: 29038503 DOI: 10.1038/s41467-017-00796-x]
- Zocco MA, Ainora ME, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Bacteroides thetaiotaomicron in the gut: molecular aspects of their interaction. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 707-712 [PMID: 17602905 DOI: 10.1016/j.dld.2007.04.003]
- 黄则华, 曾悦, 黄春兰. 肠道菌群对黏蛋白2的影响及其作用机制. *胃肠病学* 2019; 24: 111-114 [DOI:10.3969/j.issn.1008-7125.2019.02.011]
- 杨洁, 聂青和. 肝衰竭与肠道屏障功能障碍. *实用肝脏病杂志* 2010; 13: 66-69 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2010.01.023]
- 葛金华, 曾祥铨, 连豫芭. 微生态制剂对慢性肝衰竭患者肠道菌群的影响. *中国微生态学杂志* 2013; 25: 1415-1418 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.2013.12.021]
- Pabst R, Russell MW, Brandtzaeg P. Tissue distribution of lymphocytes and plasma cells and the role of the gut. *Trends Immunol* 2008; 29: 206-8; author reply 209-10 [PMID: 18394963 DOI: 10.1016/j.it.2008.02.006]
- Maynard CL, Elson CO, Hattton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* 2012; 489: 231-241 [PMID: 22972296 DOI: 10.1038/nature11551]
- Takiishi T, Fenner CIM, Câmara NOS. Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers* 2017; 5: e1373208 [PMID: 28956703 DOI: 10.1080/21688370.2017.1373208]
- Hara N, Alkanani AK, Ir D, Robertson CE, Wagner BD, Frank DN, Zipris D. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes. *Clin Immunol* 2013; 146: 112-119 [PMID: 23314185 DOI: 10.1016/j.clim.2012.12.001]
- Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11: 227-238 [PMID: 23435359 DOI: 10.1038/nrmicro2974]
- Takiishi T, Fenner CIM, Câmara NOS. Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers* 2017; 5: e1373208 [PMID: 28956703 DOI: 10.1080/21688370.2017.1373208]

- 19 Lynch SV, Pedersen O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *N Engl J Med* 2016; 375: 2369-2379 [PMID: 27974040 DOI: 10.1056/NEJMra1600266]
- 20 Wang R, Tang R, Li B, Ma X, Schnabl B, Tilg H. Gut microbiome, liver immunology, and liver diseases. *Cell Mol Immunol* 2021; 18: 4-17 [PMID: 33318628 DOI: 10.1038/s41423-020-00592-6]
- 21 Isaacs-Ten A, Echeandia M, Moreno-Gonzalez M, Brion A, Goldson A, Philo M, Patterson AM, Parker A, Galduroz M, Baker D, Rushbrook SM, Hildebrand F, Beraza N. Intestinal Microbiome-Macrophage Crosstalk Contributes to Cholestatic Liver Disease by Promoting Intestinal Permeability in Mice. *Hepatology* 2020; 72: 2090-2108 [PMID: 32168395 DOI: 10.1002/hep.31228]
- 22 Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Cultivable bacterial diversity from the human colon. *Lett Appl Microbiol* 2007; 44: 343-350 [PMID: 17397470 DOI: 10.1111/j.1472-765X]
- 23 Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 235-243 [PMID: 16633129 DOI: 10.1097/00004836-200603000-00015]
- 24 Addolorato G, Ponzianni FR, Dionisi T, Mosoni C, Vassallo GA, Sestito L, Petito V, Picca A, Marzetti E, Tarli C, Mirijello A, Zocco MA, Lopetuso LR, Antonelli M, Rando MM, Paroni Sterbini F, Posteraro B, Sanguinetti M, Gasbarrini A. Gut microbiota compositional and functional fingerprint in patients with alcohol use disorder and alcohol-associated liver disease. *Liver Int* 2020; 40: 878-888 [PMID: 31951082 DOI: 10.1111/liv.14383]
- 25 Dubinkina VB, Tyakht AV, Odintsova VY, Yarygin KS, Kovarsky BA, Pavlenko AV, Ischenko DS, Popenko AS, Alexeev DG, Taraskina AY, Nasyrova RF, Krupitsky EM, Shalikiani NV, Bakulin IG, Shcherbakov PL, Skorodumova LO, Larin AK, Kostyukova ES, Abdulkhakov RA, Abdulkhakov SR, Malanin SY, Ismagilova RK, Grigoryeva TV, Ilina EN, Govorun VM. Links of gut microbiota composition with alcohol dependence syndrome and alcoholic liver disease. *Microbiome* 2017; 5: 141 [PMID: 29041989 DOI: 10.1186/s40168-017-0359-2]
- 26 Kakiyama G, Pandak WM, Gillevet PM, Hylemon PB, Heuman DM, Daita K, Takei H, Muto A, Nittono H, Ridlon JM, White MB, Noble NA, Monteith P, Fuchs M, Thacker LR, Sikaroodi M, Bajaj JS. Modulation of the fecal bile acid profile by gut microbiota in cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: 949-955 [PMID: 23333527 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.003]
- 27 Smirnova E, Puri P, Muthiah MD, Daitya K, Brown R, Chalasani N, Liangpunsakul S, Shah VH, Gelow K, Siddiqui MS, Boyett S, Mirshahi F, Sikaroodi M, Gillevet P, Sanyal AJ. Fecal Microbiome Distinguishes Alcohol Consumption From Alcoholic Hepatitis But Does Not Discriminate Disease Severity. *Hepatology* 2020; 72: 271-286 [PMID: 32056227 DOI: 10.1002/hep.31178]
- 28 Ciocan D, Rebours V, Voican CS, Wrzosek L, Puchois V, Cassard AM, Perlemuter G. Characterization of intestinal microbiota in alcoholic patients with and without alcoholic hepatitis or chronic alcoholic pancreatitis. *Sci Rep* 2018; 8: 4822 [PMID: 29555983 DOI: 10.1038/s41598-018-23146-3]
- 29 den Hartigh LJ, Gao Z, Goodspeed L, Wang S, Das AK, Burant CF, Chait A, Blaser MJ. Obese Mice Losing Weight Due to trans-10,cis-12 Conjugated Linoleic Acid Supplementation or Food Restriction Harbor Distinct Gut Microbiota. *J Nutr* 2018; 148: 562-572 [PMID: 29659960 DOI: 10.1093/jn/nxy011]
- 30 Zhang X, Coker OO, Chu ES, Fu K, Lau HCH, Wang YX, Chan AWH, Wei H, Yang X, Sung JY, Yu J. Dietary cholesterol drives fatty liver-associated liver cancer by modulating gut microbiota and metabolites. *Gut* 2021; 70: 761-774 [PMID: 32694178 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319664]
- 31 Molinaro A, Wahlström A, Marschall HU. Role of Bile Acids in Metabolic Control. *Trends Endocrinol Metab* 2018; 29: 31-41 [PMID: 29195686 DOI: 10.1016/j.tem.2017.11.002]
- 32 Clifford BL, Sedgeman LR, Williams KJ, Morand P, Cheng A, Jarrett KE, Chan AP, Brearley-Sholto MC, Wahlström A, Ashby JW, Barshop W, Wohlschlegel J, Calkin AC, Liu Y, Thorell A, Meikle PJ, Drew BG, Mack JJ, Marshall HU, Tarling EJ, Edwards PA, de Aguiar Vallim TQ. FXR activation protects against NAFLD via bile acid-dependent reductions in lipid absorption. *Cell Metab* 2021; 33: 1671-1684.e4 [PMID: 34270928 DOI: 10.1016/j.cmet.2021.06.012]
- 33 Chopyk DM, Grakoui A. Contribution of the Intestinal Microbiome and Gut Barrier to Hepatic Disorders. *Gastroenterology* 2020; 159: 849-863 [PMID: 32569766 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.04.077]
- 34 Chopyk DM, Grakoui A. Contribution of the Intestinal Microbiome and Gut Barrier to Hepatic Disorders. *Gastroenterology* 2020; 159: 849-863 [PMID: 32569766 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.04.077]
- 35 Xu S, Zhao M, Wang Q, Xu Z, Pan B, Xue Y, Dai Z, Wang S, Xue Z, Wang F, Xu C. Effectiveness of Probiotics and Prebiotics Against Acute Liver Injury: A Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)* 2021; 8: 739337 [PMID: 34621765 DOI: 10.3389/fmed.2021.739337]
- 36 Kim SK, Guevarra RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, Kim HB, Lee JH. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J Microbiol Biotechnol* 2019; 29: 1335-1340 [PMID: 31434172 DOI: 10.4014/jmb.1906.06064]
- 37 Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 506-514 [PMID: 24912386 DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66]
- 38 中国消化微生态调节剂临床应用专家共识(2016版). 中华消化杂志 2016; 36: 793-804 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2016.03.001]
- 39 Schachtsiek M, Hammes WP, Hertel C. Characterization of *Lactobacillus coryniformis* DSM 20001T surface protein Cpf mediating coaggregation with and aggregation among pathogens. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 7078-7085 [PMID: 15574903 DOI: 10.1128/AEM.70.12.7078-7085.2004]
- 40 张霖, 赵明敬, 赵威. 微生态制剂对慢性肝衰竭患者肠道菌群与血浆内毒素及细胞因子的影响. 中华医院感染学杂志 2015; 25: 262-264 [DOI: 10.11816/cn.ni.2015-142630]
- 41 邓桃枝, 韩向阳, 张洁, 赵蜀崖, 蔡曼妮. 微生态制剂对慢性肝衰竭患者肠道微生态、免疫功能及炎症反应的影响. 中国病原生物学杂志 2018; 13: 408-412 [DOI: 10.13350/j.cjpb.180419]
- 42 张月晓. 益生菌对急性肝损伤肠源性内毒素血症保护作用的研究. 山西医科大学 2012 [DOI: 10.7666/d.y2127000]
- 43 Sharma P, Sharma BC, Puri V, Sarin SK. An open-label randomized controlled trial of lactulose and probiotics in the treatment of minimal hepatic encephalopathy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 506-511 [PMID: 18467909 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f3e6f5]
- 44 Yu J, Zhang W, Zhang R, Ruan X, Ren P, Lu B. Lactulose accelerates liver regeneration in rats by inducing hydrogen. *J Surg Res* 2015; 195: 128-135 [PMID: 25700936 DOI: 10.1016/j.jss.2015.01.034]
- 45 Butterworth RF. The liver-brain axis in liver failure: neuroinflammation and encephalopathy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 522-528 [PMID: 23817325 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.99]
- 46 Markowiak P, Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients* 2017; 9 [PMID: 28914794 DOI: 10.3390/nu9091021]
- 47 Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhan M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Am J Clin Nutr* 2014; 99: 535-542 [PMID: 24401715 DOI: 10.3945/ajcn.113.068890]
- 48 王英杰. 抗菌药物在肝衰竭治疗中的合理应用. 中华肝病杂志 2012; 6: 416-418 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2012]
- 49 Nakamura K, Kageyama S, Ito T, Hirao H, Kadono K, Aziz A, Dery KJ, Everly MJ, Taura K, Uemoto S, Farmer DG, Kaldas

- FM, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Antibiotic pretreatment alleviates liver transplant damage in mice and humans. *J Clin Invest* 2019; 129: 3420-3434 [PMID: 31329160 DOI: 10.1172/JCI127550]
- 50 Corbitt N, Kimura S, Isse K, Specht S, Chedwick L, Rosborough BR, Lunz JG, Murase N, Yokota S, Demetris AJ. Gut bacteria drive Kupffer cell expansion via MAMP-mediated ICAM-1 induction on sinusoidal endothelium and influence preservation-reperfusion injury after orthotopic liver transplantation. *Am J Pathol* 2013; 182: 180-191 [PMID: 23159949 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.09.010]
- 51 Bertuzzo VR, Giannella M, Cucchetti A, Pinna AD, Grossi A, Ravaioli M, Del Gaudio M, Cristini F, Viale P, Cescon M. Impact of preoperative infection on outcome after liver transplantation. *Br J Surg* 2017; 104: e172-e181 [PMID: 28121031 DOI: 10.1002/bjs.10449]
- 52 Wong RJ, Aguilar M, Gish RG, Cheung R, Ahmed A. The impact of pretransplant hepatic encephalopathy on survival following liver transplantation. *Liver Transpl* 2015; 21: 873-880 [PMID: 25902933 DOI: 10.1002/lt.24153]
- 53 Wang WW, Zhang Y, Huang XB, You N, Zheng L, Li J. Fecal microbiota transplantation prevents hepatic encephalopathy in rats with carbon tetrachloride-induced acute hepatic dysfunction. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 6983-6994 [PMID: 29097871 DOI: 10.3748/wjg.v23.i38.6983]
- 54 Sharma A, Roy A, Premkumar M, Verma N, Duseja A, Taneja S, Grover S, Chopra M, Dhiman RK. Fecal microbiota transplantation in alcohol-associated acute-on-chronic liver failure: an open-label clinical trial. *Hepatol Int* 2022; 16: 433-446 [PMID: 35349076 DOI: 10.1007/s12072-022-10312-z]

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 由池肇春教授等主编的《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》已由天津科学技术出版社出版发行。

本书的出版为国内首创, 填补了国内有关这方面的空白, 拓宽了对《代谢相关脂肪性肝病》认识的高度和深度。《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》分总论和各论两部分。1-4章为总论, 分别介绍代谢相关脂肪性肝病肝外并发症研究现状与进展, 包括发病风险、发病机制和治疗近展; 脂肪代谢生物化学和分子生物学; 代谢相关脂肪性肝病肝外并发症免疫学; 肠道微生物生态失衡与代谢相关脂肪性肝病肝外并发症。5-18章为各论, 分别介绍代谢相关脂肪性肝病肝外并发症与机体各系统疾病的相关性。可为消化科、肝病科、内分泌代谢科、普外科、肿瘤科、影像科、其他相关科临床医师和从事MAFLD研究的人员学习和参考。

全书71万余字, 精装、图文并茂。每册定价188元, 可根据购书数量给予优惠, 欢迎选购。购书联系电话022-23332390(发行部何老师)。

血清学标志物对胰腺癌早期诊断及预后的预测价值

王一翔, 郭亚民, 王蕾, 吴世乐

王一翔, 青海大学研究生院 青海省西宁市 810000

郭亚民, 青海省人民医院普外科 青海省西宁市 810000

王蕾, 青海大学研究生院 青海省西宁市 810000

吴世乐, 青海省人民医院普外科 青海省西宁市 810000

王一翔, 研究生, 研究方向为胰腺肿瘤、肝移植等.

作者贡献分布: 本文综述由王一翔完成, 王蕾及吴世乐负责整理文献, 郭亚民审校.

通讯作者: 郭亚民, 教授, 主任医师, 810000, 青海省西宁市城东区共和路2号, 青海省人民医院普外科. 812946288@qq.com

收稿日期: 2022-08-15

修回日期: 2022-09-20

接受日期: 2022-10-20

在线出版日期: 2022-11-28

Value of serological markers for early diagnosis and prognosis prediction of pancreatic cancer

Yi-Xiang Wang, Ya-Min Guo, Lei Wang, Shi-Le Wu

Yi-Xiang Wang, Graduate School of Qinghai University, Xining 810000, Qinghai Province, China

Ya-Min Guo, Department of General Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, 810000, Qinghai Province, China

Lei Wang, Graduate School of Qinghai University, Xining 810000, Qinghai Province, China

Shi-Le Wu, Department of General Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810000, Qinghai Province, China

Corresponding author: Ya-Min Guo, Professor, Department of General Surgery, Qinghai Provincial People's Hospital, No. 2 Gonghe Road, Chengdong District, Xining 810000, Qinghai Province, China. 812946288@qq.com

Received: 2022-08-15

Revised: 2022-09-20

Accepted: 2022-10-20

Published online: 2022-11-28

Abstract

Pancreatic cancer (PC) is a kind of malignant tumor with a poor prognosis. Its incidence rate is almost equal to the mortality rate, which shows an increasing trend, especially in recent years. At present, the radical cure of pancreatic cancer is mainly achieved by surgery, but the complex pathophysiology, the lack of early diagnosis and prognostic markers, and low surgical survival rate are the main obstacles to surgical treatment of pancreatic cancer. Serological markers are sensitive biological markers, and they have been used in recent years for the diagnosis and prediction of the prognosis of patients with postoperative pancreatic cancer. Therefore, serum markers are of vital importance in pancreatic cancer. This article summarizes various serological markers for early diagnosis and prognosis prediction of pancreatic cancer to provide a theoretical reference for clinical workers.

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

Key Words: Pancreatic cancer; Serological markers; Novel serological markers; CA19-9

Citation: Wang YX, Guo YM, Wang L, Wu SL. Value of serological markers for early diagnosis and prognosis prediction of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(22): 978-983

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/978.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i22.978>

摘要

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是一种预后极差的恶性肿瘤,其发病率几乎与死亡率相等,尤其是在近年呈逐年上升的趋势.胰腺癌的根治目前主要通过手术治疗,但复杂的病理生理、缺乏早期诊断和预后的标志物,极低的手术生存率的是胰腺癌手术治疗的主要障

碍. 血清学标志物因其在生物学标志物中最为敏感, 近年来已成为胰腺癌诊断及预测患者预后的研究重点, 因此血清标志物在胰腺癌中至关重要, 本篇文章综述了各种血清学标志物对于胰腺癌的早期诊断和预后预测的价值, 为临床工作者提供理论参考.

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

关键词: 胰腺癌; 血清学标志物; 新型血清学标志物; CA19-9

核心提要: 血清学标志物因其在胰腺癌等肿瘤中较敏感, 现已成为一种临床上胰腺癌早期诊断和预后预测的重要指标, 本文总结了近年来各种常用血清学标志物最新的研究进展并介绍了关于新型血清学标志物的相关研究.

文献来源: 王一翔, 郭亚民, 王蕾, 吴世乐. 血清学标志物对胰腺癌早期诊断及预后的预测价值. 世界华人消化杂志 2022; 30(22): 978-983

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/978.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.978>

0 引言

胰腺癌是一种高度恶性的消化系统肿瘤, 胰腺癌诊断后的五年生存率仅约10%, 是预后最差的恶性肿瘤之一^[1]. 目前各种研究表明手术治疗配合化疗是胰腺癌的唯一根治方式, 但术后5年生存率仅有10%-25%^[2]. 大部分胰腺癌患者由于胰腺癌高度侵袭性特征和缺乏典型的早期临床表现直到晚期转移时才被诊断出来. 少部分早期诊断的胰腺癌术后生存率可达80%, 预计到2040年, 胰腺癌将成为发达国家癌症死亡的第二大原因^[3]. 因此, 胰腺癌的早期诊断对于改善胰腺癌患者术后生存率至关重要且具有预测价值. 目前我国甚至全世界来看, 胰腺癌的筛查仅存在于高危人群, 难以实现胰腺癌的早期诊断. 这使得作为唯一根治方法的手术治疗变得更加困难. 生物学标志物包括多种来源标志物, 主要是来源于组织、胰腺囊液、胰液、血浆、血清等, 相对来说的最敏感生物学标志物是血清学标志物, 具有特异性的血清学标志物可以用来帮助早期诊断胰腺癌, 从而改善胰腺癌患者术后生存率^[4]. 术前的早期的血清学生物标志物检测是一种胰腺癌患者预改善后的有效方法. 然而目前各种研究及报道众说纷纭, 还没有相关文献及报道说明有一种足够敏感性和特异性的血清学标志物用来诊断早期胰腺癌患者或者预测患者预后的结局. 本文重点介绍各种血清学标志物对于胰腺癌患者早期诊断及预后预测价值的研究进展.

1 常用血清学标志物对于术前诊断及术后预测的研究

随着胰腺癌发病率的增加, 为了提高患者生存率及术后生存质量, 临床医生需要对胰腺癌更早的诊断, 并且需要更精准的预测患者术后的预后. 目前临床上对于胰腺癌最关键的血清学标志物指标为糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9), CA19-9是全世界多个国家及组织的纳入指南并用于胰腺癌诊断的生物标志物, 作为临床上常用的血清学标志物之一, 其特异性较差, 因此各种最新的临床研究中褒贬不一. 临床上可以与CA19-9共同诊断胰腺癌的临床常用血清学标志物还有糖类抗原125(carbohydrate antigen 125, CA125)、糖类抗原242(carbohydrate antigen 242, CA242)、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)等.

1.1 糖类抗原19-9 CA19-9是临床中诊断和监测胰腺癌最常用的标志物^[5]. CA19-9的生物合成是复杂的, 多个糖基化酶以直接和间接的方式参与其生物合成, 有多种复杂的生物合成过程在CA19-9合成的过程中. CA19-9已被用作各种癌症诊断的生物标志物, 各种源自消化道的肿瘤都会使CA19-9升高, 尤其是在胰腺癌肿瘤等升高更为明显. CA19-9升高的程度与胰腺癌病情发展有关, 其水平与肿瘤生长与发育直接相关, 但部分患者直到晚期肿瘤生长到一定程度, 且有较大转移可能性时, CA19-9才有可能升高^[6].

CA19-9可以作为预测肿瘤术后预后的理论基础, 因为CA19-9与术前评估和胰腺癌术后患者最终结局密切相关, 并且CA19-9很容易在血液中抽取并检测, CA19-9可以作为预测患者术后预后的因素之一^[7], 检测患者血液中的CA19-9可以评估胰腺肿瘤的术前分期、预后、可切除性、肿瘤复发和治疗效果并提供一个较为精确的参考^[8]. 国外有相关研究^[9]分析了2000年至2014年间行手术治疗且来自世界各地的700名胰腺癌患者, 研究中大部分患者术前的CA19-9对于患者术后转移和复发有一定影响, 临床医生可以根据术前CA19-9提前进行术前治疗方式的选择. 对于可以对胰腺癌行手术治疗的患者的患者, 明显升高的CA19-9在部分患者的血液化验检查中可能比影像学检查发现的早6 mo以上, 为患者早期手术治疗提供了一个重要时间窗^[10]. 因此, 定期检测患者术前及术后CA19-9评估患者术后预后情况比通过CT, 彩超等等成像工具评估的肿瘤影像中的形态学变化更重要.

在Azizian等^[11]的回顾性研究中, 60%的胰腺癌根治术后患者在通过影像技术检测到复发前就已经测得显著升高的CA19-9. 复发时的血液中测得的CA19-9值升

高2.45倍以上, 阳性预测值为90%. 敏感性为90%, 特异性为83.33%, 曲线下面积为95%. 在Azizian研究中相关团队指出CA19-9升高是胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)复发的早期且可靠体征^[11]. 除PDAC外, CA19-9已被应用于预测导管内乳头状粘液性肿瘤 (intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMNs)和胰腺神经内分泌肿瘤(pancreatic neuroendocrine tumors pNENs)的恶性程度, CA19-9可以帮助预测这两种常见的恶性程度较低的胰腺肿瘤分期及术后预后情况. 且术后CA19-9升高的患者复发率明显增加, 患者预后较差^[12].

虽然CA19-9在临床上为PDAC诊断的血清生物标志物标准之一, 但它也具有局限性, 例如在Lewis血型阴性表型的胰腺癌患者中血清CA19-9会表现为正常, 在梗阻性黄疸患者中测得血清CA19-9会显著升高. 此外, CA19-9的水平在某些情况下会增加, 例如在良性肿瘤、患者全身感染, 炎症和糖尿病等临床疾病^[13]. Haring等^[14]在他的临床案例分析中指出CA19-9水平显著升高并不能证明胰腺恶性肿瘤. CA19-9不是理想的肿瘤标志物, 在临床上可能出现假阳性的情况. 因此应谨慎分析CA19-9血清标志物的结果. 但是, Fahrman等^[15]通过收集胰腺癌, 慢性胰腺炎, 非癌性胰腺囊肿, 前列腺癌, 肺癌, 结直肠癌和卵巢癌的患者血清学CA19-9的结果中可知, 以上全部疾病的部分患者的CA19-9水平从诊断前2年开始呈指数级增长, 在区分新诊断的可切除胰腺癌病例和对照组方面大致相同. 在胰腺癌患者与其他分组相互比较中, 研究结果证明了CA19-9在胰腺癌筛查及患者术后预测中的实用性, 证明了纳入标准的部分胰腺癌患者的可以用于早期诊断及预测患者预后.

CA19-9这项作为胰腺癌临床评估的肿瘤指标已经出现了数十年, 近年来关于胰腺癌CA19-9关于回顾性研究不断增多, CA19-9不止对于胰腺癌具有特异性, 甚至可能造成临床医生在临床工作中对胰腺癌及相关疾病的误诊, 各种研究对于CA19-9的争议极大. 但CA19-9对于胰腺癌患者早期诊断及预测患者术后预后有一定临床意义, CA19-9对于部分胰腺癌患者有较强的特异性, 且敏感性高^[16,17], 因此CA19-9可以作为胰腺癌诊断的有效参考指标之一.

1.2 糖类抗原125 CA125同CEA同CA19-9也是一种高度糖基化的蛋白质^[18]. 为了更好的分析CA125在胰腺癌中起的作用, 国外有学者在最新的荟萃分析研究指出CA125在PDAC的诊断中不如在CA19-9, 但两者联合判断胰腺癌可以避免误诊, 增加PDAC的诊非肿瘤性因素中显著上升^[19]. 可见生长分化因子15(growth differentiation factor 15, GDF-15)浓度与血清中CA125升高降低水平相结合, 在判断胰腺癌转移, 生长分化方面

优于CA19-9等其他血清学标志物^[20], 并且部分欧美国家把CA125与GDF-15纳入了常规胰腺癌检查中, 这也是我国胰腺癌诊断与预测患者预后的中未来方向. 通过近年来的研究中可见CA125可以提高胰腺诊断成功率, 从而改善患者术后的预后, 同时具有潜在的诊断价值的潜力.

1.3 糖类抗原242 CA242是一种由肿瘤细胞分泌的含唾液酸的碳水化合物抗原, 附着在细胞表面或血清中可检测到的蛋白质/脂质上. 血清学中CA242水平在临床上已被用作胰腺癌等癌症的诊断血清学标志物^[21]. 有研究收集了362名受试者血清样本, 包括213名不同阶段的PDAC患者, 75名良性胰腺疾病患者和74名健康个体. 通过分组比较分析得出了骨膜蛋白和CA242是潜在的诊断性血清生物标志物, 表明血清中的骨膜蛋白和CA242可作为补充CA19-9检测早期胰腺癌的潜在诊断生物标志物^[22]. 有研究表明^[23]术前CEA和术后CA242是PDAC I期和II期患者预测胰腺癌患者是否可行手术治疗及术后预后的生物标志物, CEA和CA242两者其中之一单独升高的患者的生存率较低, 但两者同时升高的胰腺癌患者生存率及术后预后较单一指标升高组更差, 可见CA242具有临床诊断意义. 所以CA242是早期诊断胰腺癌及判断胰腺癌术后预后的重要血清学标志物之一.

1.4 癌胚抗原CEA CEA作为一种蛋白质复合物, 不仅在胃肠道肿瘤, 肺癌, 肺纤维化, 尿毒症等疾病中显著升高, 在胰腺癌的患者中也会显著升高, 在胰腺癌患者中也具有一定的诊断价值^[24]. CA19-9对于Lewis阴性基因型胰腺癌患者并不敏感. 而CEA在Lewis阴性胰腺癌患者中的敏感性明显高于其他生物标志物[CEA, 63.8%; CA125, 51.1%; CA724, 25.5%; CA153, 21.3%; CA199, 19.1%; CA50, 12.8%; CA242, 0.6%; 和甲胎蛋白0.0%], CEA还与患者的胰腺癌的转移与复发有密切的联系, CEA是Lewis阴性胰腺癌患者诊断胰腺癌的重要指标, 可以极大的弥补CA19-9的不足^[25]. 临床上更倾向于用CA19-9诊断胰腺癌及预测胰腺癌术后预后, 但是也同样有相关文献提出了CEA也在胰腺癌病程进展中的重要性. van Manen等^[26]分析了375名患的血清学指标后得出了CEA是比CA19-9更强的晚期PDAC的预测因子, 可用CEA血清学水平作为确定肿瘤是否行手术治疗的评价指标. CEA与CA19-9血清标志物进行血液肿瘤标志物联合诊断, 可以提高胰腺癌诊断的灵敏度和特异性, 以便早中期胰腺癌患者可以更早行手术治疗, 提高患者生存率^[27]. 虽然CEA敏感性相对不足^[28], 但是其可以补足CA19-9的缺点, 用于联合诊断. CEA在胰腺癌诊断中也可作为一种独立的诊断指标用于胰腺癌的早期诊断及预后预测^[29], 既适用临床工作者的临床诊断, 也为临床

工作者手术的选择提供了帮助, CEA在胰腺癌的预测预后方面也是一种至关重要的血清学检查指标。

2 新型血清学标志物的研究

随着对胰腺癌血清学标志物研究的不断深入, 不断有新型血清学标志物脱颖而出, 比如肾酶(renalase, RNLS)、异常凝血酶原(protein induced by vitamin K absence or antagonist-II, PIVKA-II)、巨噬细胞抑制性细胞因子-1(macrophage inhibitory cytokine-1, MIC-1)/生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)等。虽然他们临床上未广泛普及, 但是已有研究说明了他们对于胰腺癌早期诊断的重要性, 因此检测新型血清学标志物可以改善胰腺癌患者术后的预后, 具有预测胰腺癌患者术后预后的临床价值, 目前用于诊断胰腺癌的新型血清学标志物越来越多, 因为基因组学相关血清学标志物诊断准确率较低且在我国难以普及, 本文只探讨目前集中最具有研究价值且适合临床工作的几种血清学标志物。

2.1 肾酶 RNLS是一种新型可以作为血清学标志物的新型分泌蛋白, RNLS与人的肿瘤细胞的生长有关, 肿瘤细胞死亡也与其密切相关。PDAC患者总体生存率与肿瘤样本中的RNLS血清学水平呈负相关, RNLS可能是维持PDAC生长和影响患者预后的重要因素^[30]。有研究发现在正常的胰腺头部组织中几乎没有RNLS, 但在癌前病变和PDAC组织中, RNLS是可检测到的。此外研究发现血清中检测的RNLS水平影响了PDAC患者的临床结局, 在240例PDAC患者中, 血液中的肾酶水平与肿瘤的进展程度相关, 包括血液转移情况(80.0% vs 58.1%, $P=0.012$)和淋巴转移情况(76.5% vs 56.5%, $P=0.024$), 实验中还随访了不同的患者, 得出了血清学检测中RNLS较高的患者的总生存期较短, 研究还预测了局部组织恶化和边缘可切除的PDAC患者是否可行手术治疗, 最终预测得结论与得出的实际结论几乎相符。与正常胰腺相比, 在局部组织恶化和边缘可切除的PDAC患者中, 血清中RNLS水平与肿瘤晚期分化程度、有无转移、总体生存率和手术成功率, 可切除性有密切关联^[31]。可见血清中的RNLS可用作为大部分胰腺癌患者的预测的血清学标志物。

2.2 异常凝血酶原 PIVKA-II是由维生素K缺失诱导的II型凝血酶原也称为去 γ -羧基凝血酶原, 并且是在维生素K不足的情况下或由于肿瘤细胞中凝血酶原前体的翻译并羧基化后获得的缺陷而导致的肝脏释放的凝血酶原的异常形式, 具有诱导的凝血酶原的作用^[32]。

PIVKA-II高于正常限值的升高, 不仅在肝细胞癌中, 而且在包括胰腺癌在内的其他胃肠道恶性肿瘤中也是如此^[33]。有研究表明^[33], 血清PIVKA-II的评估不仅对

胰腺癌筛查有参考意义, 而且对胰腺病变的鉴别诊断也有意义。PIVKA-II在良性胰腺疾病的情况下比目前胰腺癌的血清学标志物(如CA19-9, CEA和CA242)的血清学表达程度低, PIVKA-II在胰腺癌中的表达明显高于良性胰腺疾病, 并且PIVKA-II在胰腺癌中比CA19-9, CEA, CA242表达更强。PIVKA-II的在胰腺癌中也具有预测价值。术前血清中PIVKA-II升高的患者行手术治疗成功后, 术后血清中PIVKA-II血清中的浓度明显比术前降低, 而术前血清中PIVKA-II正常的胰腺癌患者, 术后的血清中PIVKA-II没有明显变化。这些数据首次证明了术后预后较好的PDAC患者PIVKA-II血清水平会下降, 两者总结而言证明了PIVKA-II对于PIVKA-II术前升高的患者有一定预测价值。研究发现了PIVKA-II在预测胰腺癌患者术后预后的有效性^[34]。PIVKA-II作为一种近年发现的新型血清学标志物, PIVKA-II成本较低, 在我国易普及, 已有研究证明其在胰腺癌具有诊断意义, 但笔者认为还缺乏涉及更多胰腺癌患者的前瞻性研究来证明其在胰腺癌的诊断价值。

2.3 巨噬细胞抑制性细胞因子-1/生长分化因子-15巨噬细胞抑制性细胞因子-1(macrophage inhibitory cytokine-1, MIC-1)也称为生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)是转化生长因子(transforming growth factor, TGF- β)其中的一个组成因子, MIC-1/GDF-15主要在巨噬细胞从静止状态到活化时表达。MIC-1/GDF-15存在于所有人类个体的血清中, 正常范围为150-1150 pg/mL, MIC-1/GDF-15与炎症和肿瘤等疾病有关^[35]。MIC-1/GDF-15在胰腺癌的进展中, 在分子水平上已被证明可以通过MIC-1/GDF-15与转录因子Twist1的相互作用来促进胰腺肿瘤细胞的进一步侵袭^[36]。Ozkan等^[37]观察到, PC病例组与其他肝胆疾病组和健康对照组相比, PC病例组中MIC-1的表达程度明显升高。在鉴别PC与其他良性疾病方面, 其敏感性与CA19-9相似。最新的研究中O'Neill等人在8年内招募了120名参与者, 使用血清MIC-1/GDF-15特征曲线分析了肿瘤的预测因子。MIC-1/GDF-15相比IPMNs和超声穿刺诊断发现的胰腺癌而言, MIC-1/GDF-15的预测能力更强, 除此之外, MIC-1/GDF-15对具有遗传易感性的无症状胰腺癌患者具有比较精准的预测能力^[38]。MIC-1/GDF-15虽然目前临床应用较少, 但是已被证明在基因组学与胰腺癌有相关性, 且对于胰腺癌有预测及诊断意义。通过不断的研究未来可能是一种理想的胰腺癌生物标志物。

3 总结与展望

胰腺癌是一种预后极差且高度恶性的肿瘤, 早期难以发现, 很多患者术后预后结局不尽如人意。但我们没有放

弃。胰腺癌的治疗中, 尽早预测患者术后预后情况可以极大提高患者术后生存率及术后生存质量, 近年来关于血清学标志物在胰腺癌早期诊断及预测术后预后等方面的研究越来越多, 目前尚无文献可以准确说明哪种血清肿瘤标志物可以用于胰腺癌的早期的准确诊断及预测患者预后。虽然CA19-9被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准为PDAC的唯一血清生物标志物, 但更多的研究倾向于使用更多的新型与传统血清学指标联合诊断胰腺癌, 我们所提到的各种新型血清学标志物目前部分已经应用于临床, 具有一定的肿瘤诊断及预测预后价值。目前各国胰腺癌治疗的临床指南中未提及, 且没有较充足的临床数据支持miRNA等基因组学的诊断作用, 但是胰腺癌血清标志物的诊断近年来逐渐在miRNA等基因组学中已经开始临床基础研究, 也可能成为未来胰腺癌的早期诊断及预测预后的新方向^[39]。我们现在每年都有对于血清学标志物的大量研究, 血清学标志物仍是胰腺癌的早期诊断和预测预后的一种重要方法^[40], 但以笔者认为研究还不够全面深入, 依然没有研究可以指出一种或者几种既可以用于早期诊断, 并且准确预测患者术后预后的一种血清学标志物, 还需我们科研及临床工作者们继续努力。

4 参考文献

- Wang H, Liu J, Xia G, Lei S, Huang X, Huang X. Survival of pancreatic cancer patients is negatively correlated with age at diagnosis: a population-based retrospective study. *Sci Rep* 2020; 10: 7048 [PMID: 32341400 DOI: 10.1038/s41598-020-64068-3]
- Brunner M, Wu Z, Krautz C, Pilarsky C, Grützmann R, Weber GF. Current Clinical Strategies of Pancreatic Cancer Treatment and Open Molecular Questions. *Int J Mol Sci* 2019; 20 [PMID: 31540286 DOI: 10.3390/ijms20184543]
- Rahib L, Wehner MR, Matrisian LM, Nead KT. Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. *JAMA Netw Open* 2021; 4: e214708 [PMID: 33825840 DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.4708]
- Zhang Q, Chen S, Zeng L, Chen Y, Lian G, Qian C, Li J, Xie R, Huang KH. New developments in the early diagnosis of pancreatic cancer. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 149-156 [PMID: 27937041 DOI: 10.1080/17474124.2017.1271323]
- Humphris JL, Chang DK, Johns AL, Scarlett CJ, Pajic M, Jones MD, Colvin EK, Nagrial A, Chin VT, Chantrill LA, Samra JS, Gill AJ, Kench JG, Merrett ND, Das A, Musgrove EA, Sutherland RL, Biankin AV; NSW Pancreatic Cancer Network. The prognostic and predictive value of serum CA19.9 in pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2012; 23: 1713-1722 [PMID: 22241899 DOI: 10.1093/annonc/mdr561]
- Scarà S, Bottoni P, Scatena R. CA 19-9: Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol* 2015; 867: 247-260 [PMID: 26530370 DOI: 10.1007/978-94-017-7215-0_15]
- Pereira SP, Oldfield L, Ney A, Hart PA, Keane MG, Pandol SJ, Li D, Greenhalf W, Jeon CY, Koay EJ, Almario CV, Halloran C, Lennon AM, Costello E. Early detection of pancreatic cancer. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 698-710 [PMID: 32135127 DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30416-9]
- Goh SK, Gold G, Christophi C, Muralidharan V. Serum carbohydrate antigen 19-9 in pancreatic adenocarcinoma: a mini review for surgeons. *ANZ J Surg* 2017; 87: 987-992 [PMID: 28803454 DOI: 10.1111/ans.14131]
- Mattiucci GC, Morganti AG, Cellini F, Buwenge M, Casadei R, Farioli A, Alfieri S, Arcelli A, Bertini F, Calvo FA, Cammelli S, Fuccio L, Giaccherini L, Guido A, Herman JM, Macchia G, Maidment BW 3rd, Miller RC, Minni F, Regine WF, Reni M, Partelli S, Falconi M, Valentini V. Prognostic Impact of Presurgical CA19-9 Level in Pancreatic Adenocarcinoma: A Pooled Analysis. *Transl Oncol* 2019; 12: 1-7 [PMID: 30237099 DOI: 10.1016/j.tranon.2018.08.017]
- Rieser CJ, Zenati M, Hamad A, Al Abbas AI, Bahary N, Zureikat AH, Zeh HJ 3rd, Hogg ME. CA19-9 on Postoperative Surveillance in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Predicting Recurrence and Changing Prognosis over Time. *Ann Surg Oncol* 2018; 25: 3483-3491 [PMID: 29786131 DOI: 10.1245/s10434-018-6521-7]
- Azizian A, Rühlmann F, Krause T, Bernhardt M, Jo P, König A, Kleiß M, Leha A, Ghadimi M, Gaedcke J. CA19-9 for detecting recurrence of pancreatic cancer. *Sci Rep* 2020; 10: 1332 [PMID: 31992753 DOI: 10.1038/s41598-020-57930-x]
- Luo G, Jin K, Cheng H, Liu C, Guo M, Lu Y, Yang C, Xu J, Wang W, Gao H, Zhang S, Long J, Xu J, Ni Q, Chen J, Yu X. Carbohydrate antigen 19-9 as a prognostic biomarker in pancreatic neuroendocrine tumors. *Oncol Lett* 2017; 14: 6795-6800 [PMID: 29163700 DOI: 10.3892/ol.2017.7071]
- Luo G, Jin K, Deng S, Cheng H, Fan Z, Gong Y, Qian Y, Huang Q, Ni Q, Liu C, Yu X. Roles of CA19-9 in pancreatic cancer: Biomarker, predictor and promoter. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2021; 1875: 188409 [PMID: 32827580 DOI: 10.1016/j.bbcan.2020.188409]
- Haring MPD, de Cort BA, Nieuwenhuijs VB. [Elevated CA19-9 levels; not always cancer]. *Ned Tijdschr Geneesk* 2021; 164 [PMID: 33651490]
- Fahrmann JF, Schmidt CM, Mao X, Irajizad E, Loftus M, Zhang J, Patel N, Vykoukal J, Dennison JB, Long JP, Do KA, Zhang J, Chabot JA, Kluger MD, Kastrinos F, Brais L, Babic A, Jajoo K, Lee LS, Clancy TE, Ng K, Bullock A, Genkinger J, Yip-Schneider MT, Maitra A, Wolpin BM, Hanash S. Lead-Time Trajectory of CA19-9 as an Anchor Marker for Pancreatic Cancer Early Detection. *Gastroenterology* 2021; 160: 1373-1383.e6 [PMID: 33333055 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.11.052]
- Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 266-270 [PMID: 17097848 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.10.004]
- O'Brien DP, Sandanayake NS, Jenkinson C, Gentry-Maharaj A, Apostolidou S, Fourkala EO, Camuzeaux S, Blyuss O, Gunu R, Dawnay A, Zaikin A, Smith RC, Jacobs IJ, Menon U, Costello E, Pereira SP, Timms JF. Serum CA19-9 is significantly upregulated up to 2 years before diagnosis with pancreatic cancer: implications for early disease detection. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 622-631 [PMID: 24938522 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0365]
- Skulimowski A, Durczyński A, Strzelczyk J, Hogendorf P. Comparison of clinical usefulness of serum Ca125 and CA19-9 in pancreatic adenocarcinoma diagnosis: meta-analysis and systematic review of literature. *Biomarkers* 2021; 26: 287-295 [PMID: 33459070 DOI: 10.1080/1354750X.2021.1876770]
- Zhang M, Zhang Y, Fu J, Zhang L. Serum CA125 levels are decreased in rectal cancer but increased in fibrosis-associated diseases and in most types of cancers. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2019; 162: 241-252 [PMID: 30905453 DOI: 10.1016/bs.pmbts.2018.12.012]
- Hogendorf P, Durczyński A, Skulimowski A, Kumor A, Poznańska G, Strzelczyk J. Growth differentiation factor (GDF-15) concentration combined with Ca125 levels in serum is superior to commonly used cancer biomarkers in differentiation of pancreatic mass. *Cancer Biomark* 2018; 21: 505-511 [PMID: 29171983 DOI: 10.3233/CBM-170203]

- 21 Dou H, Sun G, Zhang L. CA242 as a biomarker for pancreatic cancer and other diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2019; 162: 229-239 [PMID: 30905452 DOI: 10.1016/bs.pmbts.2018.12.007]
- 22 Dong D, Jia L, Zhang L, Ma N, Zhang A, Zhou Y, Ren L. Periostin and CA242 as potential diagnostic serum biomarkers complementing CA19.9 in detecting pancreatic cancer. *Cancer Sci* 2018; 109: 2841-2851 [PMID: 29945294 DOI: 10.1111/cas.13712]
- 23 Li X, Li S, Liu L, Hong J, Zhao T, Gao C. Effect of Perioperative CEA and CA24-2 on Prognosis of Early Resectable Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Cancer* 2020; 11: 9-15 [PMID: 31892968 DOI: 10.7150/jca.33767]
- 24 Hao C, Zhang G, Zhang L. Serum CEA levels in 49 different types of cancer and noncancer diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2019; 162: 213-227 [PMID: 30905451 DOI: 10.1016/bs.pmbts.2018.12.011]
- 25 Luo G, Liu C, Guo M, Cheng H, Lu Y, Jin K, Liu L, Long J, Xu J, Lu R, Ni Q, Yu X. Potential Biomarkers in Lewis Negative Patients With Pancreatic Cancer. *Ann Surg* 2017; 265: 800-805 [PMID: 28267695 DOI: 10.1097/SLA.0000000000001741]
- 26 van Manen L, Groen JV, Putter H, Vahrmeijer AL, Swijnenburg RJ, Bonsing BA, Mieog JSD. Elevated CEA and CA19-9 serum levels independently predict advanced pancreatic cancer at diagnosis. *Biomarkers* 2020; 25: 186-193 [PMID: 32009482 DOI: 10.1080/1354750X.2020.1725786]
- 27 Nurmi AM, Mustonen HK, Stenman UH, Seppänen HE, Haglund CH. Combining CRP and CA19-9 in a novel prognostic score in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Sci Rep* 2021; 11: 781 [PMID: 33437015 DOI: 10.1038/s41598-020-80778-0]
- 28 Xing H, Wang J, Wang Y, Tong M, Hu H, Huang C, Li D. Diagnostic Value of CA 19-9 and Carcinoembryonic Antigen for Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 8704751 [PMID: 30584422 DOI: 10.1155/2018/8704751]
- 29 Meng Q, Shi S, Liang C, Liang D, Xu W, Ji S, Zhang B, Ni Q, Xu J, Yu X. Diagnostic and prognostic value of carcinoembryonic antigen in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotargets Ther* 2017; 10: 4591-4598 [PMID: 28979147 DOI: 10.2147/OTT.S145708]
- 30 Guo X, Hollander L, MacPherson D, Wang L, Velazquez H, Chang J, Safirstein R, Cha C, Gorelick F, Desir GV. Inhibition of renalase expression and signaling has antitumor activity in pancreatic cancer. *Sci Rep* 2016; 6: 22996 [PMID: 26972355 DOI: 10.1038/srep22996]
- 31 Gao Y, Wang M, Guo X, Hu J, Chen TM, Finn SMB, Lacy J, Kunstman JW, Cha CH, Bellin MD, Robert ME, Desir GV, Gorelick FS. Renalase is a novel tissue and serological biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS One* 2021; 16: e0250539 [PMID: 34587190 DOI: 10.1371/journal.pone.0250539]
- 32 Dahlberg S, Nilsson CU, Kander T, Schött U. Detection of subclinical vitamin K deficiency in neurosurgery with PIVKA-II. *Scand J Clin Lab Invest* 2017; 77: 267-274 [PMID: 28319421 DOI: 10.1080/00365513.2017.1303190]
- 33 Tartaglione S, Pecorella I, Zarrillo SR, Granato T, Viggiani V, Manganaro L, Marchese C, Angeloni A, Anastasi E. Protein Induced by Vitamin K Absence II (PIVKA-II) as a potential serological biomarker in pancreatic cancer: a pilot study. *Biochem Med (Zagreb)* 2019; 29: 020707 [PMID: 31223261 DOI: 10.11613/BM.2019.020707]
- 34 Tartaglione S, Mancini P, Viggiani V, Chirletti P, Angeloni A, Anastasi E. PIVKA-II: A biomarker for diagnosing and monitoring patients with pancreatic adenocarcinoma. *PLoS One* 2021; 16: e0251656 [PMID: 34015010 DOI: 10.1371/journal.pone.0251656]
- 35 Skipworth RJ, Deans DA, Tan BH, Sangster K, Paterson-Brown S, Brown DA, Hunter M, Breit SN, Ross JA, Fearon KC. Plasma MIC-1 correlates with systemic inflammation but is not an independent determinant of nutritional status or survival in oesophago-gastric cancer. *Br J Cancer* 2010; 102: 665-672 [PMID: 20104227 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605532]
- 36 Ji H, Lu HW, Li YM, Lu L, Wang JL, Zhang YF, Shang H. Twist promotes invasion and cisplatin resistance in pancreatic cancer cells through growth differentiation factor 15. *Mol Med Rep* 2015; 12: 3841-3848 [PMID: 26018318 DOI: 10.3892/mmr.2015.3867]
- 37 Ozkan H, Demirbaş S, Ibiş M, Akbal E, Köklü S. Diagnostic validity of serum macrophage inhibitor cytokine and tissue polypeptide-specific antigen in pancreaticobiliary diseases. *Pancreatol* 2011; 11: 295-300 [PMID: 21757969 DOI: 10.1159/000328963]
- 38 O'Neill RS, Emmanuel S, Williams D, Stoita A. Macrophage inhibitory cytokine-1/growth differentiation factor-15 in premalignant and neoplastic tumours in a high-risk pancreatic cancer cohort. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 1660-1673 [PMID: 32327914 DOI: 10.3748/wjg.v26.i14.1660]
- 39 Dittmar RL, Liu S, Tai MC, Rajapakshe K, Huang Y, Longton G, DeCapite C, Hurd MW, Paris PL, Kirkwood KS, Coarfa C, Maitra A, Brand RE, Killary AM, Sen S. Plasma miRNA Biomarkers in Limited Volume Samples for Detection of Early-stage Pancreatic Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2021; 14: 729-740 [PMID: 33893071 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0303]
- 40 Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, Takaori K. Pancreatic cancer. *Lancet* 2016; 388: 73-85 [PMID: 26830752 DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00141-0]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



重症急性胰腺炎微创治疗新进展与前景展望

马瑞光, 陈欣羽, 钟宁, 李真

马瑞光, 陈欣羽, 钟宁, 李真, 山东大学齐鲁医院消化内科 山东省济南市 250012

马瑞光, 医学学士, 主要从事消化疾病的临床研究.

基金项目: 山东省重点研发计划(重大科技创新工程), No. 2021CXGC010506; 国家留学基金资助, No. 201906225068.

作者贡献分布: 本综述由马瑞光和陈欣羽完成; 李真和钟宁审校.

通讯作者: 李真, 副主任医师, 250012, 山东省济南市历下区文化西路107号, 山东大学齐鲁医院. qilulizhen@sdu.edu.cn

收稿日期: 2022-08-15

修回日期: 2022-09-26

接受日期: 2022-10-24

在线出版日期: 2022-11-28

Minimally invasive management of severe acute pancreatitis: Current status and future perspectives

Rui-Guang Ma, Xin-Yu Chen, Zhen Li, Ning Zhong

Rui-Guang Ma, Xin-Yu Chen, Zhen Li, Ning Zhong, Department of Gastroenterology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250000, Shandong Province, China

Supported by: Shandong Provincial Key Research and Development Program (Major Scientific and Technological Innovation Project), No. 2021CXGC010506; China Scholarship Council, No. 201906225068.

Corresponding author: Zhen Li, Deputy Chief Physician, Qilu Hospital of Shandong University, No. 107 Wenhuxi Road, Lixia District, Jinan 250012, Shandong Province, China. qilulizhen@sdu.edu.cn

Received: 2022-08-15

Revised: 2022-09-26

Accepted: 2022-10-24

Published online: 2022-11-28

Abstract

In the past few years, the diagnosis and treatment of acute pancreatitis have moved towards a multidisciplinary, targeted, and minimally invasive approach. The optimal timing, route, and treatment strategy for intervention for local and systemic complications in patients with severe acute pancreatitis need to be re-evaluated. This review focuses on the development of minimally invasive management of severe acute pancreatitis in recent years and provides an outlook on future directions.

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

Key Words: Severe acute pancreatitis; Minimally invasive management; Recent advance

Citation: Ma RG, Chen XY, Li Z, Zhong N. Minimally invasive management of severe acute pancreatitis: Current status and future perspectives. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(22): 984-989
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/984.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i22.984>

摘要

随着内镜、介入和外科微创手术的进步,急性胰腺炎的治疗向着多学科协作诊治、有针对性的、微创的方向发展.因此,对于重症急性胰腺炎患者的局部和全身并发症干预的最佳时机、路线和治疗方案的选择需要进行重新评估.本文主要针对重症急性胰腺炎微创治疗的新进展进行总结,并提供前景展望.

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

关键词: 重症急性胰腺炎; 微创治疗; 新进展

核心提要: 重症急性胰腺炎病情凶险, 死亡率高, 是值得重点关注的急危重症. 本文主要针对重症急性胰腺炎并发症微创治疗的干预时机、路线和治疗方案的选择进行简单总结, 并对其治疗模式等提供前景展望.

文献来源: 马瑞光, 陈欣羽, 李真, 钟宁. 重症急性胰腺炎微创治疗新进展与前景展望. 世界华人消化杂志 2022; 30(22): 984-989

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/984.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.984>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种难以预测且具有潜在致死性的疾病, 根据是否存在器官衰竭和局部或全身并发症分为3类: 轻症急性胰腺炎、中度重症急性胰腺炎和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)^[1]. 大多数AP病例是轻度的、自限性的, 但约有20%的患者可发展为SAP^[2]. 其中因局部和全身并发症导致死亡的SAP患者可高达30%^[2]. 目前多学科协助诊治、有针对性微创治疗已经成为AP治疗的重要原则, 各种国内外指南和系统综述强调微创治疗的重要性, 本文主要针对SAP的微创治疗新进展进行综述.

1 感染坏死性胰腺炎

AP在病程早期(<4 wk)可形成急性胰周液体积聚或急性坏死物质积聚(acute necrotic collection, ANC); 在病程晚期(>4 wk), 包膜包裹积聚的液体或坏死组织形成胰腺假性囊肿(pancreatic pseudocyst, PPC)或包裹性坏死(walled-off necrosis, WON), 当ANC和WON继发感染时, 称为感染性坏死, 引起感染坏死性胰腺炎(infected pancreatic necrosis, IPN), 死亡率高达40%^[3].

既往认为清创治疗时机应推迟至感染性坏死被包裹后, 即发病的4 wk后, 以提升手术的安全性. 而2020年美国胃肠病协会临床实践专家共识对IPN的干预时间并未限定, 但是指出对于高度怀疑或证实有感染性坏死的AP患者, 在保守治疗失败后可以考虑在发病早期(<2 wk-4 wk)进行经皮置管引流(percutaneous drainage, PCD), 以实现感染源头的控制^[1]. 并且, Boxhoorn等^[4]学者在2021年实施的一项多中心的随机对照试验对比了即刻引流与延迟引流的并发症、死亡率和平均干预次数(导管引流和坏死切除), 结果提示二者的不良事件发生率相似. 因此, 在发病早期病情迅速恶化的情况下, 早期引流可能有助于控制感染源头、减轻全身炎症反应, 从而减轻其它脏器的损伤, 实现与延迟引流相似的治疗效果, 但需要进一步的证据.

目前, 随着各种微创干预措施的引入和完善, “进

阶(Step-up)”治疗模式成为当代IPN治疗的重要策略之一, 其第一步是经皮置管或内镜下引流积聚的坏死液体以缓解败血症; 若临床症状没有改善, 第二步应进行坏死组织清创术. 引流后是否需要清创, 主要取决于WON中坏死物质的固体成分. 当WON中坏死组织成分大于40%, 常需要内镜下或微创外科清创; 当坏死组织成分在10%-40%(特别是自膨式金属支架置入的患者), 则无需清创; 而坏死组织成分小于10%则只需引流^[5]. 相比传统的开放性手术, 微创治疗减少了IPN的主要并发症, 降低了死亡的综合终点率^[6]. 延迟原则可使大部分IPN患者获益, 但不可一概而论, 应结合患者自身状态、感染坏死程度及病情发展速度综合判定. 苗毅等^[7]学者提出“Step-jump”跨越式外科干预治疗策略, 即跨越常规的“Step-up”循序渐进模式, 对一部分病人提前外科干预, 以降低病人病死率, 改善预后.

1.1 经皮置管引流 PCD是指在B超或CT的引导下经皮放置导管以引流坏死物质, 该方法既可作为单一治疗措施, 也可与其他微创治疗联合使用, 必要时可以进一步扩创更换三腔管冲洗引流. AP患者因为肠道功能紊乱往往伴有胃肠道扩张, 影响B超对腹部脏器的观察, 因此有研究提出在复杂的腹腔内或腹膜后积液穿刺置管引流前, 可行胸腹盆腔CT检查, 充分评估积液与周围脏器的关系^[8]. PCD通常适用于内镜引流不可行的情况下, 例如: 坏死物质延伸到结肠旁沟和/或盆腔. 另外, 在急性坏死性胰腺炎的早期阶段(<2 wk-4 wk), 对怀疑或确认有感染性坏死、无完整包膜形成且保守治疗失败的患者, PCD可以提供安全有效的引流和感染源头控制^[1]. PCD适用范围广泛, 在技术上对95%以上的患者是可行的^[9], 但可能引起穿刺相关损伤、感染、出血、导管移位以及胰液皮肤瘘等并发症^[8]. 另外, 由于组织液化坏死时间长, 需要长期置管, 降低生活质量. 一项包含10个回顾性研究和1个随机对照研究的系统回顾($n = 384$)^[10]显示, 有56%的患者在接受单一PCD治疗后不需要进一步的外科坏死切除术, 主要并发症为胰腺内瘘和外瘘, 总死亡率为17.4%. 2018年荷兰胰腺研究小组的随机优效性试验^[11]显示, PCD($n = 47$)术后51%的患者无需进行额外的坏死物质清创治疗. 目前研究^[6,11]中单一PCD治疗仅作为过渡性引流治疗的策略, 其疗效仍需更大样本量的前瞻性临床试验进行验证.

1.2 内镜治疗 内镜治疗可以分为内镜下经腔内引流术(endoscopic transluminal drainage, ETD)和直接内镜下坏死组织清创术(direct endoscopic necrosectomy, DEN). 目前的ETD多是在超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS)的引导下选取引流部位, 扩张消化道与坏死腔之间的通道, 放置支架引流和(或)鼻囊管冲洗^[12]. 穿刺部位主要选择

经胃壁或者十二指肠壁引流, 坏死物质如果积聚在胰头则多经过十二指肠壁引流, 其他的多经过胃壁进行引流. 两个引流部位的成功率和安全性方面似乎没有明显差异, 但经胃的方法是更常使用的^[1].

支架的选择从双猪尾塑料支架(plastic stents, PS)到直径更大的自膨式金属支架(self-expandable metal stents, SEMS), 发展到新型的双蘑菇头金属覆膜支架(lumen-apposing metal stents, LAMS). LAMS直径为15 mm-20 mm, 理论上可以改善胃肠道坏死组织的引流, 避免了后续DEN的管道扩张, 缩短手术时间^[1,12]. 而且两端“蘑菇头”的结构可以使胃壁或十二指肠壁与坏死囊腔贴合更紧密, 有效防止支架移位及囊液渗漏. 并且, Bang等^[13]学者总结了自2010-01/2020-08间单中心的共387例因胰周液体积聚(pancreatic fluid collections, PFCs)行内镜下引流的患者的临床资料, 总结提出了PFCs内镜处理的Orlando方案, 验证结果表明: 根据PFCs的不同表现, LAMS联合选择性使用塑料支架的综合方案的治疗效果显著优于单纯应用塑料支架. 然而, 也有研究表明LAMS相关的不良事件发生率较高^[14]. 因此, 最新的共识指南^[15]指出如果在ETD中使用LAMS, 建议4周后撤除支架, 以尽量减少出血等并发症的风险.

DEN是在ETD的基础上取出留置的PS支架和(或)鼻囊管, 再次用扩张球囊对瘘管进行扩张从而使胃镜可以自由进出囊腔; 胃镜进入坏死腔内, 在直视下用网篮、圈套器、活检钳、鳄嘴钳、网篮和爪钳等器械对坏死组织进行分离和清除^[12]. 对于使用SEMS或LAMS进行DEN的患者, 在支架置入当天可以进行球囊扩张后清创, 但临床更常采用的是在置入后2 d-3 d进行DEN操作. 然而, 尚缺乏随机对照研究和高质量循证医学证据以明确DEN清创的最佳时机, 因此现有指南对此未明确阐述. 目前国内外普遍采用的策略为若病情在ETD引流术后第3天进一步恶化或无明显改善, 且WON内主要为固体坏死物, 则建议进一步行坏死物质清除术^[16-18].

1.3 微创外科治疗 微创外科手术治疗包括视频辅助下腹膜后清创术(video-assisted retroperitoneal debridement, VARD)、经胃坏死组织清创术、腹腔镜坏死组织清创术等. VARD手术是在PCD引流坏死物质不彻底的基础上, 在光纤镜辅助下彻底清除坏死组织. 该方法最适合坏死中心分布在胰腺周围或向下延伸到左侧结肠旁沟的患者, 但对于坏死物质到达肠系膜血管右侧的患者可能无效^[1]. 2010年荷兰胰腺研究小组进行一项前瞻性研究显示^[6], 阶梯式治疗组(PCD/VARD)和开腹手术组的术后死亡率(19% vs 16%, $P=0.70$)未见明显差异, 但是前者术后多器官功能紊乱(12% vs 40%, $P=0.002$)、切口疝(7% vs 24%, $P=0.03$)、新发糖尿病(16% vs 38%, $P=0.02$)

发生率低.

经胃坏死组织清创术主要用于胃后壁的病灶, 在腹腔镜下经胃前壁做一切口进入胃后壁, 然后经后壁进入坏死腔并在直视下清除坏死物质. 难以直视的部位可借助胆道镜或经皮肾镜辅助清创. 该操作主要适用于胃后壁的WON病灶, 对于坏死物质延伸至两侧结肠旁沟者效果不佳^[1]. 另外曹峰^[19]等学者还提出腹腔镜经胃胰腺坏死组织清除术还应适用于坏死组织不超过50%的患者, 以降低彻底清创的风险和难度, 缩短WON术后闭合的时间. 2020年由三家医疗中心进行的一项迄今为止规模最大的回顾性研究($n=178$)^[20]中, 术后常见并发症的发生率: 腹腔内感染(11%)、出血(6%)、胰瘘(4%), 术后病死率仅为2%. 在经过中位20个月的随访后, 症状完全缓解率为91%, WON复发率仅为7%. 说明外科经胃坏死组织清除术(腹腔镜或开腹)是一项具有较高手术安全性及疗效的一期手术选择. Maatman等^[21]学者在2021年进行了一项单中心的回顾性研究, 对比了内镜和外科经胃坏死组织清除术的新发脏器功能障碍发生率、病死率、术后住院时长. 结果证实两者新发脏器功能障碍发生率相差不大(13% vs 13%, $P=1.0$), 但后者病死率低(7% vs 1%, $P=0.04$), 术后住院时长更短[(13.8±20.8) vs (9.4±6.1), $P=0.04$]. 内镜和外科“进阶(Step-up)”治疗的优劣一直是AP研究的重点, 荷兰研究团队^[11]提出, 内镜进阶法在减少IPN主要并发症或死亡率方面并不优于外科进阶式方法, 但内镜进阶组胰瘘的发生率及住院时间均低于外科进阶组.

2 消化道瘘管

SAP的胰腺导管断裂后可被炎症纤维壁所包裹, 在慢性压力和继发性感染作用下可导致近端器官的压力减低, 富含胰酶的液体在胰管上皮和其他上皮组织之间的形成异常交通, 即自发性的胰腺瘘(pancreatic fistula, PF)^[22]. 当PF与周围脏器相通时, 即胰内瘘, 比如胰腺结肠瘘、胰胃瘘、胰支气管瘘等. AP相关的胃肠道瘘管(gastrointestinal fistulae, GIFs)是SAP的并发症之一, 发生率在4.0%-41.0%之间^[22], 可诱发出血、长时间的败血症、呼吸窘迫. AP伴发GIFs最常见的位置是横结肠和十二指肠. 对于保守治疗失败的GIFs患者, 内镜ERCP是首先考虑的进一步治疗手段.

结合国内外文献概括为两种治疗方法^[22,23]: 其一, 在排除完全性胰管断裂后, 可行内镜下鼻胰管引流(endoscopic naso-pancreatic drainage, ENPD)、内镜下胰管支架植入(endoscopic retrograde pancreatic drainage, ERPD), 引流胰液, 减轻炎症, 促进瘘管愈合, 必要时可在EUS引导下进行. 其二, 当PF合并PPC、WON等胰周液

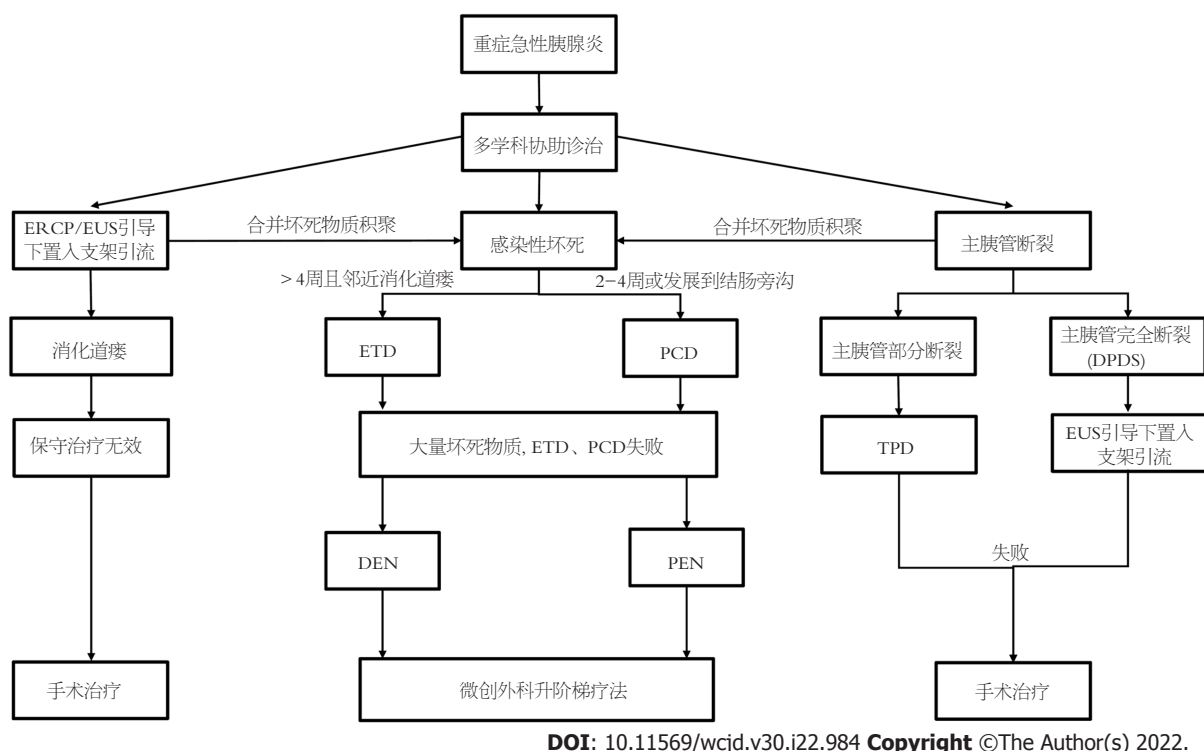


图1 重症急性胰腺炎微创治疗阶梯策略。ERCP: 内镜逆行胰胆管造影术; EUS: 超声内镜; DPDS: 胰管离断综合征; ETD: 内镜下经腔内引流术; PCD: 经皮穿刺置管引流术; DEN: 内镜下坏死组织清除术; PEN: 经皮内镜下坏死组织清除术; TPD: 内镜下经十二指肠乳头引流术。

体积聚时, 可行EUS引导下经胃壁/十二指肠壁穿刺引流术。

一项回顾性研究($n = 19$)^[24]示, 针对胃瘘、十二指肠瘘、结肠瘘, 可以在内镜下钛夹夹闭修补瘘口; 此外, 针对胃瘘、十二指肠瘘, 可放置空肠营养管, 越过瘘口, 恢复肠内营养; 针对小肠瘘、结肠瘘, 可行肠管临时性造瘘并择期还纳^[25]。但目前尚缺少大规模的研究以证明上述治疗方法的可靠性。山东大学齐鲁医院对一例SAP恢复期合并多发隐匿性消化道瘘的患者, 结合其病情特点, 在EUS引导下放置鼻囊管后实现了完全性治愈^[26]。

3 胰管断裂

当坏死性胰腺炎累及胰管时, 可导致其部分或完全断裂。据统计, 约44%的SAP患者会发生主胰管的损伤^[27]。胰管的远端部位断开后, 胰腺组织继续分泌胰液并积聚在胰腺周围。当主胰管完全断裂时, 称为胰管离断综合征(disconnected pancreatic duct syndrome, DPDS)。轻者可自行吸收积液, 受损胰管愈合; 重者可继发PPC、WON、胰瘘、胰源性腹水^[28]。结合国内外关于治疗胰管断裂或断开的指南和文献报道^[1,28], 当PPC和断裂的胰头部主胰管相通时, 可采用内镜下经乳头引流术(transpapillary drainage, TPD), 包括ERPD及ENPD^[8]。一般而言支架放置时间为4 wk-6 wk^[29], 如果胰管支架置入时间超过3 mo, 则应根据复查情况明确是否拔除支架。研究表明, ERCP

引导下经十二指肠乳头引流的失败率高达74%, 并且增加了胰周液体积聚(pancreatic fluid collections, PFCs)复发的风险。而EUS检查可评估坏死灶的内容物性质、毗邻脏器以及消化道大血管等情况, 进而选择最佳的穿刺部位。王丹松等^[30]纳入60例感染坏死性胰腺炎的患者, 比较开腹引流手术和EUS引导下ERPD治疗的疗效及安全性, 结果与开腹组相比, ERPD组患者的并发症发生率明显更低, 但是两组的死亡率对比差异无统计学意义。

2020年美国胃肠病协会临床实践专家共识明确提出, 对于DPDS患者, 可在EUS引导下经胃壁或十二指肠壁放置PS, 将胰周积液引流入消化道^[15]。跨壁支架在胰周积液处理后通常需要取出, 但文献表明移除支架后, PFCs复发率会增加^[27], 对于PFCs风险较低的病例, 例如: 胰体/尾胰管破裂、原位放置跨壁支架>6个月且出现糖尿病、脂肪泻和胰腺萎缩等胰腺功能不全的DPDS患者, 可以移除支架; 对于其他患者, 则需密切监测支架的移位和胰周液体集聚的复发情况^[31]。虽然DPDS对INP的预后影响极大, 但是不推荐内镜下预防性胰管支架置入。Karjula等^[32]在2019年进行的一项随机对照试验提示坏死性胰腺炎预防性胰管支架置入会增加感染的风险。DPDS的内镜下治疗需要通过长期或永久的支架置入或建立瘘管进行持续引流。但目前尚无DPDS规范化处理的诊疗指南, 当保守治疗或内镜治疗3 mo以上持续瘘管引流超过每天100 mL的患者, 应及时进行手术^[33]。

4 结语

SAP病因和病情转归的复杂性决定了治疗手段的多元化。我们结合国内外文献^[12,22,23]对SAP的微创治疗阶梯策略总结绘制流程图(图1), 然而流程上具体的诊疗方案的选择有待更多的临床数据支撑验证。内镜阶梯治疗和外科微创孰优孰劣, 微创与小切口开腹手术的利弊之争, 各种方式在并发症、住院时间、总住院费用等方面研究的进展, 单中心模式与多学科协助诊治(multiple disciplinary team, MDT)模式的优劣都是SAP的热点话题。因此, 应根据病情、MDT的经验和专业知识以及各医疗中心的资源, 为患者制定精准的治疗方案。随着互联网的发展, 网络MDT也成为了一个热门话题, 借助互联网平台, 强化了专科之间的学术交流和跨区域的院际合作, 也为构建以SAP疾病为中心的高度一体化的MDT平台提供了土壤^[7]。笔者所在中心近年来致力于胰胆多学科协作诊疗, 利用手机APP AnyMed和微信公众号建立在线MDT会诊平台、远程会诊及双向转诊系统, 希望利用这种新的模式为异地基层患者提供个体化诊疗方案。

5 参考文献

- Baron TH, DiMaio CJ, Wang AY, Morgan KA. American Gastroenterological Association Clinical Practice Update: Management of Pancreatic Necrosis. *Gastroenterology* 2020; 158: 67-75.e1 [PMID: 31479658 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.07.064]
- Trikudanathan G, Wolbrink DRJ, van Santvoort HC, Mallory S, Freeman M, Besselink MG. Current Concepts in Severe Acute and Necrotizing Pancreatitis: An Evidence-Based Approach. *Gastroenterology* 2019; 156: 1994-2007.e3 [PMID: 30776347 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.01.269]
- Wolbrink DRJ, Kolwijck E, Ten Oever J, Horvath KD, Bouwense SAW, Schouten JA. Management of infected pancreatic necrosis in the intensive care unit: a narrative review. *Clin Microbiol Infect* 2020; 26: 18-25 [PMID: 31238118 DOI: 10.1016/j.cmi.2019.06.017]
- Boxhoorn L, van Dijk SM, van Grinsven J, Verdonk RC, Boermeester MA, Bollen TL, Bouwense SAW, Bruno MJ, Cappendijk VC, Dejong CHC, van Duijvendijk P, van Eijck CHJ, Fockens P, Francken MFG, van Goor H, Hadithi M, Hallensleben NDL, Haveman JW, Jacobs MAJM, Jansen JM, Kop MPM, van Lienden KP, Manusama ER, Mieog JSD, Molenaar IQ, Nieuwenhuijs VB, Poen AC, Poley JW, van de Poll M, Quispel R, Römkens TEH, Schwartz MP, Seerden TC, Stommel MWJ, Straathof JWA, Timmerhuis HC, Venneman NG, Voermans RP, van de Vrie W, Witteman BJ, Dijkgraaf MGW, van Santvoort HC, Besselink MG; Dutch Pancreatitis Study Group. Immediate versus Postponed Intervention for Infected Necrotizing Pancreatitis. *N Engl J Med* 2021; 385: 1372-1381 [PMID: 34614330 DOI: 10.1056/NEJMoa2100826]
- 祝荫, 丁玲. 感染性胰腺坏死的内镜治疗进展. *中华消化杂志* 2020; 40: 4 [DOI: 10.3760/cma.j.cn311367-20200427-00272]
- van Santvoort HC, Besselink MG, Bakker OJ, Hofker HS, Boermeester MA, Dejong CH, van Goor H, Schaapherder AF, van Eijck CH, Bollen TL, van Ramshorst B, Nieuwenhuijs VB, Timmer R, Laméris JS, Kruij PM, Manusama ER, van der Harst E, van der Schelling GP, Karsten T, Hesselink EJ, van Laarhoven CJ, Rosman C, Bosscha K, de Wit RJ, Houdijk AP, van Leeuwen MS, Buskens E, Gooszen HG; Dutch Pancreatitis Study Group. A step-up approach or open necrosectomy for necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 2010; 362: 1491-1502 [PMID: 20410514 DOI: 10.1056/NEJMoa0908821]
- 苗毅, 黄东亚, 李强, 陆子鹏. 从“step-up”到“step-jump”-感染坏死性胰腺炎“跨阶梯”治疗. *中国实用外科杂志* 2020; 40: 1251-1254 [DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2020.11.06]
- 许克东, 马振华, 曹芳, 仵正. 重症急性胰腺炎腹腔不同分区局部并发症的微创治疗. *外科理论与实践* 2022; 27: 46-51 [DOI: 10.16139/j.1007-9610.2022.01.012]
- van Grinsven J, van Brunschot S, Bakker OJ, Bollen TL, Boermeester MA, Bruno MJ, Dejong CH, Dijkgraaf MG, van Eijck CH, Fockens P, van Goor H, Gooszen HG, Horvath KD, van Lienden KP, van Santvoort HC, Besselink MG; Dutch Pancreatitis Study Group. Diagnostic strategy and timing of intervention in infected necrotizing pancreatitis: an international expert survey and case vignette study. *HPB (Oxford)* 2015 [PMID: 26475650 DOI: 10.1016/j.hpb.2015.07.003]
- van Baal MC, van Santvoort HC, Bollen TL, Bakker OJ, Besselink MG, Gooszen HG; Dutch Pancreatitis Study Group. Systematic review of percutaneous catheter drainage as primary treatment for necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 2011; 98: 18-27 [PMID: 21136562 DOI: 10.1002/bjs.7304]
- van Brunschot S, van Grinsven J, van Santvoort HC, Bakker OJ, Besselink MG, Boermeester MA, Bollen TL, Bosscha K, Bouwense SA, Bruno MJ, Cappendijk VC, Consten EC, Dejong CH, van Eijck CH, Erkelens WG, van Goor H, van Grevenstein WMU, Haveman JW, Hofker SH, Jansen JM, Laméris JS, van Lienden KP, Meijssen MA, Mulder CJ, Nieuwenhuijs VB, Poley JW, Quispel R, de Ridder RJ, Römkens TE, Scheepers JJ, Schepers NJ, Schwartz MP, Seerden T, Spanier BWM, Straathof JWA, Strijker M, Timmer R, Venneman NG, Vleggaar FP, Voermans RP, Witteman BJ, Gooszen HG, Dijkgraaf MG, Fockens P; Dutch Pancreatitis Study Group. Endoscopic or surgical step-up approach for infected necrotizing pancreatitis: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2018; 391: 51-58 [PMID: 29108721 DOI: 10.1016/s0140-6736(17)32404-2]
- 沙志虎, 杨建峰. 重症急性胰腺炎感染性坏死的内镜治疗. *中华医学杂志* 2021; 101: 2349-2352 [DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20210306-00567]
- Bang JY, Wilcox CM, Arnoletti JP, Peter S, Christein J, Navaneethan U, Hawes R, Varadarajulu S. Validation of the Orlando Protocol for endoscopic management of pancreatic fluid collections in the era of lumen-apposing metal stents. *Dig Endosc* 2022; 34: 612-621 [PMID: 34331485 DOI: 10.1111/den.14099]
- Bang JY, Hasan M, Navaneethan U, Hawes R, Varadarajulu S. Lumen-apposing metal stents (LAMS) for pancreatic fluid collection (PFC) drainage: may not be business as usual. *Gut* 2017; 66: 2054-2056 [PMID: 27582509 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312812]
- Boxhoorn L, Voermans RP, Bouwense SA, Bruno MJ, Verdonk RC, Boermeester MA, van Santvoort HC, Besselink MG. Acute pancreatitis. *Lancet* 2020; 396: 726-734 [PMID: 32891214 DOI: 10.1016/s0140-6736(20)31310-6]
- 苏江林, 许承, 汤礼军. 急性胰腺炎局部并发症微创治疗方法的研究进展. *山东医药* 2018; 58: 97-100 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.38.030]
- Trikudanathan G, Tawfik P, Amateau SK, Munigala S, Arain M, Attam R, Beilman G, Flanagan S, Freeman ML, Mallory S. Early (<4 Weeks) Versus Standard (≥ 4 Weeks) Endoscopically Centered Step-Up Interventions for Necrotizing Pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2018; 113: 1550-1558 [PMID: 30279466 DOI: 10.1038/s41395-018-0232-3]
- Bang JY, Navaneethan U, Hasan MK, Sutton B, Hawes R, Varadarajulu S. Non-superiority of lumen-apposing metal stents over plastic stents for drainage of walled-off necrosis in a randomised trial. *Gut* 2019; 68: 1200-1209 [PMID: 29858393 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-315335]
- 曹锋, 李非. 腹腔镜经胃胰腺坏死组织清除治疗胰腺包裹性坏死的研究进展. *中华外科杂志* 2022; 60: 432-435 [DOI: 10.3760/cma.

- j.cn112139-20211117-00537]
- 20 Driedger M, Zyromski NJ, Visser BC, Jester A, Sutherland FR, Nakeeb A, Dixon E, Dua MM, House MG, Worhunsky DJ, Munene G, Ball CG. Surgical Transgastric Necrosectomy for Necrotizing Pancreatitis: A Single-stage Procedure for Walled-off Pancreatic Necrosis. *Ann Surg* 2020; 271: 163-168 [PMID: 30216220 DOI: 10.1097/sla.0000000000003048]
 - 21 Maatman TK, McGuire SP, Flick KF, Madison MK, Al-Haddad MA, Bick BL, Ceppa EP, DeWitt JM, Easler JJ, Fogel EL, Gromski MA, House MG, Lehman GA, Nakeeb A, Schmidt CM, Sherman S, Watkins JL, Zyromski NJ. Outcomes in Endoscopic and Operative Transgastric Pancreatic Debridement. *Ann Surg* 2021; 274: 516-523 [PMID: 34238810 DOI: 10.1097/sla.0000000000004997]
 - 22 Singh A, Aggarwal M, Garg R, Walsh M, Stevens T, Chahal P. Spontaneous Internal Pancreatic Fistulae Complicating Acute Pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2021; 116: 1381-1386 [PMID: 34183576 DOI: 10.14309/ajg.0000000000001282]
 - 23 中华医学会消化内镜学分会ERCP学组; 中国医师协会内镜医师分会; 北京医学会消化内镜学分会. 中国胰瘘消化内镜诊治专家共识(2020, 北京). *中华消化内镜杂志* 2021; 38: 276-287 [DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20201208-00952]
 - 24 达彬琳, 汪立新, 汪志明, 张娟娟, 王晓玮, 朱楠, 朱琳, 刁艳青. 内镜吻合夹在治疗重症急性胰腺炎合并消化道瘘中的应用. *医学研究生学报* 2021; 34: 625-628 [DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2021.06.012]
 - 25 何益信, 李颖霞, 姜利彬. 重症急性胰腺炎合并消化道瘘的临床特点分析. *河南医学研究* 2021; 30: 4449-4453 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2021.24.009]
 - 26 马瑞光, 王方青, 李广超, 张凯, 张晓明, 任洪波, 王磊, 钟宁, 左秀丽, 李延青, 李真. 急性胰腺炎恢复期隐匿的多发消化道瘘. *中华消化杂志* 2022; 42: 198-201 [DOI: 10.3760/cma.j.cn311367-20211129-00649]
 - 27 Wang L, Elhanafi S, Storm AC, Topazian MD, Majumder S, Abu Dayyeh BK, Levy MJ, Petersen BT, Martin JA, Chari ST, Vege SS, Chandrasekhara V. Impact of disconnected pancreatic duct syndrome on endoscopic ultrasound-guided drainage of pancreatic fluid collections. *Endoscopy* 2021; 53: 603-610 [PMID: 32629484 DOI: 10.1055/a-1213-1489]
 - 28 丁玲, 廖茜, 余晨, 祝荫, 吕荣华. 坏死性胰腺炎合并胰管断裂的诊治进展. *中华消化内镜杂志* 2021; 38: 416-420 [DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20200526-00286]
 - 29 Le Moine O, Matos C, Closset J, Devière J. Endoscopic management of pancreatic fistula after pancreatic and other abdominal surgery. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 957-975 [PMID: 15494289 DOI: 10.1016/j.bpg.2004.06.027]
 - 30 王丹松, 齐峰. 超声内镜引导下支架置入引流术治疗感染性胰腺坏死. *中国卫生标准管理* 2020; 11: 38-40 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-9316.2020.01.015]
 - 31 赵光, 崔云峰. 胰管离断综合征的诊治进展. *肝胆外科杂志* 2021; 29: 163-167 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2021.03.003]
 - 32 Karjula H, Nordblad Schmidt P, Mäkelä J, Liisanantti JH, Ohtonen P, Saarela A. Prophylactic pancreatic duct stenting in severe acute necrotizing pancreatitis: a prospective randomized study. *Endoscopy* 2019; 51: 1027-1034 [PMID: 30895583 DOI: 10.1055/a-0865-1960]
 - 33 Pearson EG, Scaife CL, Mulvihill SJ, Glasgow RE. Roux-en-Y drainage of a pancreatic fistula for disconnected pancreatic duct syndrome after acute necrotizing pancreatitis. *HPB (Oxford)* 2012; 14: 26-31 [PMID: 22151448 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00397.x]

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。

下调IL-32 γ 表达降低自然杀伤细胞对食管癌细胞的杀伤作用

虞伟妃, 汪笑秋, 赵丽萍, 周珏伊, 冯继红

虞伟妃, 汪笑秋, 赵丽萍, 周珏伊, 冯继红, 浙江中医药大学研究生院
浙江省杭州市 310053

虞伟妃, 丽水市人民医院肿瘤放疗科 浙江省丽水市 323000

虞伟妃, 主治医师, 研究方向为肿瘤内科化疗.

作者贡献分布: 此课题由虞伟妃及汪笑秋设计; 研究过程由虞伟妃、汪笑秋、赵丽萍及周珏伊操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由虞伟妃提供; 数据分析由虞伟妃、赵丽萍、周珏伊及冯继红完成; 论文写作由虞伟妃完成.

通讯作者: 虞伟妃, 主治医师, 323000, 浙江省丽水市大众街15号, 丽水市人民医院肿瘤放疗科. yuweifei9623@tom.com

收稿日期: 2022-07-29

修回日期: 2022-08-21

接受日期: 2022-10-20

在线出版日期: 2022-11-28

Down-regulation of IL-32 γ expression reduces killing effect of natural killer cells on esophageal carcinoma cells

Wei-Fei Yu, Xiao-Qiu Wang, Li-Ping Zhao, Jue-Yi Zhou, Ji-Hong Feng

Wei-Fei Yu, Xiao-Qiu Wang, Li-Ping Zhao, Jue-Yi Zhou, Ji-Hong Feng, Graduate School, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China

Wei-Fei Yu, Department of Tumor Chemoradiotherapy, Lishui People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Wei-Fei Yu, Attending Physician, Department of Tumor Chemoradiotherapy, Lishui People's Hospital, No. 15 Dazhong Street, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. yuweifei9623@tom.com

Received: 2022-07-29

Revised: 2022-08-21

Accepted: 2022-10-20

Published online: 2022-11-28

Abstract BACKGROUND

Interleukin (IL)-32 γ is highly expressed in activated natural killer (NK) cells in esophageal cancer. However, it is not clear whether the expression level of IL-32 γ in NK cells affects their killing effect on esophageal cancer cells.

AIM

To investigate the role of IL-32 γ in the anti-tumor effect of NK cells in esophageal cancer.

METHODS

After transfecting NK-92 cells with shRNA targeting IL-32 γ (shIL-32 γ), the NK-92 cells were co-cultured with esophageal cancer cells EC9706 and TE-1, respectively. EC9706 and TE-1 cells were then collected; cell viability was measured by cell counting kit-8 (CCK-8) assay, cell proliferation was detected by 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EDU) assay, cell apoptosis was detected by flow cytometry, and the expression of apoptosis-related proteins B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X (Bax), cleaved cysteine-containing aspartate-specific proteases 3 (caspase 3), tumor necrosis factor receptor superfamily member 6 (FAS), death receptor 3 (DR3), and tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) was detected by Western blot.

RESULTS

After IL-32 γ deletion in NK-92 cells, the cell viability and the EDU positive cells in EC9706 and TE-1 cells in the co-culture system were increased ($P < 0.01$), the expression level of Bcl-2 was increased ($P < 0.01$), and the expression levels of Bax, cleaved-caspase 3, FAS, DR3, and TNFR2 were all decreased ($P < 0.01$).

CONCLUSION

Knockdown of IL-32 γ attenuates the anti-tumor effect of NK-92 cells, which may be related to the inhibition of death receptor expression and caspase-3 activation in esophageal cancer cells.

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

Key Words: IL-32 γ ; Esophageal cancer; Natural killer cells

Citation: Yu WF, Wang XQ, Zhao LP, Zhou JY, Feng JH. Down-regulation of IL-32 γ expression reduces killing effect of natural killer cells on esophageal carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(22): 990-996

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/990.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.990>

摘要

背景

白细胞介素(interleukin, IL)-32 γ 在食管癌中活化的自然杀伤(natural killer, NK)细胞中高表达, 但尚不清楚NK细胞中IL-32 γ 的表达水平是否影响其对食管癌细胞的杀伤作用。

目的

探讨IL-32 γ 在食管癌中对NK细胞的抗肿瘤作用的影响。

方法

将靶向IL-32 γ 的shRNA(shIL-32 γ)转入NK-92细胞后, 将shIL-32 γ 转染的NK-92细胞分别与食管癌细胞EC9706和TE-1构成共培养体系。收集食管癌细胞EC9706和TE-1, 用细胞计数试剂8(cell counting kit-8, CCK-8)测量细胞活性, 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EDU)检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western blot检测凋亡相关蛋白B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X, Bax)、裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(cleaved cysteine-containing aspartate-specific proteases 3, Cleaved caspase 3)、肿瘤坏死因子受体超家族成员6(tumor necrosis factor receptor superfamily member 6, FAS)、死亡受体3(death receptor 3, DR3)和肿瘤坏死因子受体2(tumor necrosis factor receptor 2, TNFR2)的表达。

结果

敲除NK-92细胞的IL-32 γ 后, 在共培养体系中, EC9706和TE-1细胞的细胞活性均升高($P<0.01$), EDU阳性细胞数均增多, 细胞凋亡均降低($P<0.01$), Bcl-2表达水平增加($P<0.01$), Bax、Cleaved caspase 3、FAS、DR3和TNFR2的表达水平均降低($P<0.01$)。

结论

敲降IL-32 γ 能减弱NK-92细胞的抗食管癌作用, 且此作用可能与降低食管癌细胞中死亡受体表达和caspase-3激活有关。

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

关键词: IL-32 γ ; 食管癌; 自然杀伤细胞

核心提要: 敲低自然杀伤细胞中白细胞介素-32 γ 表达能通过减弱食管癌细胞中死亡受体途径和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3激活来降低其对食管癌细胞的杀伤作用。

文献来源: 虞伟妃, 汪笑秋, 赵丽萍, 周珏伊, 冯继红. 下调IL-32 γ 表达降低自然杀伤细胞对食管癌细胞的杀伤作用. *世界华人消化杂志* 2022; 30(22): 990-996

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/990.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.990>

0 引言

肿瘤微环境在肿瘤的发生和进展中具有关键作用。肿瘤相关基质细胞释放的多种细胞因子、生长因子和炎症介质可直接影响肿瘤细胞的生物学行为, 也可通过诱导生长信号的改变或激活细胞毒性淋巴细胞来间接影响肿瘤细胞的生物学行为^[1,2]。细胞因子在肿瘤的发展和进展中起着重要的作用, 比如白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8和IL-22具有增强致瘤活性的作用^[3-5], 而IL-1和IL-21则能抑制肿瘤的生长^[6,7]。IL-32是一种由活化的T淋巴细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞、上皮细胞和单核细胞产生的细胞因子^[8]。据报道, IL-32可参与调节胃癌、肺癌、乳腺癌和结直肠癌等多种肿瘤的发生与发展, 比如, IL-32可促进肺癌和胃癌细胞的生长与迁移^[9,10], 而在结直肠癌和乳腺癌中则能发挥抑癌作用^[11,12]。造成这种情况的原因可能与IL-32的亚性多样性以及不同癌种相关。目前发现IL-32具有 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 、 η 、 ς 和 ζ 9种亚性, 其中IL-32 γ 的活性最强^[8]。IL-32 γ 已被证明在食管癌患者的癌细胞、活化的NK细胞以及T细胞中高表达^[13]。但IL-32 γ 在NK细胞中高表达对其食管癌的作用并不清楚。因此, 本研究分析IL-32 γ 在NK细胞表达水平与食管癌细胞之间的联系。

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI-1640培养基(上海中乔新舟生物科技有限公司); 胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司); IL-2细胞因子(北京百普赛斯生物科技有限公司); 靶向IL-32 γ 的短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)(shIL-

32 γ #1和shIL-32 γ #2)以及对照shNC(上海生工生物工程有限公司); 细胞计数试剂8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒(广州研创生物技术发展有限公司); Annexin V/PI细胞凋亡试剂盒(武汉普诺赛生命科技有限公司); 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EDU)试剂(苏州宇恒生物科技有限公司); IL-32 γ 抗体(克隆号KU32-52, 美国Biolegend公司); shRNA转染试剂以及肿瘤坏死因子受体超家族成员6(tumor necrosis factor receptor superfamily member 6, FAS)、死亡受体3(death receptor 3, DR3)和肿瘤坏死因子受体2(tumor necrosis factor receptor 2, TNFR2)抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司); B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X, Bax)、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine-containing aspartate-specific proteases 3, Caspase 3)抗体(美国Cell Signaling Technology公司); 辣根过氧化物标记的山羊抗兔或抗小鼠二抗体(万类生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: NK-92细胞和食管癌细胞株Eca9706和TE-1购自武汉普诺赛生命科技有限公司。将NK-92细胞置于含10%胎牛血清和10 ng/mL IL-2的RPMI-1640培养基中, 将Eca9706和TE-1细胞分别置于含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基中, 在37 °C的CO₂培养箱中常规培养。共培养体系: 分别将Eca9706或TE-1细胞接种在不同规格(96孔和6孔)Transwell共培养体系(孔径0.4 μ m, 培养基为含10%胎牛血清和10 ng/mL IL-2的RPMI-1640培养基)的下室, 待细胞贴壁后, 按照效靶比(1:1、2:1和5:1)的比例将NK-92细胞接入上室, 共培养48 h。

1.2.2 细胞转染: 将NK-92细胞置于含10%胎牛血清和10 ng/mL IL-2的RPMI-1640培养基中生长过夜, 次日达到80%汇合时, 更换无血清培养基孵育6 h, 并按shRNA转染试剂的转染方案说明书步骤, 将shIL-32 γ #1、shIL-32 γ #2以及对照shNC分别转入NK-92细胞。6 h后, 更换完全培养基并继续培养48 h。Western blot检测转染效率后, 将细胞用于后续实验。

1.2.3 细胞活性检测: 分别将Eca9706或TE-1细胞接种于96孔Transwell共培养体系(5000细胞/孔)的下室, 细胞贴壁后, 上室按不同效靶比接入转染或未转染的NK-92细胞, 共培养48 h。将含NK-92细胞的插入小室取出, 加10 μ L CCK-8试剂入下室, 孵育2 h后, 酶标仪波长490 nm处检测吸光度值。

1.2.4 细胞增殖检测: 分别将Eca9706或TE-1细胞接种于96孔Transwell共培养体系(5000细胞/孔)的下室, 细

胞贴壁后, 上室按效靶比5:1(即 2.5×10^4 细胞/孔)接入转染的NK-92细胞, 共培养48 h。将含NK-92细胞的插入小室取出, 加50 μ M EDU试剂入下室, 孵育2 h后, 荧光显微镜观察EDU阳性细胞。

1.2.5 细胞凋亡检测: 分别将Eca9706或TE-1细胞接种于6孔Transwell共培养体系(1.5×10^5 细胞/孔)的下室, 细胞贴壁后, 上室按效靶比5:1(即 7.5×10^5 细胞/孔)接入转染的NK-92细胞, 共培养48 h。将含NK-92细胞的插入小室取出, 收集下室Eca9706或TE-1细胞。按照试剂盒说明书步骤, 分别对Eca9706或TE-1细胞在暗室孵育Annexin V和PI试剂, 流式细胞仪分析细胞凋亡比例。

1.2.6 蛋白表达检测: 分别将Eca9706或TE-1细胞接种于6孔Transwell共培养体系(1.5×10^5 细胞/孔)的下室, 细胞贴壁后, 上室按效靶比5:1(即 7.5×10^5 细胞/孔)接入转染的NK-92细胞, 共培养48 h。将含NK-92细胞的插入小室取出, 收集下室Eca9706或TE-1细胞。用RIPA裂解细胞并提取蛋白。将蛋白通过Western blot转印系统转移至PVDF膜。将膜用5%脱脂乳封闭后, 室温分别孵育IL-32 γ 、FAS、DR3、TNFR2、Caspase-3和 β -actin抗体(均1:1000)2 h, 洗膜后, 分别孵育对应的二抗。用化学发光法显示条带, 并用化学发光成像系统采集图像, 并用自带软件分析蛋白相对表达量。

统计学处理 用SPSS 19.0分析软件进行所有数据统计分析。数据表示为均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)。采用方差分析各组的差异, 用事后检验法对各组均数进行多重比较。 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 NK-92细胞与Eca9706或TE-1细胞的效靶比选择 如图1所示, 与对照组(效靶比0:1)比较, 在NK-92细胞与Eca9706或TE-1细胞的效靶比1:1、2:1和5:1时, Eca9706或TE-1细胞的细胞活性均降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且效靶比5:1时效果差异最为明显, 后续选择效靶比5:1。

2.2 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 增加共培养体系中Eca9706或TE-1细胞的细胞活性 如图2A所示, 与对照组或sh-NC转染组相比, 转染shIL-32 γ (shIL-32 γ #1和shIL-32 γ #2)能抑制IL-32 γ 表达。将NK-92细胞与Eca9706或TE-1细胞按效靶比(5:1)共培养48 h, 与NK-92共培养组(NK-92与Eca9706或TE-1细胞共培养体系)比较, NK-92-shIL-32 γ #1或shIL-32 γ #2共培养组(shIL-32 γ #1或shIL-32 γ #2转染的NK-92与Eca9706或TE-1细胞共培养体系)中Eca9706和TE-1细胞的活性明显增加($P < 0.01$, 图2B和C)。同时, EDU法显示, NK-92-shIL-32 γ #1/shIL-32 γ #2共培养组Eca9706或TE-1细胞中的EDU阳性细胞数相对NK-92

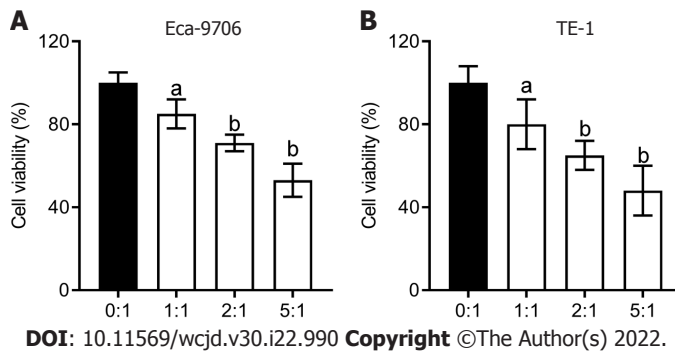


图 1 NK-92细胞对食管癌细胞的细胞活性的影响。A: NK-92细胞对Eca9706细胞活性的影响; B: NK-92细胞对TE-1细胞活性的影响。mean $\pm$ SD, $n = 3$, 与对照组(效靶比0:1)相比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

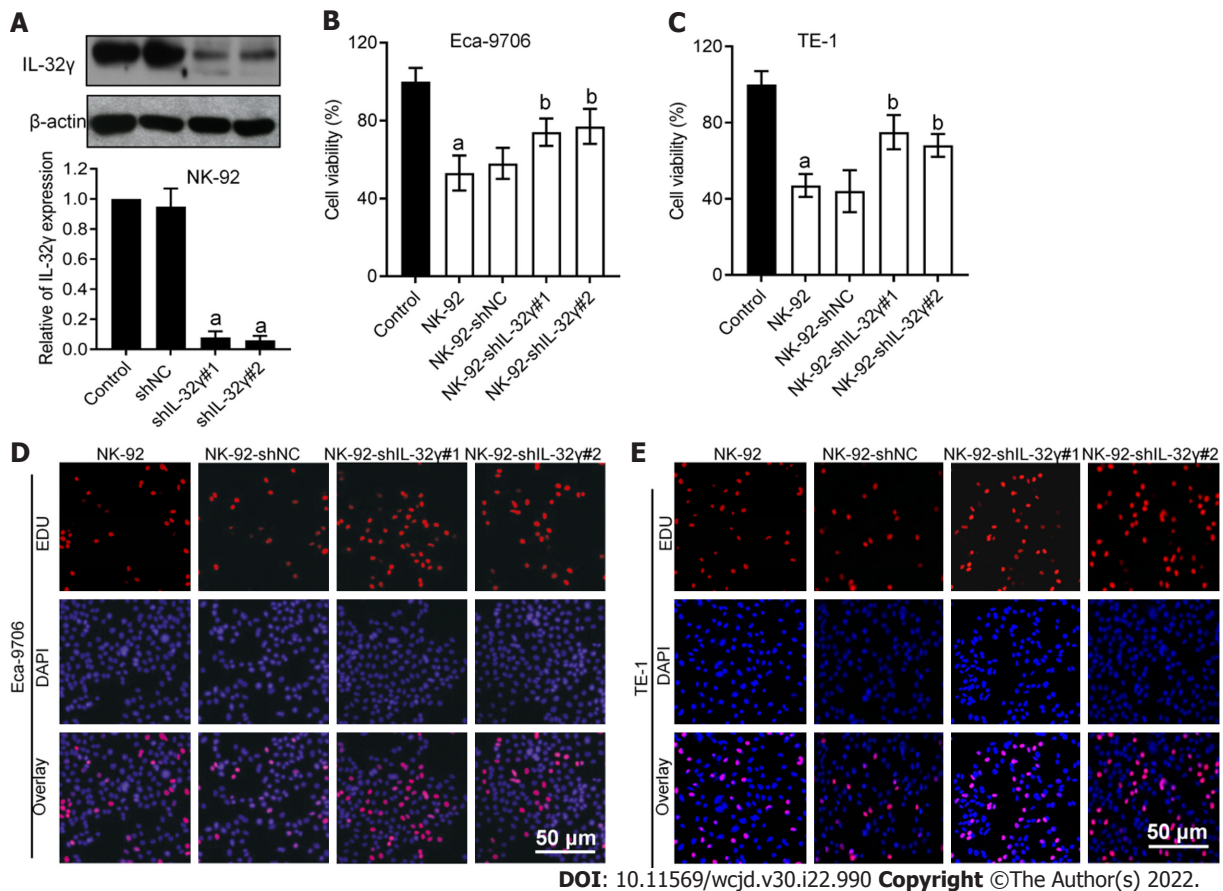


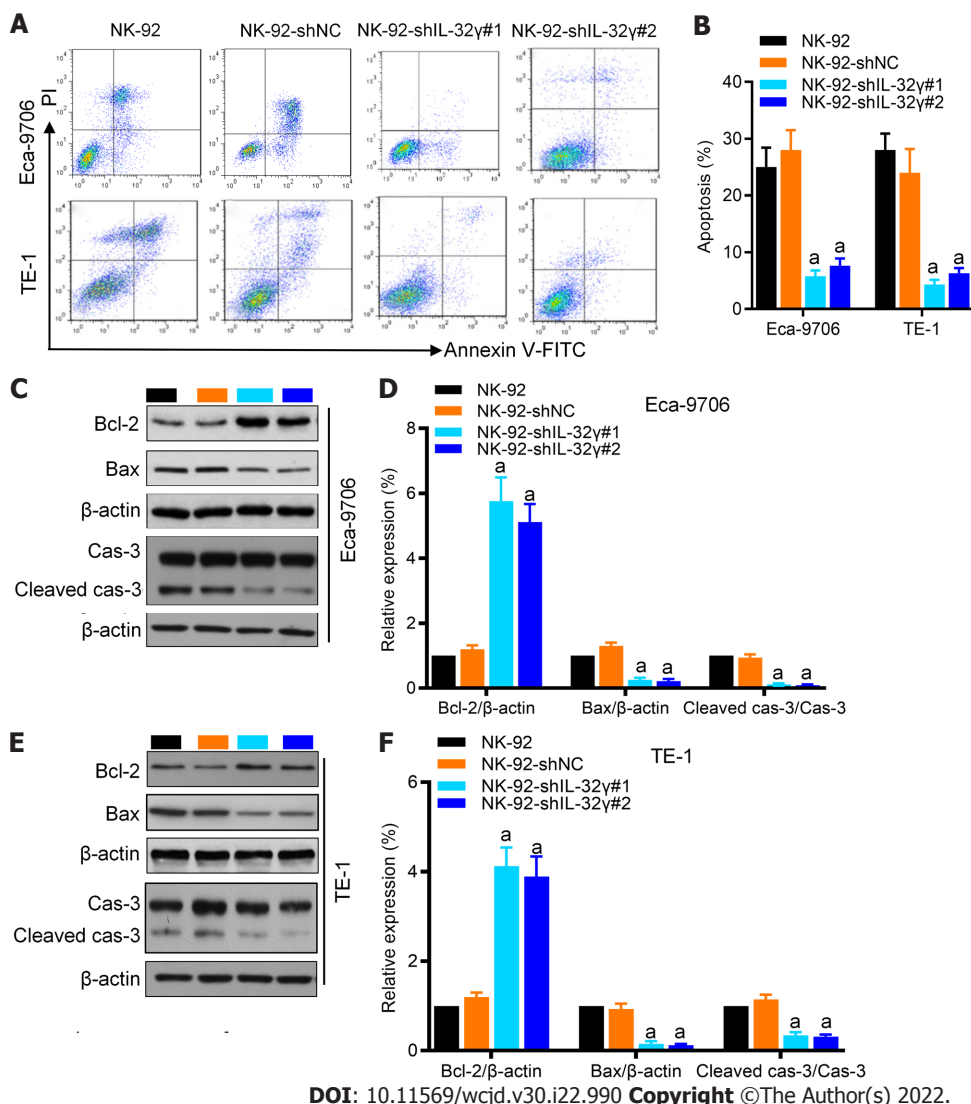
图 2 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 能逆转NK-92对食管癌细胞增殖的抑制作用。A: shIL-32 γ 转染效率鉴定; B, C: 各组共培养体系中Eca9706(B)和TE-1(C)细胞的细胞活性; D, E: 各组共培养体系中Eca9706(D)和TE-1(E)细胞的EDU阳性细胞染色图。mean $\pm$ SD, $n = 3$, 与对照组相比, ^a $P < 0.01$; 与NK-92共培养组相比, ^b $P < 0.01$ 。IL-32 γ : 白细胞介素-32 γ ; EDU: 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷。

共培养组增多(图2D和E)。

2.3 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 能抑制NK-92诱导的食管癌细胞凋亡 如图3所示, 与NK-92共培养组比较, NK-92-shIL-32 γ #1或shIL-32 γ #2共培养组的Eca9706和TE-1细胞的凋亡明显降低($P < 0.01$, 图3A和B), Eca9706(图3C和D)和TE-1细胞(图3E和F)中Bcl-2的表达均明显增加

($P < 0.01$), Bax和Cleaved caspase-3表达明显降低($P < 0.01$)。

2.4 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 能抑制共培养体系中食管癌细胞死亡受体相关蛋白表达 如图4所示, 与NK-92共培养组比较, NK-92-shIL-32 γ #1或shIL-32 γ #2共培养组Eca9706(图4A和B)和TE-1(图4C和D)细胞中FAS、DR3和TNFR2表达均明显降低($P < 0.01$)。



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.990 Copyright ©The Author(s) 2022.

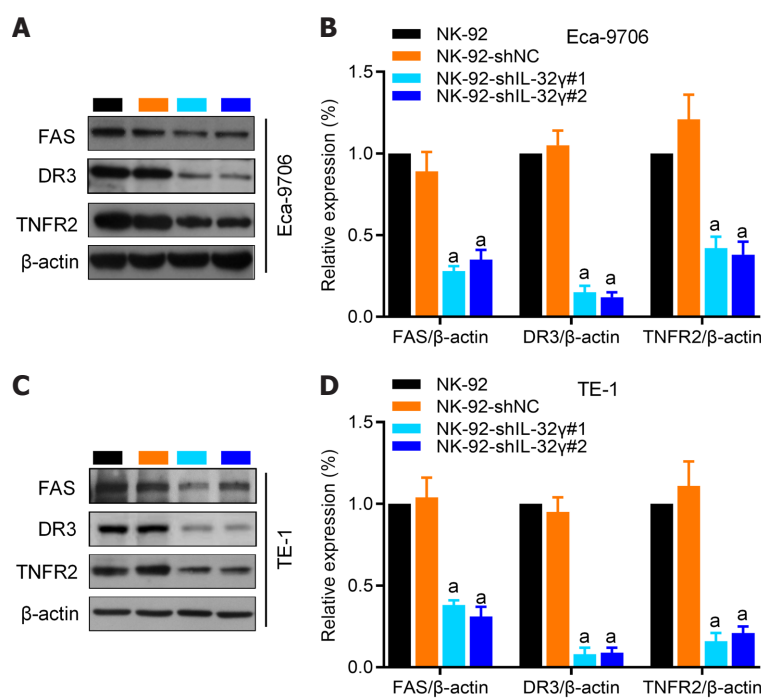
图3 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 能抑制NK-92诱导的食管癌细胞凋亡。A, B: 流式细胞术检测各组细胞凋亡; C, D: Western blot检测各组Eca9706细胞中Bcl-2、Bax和Cleaved caspase-3表达; E, F: Western blot检测各组TE-1细胞中Bcl-2、Bax和Cleaved caspase-3表达。mean $\pm$ SD, $n = 4$, 与NK-92共培养组相比, $P < 0.01$ 。IL-32 γ : 白细胞介素-32 γ ; Cleaved caspase-3: 裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3; Bcl-2: B淋巴细胞瘤-2; Bax: Bcl-2相关X蛋白。

3 讨论

食管癌是严重影响人类健康的常见肿瘤类疾病之一, 约90%的食管癌为食管鳞状细胞癌, 其早期症状不明显, 易错诊^[14]。虽然近年来食管癌诊治手段有所进步, 但晚期食管鳞状细胞癌患者的总体治疗效果仍不令人满意^[15], 因此, 对其有更深入的认识并积极寻找其他有效的治疗方法迫在眉睫。

NK细胞可通过产生细胞因子和细胞毒性来清除肿瘤细胞, 其在肿瘤的天然免疫防御中发挥重要作用^[16]。IL-2、IL-12和IL-18虽然被发现其能活化NK细胞和增强抗肿瘤效应, 但这些细胞因子在高剂量系统给药后具有明显的毒性^[17,18]。IL-32 γ 在活化的NK细胞中过表达, 并且能诱导分泌肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α ^[19], 且

IL-32 γ 过表达可增强NK细胞的易感性, 并增加IFN γ 和TNF- α 的生成^[20]。另外研究显示, TNF- α 又可通过TNFR2来激活NK细胞毒性^[21]。但NK细胞中IL-32 γ 表达是否对其发挥抗食管癌的作用的影响目前尚不清楚。本研究显示, 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 表达后, NK-92细胞对食管癌细胞的杀伤作用降低, 提示IL-32 γ 是NK-92细胞发挥抗肿瘤效应的必要细胞因子。活化的NK细胞能释放如TNF- α / β 、FASL等多种TNF配体^[22,23]。这些配体成员与对应的TNF受体(又称死亡受体)结合后, 能通过死亡结构域招募并激活caspase-8, 活化的caspase-8能直接活化caspase-3也可通过影响Bcl-2和Bax表达随后激活下游效应caspase-9、-7和-3^[24,25]。本进一步对敲降IL-32 γ 的作用机制进行探索, 结果显示, 在与转染shIL-32 γ 的NK-92



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.990 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 4 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 能抑制共培养体系中食管癌细胞死亡受体相关蛋白表达. A, B: Western blot检测各组Eca9706细胞中FAS、DR3和TNFR2表达; C, D: Western blot检测各组TE-1细胞中FAS、DR3和TNFR2表达. mean $\pm$ SD, $n = 4$, 与NK-92共培养组相比, $^*P < 0.01$. FAS: 肿瘤坏死因子受体超家族成员6; DR3: 死亡受体3; TNFR2: 肿瘤坏死因子受体2.

细胞构成共培养体系的食管癌细胞中死亡受体家族成员FAS、DR3和TNFR2以及凋亡相关蛋白Bax和Cleaved caspase-3表达降低, 同时Bcl-2表达增加. 以上结果说明, 敲降NK-92细胞中IL-32 γ 表达能减弱NK-92细胞对食管癌细胞的杀伤作用, 且此作用可能与降低食管癌细胞中死亡受体表达和caspase-3通路激活有关.

4 结论

综上所述, IL-32 γ 是NK细胞在发挥抗食管癌效应的必要细胞因子, 缺失IL-32 γ 能导致NK细胞对食管癌细胞的杀伤作用减弱. 另外, 这一结果还提示了: 也许IL-32 γ 给药可能是治疗食管癌的潜在方法之一, 但这一方法仍需大量研究验证.

文章亮点

实验背景

活化的自然杀伤(natural killer, NK)细胞对肿瘤细胞具有杀伤作用, 但NK细胞的活化又受到肿瘤微环境中的细胞因子、生长因子和炎症介质的影响.

实验动机

白细胞介素(interleukin, IL)-32 γ 已被发现其在活化的NK

细胞表达升高, 但并不清楚NK细胞中IL-32 γ 的表达水平是否影响其对食管癌细胞的杀伤作用.

实验目标

研究NK细胞中IL-32 γ 的表达水平对其杀伤食管癌细胞的影响, 并分析其中涉及的机制.

实验方法

用基因干扰法敲降NK-92细胞中IL-32 γ 的表达后, 将其分别与食管癌细胞EC9706和TE-1(靶细胞)构成共培养体系, 检测EC9706和TE-1细胞的活性、增殖和凋亡情况以及死亡受体途径和凋亡相关蛋白的表达.

实验结果

敲降NK-92细胞中IL-32 γ 的表达能促进靶细胞EC9706和TE-1的活性和增殖、抑制细胞凋亡, 并减弱死亡受体途径以及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine-containing aspartate-specific proteases 3, caspase-3)的激活.

实验结论

敲降IL-32 γ 能降低NK细胞对食管癌细胞的杀伤作用.

展望前景

靶向过表达NK细胞中IL-32 γ 表达可能是食管癌治疗的

潜在策略之一。

5 参考文献

- Hinshaw DC, Shevde LA. The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression. *Cancer Res* 2019; 79: 4557-4566 [PMID: 31350295 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3962]
- Chen D, Zhang X, Li Z, Zhu B. Metabolic regulatory crosstalk between tumor microenvironment and tumor-associated macrophages. *Theranostics* 2021; 11: 1016-1030 [PMID: 33391518 DOI: 10.7150/thno.51777]
- Bussard KM, Mutkus L, Stumpf K, Gomez-Manzano C, Marini FC. Tumor-associated stromal cells as key contributors to the tumor microenvironment. *Breast Cancer Res* 2016; 18: 84 [PMID: 27515302 DOI: 10.1186/s13058-016-0740-2]
- Palena C, Hamilton DH, Fernando RI. Influence of IL-8 on the epithelial-mesenchymal transition and the tumor microenvironment. *Future Oncol* 2012; 8: 713-722 [PMID: 22764769 DOI: 10.2217/fon.12.59]
- Protopsaltis NJ, Liang W, Nudleman E, Ferrara N. Interleukin-22 promotes tumor angiogenesis. *Angiogenesis* 2019; 22: 311-323 [PMID: 30539314 DOI: 10.1007/s10456-018-9658-x]
- Kaplanov I, Carmi Y, Kornetsky R, Shemesh A, Shurin GV, Shurin MR, Dinarello CA, Voronov E, Apte RN. Blocking IL-1 β reverses the immunosuppression in mouse breast cancer and synergizes with anti-PD-1 for tumor abrogation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019; 116: 1361-1369 [PMID: 30545915 DOI: 10.1073/pnas.1812266115]
- Chen T, Ding X, Liao Q, Gao N, Chen Y, Zhao C, Zhang X, Xu J. IL-21 arming potentiates the anti-tumor activity of an oncolytic vaccinia virus in monotherapy and combination therapy. *J Immunother Cancer* 2021; 9 [PMID: 33504576 DOI: 10.1136/jitc-2020-001647]
- Sloot YJE, Smit JW, Joosten LAB, Netea-Maier RT. Insights into the role of IL-32 in cancer. *Semin Immunol* 2018; 38: 24-32 [PMID: 29747940 DOI: 10.1016/j.smim.2018.03.004]
- Tsai CY, Wang CS, Tsai MM, Chi HC, Cheng WL, Tseng YH, Chen CY, Lin CD, Wu JL, Wang LH, Lin KH. Interleukin-32 increases human gastric cancer cell invasion associated with tumor progression and metastasis. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 2276-2288 [PMID: 24602839 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1221]
- Zeng Q, Li S, Zhou Y, Ou W, Cai X, Zhang L, Huang W, Huang L, Wang Q. Interleukin-32 contributes to invasion and metastasis of primary lung adenocarcinoma via NF-kappaB induced matrix metalloproteinases 2 and 9 expression. *Cytokine* 2014; 65: 24-32 [PMID: 24140068 DOI: 10.1016/j.cyto.2013.09.017]
- Pham TH, Bak Y, Kwon T, Kwon SB, Oh JW, Park JH, Choi YK, Hong JT, Yoon DY. Interleukin-32 α inhibits tumor-promoting effects of macrophage-secreted CCL18 in breast cancer. *Cell Commun Signal* 2019; 17: 53 [PMID: 31126309 DOI: 10.1186/s12964-019-0374-y]
- Yun HM, Park KR, Kim EC, Han SB, Yoon DY, Hong JT. IL-32 α suppresses colorectal cancer development via TNFR1-mediated death signaling. *Oncotarget* 2015; 6: 9061-9072 [PMID: 25909160 DOI: 10.18632/oncotarget.3197]
- Han L, Chen S, Chen Z, Zhou B, Zheng Y, Shen L. Interleukin 32 Promotes Foxp3⁺ Treg Cell Development and CD8⁺ T Cell Function in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma Microenvironment. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 704853 [PMID: 34414188 DOI: 10.3389/fcell.2021.704853]
- Liang H, Fan JH, Qiao YL. Epidemiology, etiology, and prevention of esophageal squamous cell carcinoma in China. *Cancer Biol Med* 2017; 14: 33-41 [PMID: 28443201 DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0093]
- Hirano H, Kato K. Systemic treatment of advanced esophageal squamous cell carcinoma: chemotherapy, molecular-targeting therapy and immunotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2019; 49: 412-420 [PMID: 30920626 DOI: 10.1093/jcco/hyz034]
- Vacca P, Pietra G, Tumino N, Munari E, Mingari MC, Moretta L. Exploiting Human NK Cells in Tumor Therapy. *Front Immunol* 2019; 10: 3013 [PMID: 32010130 DOI: 10.3389/fimmu.2019.03013]
- Becker-Hapak MK, Shrestha N, McClain E, Dee MJ, Chaturvedi P, Leclerc GM, Marsala LI, Foster M, Schappe T, Tran J, Desai S, Neal CC, Pence P, Wong P, Wagner JA, Russler-Germain DA, Zhu X, Spanoudis CM, Gallo VL, Echeverri CA, Ramirez LL, You L, Egan JO, Rhode PR, Jiao JA, Muniz GJ, Jeng EK, Prendes CA, Sullivan RP, Berrien-Elliott MM, Wong HC, Fehniger TA. A Fusion Protein Complex that Combines IL-12, IL-15, and IL-18 Signaling to Induce Memory-Like NK Cells for Cancer Immunotherapy. *Cancer Immunol Res* 2021; 9: 1071-1087 [PMID: 34244297 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-20-1002]
- Rademacher MJ, Cruz A, Faber M, Oldham RAA, Wang D, Medin JA, Schloemer NJ. Sarcoma IL-12 overexpression facilitates NK cell immunomodulation. *Sci Rep* 2021; 11: 8321 [PMID: 33859303 DOI: 10.1038/s41598-021-87700-2]
- Zhao Z, Lan M, Li J, Dong Q, Li X, Liu B, Li G, Wang H, Zhang Z, Zhu B. The proinflammatory cytokine TNF α induces DNA demethylation-dependent and -independent activation of interleukin-32 expression. *J Biol Chem* 2019; 294: 6785-6795 [PMID: 30824537 DOI: 10.1074/jbc.RA118.006255]
- Lee SW, Park HJ, Lee KS, Park SH, Kim S, Jeon SH, Hong S. IL32 γ activates natural killer receptor-expressing innate immune cells to produce IFN γ via dendritic cell-derived IL12. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 461: 86-94 [PMID: 25858316 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.03.174]
- Almishri W, Santodomingo-Garzon T, Le T, Stack D, Mody CH, Swain MG. TNF α Augments Cytokine-Induced NK Cell IFN γ Production through TNFR2. *J Innate Immun* 2016; 8: 617-629 [PMID: 27560480 DOI: 10.1159/000448077]
- Prager I, Watzl C. Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2019; 105: 1319-1329 [PMID: 31107565 DOI: 10.1002/JLB.MR0718-269R]
- Ferguson Bennit HR, Gonda A, Kabagwira J, Oppgaard L, Chi D, Licero Campbell J, De Leon M, Wall NR. Natural Killer Cell Phenotype and Functionality Affected by Exposure to Extracellular Survivin and Lymphoma-Derived Exosomes. *Int J Mol Sci* 2021; 22 [PMID: 33513976 DOI: 10.3390/ijms22031255]
- Jiao C, Chen W, Tan X, Liang H, Li J, Yun H, He C, Chen J, Ma X, Xie Y, Yang BB. Ganoderma lucidum spore oil induces apoptosis of breast cancer cells in vitro and in vivo by activating caspase-3 and caspase-9. *J Ethnopharmacol* 2020; 247: 112256 [PMID: 31586690 DOI: 10.1016/j.jep.2019.112256]
- McGlorthan L, Paucarmayta A, Casablanca Y, Maxwell GL, Syed V. Progesterone induces apoptosis by activation of caspase-8 and calcitriol via activation of caspase-9 pathways in ovarian and endometrial cancer cells in vitro. *Apoptosis* 2021; 26: 184-194 [PMID: 33515314 DOI: 10.1007/s10495-021-01657-1]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



lncRNA H19靶向miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬的影响

王春晖, 潘卓, 唐忠明

王春晖, 潘卓, 湖州市第一人民医院外科 浙江省湖州市 313000

唐忠明, 湖州市第一人民医院消化科 浙江省湖州市 313000

王春晖, 主治医师, 研究方向为急性胰腺炎。

作者贡献分布: 王春晖、潘卓及唐忠明对此文所作贡献均等, 包括课题设计, 实验操作、数据分析及论文写作; 研究所用新试剂及分析工具由潘卓提供。

通讯作者: 潘卓, 本科, 313000, 浙江省湖州市广场后路158号, 湖州市第一人民医院外科. m18267851073@163.com

收稿日期: 2022-08-19

修回日期: 2022-09-27

接受日期: 2022-10-20

在线出版日期: 2022-11-28

Effect of lncRNA H19 targeting miR-30a-5p on cell apoptosis, secretion of inflammatory factors, and autophagy in caerulein-induced acute pancreatitis

Chun-Hui Wang, Zhuo Pan, Zhong-Ming Tang

Chun-Hui Wang, Zhuo Pan, The First People's Hospital Surgery of Huzhou City, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China

Zhong-Ming Tang, Gastroenterology Department, The First People's Hospital of Huzhou City, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Zhuo Pan, Bachelor, Department of Surgery, The First People's Hospital of Huzhou City, No. 158 Guangchang Hou Road, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China. m18267851073@163.com

Received: 2022-08-19

Revised: 2022-09-27

Accepted: 2022-10-20

Published online: 2022-11-28

Abstract

BACKGROUND

We hypothesized that H19 might promote the progression of acute pancreatitis by targeting miR-30a-5p.

AIM

To investigate the effect of lncRNA H19 targeting miR-30a-5p on cell apoptosis, secretion of inflammatory factors, and autophagy in a caerulein-induced acute pancreatitis cell model.

METHODS

Human pancreatic AR42J cells were cultured and treated with caerulein to establish a pancreatic injury cell model. The cells were divided into cerulean + si-NC group, cerulean + si-H19 group, cerulean + miR-NC group, cerulean + miR-30a-5p group, cerulean + si-H19 + anti-miR-NC group, and cerulean + si-H19 + anti-miR-30a-5p group. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression levels of H19 and miR-30a-5p in cells; flow cytometry was used to detect apoptosis; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels; Western blot was used to detect autophagy-related microtubule-associated protein 1 light chain 3- I (LC3- I) and microtubule-associated protein 1 light chain 3- II (LC3- II) protein expression; dual luciferase assay was used to detect the target relationship between H19 and miR-30a-5p in cells.

RESULTS

Compared with normal pancreatic cells, H19 expression was increased and miR-30a-5p expression was decreased in pancreatitis cells induced by caerulein ($P < 0.05$). Compared with the cerulean + si-NC group, H19 expression was reduced, the cell survival rate was increased, the levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 were reduced, and LC3- I protein

expression was reduced and LC3-II protein expression was increased in the cerulein+si-H19 group ($P < 0.05$). Compared with the cerulein + miR-NC group, miR-30a-5p expression was increased, the cell survival rate was increased, the levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 were decreased, and LC3-I protein expression was reduced and LC3-II protein expression was increased in the cerulein + miR-30a-5p group ($P < 0.05$). Compared with the cerulein + si-H19 + anti-miR-NC group, the expression of miR-30a-5p was significantly reduced, the cell survival rate was reduced, the levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 were increased, and LC3-I protein expression was increased and LC3-II protein expression was decreased in the cerulein + si-H19 + anti-miR-30a-5p group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Down-regulation of H19 inhibits the apoptosis, secretion of inflammatory factors, and autophagy in the acute pancreatitis cell model induced by cerulein by targeting miR-30a-5p.

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

Key Words: lncRNA H19; miR-30a-5p; Acute pancreatitis; Apoptosis; Inflammatory factors; Autophagy

Citation: Wang CH, Pan Z, Tang ZM. Effect of lncRNA H19 targeting miR-30a-5p on cell apoptosis, secretion of inflammatory factors, and autophagy in a cerulein-induced acute pancreatitis cell model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2022; 30(22): 997-1003
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/997.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.997>

摘要

背景

本研究旨在探究影响急性胰腺炎进程的潜在分子机制。通过功能缺失实验分析H19敲低对细胞功能的影响。并通过生物信息学预测以及实验验证确定H19与miR-30a-5p的互作关系。我们推测H19可能通过靶向miR-30a-5p来促进急性胰腺炎进程。

目的

研究lncRNA H19靶向miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬的影响。

方法

培养人胰腺AR42J细胞, 雨蛙肽诱导建立胰腺损伤细胞模型。将实验分为雨蛙肽+si-NC组、雨蛙肽+si-H19组、雨蛙肽+miR-NC组、雨蛙肽+miR-30a-5p组、雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC组、雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-5p组。实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测细胞中H19和miR-30a-5p表达水平; 流式细胞术检测细胞凋亡; 酶联免疫吸附实验检测细胞中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,

TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)水平; 蛋白质印迹(Western blot)法检测细胞自噬相关的微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein1 light chain 3, LC3)-I、LC3-II蛋白表达。双荧光素酶实验检测细胞中H19和miR-30a-5p靶向结合关系。

结果

与正常胰腺细胞比较, 雨蛙肽诱导损伤的胰腺炎细胞中H19表达水平显著升高, miR-30a-5p表达水平显著降低($P < 0.05$)。与雨蛙肽+si-NC组比较, 雨蛙肽+si-H19组H19表达水平显著降低; 细胞存活率显著升高; TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平显著降低; LC3-I蛋白表达显著降低、LC3-II蛋白表达显著升高($P < 0.05$)。与雨蛙肽+miR-NC组比较, 雨蛙肽+miR-30a-5p组miR-30a-5p表达水平显著升高; 细胞存活率显著升高; TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平显著降低; LC3-I蛋白表达显著降低、LC3-II蛋白表达显著升高($P < 0.05$)。与雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC比较, 雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-5p组miR-30a-5p表达显著降低; 细胞存活率显著降低; TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平显著升高; LC3-I蛋白表达显著升高、LC3-II蛋白表达显著降低($P < 0.05$)。

结论

下调H19通过靶向miR-30a-5p来抑制雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬。

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

关键词: lncRNA H19; miR-30a-5p; 急性胰腺炎; 凋亡; 炎症因子; 自噬

核心提要: H19在雨蛙肽诱导的胰腺炎细胞损伤模型中表达水平显著升高, 且其敲低可以抑制雨蛙肽诱导的细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬。此外, H19可以靶向miR-30a-5p, 且anti-miR-30a-5p可以逆转H19敲低对细胞损伤的抑制作用。

文献来源: 王春晖, 潘卓, 唐忠明. lncRNA H19靶向miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬的影响. *世界华人消化杂志* 2022; 30(22): 997-1003

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/997.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.997>

0 引言

急性胰腺炎是胰腺的一种炎症性疾病, 轻症以胰腺水肿和出血为主, 重症可出现组织坏死, 预后较差^[1,2]。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类不编码

蛋白的RNA分子, 广泛参与细胞分化、增殖、凋亡和炎症等调控过程^[3,4]。如lncRNA-RGD1566401的上调表达能够促进大鼠急性胰腺炎AR42J细胞凋亡^[5]。lncRNA浆细胞瘤多样异位基因1(plasmacytoma variant translocation 1, PVT1)可通过调控微小RNA(miR)-30a-5p表达, 促进胰腺腺泡细胞自噬, 加重急性胰腺炎^[6]。lncRNA核内富集转录物1(nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1)下调可通过海绵miR-365a-3p缓解雨蛙肽诱导的腺泡细胞炎症损伤^[7]。

已有研究报道lncRNA H19在急性胰腺炎中异常表达, 与疾病严重程度有关^[8]。但lncRNA H19在胰腺腺泡细胞损伤中的作用及机制还有待进一步探究。本研究利用雨蛙肽诱导胰腺AR42J细胞构建体外急性胰腺炎细胞模型, 以期揭示lncRNA H19在细胞损伤中的调控作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺AR42J细胞购自中科院上海细胞库; 改良Eagle培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM)培养基购自美国Sigma公司; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Promega公司; 雨蛙肽购自美国BD公司; 脂质体Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司; TRIzol试剂购自大连宝生物科技有限公司; 膜联蛋白V异硫氰酸荧光素(Annexin V fluorescein isothiocyanate, Annexin V-FITC)/碘化丙啶(propidium iodide, PI)凋亡试剂盒购自美国Cell Signaling公司; 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)检测试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司; 二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒购自北京天根生化科技公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理: 胰腺AR42J细胞用含10% FBS的DMEM培养基培养, 置于37 °C、5% CO₂条件中, 待细胞融合至60%-90%时, 更换含有浓度100 nM雨蛙肽的培养基继续培养24 h, 建立胰腺损伤细胞模型。

细胞转染和分组: 使用Lipofectamine 2000转染试剂, 根据试剂说明书, 分别将终浓度为30 nM-50 nM的si-NC、si-H19、miR-NC、miR-30a-5p、si-H19与anti-miR-NC、si-H19与anti-miR-30a-5p转染AR42J细胞。转染48 h后, 更换常规培养基培养24 h, 然后再更换含100 nM雨蛙肽的培养基培养24 h, 根据转染基因不同, 分别将细胞记为雨蛙肽+si-NC组、雨蛙肽+si-H19组、雨蛙肽+miR-NC组、雨蛙肽+miR-30a-5p组、雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC组、雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-5p组。

1.2.2 RT-qPCR检测H19和miR-30a-5p表达水平: 采用TRIzol试剂提取各组细胞总RNA, 反转录试剂盒将RNA

反转录为cDNA。使用SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒进行RT-PCR反应。循环条件为95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共40个循环, 60 °C延长5 min。2^{- $\Delta\Delta Ct$} 方法计算H19和miR-30a-5p相对表达水平。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡: 各组细胞培养48 h后用预冷的PBS漂洗2次, 与500 μ L的结合缓冲液混匀。先加入10 μ L的Annexin V-FITC, 再加入5 μ L的PI, 混匀后避光孵育10 min。用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.4 ELISA试剂盒检测TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平: 采用酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒检测TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平, 按照试剂盒附带的说明书进行实验步骤。

1.2.5 双荧光素酶报告实验检测H19和miR-30a-5p的靶向关系: 将含有miR-30a-5p结合位点的H19野生型(wild-type, WT)序列或突变型(mutant-type, MUT)序列克隆到荧光素酶报告质粒, 构建成荧光素酶报告基因载体WT-H19和MUT-H19。将miR-30a-5p、miR-NC分别与WT-H19或者MUT-H19共转染至雨蛙肽诱导AR42J细胞, 测定各组细胞的荧光素酶活性。并将si-NC、si-H19、pcDNA-NC、pcDNA-H19分别转染至雨蛙肽诱导AR42J细胞中, 参照RT-qPCR步骤检测细胞miR-30a-5p表达水平。

统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行统计学分析, 计量资料用平均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 两组比较行 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD- t 检验。统计学显著性用 $^*P<0.05$ 表示, 同一表中另一套 P 值, 则用 $^{\#}P<0.05$ 。

2 结果

2.1 H19和miR-30a-5p在雨蛙肽诱导的AR42J细胞中的表达 与正常胰腺细胞比较, 雨蛙肽诱导损伤的胰腺炎细胞中H19表达水平显著升高, miR-30a-5p表达水平显著降低($P<0.05$)。见表1。

2.2 低表达H19对雨蛙肽诱导的AR42J细胞凋亡、炎症因子和自噬的影响 与雨蛙肽+si-NC组比较, 雨蛙肽+si-H19组H19表达水平显著降低; 细胞存活率显著升高; TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平显著降低; 微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein1 light chain 3, LC3)-I蛋白表达显著降低、LC3-II蛋白表达显著升高($P<0.05$)。见表2和图1。

2.3 高表达miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的AR42J细胞存活、炎症因子和自噬的影响 与雨蛙肽+miR-NC组比较, 雨蛙肽+miR-30a-5p组miR-30a-5p表达水平显著升高; 细胞存活率显著升高; TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平显著降低; LC3-I蛋白表达显著降低、LC3-II蛋白表达显著升高($P<0.05$)。见表3和图2。

表 1 H19和miR-30a-5p在雨蛙肽诱导的AR42J细胞中的表达(mean ± SD, n = 9)

组别	H19	miR-30a-5p
正常胰腺细胞	1.00 ± 0.10	1.00 ± 1.10
雨蛙肽诱导损伤的胰腺炎细胞	2.76 ± 0.33 ^a	0.32 ± 0.02 ^a
<i>t</i>	15.783	18.974
<i>P</i>	0.000	0.000

与正常胰腺细胞比较, ^a*P*<0.05.

表 2 敲低H19对雨蛙肽诱导的AR42J细胞存活的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	H19	细胞存活率(%)
雨蛙肽+si-NC	1.00 ± 0.09	42.89 ± 6.11
雨蛙肽+si-H19	0.33 ± 0.03 ^a	98.99 ± 10.30 ^a
<i>t</i>	17.552	56.854
<i>P</i>	0.000	0.000

与雨蛙肽+si-NC比较, ^a*P*<0.05.

表 3 高表达miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的AR42J细胞存活影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-30a-5p	细胞存活率(%)
雨蛙肽+miR-NC	1.01 ± 0.09	45.83 ± 5.11
雨蛙肽+miR-30a-5p	3.09 ± 0.48 ^a	99.20 ± 9.63 ^a
<i>t</i>	14.440	59.983
<i>P</i>	0.000	0.000

与雨蛙肽+miR-NC比较, ^a*P*<0.05.

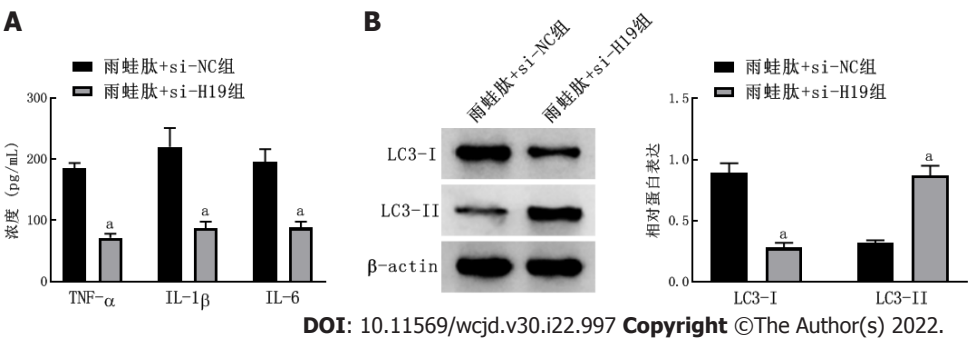


图 1 敲低H19对雨蛙肽诱导的AR42J细胞炎症和自噬的影响. A: 酶联免疫吸附实验检测炎症因子的分泌; B: 蛋白质印迹检测蛋白的表达. 雨蛙肽+si-NC组 vs 雨蛙肽+si-H19组, ^a*P*<0.05. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-1β: 白介素-1β; IL-6: 白介素-6; LC3-I: 微管相关蛋白1轻链3-I; LC3-II: 微管相关蛋白1轻链3-II.

2.4 H19靶向miR-30a-5p表达 LncBase Predicted v.2预测 H19和miR-30a-5p之间存在结合位点, 见图3. 双荧光素酶报告显示, 与转染miR-NC比较, 转染miR-30a-5p可降低 WT-H19的相对荧光素酶活性(*P*<0.05), 而对MUT-H19的相对荧光素酶活性无显著影响(*P*>0.05), 见表4.

RT-qPCR检测显示, 与雨蛙肽+si-NC组比较, 雨蛙肽

+si-H19组细胞miR-30a-5p表达水平显著升高(*P*<0.05); 与雨蛙肽+pcDNA-NC组比较, 雨蛙肽+pcDNA-H19组细胞 miR-30a-5p表达水平显著降低(*P*<0.05), 见表5.

2.5 低表达miR-30a-5p可以逆转低表达H19对雨蛙肽诱导的AR42J细胞凋亡、炎症因子和自噬的影响 与雨蛙肽 +si-H19+anti-miR-NC比较, 雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-

表 4 双荧光素酶活性检测(mean $\pm$ SD, $n = 9$)

组别	荧光素酶活性	
	WT-H19	MUT-H19
雨蛙肽+miR-NC	1.02 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.09
雨蛙肽+miR-30a-5p	0.37 $\pm$ 0.04 ^a	1.00 $\pm$ 0.10
<i>t</i>	15.884	0.553
<i>P</i>	0.000	0.749

与雨蛙肽+miR-NC比较, ^a $P < 0.05$. WT-H19: H19野生型; MUT-H19: H19突变型.

表 5 qRT-PCR检测miR-30a-5p表达(mean $\pm$ SD, $n = 9$)

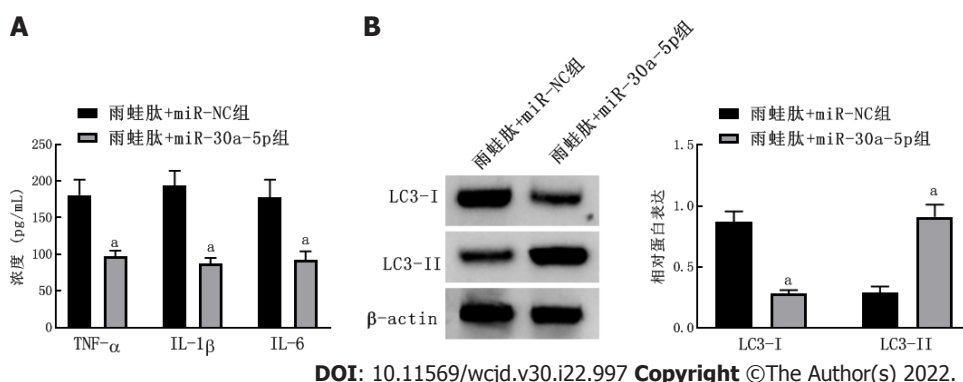
组别	miR-30a-5p
雨蛙肽+si-NC	1.01 $\pm$ 0.10
雨蛙肽+si-H19	3.57 $\pm$ 0.55 ^a
雨蛙肽+pcDNA-NC	1.03 $\pm$ 0.10
雨蛙肽+pcDNA-H19	0.40 $\pm$ 0.04 ^c
<i>F</i>	156.873
<i>P</i>	0.000

与雨蛙肽+si-NC比较, ^a $P < 0.05$; 与雨蛙肽+pcDNA-NC比较, ^c $P < 0.05$.

表 6 低表达miR-30a-5p可以逆转低表达H19对雨蛙肽诱导的AR42J细胞存活的影响(mean $\pm$ SD, $n = 9$)

组别	miR-30a-5p	细胞存活率(%)
雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC	1.00 $\pm$ 0.09	99.20 $\pm$ 8.32
雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-5p	0.32 $\pm$ 0.03 ^a	48.93 $\pm$ 5.30 ^a
<i>t</i>	16.946	79.083
<i>P</i>	0.000	0.000

与雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC比较, ^a $P < 0.05$.



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.997 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 2 高表达miR-30a-5p对雨蛙肽诱导的AR42J细胞炎症和自噬的影响. A: 酶联免疫吸附实验检测炎症因子的分泌; B: 蛋白质印迹检测蛋白的表达. 雨蛙肽+miR-NC组 vs 雨蛙肽+miR-30a-5p组, ^a $P < 0.05$. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-1 β : 白介素-1 β ; IL-6: 白介素-6; LC3-I: 微管相关蛋白1轻链3-I; LC3-II: 微管相关蛋白1轻链3-II.

5p组miR-30a-5p表达显著降低; 细胞存活率显著降低; TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平显著升高; LC3-I蛋白表达

显著升高、LC3-II蛋白表达显著降低($P < 0.05$). 见表6和图4.

WT-H19 5' GCUUGGAAAUGAAUAGCUGCACUUUACA 3'
miR-30a-5p 3' GAAGGUCAGCUCCUAC-----AAAUGU 5'
MUT-H19 5' GGAAGGUAAGCUAUUACCUGCACAAAUGU 3'
DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.997 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 3 H19和miR-30a-5p靶向结合图. LncBase Predicted v.2预测H19和miR-30a-5p之间存在结合位点. WT-H19: H19野生型; MUT-H19: H19突变型.

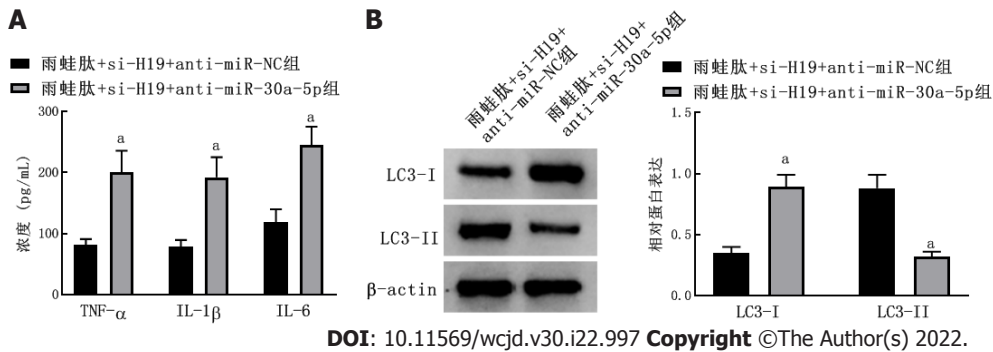


图 4 低表达miR-30a-5p可以逆转低表达H19对雨蛙肽诱导的AR42J细胞炎症和自噬的影响. A: 酶联免疫吸附实验检测炎症因子的分泌; B: 蛋白质印迹检测蛋白的表达. 雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC组 vs 雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-5p组, $P < 0.05$. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-1β: 白介素-1β; IL-6: 白介素-6; LC3-I: 微管相关蛋白1轻链3-I; LC3-II: 微管相关蛋白1轻链3-II.

3 讨论

急性胰腺炎是一种比较常见的消化系统疾病, 成年人发病概率比较高, 根据病理分型可分为间质水肿型和坏死型两种. 引起该病的病因非常多, 在我国最常见的是胆石症、酒精和高脂血症^[9,10].

lncRNA H19在急性胰腺炎患者的血清中表达升高, 且对于急性胰腺炎诊断和严重程度的预判具有一定临床价值^[11]. 重症急性胰腺炎大鼠胰腺中miR-30a-5p表达显著降低^[12]. 本实验研究发现, 与正常胰腺细胞比较, 雨蛙肽诱导急性胰腺炎细胞中H19表达水平显著升高, miR-30a-5p表达水平显著降低. 此外, 有研究表明沉默lncRNA H19可减少雨蛙素诱导的胰腺腺泡细胞凋亡, 其可能成为治疗急性胰腺炎的潜在有效靶点^[13]. 本实验研究表明, 与雨蛙肽+si-NC组比较, 雨蛙肽+si-H19组H19表达水平显著降低; 细胞存活率显著升高; TNF-α、IL-1β和IL-6水平显著降低; LC3-I蛋白表达显著降低、LC3-II蛋白表达显著升高.

miRNA是一类长度约19-22个核苷酸的非编码RNA, 是重要的转录后调控因子^[14,15]. 已经有研究报道, miR-155抑制剂能够降低重症急性胰腺炎大鼠炎症因子, 减轻重症急性胰腺炎急性肺损伤^[16]. 急性胰腺炎患者外周血miR-16和miR-192表达及其与病情严重程度密切相关^[17]. miR-7a-5p可促进急性胰腺炎腺泡细胞凋亡并降低细胞增殖能力^[18]. 本实验研究结果, 与雨蛙肽+miR-NC组比较, 雨蛙肽+miR-30a-5p组miR-30a-5p表达水平显

著升高; 细胞存活率显著升高; TNF-α、IL-1β和IL-6水平显著降低; LC3-I蛋白表达显著降低、LC3-II蛋白表达显著升高.

本实验研究显示, 与雨蛙肽+si-H19+anti-miR-NC比较, 雨蛙肽+si-H19+anti-miR-30a-5p组miR-30a-5p表达显著降低; 细胞存活率显著降低; TNF-α、IL-1β和IL-6水平显著升高; LC3-I蛋白表达显著升高、LC3-II蛋白表达显著降低. 有类似的研究报道与本实验一致. lncRNA β-1,3半乳糖基转移酶-反义5(β-1,3-galactosyltransferase 5-AS1, B3GALT5-AS1)靶向miR-361-3p调节大鼠胰腺腺泡细胞增殖及凋亡^[19]. miR-141-3p靶向调控CUE结构域蛋白2(CUE domain-containing protein 2, CUEDC2)基因影响雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞损伤^[20]. miR-7靶向特异性蛋白3(specific protein 3, Sp3)影响急性胰腺炎腺泡细胞增殖和凋亡^[21].

4 结论

综上所述, 下调H19靶向上调miR-30a-5p抑制雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症因子分泌和自噬.

文章亮点

实验背景

急性胰腺炎是一种死亡率较高的严重疾病, 严重威胁着人类健康. 探究影响急性胰腺炎进程的分子机制, 有望为其治疗提供理论依据.

实验动机

许多长链非编码RNA被证实参与了急性胰腺炎进程, 但是H19在急性胰腺炎进程中的作用和潜在分子机制值得进一步揭示。对H19作用的探究可能为其成为急性胰腺炎的治疗靶点提供证据。

实验目标

本研究希望通过揭示调控急性胰腺炎进程的潜在分子机制, 为急性胰腺炎的治疗提供有效分子靶点。

实验方法

雨蛙肽诱导建立胰腺损伤细胞模型。通过细胞计数实验和流式细胞术检测细胞活力和凋亡; 酶联免疫吸附实验评估炎症因子的分泌; 蛋白质印迹法检测细胞自噬相关蛋白表达。双荧光素酶实验检测细胞中H19和miR-30a-5p靶向结合关系。

实验结果

H19敲低可以改善雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞凋亡、炎症和自噬。H19可以靶向miR-30a-5p, 且其敲低对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞损伤的影响可以被miR-30a-5p抑制剂所逆转。

实验结论

H19通过靶向miR-30a-5p促进雨蛙肽诱导的急性胰腺炎细胞损伤, 表明其可能对急性胰腺炎进程有促进作用。

展望前景

H19可能是急性胰腺炎治疗的潜在分子靶点。未来可以在临床水平以及动物水平进一步证实H19/miR-30a-5p调控急性胰腺炎进程的结论。

5 参考文献

- 1 Paragomi P, Phillips AE, Machicado JD, Lahooti A, Kamal A, Afghani E, Pothoulakis I, Reynolds SL, Mays M, Conwell DL, Lara LF, Singh VK, Papachristou GI. Post-Acute Pancreatitis Pancreatic Exocrine Insufficiency: Rationale and Methodology of a Prospective, Observational, Multicenter Cohort Study. *Pancreas* 2021; 50: 147-152 [PMID: 33565790 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001743]
- 2 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 中国急性胰腺炎诊治指南 (2021). *中华外科杂志* 2021; 59: 578-587 [DOI: 10.16794/j.cnki.cn33-1207/r.2021.06.003]
- 3 Nojima T, Proudfoot NJ. Mechanisms of lncRNA biogenesis as revealed by nascent transcriptomics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2022; 23: 389-406 [PMID: 35079163 DOI: 10.1038/s41580-021-00447-6]
- 4 Senmatsu S, Hirota K. Roles of lncRNA transcription as a novel regulator of chromosomal function. *Genes Genet Syst* 2021; 95: 213-223 [PMID: 33028747 DOI: 10.1266/ggs.20-00024]
- 5 张旭, 付强, 秦涛, 刘传江, 胡明星, 张宏伟. 长链非编码RNA

- RGD1566401在大鼠急性胰腺炎中对外分泌细胞凋亡的作用. *中华实验外科杂志* 2018; 35: 100-102 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2018.01.034]
- 6 Hu F, Tao X, Zhao L, Guo F, Zhou Q, Song H, Xiang H, Shang D. LncRNA-PVT1 aggravates severe acute pancreatitis by promoting autophagy via the miR-30a-5p/Beclin-1 axis. *Am J Transl Res* 2020; 12: 5551-5562 [PMID: 33042437 DOI: none]
- 7 Shao A, Hu W, Li C, Yang Y, Zhu J. Downregulation of lncRNA NEAT1 Relieves Caerulein-Induced Cell Apoptosis and Inflammatory Injury in AR42J Cells Through Sponging miR-365a-3p in Acute Pancreatitis. *Biochem Genet* 2022 [PMID: 35325441 DOI: 10.1007/s10528-022-10219-2]
- 8 Song G, Zhou J, Song R, Liu D, Yu W, Xie W, Ma Z, Gong J, Meng H, Yang T, Song Z. Long noncoding RNA H19 regulates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells in rats with severe acute pancreatitis by sponging miR-138-5p and miR-141-3p. *Stem Cell Res Ther* 2020; 11: 420 [PMID: 32977843 DOI: 10.1186/s13287-020-01940-z]
- 9 Li L, Li YQ, Sun ZW, Xu CM, Wu J, Liu GL, Bakheet AM, Chen HL. Qingyi decoction protects against myocardial injuries induced by severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 1317-1328 [PMID: 32256019 DOI: 10.3748/wjg.v26.i12.1317]
- 10 Olesen SS, Harakow A, Krogh K, Drewes AM, Handberg A, Christensen PA. Hypertriglyceridemia is often under recognized as an aetiological risk factor for acute pancreatitis: A population-based cohort study. *Pancreatol* 2021; 21: 334-341 [PMID: 33608229 DOI: 10.1016/j.pan.2021.02.005]
- 11 李保军, 黄来, 孙远新. 长链非编码RNAH19在急性胰腺炎患者血清中的表达及意义. *临床肝胆病杂志* 2017; 33: 492-496 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2017.03.019]
- 12 项红, 胡凤林, 陶旭峰, 齐心, 张金楠, 尚东. 茵陈蒿汤调控lncRNA PVT1/miRNA-30a-5p信号通路对重症急性胰腺炎大鼠模型的保护作用. *临床肝胆病杂志* 2021; 37: 147-152 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2021.01.029]
- 13 王小蝶, 余维丽, 王福贵, 孙昀. lncRNA H19对大鼠胰腺腺泡细胞AR42J细胞凋亡的影响. *安徽医科大学学报* 2021; 56: 1273-1276 [DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.08.020]
- 14 Woods BJ, Van Vactor D. miRNA: local guardians of presynaptic function in plasticity and disease. *RNA Biol* 2021; 18: 1014-1024 [PMID: 33586621 DOI: 10.1080/15476286.2020.1871214]
- 15 Wang X, He Y, Mackowiak B, Gao B. MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases. *Gut* 2021; 70: 784-795 [PMID: 33127832 DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322526]
- 16 邱兆磊, 王振杰, 程峰, 宋琦, 姜海, 杜召辉, 张福龙, 赵亨, 王世杰, 邵志林, 陈硬, 王如意. microRNA-155对重症急性胰腺炎大鼠急性肺损伤作用的研究. *右江民族医学院学报* 2020; 42: 151-154 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5817.2020.02.004]
- 17 刘兴涛, 王天舒, 覃海森, 曹举潮, 黄帅. 急性胰腺炎患者外周血miRNA-16和miRNA-192表达及其与病情严重程度的相关性. *岭南急诊医学杂志* 2021; 26: 348-351 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-301X.2021.04.006]
- 18 楼一波, 王晓华, 傅志成. miR-7a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响及机制. *世界华人消化杂志* 2019; 27: 991-998 [DOI: 10.11569/wjcd.v27.i16.991]
- 19 孙磊, 万莎莎, 王超君, 陈姗姗. 长链非编码RNA B3GALT5-AS1靶向miR-361-3p调节大鼠胰腺腺泡细胞增殖及凋亡的分子机制. *中国细胞生物学学报* 2020; 42: 1951-1959 [DOI: 10.11844/cjcb.2020.11.0005]
- 20 余正元, 司晓明. 微小RNA-141-3p靶向调控含CUE结构域蛋白2基因对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞损伤的影响. *安徽医药* 2022; 26: 648-654 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.04.003]
- 21 熊凯, 陈建, 傅庆洋. miR-7靶向Sp3对急性胰腺炎腺泡细胞增殖和凋亡的影响及机制研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27: 748-755 [DOI: 10.11569/wjcd.v27.i12.748]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



内镜下黏膜剥离术治疗直肠多发类癌1例

罗培培, 欧希龙

罗培培, 江苏大学附属武进人民医院消化内科 江苏省常州市 213000

欧希龙, 东南大学附属中大医院消化内科 江苏省南京市 210009

罗培培, 副主任医师, 主要研究方向为抗幽门螺杆菌药物研发.

基金项目: 常州市重点研发计划项目, No. CJ20210012.

作者贡献分布: 罗培培与欧希龙对此文所作贡献两均等; 罗培培负责撰写文章、收集病例资料、手术操作; 欧希龙负责查阅文献及审校.

通讯作者: 罗培培, 副主任医师, 医学博士, 硕士生导师, 213004, 江苏省常州市永宁北路2号, 江苏大学附属武进人民医院消化内科.
lpp_seu@sina.com

收稿日期: 2022-05-12

修回日期: 2022-08-15

接受日期: 2022-10-24

在线出版日期: 2022-11-28

Endoscopic mucosal dissection for multiple rectal carcinoids: A case report

Pei-Pei Luo, Xi-Long Ou

Pei-Pei Luo, Department of Gastroenterology, Wujin People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Changzhou 213000, Jiangsu Province, China

Xi-Long Ou, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: Changzhou Key Research and Development Program, No. CJ20210012.

Corresponding author: Pei-Pei Luo, Master Supervisor, M.D., Department of Gastroenterology, Wujin People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, No. 2 Yongning North Road, Changzhou 213000, Jiangsu Province, China. lpp_seu@sina.com

Received: 2022-05-12

Revised: 2022-08-15

Accepted: 2022-10-24

Published online: 2022-11-28

Abstract BACKGROUND

Multiple rectal carcinoids have a low incidence clinically. Curative resection can be achieved by endoscopy, but there is a risk of missing the lesion. Postoperative follow-up is very important.

CASE SUMMARY

A patient was diagnosed with multiple rectal carcinoids and hemorrhoids by colonoscopy due to repeated hematochezia for more than 2 mo. After chest, abdominal and pelvic contrast-enhanced CT examinations were completed to exclude carcinoid metastasis, endoscopic lesion resection was performed. A total of eight lesions were completely removed. Postoperative pathology and immunohistochemistry confirmed carcinoids, classified as G1. No new lesions were found by colonoscopy 3 mo after operation.

CONCLUSION

For multiple rectal carcinoids smaller than 1 cm, endoscopic dissection can be curative, but close follow-up should be performed.

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

Key Words: Multiple rectal carcinoids; Colonoscopy; Endoscopic mucosal dissection

Citation: Luo PP, Ou XL. Endoscopic mucosal dissection for multiple rectal carcinoids: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2022; 30(22): 1004-1008

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/1004.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v30.i22.1004>

摘要

背景

直肠多发类癌, 临床发病率较低, 内镜下可达到治愈性切除, 但有漏诊病灶的风险, 术后随访非常重要。

病例简介

本例患者因反复便血2月余就诊我院行肠镜检查, 诊断为直肠多发类癌、痔疮等疾病, 完善胸部+腹部+盆腔增强CT等检查排除类癌转移后行内镜下病变切除手术, 共完整切除病灶8枚, 术后病理+免疫组化再次证实为类癌组织, 分类为G1, 术后3 mo随访肠镜未见新发病灶。

结论

对于小于1 cm的直肠多发类癌是可以通过内镜下剥离术治愈的, 但需注意术后密切随访。

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

关键词: 直肠多发类癌; 结肠镜检查; 内镜下黏膜剥离术

核心提要: 直肠是消化道类癌中发病率最高的部位, 临床工作中并不少见, 但多发类癌比较罕见, 对于该类疾病内镜诊断有漏诊病灶的风险, 术后定期随访非常重要。本例患者偶然肠镜检查时发现直肠八枚类癌病灶, 均行内镜下完整剥离治疗, 术后随访未见新发病灶。

文献来源: 罗培培, 欧希龙. 内镜下黏膜剥离术治疗直肠多发类癌1例. 世界华人消化杂志 2022; 30(22): 1004-1008

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v30/i22/1004.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v30.i22.1004>

0 引言

类癌(Carcinoid)是一种起源于神经内分泌细胞的低异质性肿瘤, 几乎可以发生在全身任何器官, 主要分布于胃肠道、胰腺和支气管肺组织, 在胃肠道主要以直肠多见, 直肠类癌占有神经内分泌肿瘤的17.7%^[1], 随着广大临床工作者对该类疾病的认识程度提高, 文章报道类癌的发病率呈明显上升趋势^[2]。临床工作中发现直肠单发并不少见, 但直肠多发类癌较罕见, 本文介绍一例内镜黏膜剥离术治疗直肠多发类癌病例诊治经过, 现报道如下。

1 病例简介

患者男性, 44岁, 因“反复便血2月余”入院, 患者2 mo前无明显诱因下反复出现大便带鲜红色血液, 就诊我院行肠镜检查, 见直肠多发隆起, 表面光滑, 大小约0.4 cm-0.7 cm, 质地韧, 倒镜见内痔痔核, 病理提示: 黏膜间质见异形细胞巢, 疑神经内分泌瘤(G1)。既往有“痔疮”病史

5年余, 未正规治疗。入院体格检查未见明显异常, 粪隐血试验: 隐血试验阳性, 谷氨酰氨基转移酶88 U/L, 尿酸668.6 μmol/L, 胆固醇6.58 mmol/L, 血常规、电解质、血糖、免疫八项、凝血功能、甲胎蛋白、癌胚抗原、糖类抗原199、前列腺特异抗原、心电图均未见明显异常。胃镜示: 浅表性胃炎。胸部+腹部+盆腔增强CT示: (1)两肺纹理增多, 左肺下叶微小结节; (2)双肾结石; (3)轻度脂肪肝, CT结果提示未见类癌转移影像学表现。

2 多学科讨论

经普外科、病理科、影像科、消化内科等多学科讨论后, 认为直肠多发类癌诊断明确, 无转移表现, 外科手术切除病灶损伤肛门功能的风险较高, 暂无外科手术指征, 有行内镜下黏膜剥离术(endoscopic mucosal dissection, ESD)指征。

3 最终诊断

直肠多发类癌(G1)。

4 治疗

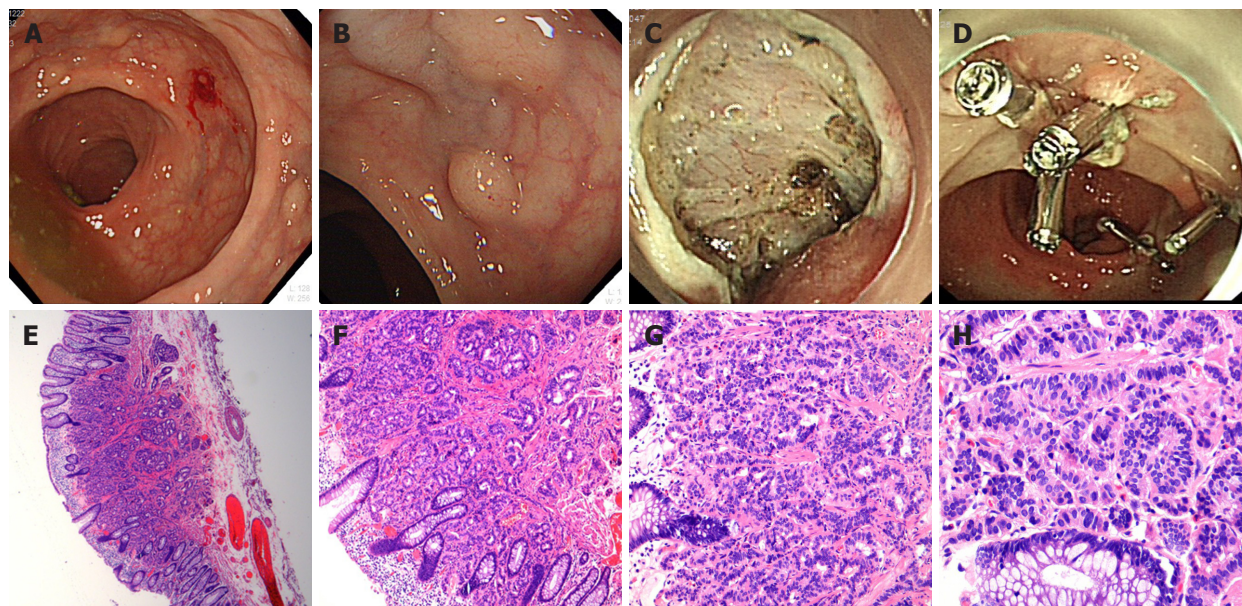
入院后第三天于手术室行内镜(Q260J, Olympus, 日本)下类癌剥离术, 见距肛缘2 cm-8 cm散在八枚0.4 cm-0.7 cm黏膜下病变, 表面光滑, 呈淡黄色, 表面可见树枝样血管, 内镜前端置放透明帽, 距病灶边缘0.3 cm标记病灶, 后于基底部注射生理盐水+美兰+肾上腺素, 抬举征良好, Dual刀距离标记点0.3 cm处切开病灶边缘, 逐步分离, 完整切除病灶, 予钛夹夹闭创面, 术后予补液及对症治疗。

5 结果和随访

ESD术后病理回报: 病理H-E染色, 镜下见肿瘤细胞排列排列呈缎带样、梁状、巢状及腺样结构。胞浆丰富, 嗜酸性, 颗粒状。细胞核圆形, 异型不明显。核仁清楚, 可核分裂象(图1), 病灶切缘及基底均未见类癌组织残留。免疫组织化学如图2: CK部分(+), Syn(弥漫+), CgA(弥漫+), CD56(弥漫+), Ki-67<1%(+), 病理诊断: (直肠)神经内分泌瘤(G1)。病灶均完整切除, 术后3 mo随访肠镜未见明显异常, 现仍在随访中。

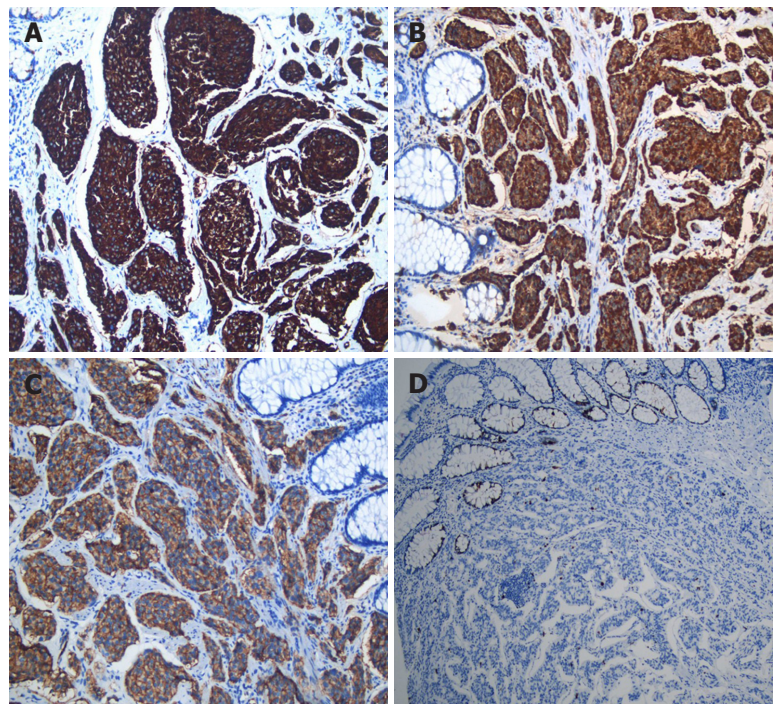
6 讨论

直肠类癌(Rectal carcinoid)是一种神经内分泌肿瘤, 其组织结构与癌相似, 且随着肿瘤体积增大, 有恶变倾向, 属于低度恶性肿瘤, 故称类癌, 1907年由Soga^[3]第一次使用类癌这个术语。消化道类癌的发病率与性别无明显相关性, 发病的平均年龄为52岁, 在直肠的发病部位多位于距肛缘4 cm至8 cm以内的范围, 且以直肠两侧壁及前壁多见, 其发病率在消化道类癌中的比率最高, 约51%, 占



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.1004 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 1 内镜图片与病理标本HE染色. A: 病灶远景观察, 发现直肠多发黏膜隆起, 表面黏膜光滑; B: 病灶近景观察, 黏膜隆起呈淡黄色, 表面光滑, 有颗粒感, 可见树枝样血管; C: ESD术后创面; D: 术后钛夹夹闭创面; E: HE × 40; F: HE × 100; G: HE × 200; H: HE × 400, 镜下见肿瘤细胞排列呈腺样、梁状、巢状及腺样结构. 胞浆丰富, 嗜酸性, 颗粒状. 细胞核圆形, 异型不明显. 核仁清楚, 可核分裂象. ESD: 内镜下黏膜剥离术.



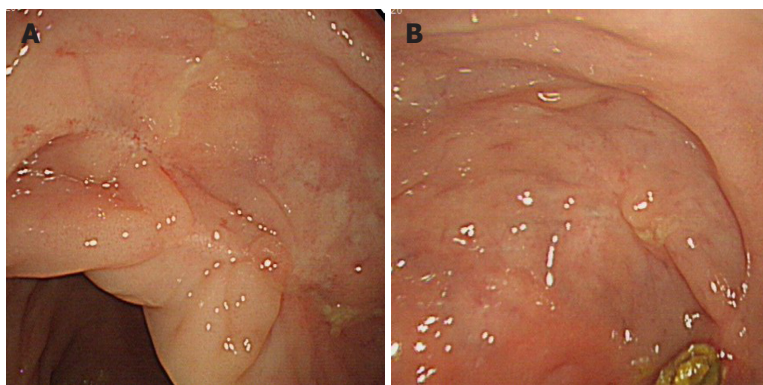
DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.1004 Copyright ©The Author(s) 2022.

图 2 免疫组织化学染色(× 200). A: Syn(弥漫+); B: CgA(弥漫+); C: CD56(弥漫+); D: Ki-67(< 1%).

所有直肠肿瘤的1%-2%^[4], 近些年随着临床医生及病理医生对于直肠类癌认识的提高及内镜设备的改善, 其发现率有所增加, 但直肠多发类癌仍很少见, 占直肠类癌发病的2%-4.5%^[5,6].

直肠类癌病灶大小多小于2 cm, 缺乏特异性临床症

状, 表面糜烂或溃疡时也可表现为便血症状, 超过一半的直肠类癌患者是在无症状的情况的肛门直肠检查中偶然发现, 内镜下表现为半球状或丘状黏膜隆起, 表面光滑, 呈黄色或灰棕色, 活检质硬, 体型较小时部分病例形态可与直肠息肉类似^[7], 体型较大时, 内镜下形态表现



DOI: 10.11569/wcjd.v30.i22.1004 Copyright ©The Author(s) 2022.

图3 术后3 mo复查肠镜结果. A: 距肛门8 cm术后瘢痕, 周围无新发病灶; B: 距肛门5 cm术后瘢痕, 周围无新发病灶.

与直肠腺癌相似, 确诊需组织病理学检测, 但由于该类病变往往位于黏膜深层, 甚至固有肌层, 活检深度不够的话, 往往会出现假阴性, 文献也有类似情况报道^[8], 所以一旦怀疑该类疾病, 可予超声内镜或CT检查, 或在排除转移及深层侵犯的情况下行ESD切除病变, 术后病理检查明确诊断. 结合本例患者, 其病变均在黏膜层, 较浅表, 所以第一次内镜活检即有阳性结果. 直肠类癌组织起源于肠黏膜隐窝深部的嗜铬细胞, 兼有内分泌细胞及上皮细胞分化特征, 病理确诊依赖于相关神经内分泌标记物包括: Syn、CgA、CD56、NSE、S-100等, 其中CgA与Syn的阳性率最高, 分别为46.2%-53%和88%-99%^[9,10], CgA、Syn、CD56同时弥漫阳性较少见, 如图2中结果, 本例患者术后免疫组织化学结果为Syn(+), CgA(+), CD56(+), Ki-67<1%(+), 按照2010版世界卫生组织(World Health Organization, WHO)分类标准, 消化道神经内分泌肿瘤可分为: 神经内分泌瘤G1(类癌 核分裂象数<2个/10HPF, Ki67≤2%), 神经内分泌瘤G2(非典型类癌核分裂象数2-20个/10HPF, Ki67 3%-20%), 神经内分泌瘤G3(神经内分泌癌 核分裂象数>20个/10 HPF, Ki67>20%), 增生和瘤前病变、混合性腺-神经内分泌癌(两种组分各占30%以上)五类. 该病例符合直肠神经内分泌肿瘤(G1)诊断标准, 适合ESD治疗, 不需要追加外科手术.

以往认为手术切除是治疗直肠类癌最有效的方法, 随着内镜技术的发展, 内镜下治疗, 如ESD和内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)也逐渐被认可, 具体采取何种切除方式在一定程度上取决于肿瘤的大小和分化情况, 文献报道大于等于2 cm的直肠类癌发生淋巴结或远处脏器转移的风险为70%-80%, 大小在1.0 cm-1.9 cm的直肠类癌的转移率为4%-30%, 小于1 cm的直肠类癌发生转移的概率为5.5%, 并且多发生于0.6 cm-1 cm大小的肿瘤^[11,12]. 因此国内学者认为肿瘤直径小

于1 cm、不侵犯肌层、肿瘤表面溃疡、高分化组织学表现适合内镜下切除^[13]. 结合本病例特点, 其大小均在1 cm以内, 符合内镜下治疗指征, 虽然对于小于1 cm的直肠类癌推荐内镜下切除, 但直肠多发类癌病例报道较少, 无参考标准, 治疗策略尚不明确.

本病例直肠类癌发生的位置位于直肠距肛缘2 cm至8 cm范围, 如果采取外科手术治疗, 有损伤肛门功能的风险, 加之其大小均在1 cm范围以内, 遂采用了逐个内镜下切除, 目前内镜切除治疗的方法主要有内镜下套扎切除术(endoscopic mucosal resection-ligation, EMR-L)、EMR和ESD三种. 由于直肠类癌病变位置多较深, 圈套器套住病变后容易滑脱, 从而造成EMR治疗病灶切除不完全^[14], 甚至有文章报道其完整切除率仅达到42%, EMR-L能够100%完整切除病灶^[15], 同时EMR-L具有操作简单、治疗费用低的优势, 但对于一些大于1 cm的病变, 尤其是大于2 cm, 由于套扎器直径限制, 存在套扎不完全风险. ESD术具有完整切除病变, 同时又不受病变大小限制的特点, 是现在普遍赞同及采取的方法^[16]. 直肠类癌组织生长的病理学特点是发生于直肠黏膜固有膜并向黏膜肌、黏膜下层甚至更深组织如固有肌层生长, 因此ESD术治疗的难点主要是术中需尽量紧贴固有肌层剥离以保证病变被完全切除, 手术过程造成固有肌损伤及穿孔的风险较高, 但因适合ESD术治疗的类癌病变多小于1 cm, 即使发生穿孔, 多可以内镜下夹闭. 目前消化道类癌的治疗及随访评价尚无类似消化道早癌治疗的eCura评价系统, 单发性病变根治术后随访多建议1-2年复查一次内镜及腹部CT. 多发直肠类癌的内镜下治疗经验报道较少, 文献报道多发性直肠类癌外科术后病理确认肿瘤个数往往多于术前内镜检查结果^[17], 内镜治疗不能保证是否漏诊较小的病例, 因此术后随访更加重要, 我们建议术后3 mo复查肠镜一次, 后每半年复查肠镜及腹部CT一次, 连续两次, 接着每年复查肠镜及腹部CT一次, 连续三

年, 后根据患者具体情况适当延长随访时间, 该患者术后3 mo复查肠镜见直肠多发瘢痕组织, 未有新发类癌病灶, 如图3所示。

7 结论

消化道类癌早期可无任何临床症状, 多在内镜检查时偶然发现, 内镜下表现有时与息肉等较难鉴别, 因此需要内镜医师提高内镜检查时的警觉性, 由于其有一定恶变倾向的组织学特点, 一旦发现均建议积极治疗, 小于1 cm病灶内镜下剥离术可以达到治愈性切除的效果。对于类似本文报道的消化道多发类癌病例, 内镜下诊断有一定漏诊的可能, 术后需密切随访。

8 参考文献

- 1 Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35, 825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3063-3072 [PMID: 18565894 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.4377]
- 2 Hallet J, Law CH, Karanickolas PJ, Saskin R, Liu N, Singh S. Rural-urban disparities in incidence and outcomes of neuroendocrine tumors: A population-based analysis of 6271 cases. *Cancer* 2015; 121: 2214-2221 [PMID: 25823667 DOI: 10.1002/cncr.29338]
- 3 Soga J. Early-stage carcinoids of the gastrointestinal tract: an analysis of 1914 reported cases. *Cancer* 2005; 103: 1587-1595 [PMID: 15742328 DOI: 10.1002/cncr.20939]
- 4 Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer* 2003; 97: 934-959 [PMID: 12569593 DOI: 10.1002/cncr.11105]
- 5 Maruyama M, Fukayama M, Koike M. A case of multiple carcinoid tumors of the rectum with extraglandular endocrine cell proliferation. *Cancer* 1988; 61: 131-136 [PMID: 2446733 DOI: 10.1002/1097-0142(19880101)61:1]
- 6 Memon MA, Nelson H. Gastrointestinal carcinoid tumors: current management strategies. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 1101-

- 1118 [PMID: 9293943 DOI: 10.1007/BF02050937]
- 7 Alnimri F, Ng MW, Modak P. Rectal carcinoid tumour presenting as polyp: a challenge in management in rural settings. *ANZ J Surg* 2021; 91: 1318-1319 [PMID: 34121291 DOI: 10.1111/ans.16857]
- 8 韩露, 崔凯, 欧洋, 李胜. 结肠神经内分泌瘤G2一例个案报道并文献复习. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 1218-1222 [DOI: 10.11569/wjcd.v25.i13.1218]
- 9 Yoon SN, Yu CS, Shin US, Kim CW, Lim SB, Kim JC. Clinicopathological characteristics of rectal carcinoids. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 1087-1092 [PMID: 20397020 DOI: 10.1007/s00384-010-0949-y]
- 10 郭花, 盛剑秋, 金鹏, 李娜, 赵晓军, 王海红, 王昕, 李爱琴. 直肠类癌的内镜下诊断与治疗. *胃肠病学和肝病学杂志* 2012; 21: 525-527
- 11 Soga J. Carcinoids of the rectum: an evaluation of 1271 reported cases. *Surg Today* 1997; 27: 112-119 [PMID: 9017986 DOI: 10.1007/BF02385898]
- 12 Schindl M, Niederle B, Häfner M, Teleky B, Längle F, Kaserer K, Schöfl R. Stage-dependent therapy of rectal carcinoid tumors. *World J Surg* 1998; 22: 628-33; discussion 634 [PMID: 9597939 DOI: 10.1007/s002689900445]
- 13 王亚丹, 郭春梅, 宿慧, 刘揆亮, 魏南, 刘红, 吴静. 小于1.0 cm的直肠类癌内镜治疗方法探讨. *中国内镜杂志* 2019; 25: 34-38
- 14 Nagai T, Torishima R, Nakashima H, Ookawara H, Uchida A, Kai S, Sato R, Murakami K, Fujioka T. Saline-assisted endoscopic resection of rectal carcinoids: cap aspiration method versus simple snare resection. *Endoscopy* 2004; 36: 202-205 [PMID: 14986216 DOI: 10.1055/s-2004-814248]
- 15 Su MY, Chiu CT. Ligation-assisted endoscopic mucosal resection has high complete resection rate in rectal carcinoid tumor. *BMC Gastroenterol* 2021; 21: 464 [PMID: 34903169 DOI: 10.1186/s12876-021-02061-4]
- 16 Zhang DG, Luo S, Xiong F, Xu ZL, Li YX, Yao J, Wang LS. Endoloop ligation after endoscopic mucosal resection using a transparent cap: A novel method to treat small rectal carcinoid tumors. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 1259-1265 [PMID: 30886508 DOI: 10.3748/wjg.v25.i10.1259]
- 17 Maeda K, Koide Y, Katsuno H, Matsuoka H. Malignant potential of multiple rectal carcinoid tumors measuring ≤ 10 mm. *Asian J Surg* 2020; 43: 1033-1034 [PMID: 32631622 DOI: 10.1016/j.asjsur.2020.06.008]

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性文章, 促进胃肠病学和肝病事业的发展和消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

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

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

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

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

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-3991568

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密密度, 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

