

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 12 月 28 日 第 31 卷 第 24 期 (Volume 31 Number 24)



24/2023

ISSN 1009-3079



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



述评

- 989 免疫精准化治疗背景下肝癌临床前模型的应用与展望
宋飞, 陈钟
- 1001 肠道微生态与胰腺癌的相关研究进展
秦雨萌, 沙杰
- 1007 MSS型mCRC的免疫治疗策略及中医药研究探索
江雨静, 郭乃婷, 夏雪萍, 季漪, 霍介格

临床实践

- 1014 乙肝病毒感染相关肝细胞癌组织中转化因子- β 1/Smad2信号通路表达及其与临床病理特征、预后相关性
张利, 郭明

文献综述

- 1022 浅析细胞自噬在溃疡性结肠炎发病机制中的作用
时艺榕, 郝微微, 张尔馨, 王珠环, 李乐

消 息

- 1000 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯
1013 《世界华人消化杂志》栏目设置
1028 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

封面故事

本刊编委胡良峰, 副主任医师, 副教授, 上海市长海医院消化内科. 致力于开展慢性胰腺炎基础、临床和转化医学研究, 获上海市科技进步一等奖. 主持国家自然科学基金5项和上海市级基金8项, 获国家专利14项, 主编、主译、副主编专著10部, 执笔并参与制定7部全国指南和标准. 以第一/通讯作者(含共同)发表SCI收录论文121篇, 一区43篇, 他引2395次, 单篇最高138次, H指数24, 研究内容写入7部国际指南和10篇顶级期刊年度综述. 2020年入选教育部“青年长江学者”。

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 2023-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

共同主编

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

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

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

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

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

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

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

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

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 31 Number 24 December 28, 2023

EDITORIAL

- 989 Preclinical liver cancer models in the context of immunoprecision therapy: Application and perspectives
Song F, Chen Z
- 1001 Progress in understanding of relationship between intestinal microecology and pancreatic cancer
Qin YM, Sha J
- 1007 Immunotherapy strategies and traditional Chinese medicine treatment for microsatellite stable metastatic colorectal cancer
Jiang YJ, Guo NT, Xia XP, Ji Y, Huo JG

CLINICAL PRACTICE

- 1014 Correlation of TGF- β 1 and Smad2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in hepatitis B virus associated hepatocellular carcinoma
Zhang L, Guo M

REVIEW

- 1022 Role of autophagy in pathogenesis of ulcerative colitis
Shi YR, Hao WW, Zhang EX, Wang ZH, Li L

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 24 December 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Liang-Hao Hu, Associate Chief Physician, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, No. 168 Changhai Road, Shanghai 200433, China. lianghao-hu@hotmail.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, 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 December 28, 2023

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

© 2023 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.

免疫精准化治疗背景下肝癌临床前模型的应用与展望

宋飞, 陈钟

宋飞, 陈钟, 南通大学附属医院肝胆胰脾外科 江苏省南通市 226001

宋飞, 陈钟, 南通大学医学院 江苏省南通市 226001

宋飞, 博士研究生(在读), 主治医师, 研究方向为肝癌的PDOTS模型构建与靶向免疫治疗耐药机制研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 21235003和81172503; 江苏省“科教兴卫工程”医学领军人才和创新团队项目, No. LJ201134; 江苏省临床医学科技专项, No. BL2014060; 南通市肝胆胰外科临床医学中心建设项目; 江苏省研究生科研与实践创新计划项目, No. KYCX23_3423。

作者贡献分布: 本文主要内容由宋飞起草; 陈钟进行核心内容的整合、深度修改与润色。

通讯作者: 陈钟, 教授, 主任医师, 博士生导师, 226001, 江苏省南通市崇川区西寺路20号, 南通大学附属医院. chenz9806@163.com

收稿日期: 2023-11-01

修回日期: 2023-11-21

接受日期: 2023-12-20

在线出版日期: 2023-12-28

Preclinical liver cancer models in the context of immunoprecision therapy: Application and perspectives

Fei Song, Zhong Chen

Fei Song, Zhong Chen, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Fei Song, Zhong Chen, Medical School of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 21235003 and No. 81172503; Jiangsu Province ‘Science and Education Strengthening Health Project’ Medical Leading Talents and Innovation Team Project, No. LJ201134; Jiangsu Province Clinical Medical Science and Technology Special Project, No. BL2014060; Nantong City Hepatobiliary and Pancreatic Surgery Clinical Medical Center Construction Project; Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province, No. KYCX23_3423.

Corresponding author: Zhong Chen, Professor, Chief Physician,

Doctoral Supervisor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Nantong University, No. 20 Xisi Road, Chongchuan District, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. chenz9806@163.com

Received: 2023-11-01

Revised: 2023-11-21

Accepted: 2023-12-20

Published online: 2023-12-28

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC), ranking as the third leading cause of cancer-related mortality globally, continues to pose challenges in achieving optimal treatment outcomes. The complex nature of HCC, characterized by high spatiotemporal heterogeneity, invasive potential, and drug resistance, presents difficulties in its research. Consequently, an in-depth understanding and accurate simulation of the immune microenvironment of HCC are of paramount importance. This article comprehensively explores the application of preclinical models in HCC research, encompassing cell line models, patient-derived xenograft mouse models, genetically engineered mouse models, chemically induced models, humanized mouse models, organoid models, and microfluidic chip-based patient derived organotypic spheroids models. Each model possesses its distinct advantages and limitations in replicating the biological behavior and immune microenvironment of HCC. By scrutinizing the limitations of existing models, this paper aims to propel the development of next-generation cancer models, enabling more precise emulation of HCC characteristics. This will, in turn, facilitate the optimization of treatment strategies, drug efficacy prediction, and safety assessments, ultimately contributing to the realization of personalized and precision therapies. Additionally, this article also provides insights into future trends and challenges in the fields of tumor biology and preclinical research.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Preclinical models; Tumor biology; Immune microenvironment; Precision medicine

Citation: Song F, Chen Z. Preclinical liver cancer models in the context of immunoprecision therapy: Application and perspectives. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(24): 989-1000
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/989.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.989>

摘要

肝癌在全球癌症致死率中位列第三,但其治疗效果仍未达到理想水平。肝癌研究中的挑战之一是肝癌高度时空异质性、侵袭转移能力和抗药性。因此,深刻理解和模拟肝癌的免疫微环境对于研究至关重要。本文探讨了肝癌研究中的临床前模型,包括细胞系模型、患者来源性肿瘤移植小鼠模型、基因编辑小鼠模型、化学诱导模型、人源化小鼠模型、类器官模型和基于患者源性器官样肿瘤球模型。各模型在模拟肝癌生物学行为和免疫微环境方面有各自的优势和不足。通过深入了解现有模型的局限性,我们有望推动下一代癌症模型的发展,使其更精确地反映肝癌的特征,为优化治疗策略、药物疗效预测和安全性评估提供支持,促进个性化和精准化治疗。此外,文章还展望了未来的趋势和挑战,以促进肝癌生物学和临床前研究的进展。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞癌; 临床前模型; 肿瘤生物学; 免疫微环境; 精准医学

核心提要: 本文综合评估了当前各类常用的肝癌临床前模型,强调了在高度异质和复杂的肝癌免疫微环境中,各类模型的优势和局限性,并展望未来临床治疗和基础研究的发展趋势,为肝癌的免疫精准化治疗提供重要视角和科学依据。

文献来源: 宋飞, 陈钟. 免疫精准化治疗背景下肝癌临床前模型的应用与展望. *世界华人消化杂志* 2023; 31(24): 989-1000

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/989.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.989>

0 引言

肝癌是全球范围内第三大癌症类型,每年新发病例超过840000例,年死亡病例超过780000例,占全球所有癌症死亡数的近9%^[1,2]。尽管手术、介入、放射、化疗、靶向和免疫治疗等多种手段的开发,如索拉非尼、乐伐替尼的上市以及免疫治疗的进步^[3,4],使得肝癌的治疗有了新的突破。然而,肝癌的整体治疗效果仍不理想,五年生存率仅有18%,复发率高达70%^[5,6]。

免疫和靶向治疗的局限性部分归因于临床前模型模拟肝癌特性时所遇到的挑战。这些挑战包括肝癌的复杂异质性、侵袭转移能力和抗药性^[7]。当前的临床前模型如患者源性类器官(patient-derived organoids, PDO)和患者源性异种移植瘤模型(patient-derived xenografts, PDX),虽然在评估新药疗效上取得了一定的成效,但它们在模拟肿瘤免疫微环境方面却显得力不从心^[8,9]。由于肿瘤免疫微环境在肝癌发展和疗效中的重要作用,对于这一领域的深入理解和模拟显得至关重要。近期研究显示,结合免疫疗法和抗血管生成药物可显著提升晚期肝癌患者的生存率,这一发现突显了发展能够精确模拟肝癌免疫微环境和生物学特性的临床前模型的重要性,为评估和优化治疗策略提供了必要的基础^[10,11]。

这篇专家评述的目的是在当前肝癌治疗的研究背景下,系统性地梳理和讨论现有广泛使用的临床前模型的优缺点,以及它们在肝癌研究中的应用。我们期望,通过了解现有模型的局限性,能推动下一代癌症模型的发展,以更好地模拟肝癌的生物学行为和免疫微环境,从而为优化治疗策略、预测药物的疗效和安全性,以及实现患者的个性化和精准化治疗提供帮助。此外,我们还将前瞻性地讨论未来的发展趋势和挑战,为肿瘤生物学及临床前癌症研究的未来发展方向提供参考。

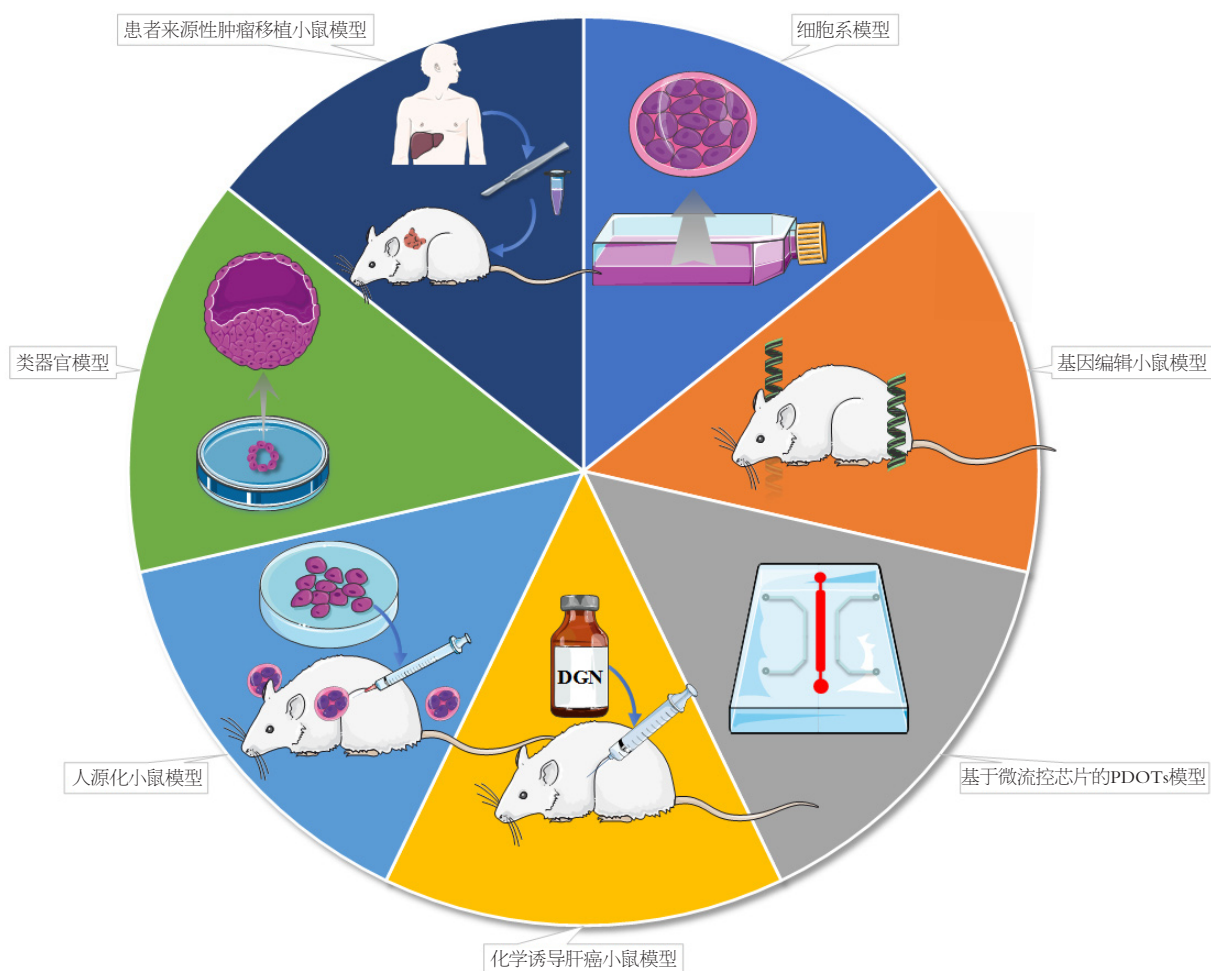
1 肝癌临床前模型的种类: 多元化

在现代肿瘤研究中,临床前模型起到了至关重要的作用。不同的模型在模拟肿瘤生物学行为、评估新型治疗策略及预测药物疗效方面具有独特的优势,而各种模型的综合运用则可为我们提供更为全面的研究视角。为了满足不同的临床应用场景和科研目的,各类不断被开发出来^[12,13],如图1所示。现有临床前模型大概分为以下几类:(1)肝癌体外细胞培养模型:这是最早使用的临床前模型,其中最常见的是二维细胞培养模型。近年来,也出现了三维细胞培养模型,如类器官(organoids),它们可以更好地模拟体内的肿瘤微环境^[12,14];(2)体内动物模型:动物模型是一种重要的临床前模型,包括自发肿瘤模型、化学诱导肿瘤模型、移植肿瘤模型(包括同种异位移植模型和异种移植模型)以及基因工程肿瘤模型等、人源化小鼠模型^[15-17];(3)新型肿瘤模型:这是一种新型的临床前模型,如微流控芯片(Microfluidic Chip)或生物打印技术构建的体外肿瘤模型^[18-20],可以在体外模拟肿瘤微环境和药物治疗过程。

2 常见肝癌临床前模型研究现状

2.1 肝癌体外细胞培养模型

2.1.1 肝癌细胞系模型:肝癌细胞系作为最早使用的传统临床前模型,因其基因型和表型的一致性、较低的



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i24.989 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 1 常见的肝癌临床前模型.

维护费用、易于基因编辑等优点, 在科学研究中扮演着重要的角色. 目前, 有大约40种不同的肝癌细胞系, 但最常用的是HepaRG、Huh 7、SK-Hep-1、Hep 3B和HepG2, 它们是从各种肝肿瘤中获得的^[21]. 对这些文章的荟萃分析表明, 每种细胞类型都来自一种特定类型的癌症. 例如, Huh 7细胞系具有肝细胞癌的特征^[22], MT-CHC01来源于肝内胆管癌细胞^[23]和HepG2来源于肝母细胞癌^[24]. 长期培养的肝癌细胞系在癌症和肝炎病毒感染的研究中具有广泛应用, 如HepG2和Huh7细胞系用于研究HDV的复制以及HBV的表达/复制^[25], 而HepaRG细胞系则用于探讨HBV病毒进入宿主细胞的机制^[26,27].

2.1.2 肝癌类器官模型: 基于肝衍生的类器官培养系统被应用于多种肝脏疾病模型中, 包括单基因疾病、酒精性肝炎、非酒精性脂肪性肝病、原发性硬化性胆管炎、病毒性肝炎和原发性肝癌等. 与传统细胞系和PDX模型相比, 类器官技术很好结合了这两种系统的优势^[28,29]. 2017年《Nature Medicine》报道了一项研究^[30], 其中构建

了三种常见的原发性肝癌类器官(肝细胞癌、胆管癌和混合样癌). 通过长期培养扩增, 原发性肝癌衍生的类器官保留了原始肿瘤的组织学结构、基因表达和基因组景观, 并且适合于生物标志物鉴定和药物筛选测试. 作为体外模型, 肝癌类器官很好的保留了肿瘤内和患者间的遗传和表型异质性, 并且适合高通量药物的筛选. 研究表明^[9], 使用3D类器官模型进行分子靶向药物敏感性测试得到的药物半数抑制浓度高于2D模型, 更接近人体真实有效血药浓度^[9]. 这一有趣的发现从侧面证实了类器官药物反应的真实性和真实性. 此外, 类器官在测试多种药物组合方面也展现出优势^[31]. 通过将现有的治疗方案与其他药物结合, 可以筛选出可能增强对某些靶向药物敏感性并降低耐药性问题的候选药物. 利用肝细胞癌患者源性类器官证实, 索拉非尼对CD44⁺PDO的疗效显著不足, 而Hedgehog信号通路抑制剂GANT61能够扭转对索拉非尼产生的耐药^[32]. 总的来说, 对于评估靶向药物的敏感性方面, 类器官展示出了巨大的潜力和广阔的应用前景.

2.1.3 肝癌患者来源器官肿瘤球模型: 为了增强类器官

的功能性, 研究者们提出了一种新颖的体外微流体培养系统, 该系统由胶原水凝胶中的上皮细胞和基质细胞组成^[19]. 他们最近的一项研究验证了, 肿瘤产生的球状体(40-100 μm)含有相对类似比例的T淋巴细胞和髓样细胞群. 他们利用患者源性器官样肿瘤球(PDOTs)和鼠源性器官样肿瘤球状体(MDOTs)来评估对程序性死亡受体1(programmed death receptor1, PD-1)/细胞程序性死亡-配体1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)靶向疗法的短期反应, 而通过对培养上清中的细胞因子检测也可以作为评估免疫疗效的手段. PDOTs模型能够很好地再现体内免疫微环境(如图2). 此外, 这个模型以相对相似的比例反映了免疫微环境中的T淋巴细胞(CD3+、CD4+和CD8+)和髓样细胞(CD11b+和/或CD11c+)群体^[33]. 最近的研究表明, CDK4/6抑制剂与抗PD-1抗体联合使用可以增加肿瘤细胞的死亡并减少趋化因子^[34], 并且借助PDOTs模型证实了CDK4/6抑制剂增强抗PD-1抗体的免疫疗效.

在以往的研究中, Yong Beom Cho教授团队构建了来自肿瘤患者的器官样肿瘤球模型, 利用EpCAM和CD3抗体分别对肿瘤细胞和免疫细胞进行标识, 从而鉴定出PDOTs中存在的效应CD3+T细胞, 这类细胞在免疫疗法后的反应过程中具有必要的作用^[18]. 因此, 我们能够清晰地确认在这个模型中, 肝肿瘤细胞和免疫细胞得到了成功的共培养, 并且他们的空间排列模式有效地模拟了肿瘤微环境. 这个模型对于深入理解肿瘤微环境并筛选免疫治疗药物具有巨大的研究潜力^[35,36]. 此外, 这种微流体控制系统通过精细的隔离和设计良好的溶质扩散控制, 有效的模拟了体内肿瘤与血管、肿瘤与基质以及肿瘤与免疫微环境之间的相互作用. 此外, 这些培养系统可以用作药物的筛选工具. 因此, 它们有着实现高通量药物筛选的巨大潜力.

2.2 小鼠模型

2.2.1 基因工程小鼠模型: 癌症基因组测序和突变分析为我们提供了丰富的信息, 揭示了许多高频突变的癌症基因, 例如MET, MYC, PTEN, RB1, TP53和CTNNB1, 以及涉及的信号通路, 如p53, WNT, NF- κ B和TGF- β 等^[37-39]. 基因工程小鼠模型能进一步帮助我们理解这些癌症驱动基因在癌症发展中的作用. 利用Cre-LoxP重组, 我们可以在小鼠中诱导肝肿瘤, 如在AlfpCre+Trp53 Δ 2-10/ Δ 2-10小鼠中^[40]. 同时, 利用流体动力学转染的Crispr-Cas9系统, 我们可以在几个月内在小鼠肝脏中诱导肿瘤^[41]. 有研究证明^[42], 具有c-MYC和E2F1双转基因的小鼠在诱发肝癌的过程中, 发病率比只有一个基因转基因的小鼠要高. 在MET过表达且CTNNB1缺失的小鼠中, 大多数在一个月就出现了肝肿瘤^[43]. 此外, 通过流体动力学注射将

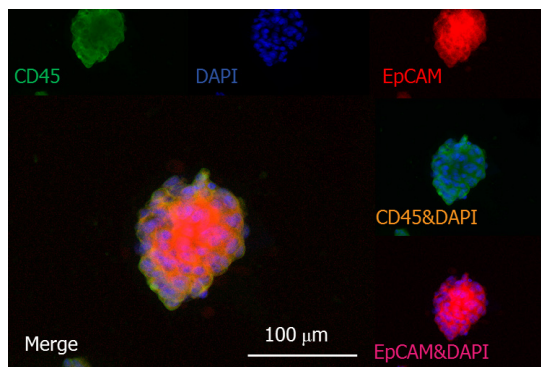


图2 肝癌患者来源器官肿瘤球的免疫荧光染色.

CRISPR-Cas9和睡美人系统构建的突变体输送到小鼠肝脏中, PTEN和p53被敲除, MET和CTNNB1被过表达, 这样的多基因组突变的小鼠在六周内就出现了癌症^[44]. 这些结果表明, 多基因突变能更快地、更高效地诱导肿瘤的形成.

尽管对PD-1通路的抑制作为一种治疗方法效果有限, 然而, 借助新型HCC基因工程小鼠模型揭示了CD8+T细胞在抑制外源抗原中的扮演的关键作用^[45]. 研究进一步揭示了 β -catenin在免疫逃逸过程中的激活作用, 并说明了 β -catenin能通过削弱树突细胞的募集来促进免疫逃逸, 且CCL5能恢复免疫监视^[46]. 总的来说, 基因工程小鼠模型为我们提供了一个研究平台, 使我们能够理解特定基因突变对肿瘤发生的影响, 并寻找可能的基因治疗的新靶点.

2.2.2 化学诱导的小鼠模型: 毒性化合物, 特别是肝癌诱导剂, 如二乙基硝胺(DEN)和黄曲霉毒素B1(AFB1), 会对肝脏产生直接或间接的影响, 破坏其稳态并引发肝细胞癌^[47]. 这些化合物被广泛应用于构建小鼠肝癌模型, 帮助研究人员模拟人类疾病, 探索病因并评估潜在的治疗方案^[48]. 首先, 基于DEN的化学诱导模型在小鼠肝癌研究中占有一席之地. 在一项研究中, 当小鼠在幼年期接触DEN, 然后在生长过程中反复给予四氯化碳(CCL4), 5个月后, 所有小鼠都能成功诱发肝癌^[49]. 然而, 不同的年龄、性别和遗传背景会影响肿瘤发展的速度和方式. 例如, 一项实验研究发现, 幼年小鼠比成年小鼠更容易产生肝癌, 因为其肝细胞复制更快^[50]. 其次, AFB1也是HCC的主要风险因素^[51]. 举例来说, 研究发现, 7日龄的C57BL/6J和DBA/2J小鼠在接受相同剂量的AFB1注射后, DBA/2J小鼠的HCC发生率高达90%, 而C57BL/6J小鼠的发病率则只有27%^[52]. 这种差异可能与这两种小鼠品系的基因特性有关, 这为我们找到AFB1诱导的肝细胞癌的潜在靶点提供了可能性.

然而, 这些化学诱导模型的有效性并非毫无问题.

一方面, 化学诱导的模型在一定程度上可以模拟肝细胞癌的发展过程, 包括肝损伤、肝硬化和肿瘤形成^[48]。但由于这种方式可能过于人为, 无法真实反映疾病发展的实际情况。另一方面, 这些模型的制备时间长, 死亡率高, 并且癌症的发生时间、部位和数量存在个体差异。据一项研究, 使用DEN和CCL4的传统化学诱导方法, 小鼠死亡率较高, 且癌症发生的时间和位置存在明显的个体差异^[53]。总之, 尽管化学诱导模型在肝癌研究中发挥了重要作用, 但我们仍需谨慎对待其局限性, 并积极寻找其他更有效的模型。

2.2.3 小鼠植入模型: 小鼠植入模型是研究肝细胞癌最常见的方法之一, 通过将肝癌细胞系或肿瘤组织片段注射到小鼠体内, 产生可靠、可重复的数据, 尤其在新抗癌药物和治疗策略的测试中广泛应用^[54,55]。按照肿瘤是否植入原始组织进行分类, 植入模型可分为原位模型和异位模型^[56]。异位模型通过皮下注射细胞或肿瘤组织, 便于直接观察肿瘤的生长和对抗癌药物的反应^[57]。然而, 原位模型在肝癌研究中更为普遍, 由于肝脏的复杂肿瘤微环境, 原位模型能更真实地模拟肝细胞癌的生理环境^[58]。不过, 原位植入需要更高技术挑战, 且需要注意小鼠肝脏微环境与人类的差异。

使用患者肝癌细胞系或肿瘤组织的异种移植模型, 必须在免疫缺陷小鼠中进行, 以避免产生排斥反应。而无胸腺裸鼠和严重联合免疫缺陷小鼠则被广泛用于这种方法^[59]。在医学研究中, 非肥胖糖尿病严重联合免疫缺陷小鼠(non-obese diabetic severe combined immunodeficiency, NOD-SCID mice)以及基于NOD-SCID的NOD/LtSz SCID白细胞介素2受体共同 γ 链缺陷型(interleukin-2 receptor gamma chain null, IL2r γ null), 也称为NSG小鼠, 和NOD/Shi SCID IL2r β null型(interleukin-2 receptor beta chain null, IL2r β null), 也称为NOG小鼠, 在各类生物医学研究中得到了广泛的应用^[60-62]。BALB/c小鼠中, 带有重组激活基因2(RAG2)基因失活(Rag2-null)和白细胞介素2受体 γ 链无效(IL2r γ -null)的品系, 以及新近开发的经过 γ 射线辐射免疫抑制(gamma irradiation immunosuppressed, GIS)的肿瘤异种移植小鼠模型, 均为新兴的免疫缺陷小鼠模型^[63,64]。

但这些模型均有其局限性, 同种异体移植小鼠虽然具有完整的免疫系统, 但其植入的组织或细胞来源于小鼠, 无法全面反映人类HCC的特性。即使小鼠与人类有相似的基因, 人类和小鼠的免疫系统之间也存在显著的表现和功能差异。因此, 我们需要在使用这些模型时充分认识到它们的局限性, 并寻求改进和更为有效的研究方法。

2.2.4 人源化小鼠模型: 人源化小鼠模型, 如NOG-TK-Tg

小鼠^[65]被设计来模拟人类的生理环境, 这是通过将人类的细胞、肿瘤、基因或功能性免疫系统植入到小鼠体内实现的^[66]。这些模型提供了一个高度复制人类肝脏功能的环境, 如表达肝脏特异性酶和成熟的人类肝脏基因表达谱, 以及呈现出人类特异性药物代谢模式^[67-69]。

对于免疫治疗研究, HIS小鼠模型的出现提供了重现人类免疫反应的可能性^[70-72]。例如, Hu PBL小鼠通过将外周血单核细胞移植到免疫缺陷小鼠中而产生, 用于研究病毒感染(如HIV或EB病毒)或移植物抗宿主(GVH)反应^[60,70]。Hu HSC小鼠是通过注射人CD34+HSC并进行亚致死 γ 辐射, 以消除小鼠的HSC, 从而促进人HSC的移植, 该模型已成功应用于异种移植模型的开发^[73,74]。同时, BLT模型是通过将人胎儿胸腺/肝组织移植到小鼠肾包膜, 然后注射CD34+造血/祖细胞, 进行全身照射产生的^[75]。使用抗人分化簇45(抗hCD45)抗体处理的NSG小鼠和hCD45耗竭的人源化小鼠已用于移植HCC患者来源的异种移植肿瘤组织^[76]。研究发现, 肿瘤微环境与肝癌之间存在复杂的相互作用, 肝癌细胞可能会改变肿瘤微环境以促进肿瘤生长^[67,77-79]。

然而, 尽管HIS人源化小鼠模型已在肿瘤生长、潜在靶点识别以及预测免疫治疗药物的效果和副作用方面取得了突出成绩, 但这些模型仍无法完全模拟肝细胞癌在人体肝脏环境中的生长^[80,81]。目前的研究正在探索新的人源化小鼠模型, 例如结合人肝嵌合小鼠与HIS人源化小鼠的模型, 以期能更好地模拟肿瘤的生长和进展^[82]。

3 临床前模型的评估: 优势和局限性

临床前模型是生物医学研究的基础, 它们的使用有助于解析疾病的基础机制, 药物的作用方式, 以及进行新疗法的预筛选和优化。然而, 这些模型都有其特定的优势和局限性, 如表1所示。

总的来说, 细胞系模型是最常用的模型之一, 它们的优势在于可以在控制的实验环境下进行定量的生物化学和分子生物学实验^[83,84]。但是, 细胞系模型无法准确地反映复杂的生理环境和肿瘤的微环境, 包括免疫反应和细胞间相互作用。小鼠异种移植模型(Xenograft Models)通过使用人类肿瘤细胞或组织, 更好地模拟了人类疾病的生物学特性^[85,86]。然而, 由于宿主小鼠的免疫系统被抑制, 这些模型不能准确地模拟人体的肿瘤免疫微环境^[87]。患者源性肿瘤异种移植模型能较好地保留原患者肿瘤的组织结构和基因表达谱, 提供了一个优秀的疗效预测平台^[88,89]。然而, 建立PDX模型需要较长时间, 成本较高, 仍然存在免疫环境模拟不足的问题^[55,90]。基因编辑小鼠模型在生理条件下研究特定基因在疾病发生和发展中的作用, 提供了一个重要的工具^[91,92]。然而, 基因

表 1 常用临床前模型的横向对比

模型类型	优点	局限性
细胞系模型	易于培养和扩展-成本低-提供大量细胞供研究使用-适合高通量筛选	缺乏体内复杂的微环境-无法完全模拟肿瘤异质性和肿瘤-免疫细胞相互作用
类器官模型	保留了原始肿瘤组织的一些特征和结构	培养难度高-缺乏血管和免疫细胞的存在
小鼠异种移植模型	能够在活体动物中研究肿瘤的生长、治疗响应和转移能力	成本高, 周期长-小鼠免疫系统的差异限制了免疫治疗的研究
基因编辑小鼠模型	能够模拟人类肿瘤中的特定基因突变-研究基因在肿瘤发展中作用	成本高, 周期长-需要较长的时间和复杂的基因编辑技术
人源化小鼠模型	通过肿瘤和人类免疫系统的相互作用-更接近人体免疫环境的模型	成本高, 周期长, 成功率低-模型的复杂性和制备过程较为复杂
化学诱导肝癌小鼠模型	可以模拟肝癌发生的化学致癌过程-具有可控的诱导肝癌的能力	成本高, 周期长-无法考虑遗传因素对肝癌发展的影响-诱导过程可能与人类肝癌的发展过程有所差异
PDOTs模型	成本低、周期短-能够保留肿瘤组织异质性和免疫微环境	对大规模研究的可行性有限-器官样本的获取和处理存在困难

编辑小鼠模型的制备时间长, 成本高, 并且不能完全反映疾病的遗传异质性^[93,94]。人源化小鼠模型模拟了人体肿瘤的免疫微环境, 为免疫治疗策略的评估提供了一个更为逼真的平台^[95,96]。但是, 人源化模型的制备复杂, 且可能存在人小鼠种间差异带来的影响^[97,98]。类器官模型克服了单细胞系统的缺陷, 可以在体外模拟生理环境, 包括细胞-细胞相互作用和细胞-基质相互作用^[99,100]。然而, 这些模型还无法完全模拟体内环境, 例如血流和免疫系统的影响^[101,102]。PDOTs直接利用患者的肿瘤切片, 在体外环境中模拟肿瘤微环境^[19,103]。PDOTs模型保留了原肿瘤的细胞异质性和结构, 可以更准确地评估药物的疗效。甚至可以借助3D打印技术或者微流控芯片技术^[104], 进行药物的高通量筛选。尽管各种临床前模型都存在一定的局限性, 但他们的结合使用可以为我们提供了一个全方位的工具来理解疾病的复杂性, 以及为未来的临床研究打下基础。

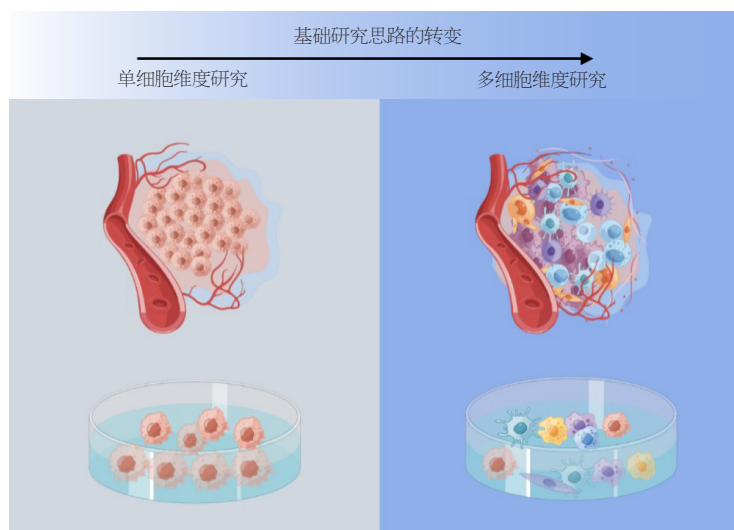
4 临床前模型在未来精准化治疗中的发展趋势和挑战

在肝癌基础研究中, 整合多模态数据是未来提高临床前模型预测准确性和可靠性的关键因素。随着越来越多高通量测序技术的应用, 基于转录组学、蛋白质组学、代谢组学、影像组学以及这些年逐渐兴起的单细胞组学、空间组学往往产生了大量的高维度数据。利用机器学习以及生物信息学技术筛选出与临床表型密切相关的分子靶点, 并构建临床预测模型或者具有某些特定预测功能的“Panels”。近年来, 对于肝癌的分类和预测模型研究取得了一系列的进展。复旦大学附属中山医院肝外科团队通过整合多组学的研究, 识别了肝癌的三种亚型: 微环境失调型、肿瘤增殖型和肿瘤代谢型, 并据此提出了一个创新的肝癌“肿瘤-微环境”预测模型^[105,106]。

南通大学附属医院陈钟团队, 基于以往的研究, 构建了与泛凋亡相关的预测模型^[107]。根据此模型, 肝癌被进一步分类为三个亚型: SFN+PDK4-型、SFN-PDK4+型和SFN/PDK4 intermediate expression型。值得注意的是, 这三个亚型在免疫治疗和靶向治疗的敏感性上表现出显著的差异性。相比以往对单一靶点、单一组学的筛选, 随着单细胞转录组测序、空间转录组、单细胞ATAC测序、空间代谢组学等先进测序技术的普及, 通过对这些高维数据的解读结合必要的临床前模型的验证, 更有望克服肝癌的时空异质性带来的干扰, 从而实现患者的个体化、精准化的免疫治疗。

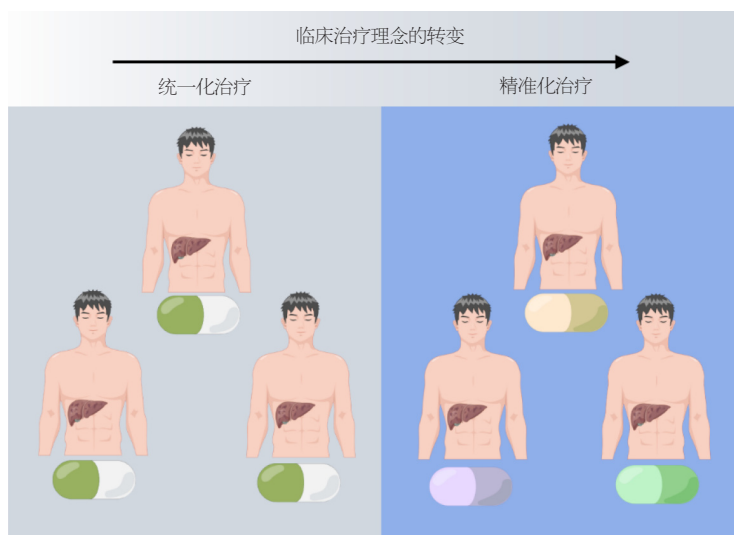
在不断深化的多模态数据分析和精准医学的驱动下, 未来的临床前模型发展将不仅仅局限于肿瘤的静态特征描述, 而是趋向于动态、多维的治疗响应预测。随着个性化医疗的需求日益增长, 结合实时监测和实验模型的可持续性将成为研究重点。例如, 动态模拟技术的融入, 可以实时跟踪药物在肿瘤微环境中的分布和效应, 捕捉疗效的即时变化, 为临床决策提供更加精准的数据支持。此外, 随着仿生技术和三维打印技术的进步, 未来的临床前模型将更加生物仿真, 能够更真实地复制肿瘤微环境和器官间的相互作用, 提供更为全面的治疗效果评估。这些技术进步预示着一个新时代的到来, 临床前模型不再是简单的药物筛选工具, 而是成为了评估治疗策略、指导个性化治疗方案、并预测治疗结果的复合系统。

展望未来, 除了基础研究思路由单个细胞维度的研究向多细胞维度的改变, 如图3, 我们所抱持的临床治疗理念也正在发生根本性的转变, 从以往的一体化模式, 逐渐转向以个性化和精准化为特色的医疗模式, 如图4。这一转变的推动力在于肝癌的显著异质性, 这一特性使



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i24.989 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 3 基础研究思路由单细胞维度向多细胞维度的转变.



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i24.989 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 4 临床治疗理念向个性化、精准化转变.

得肝癌区别于其他类型的肿瘤. 首先, 从基因层面上看, 肝癌患者本身的个体异质性极强, 各个患者的基因特征各不相同. 其次, 肿瘤内部也存在显著的空间异质性, 这主要体现在不同部位的肿瘤微环境差异. 最后, 对于同一患者而言, 其肿瘤在不同的治疗阶段也会由于肿瘤亚克隆等因素产生干性和耐药性等表型的变化. 这些因素共同导致同一种治疗方案在不同的患者以及不同的治疗阶段产生显著的效果差异. 因此, 如何运用临床前模型的特性, 创新性地构建能与个性化和精准化治疗相匹配的临床前模型, 是我们需要深入思考和探讨的问题.

5 结论

综上所述, 本文全面回顾了肝癌临床前模型的各项优势

和局限, 其中包括经典的细胞系模型、患者来源性肿瘤移植小鼠模型、基因编辑小鼠模型、化学诱导肝癌小鼠模型、人源化小鼠模型、类器官模型以及PDOTs模型等. 我们充分认识到, 各种模型均在疾病机理的探索、新药筛选和精准化治疗策略的研究中起到了不可或缺的作用, 但同样面临着在肿瘤异质性、免疫微环境模拟及药物筛选高通量化等方面的挑战. 因此, 如何在新的研究中更好地优化和应用这些模型, 将最终实现肝癌患者的个性化精准化治疗, 是我们当前及未来需要深入思考和探索的问题.

6 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer*

- 1 *J Clin* 2017; 67: 7-30 [PMID: 28055103 DOI: 10.3322/caac.21387]
- 2 Candia J, Bayarsaikhan E, Tandon M, Budhu A, Forgues M, Tovuu LO, Tudev U, Lack J, Chao A, Chinburen J, Wang XW. The genomic landscape of Mongolian hepatocellular carcinoma. *Nat Commun* 2020; 11: 4383 [PMID: 32873799 DOI: 10.1038/s41467-020-18186-1]
- 3 Paik DT, Chandy M, Wu JC. Patient and Disease-Specific Induced Pluripotent Stem Cells for Discovery of Personalized Cardiovascular Drugs and Therapeutics. *Pharmacol Rev* 2020; 72: 320-342 [PMID: 31871214 DOI: 10.1124/pr.116.013003]
- 4 Jilaveanu LB, Puligandla M, Weiss SA, Wang XV, Zito C, Flaherty KT, Boeke M, Neumeister V, Camp RL, Adeniran A, Pins M, Manola J, DiPaola RS, Haas NB, Kluger HM. Tumor Microvessel Density as a Prognostic Marker in High-Risk Renal Cell Carcinoma Patients Treated on ECOG-ACRIN E2805. *Clin Cancer Res* 2018; 24: 217-223 [PMID: 29066509 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1555]
- 5 Toh TB, Lim JJ, Hooi L, Rashid MBMA, Chow EK. Targeting Jak/Stat pathway as a therapeutic strategy against SP/CD44+ tumorigenic cells in Akt/ β -catenin-driven hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2020; 72: 104-118 [PMID: 31541681 DOI: 10.1016/j.jhep.2019.08.035]
- 6 Hayes CN, Zhang P, Chayama K. The Role of Lipids in Hepatocellular Carcinoma. *Brisbane (AU): Codon Publications* 2019-Oct-24 [PMID: 31664805]
- 7 Losic B, Craig AJ, Villacorta-Martin C, Martins-Filho SN, Akers N, Chen X, Ahsen ME, von Felden J, Labгаа I, D'Avola D, Allette K, Lira SA, Furtado GC, Garcia-Lezana T, Restrepo P, Stueck A, Ward SC, Fiel MI, Hiotis SP, Gunasekaran G, Sia D, Schadt EE, Sebra R, Schwartz M, Llovet JM, Thung S, Stolovitzky G, Villanueva A. Intratumoral heterogeneity and clonal evolution in liver cancer. *Nat Commun* 2020; 11: 291 [PMID: 31941899 DOI: 10.1038/s41467-019-14050-z]
- 8 Pamarthy S, Sabaawy HE. Patient derived organoids in prostate cancer: improving therapeutic efficacy in precision medicine. *Mol Cancer* 2021; 20: 125 [PMID: 34587953 DOI: 10.1186/s12943-021-01426-3]
- 9 Xie C, Gu A, Khan M, Yao X, Chen L, He J, Yuan F, Wang P, Yang Y, Wei Y, Tang F, Su H, Chen J, Li J, Cen B, Xu Z. Opportunities and challenges of hepatocellular carcinoma organoids for targeted drugs sensitivity screening. *Front Oncol* 2022; 12: 1105454 [PMID: 36686807 DOI: 10.3389/fonc.2022.1105454]
- 10 Meng X, Wu T, Hong Y, Fan Q, Ren Z, Guo Y, Yang X, Shi P, Yang J, Yin X, Luo Z, Xia J, Zhou Y, Xu M, Liu E, Jiang G, Li S, Zhao F, Ma C, Ma C, Hou Z, Li J, Wang J, Wang F. Camrelizumab plus apatinib as second-line treatment for advanced oesophageal squamous cell carcinoma (CAP 02): a single-arm, open-label, phase 2 trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2022; 7: 245-253 [PMID: 34998471 DOI: 10.1016/S2468-1253(21)00378-2]
- 11 Finn RS, Ikeda M, Zhu AX, Sung MW, Baron AD, Kudo M, Okusaka T, Kobayashi M, Kumada H, Kaneko S, Pracht M, Mamontov K, Meyer T, Kubota T, Dutcus CE, Saito K, Siegel AB, Dubrovsky L, Mody K, Llovet JM. Phase Ib Study of Lenvatinib Plus Pembrolizumab in Patients With Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Oncol* 2020; 38: 2960-2970 [PMID: 32716739 DOI: 10.1200/JCO.20.00808]
- 12 Bleijs M, van de Wetering M, Clevers H, Drost J. Xenograft and organoid model systems in cancer research. *EMBO J* 2019; 38: e101654 [PMID: 31282586 DOI: 10.15252/embj.2019101654]
- 13 Honkala A, Malhotra SV, Kummur S, Junttila MR. Harnessing the predictive power of preclinical models for oncology drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2022; 21: 99-114 [PMID: 34702990 DOI: 10.1038/s41573-021-00301-6]
- 14 Prior N, Inacio P, Huch M. Liver organoids: from basic research to therapeutic applications. *Gut* 2019; 68: 2228-2237 [PMID: 31300517 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319256]
- 15 Pyo DH, Hong HK, Lee WY, Cho YB. Patient-derived cancer modeling for precision medicine in colorectal cancer: beyond the cancer cell line. *Cancer Biol Ther* 2020; 21: 495-502 [PMID: 32208894 DOI: 10.1080/15384047.2020.1738907]
- 16 Lin YL, Li Y. Study on the hepatocellular carcinoma model with metastasis. *Genes Dis* 2020; 7: 336-350 [PMID: 32884988 DOI: 10.1016/j.gendis.2019.12.008]
- 17 Koga Y, Ochiai A. Systematic Review of Patient-Derived Xenograft Models for Preclinical Studies of Anti-Cancer Drugs in Solid Tumors. *Cells* 2019; 8 [PMID: 31064068 DOI: 10.3390/cells8050418]
- 18 Hong HK, Yun NH, Jeong YL, Park J, Doh J, Lee WY, Cho YB. Establishment of patient-derived organotypic tumor spheroid models for tumor microenvironment modeling. *Cancer Med* 2021; 10: 5589-5598 [PMID: 34240815 DOI: 10.1002/cam4.4114]
- 19 Jenkins RW, Aref AR, Lizotte PH, Ivanova E, Stinson S, Zhou CW, Bowden M, Deng J, Liu H, Miao D, He MX, Walker W, Zhang G, Tian T, Cheng C, Wei Z, Palakurthi S, Bittinger M, Vitzthum H, Kim JW, Merlino A, Quinn M, Venkataramani C, Kaplan JA, Portell A, Gokhale PC, Phillips B, Smart A, Rotem A, Jones RE, Keogh L, Anguiano M, Stapleton L, Jia Z, Barzily-Rokni M, Cañadas I, Thai TC, Hammond MR, Vlahos R, Wang ES, Zhang H, Li S, Hanna GJ, Huang W, Hoang MP, Piris A, Eliane JP, Stemmer-Rachamimov AO, Cameron L, Su MJ, Shah P, Izar B, Thakuria M, LeBoeuf NR, Rabinowitz G, Gunda V, Parangi S, Cleary JM, Miller BC, Kitajima S, Thummalaapalli R, Miao B, Barbie TU, Sivathanu V, Wong J, Richards WG, Bueno R, Yoon CH, Miret J, Herlyn M, Garraway LA, Van Allen EM, Freeman GJ, Kirschmeier PT, Lorch JH, Ott PA, Hodi FS, Flaherty KT, Kamm RD, Boland GM, Wong KK, Dornan D, Paweletz CP, Barbie DA. Ex Vivo Profiling of PD-1 Blockade Using Organotypic Tumor Spheroids. *Cancer Discov* 2018; 8: 196-215 [PMID: 29101162 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0833]
- 20 Meng F, Meyer CM, Joung D, Vallera DA, McAlpine MC, Panoskaltsis-Mortari A. 3D Bioprinted In Vitro Metastatic Models via Reconstruction of Tumor Microenvironments. *Adv Mater* 2019; 31: e1806899 [PMID: 30663123 DOI: 10.1002/adma.201806899]
- 21 Nikolic M, Sustersic T, Filipovic N. In vitro Models and On-Chip Systems: Biomaterial Interaction Studies With Tissues Generated Using Lung Epithelial and Liver Metabolic Cell Lines. *Front Bioeng Biotechnol* 2018; 6: 120 [PMID: 30234106 DOI: 10.3389/fbioe.2018.00120]
- 22 Montei M, Miglianu-Griffoni E, Sainte-Catherine O, Di Benedetto M, Lecouvey M. Bisphosphonate prodrugs: synthesis and biological evaluation in HuH7 hepatocarcinoma cells. *Eur J Med Chem* 2014; 77: 56-64 [PMID: 24607589 DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.02.054]
- 23 Cavalloni G, Peraldo-Neia C, Varamo C, Casorzo L, Dell'Aglia C, Bernabei P, Chiorino G, Aglietta M, Leone F. Establishment and characterization of a human intrahepatic cholangiocarcinoma cell line derived from an Italian patient. *Tumour Biol* 2016; 37: 4041-4052 [PMID: 26486326 DOI: 10.1007/s13277-015-4215-3]
- 24 López-Terrada D, Cheung SW, Finegold MJ, Knowles BB. Hep G2 is a hepatoblastoma-derived cell line. *Hum Pathol* 2009; 40: 1512-1515 [PMID: 19751877 DOI: 10.1016/j.humpath.2009.07.003]
- 25 Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, Nkongolo S, Kaufman C, Fälth M, Stindt J, Königer C, Nassal M, Kubitz R, Sülthmann H, Urban S. Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology* 2014; 146: 1070-1083 [PMID: 24361467 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.12.024]
- 26 Mutz P, Metz P, Lempp FA, Bender S, Qu B, Schöneweis K, Seitz S, Tu T, Restuccia A, Frankish J, Dächert C, Schusser B, Koschny R, Polychronidis G, Schemmer P, Hoffmann K, Baumert TF, Binder M, Urban S, Bartenschlager R. HBV Bypasses the Innate Immune

- Response and Does Not Protect HCV From Antiviral Activity of Interferon. *Gastroenterology* 2018; 154: 1791-1804.e22 [PMID: 29410097 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.044]
- 27 Watahi K, Liang K, Iwamoto M, Marusawa H, Uchida N, Daito T, Kitamura K, Muramatsu M, Ohashi H, Kiyohara T, Suzuki R, Li J, Tong S, Tanaka Y, Murata K, Aizaki H, Wakita T. Interleukin-1 and tumor necrosis factor- α trigger restriction of hepatitis B virus infection via a cytidine deaminase activation-induced cytidine deaminase (AID). *J Biol Chem* 2013; 288: 31715-31727 [PMID: 24025329 DOI: 10.1074/jbc.M113.501122]
 - 28 Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer* 2018; 18: 407-418 [PMID: 29692415 DOI: 10.1038/s41568-018-0007-6]
 - 29 Kim J, Koo BK, Knoblich JA. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020; 21: 571-584 [PMID: 32636524 DOI: 10.1038/s41580-020-0259-3]
 - 30 Broutier L, Mastrogianni G, Verstegen MM, Francies HE, Gavarró LM, Bradshaw CR, Allen GE, Arnes-Benito R, Sidorova O, Gaspersz MP, Georgakopoulos N, Koo BK, Dietmann S, Davies SE, Praseedom RK, Lieshout R, IJzermans JNM, Wigmore SJ, Saeb-Parsy K, Garnett MJ, van der Laan LJ, Huch M. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nat Med* 2017; 23: 1424-1435 [PMID: 29131160 DOI: 10.1038/nm.4438]
 - 31 Kang Y, Deng J, Ling J, Li X, Chiang YJ, Koay EJ, Wang H, Burks JK, Chiao PJ, Hurd MW, Bhutani MS, Lee JH, Weston BR, Maitra A, Ikoma N, Tzeng CD, Lee JE, DePinho RA, Wolff RA, Pant S, McAllister F, Katz MH, Fleming JB, Kim MP. 3D imaging analysis on an organoid-based platform guides personalized treatment in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Clin Invest* 2022; 132 [PMID: 36282600 DOI: 10.1172/JCI151604]
 - 32 Wang S, Wang Y, Xun X, Zhang C, Xiang X, Cheng Q, Hu S, Li Z, Zhu J. Hedgehog signaling promotes sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma patient-derived organoids. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39: 22 [PMID: 31992334 DOI: 10.1186/s13046-020-1523-2]
 - 33 Balko JM, Sosman JA. A Critical Need for Better Cancer Immunotherapy Models: Are Organotypic Tumor Spheroid Cultures the Answer? *Cancer Discov* 2018; 8: 143-145 [PMID: 29431673 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1356]
 - 34 Deng J, Wang ES, Jenkins RW, Li S, Dries R, Yates K, Chhabra S, Huang W, Liu H, Aref AR, Ivanova E, Paweletz CP, Bowden M, Zhou CW, Herter-Sprie GS, Sorrentino JA, Bisi JE, Lizotte PH, Merlino AA, Quinn MM, Bufo LE, Yang A, Zhang Y, Zhang H, Gao P, Chen T, Cavanaugh ME, Rode AJ, Haines E, Roberts PJ, Strum JC, Richards WG, Lorch JH, Parangi S, Gunda V, Boland GM, Bueno R, Palakurthi S, Freeman GJ, Ritz J, Haining WN, Sharpless NE, Arthanari H, Shapiro GI, Barbie DA, Gray NS, Wong KK. CDK4/6 Inhibition Augments Antitumor Immunity by Enhancing T-cell Activation. *Cancer Discov* 2018; 8: 216-233 [PMID: 29101163 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0915]
 - 35 Mao C, Yeh S, Fu J, Porosnicu M, Thomas A, Kucera GL, Votanopoulos KI, Tian S, Ming X. Delivery of an ectonucleotidase inhibitor with ROS-responsive nanoparticles overcomes adenosine-mediated cancer immunosuppression. *Sci Transl Med* 2022; 14: eab1261 [PMID: 35675434 DOI: 10.1126/scitranslmed.ab1261]
 - 36 Cañadas I, Thummalapalli R, Kim JW, Kitajima S, Jenkins RW, Christensen CL, Campisi M, Kuang Y, Zhang Y, Gjini E, Zhang G, Tian T, Sen DR, Miao D, Imamura Y, Thai T, Piel B, Terai H, Aref AR, Hagan T, Koyama S, Watanabe M, Baba H, Adeni AE, Lydon CA, Tamayo P, Wei Z, Herlyn M, Barbie TU, Uppaluri R, Sholl LM, Sicinska E, Sands J, Rodig S, Wong KK, Paweletz CP, Watanabe H, Barbie DA. Tumor innate immunity primed by specific interferon-stimulated endogenous retroviruses. *Nat Med* 2018; 24: 1143-1150 [PMID: 30038220 DOI: 10.1038/s41591-018-0116-5]
 - 37 Schulze K, Imbeaud S, Letouzé E, Alexandrov LB, Calderaro J, Rebouissou S, Couchy G, Meiller C, Shinde J, Soysouvanh F, Calatayud AL, Pinyol R, Pelletier L, Balabaud C, Laurent A, Blanc JF, Mazzaferro V, Calvo F, Villanueva A, Nault JC, Bioulac-Sage P, Stratton MR, Llovet JM, Zucman-Rossi J. Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets. *Nat Genet* 2015; 47: 505-511 [PMID: 25822088 DOI: 10.1038/ng.3252]
 - 38 Xu LX, He MH, Dai ZH, Yu J, Wang JG, Li XC, Jiang BB, Ke ZF, Su TH, Peng ZW, Guo Y, Chen ZB, Chen SL, Peng S, Kuang M. Genomic and transcriptional heterogeneity of multifocal hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol* 2019; 30: 990-997 [PMID: 30916311 DOI: 10.1093/annonc/mdz103]
 - 39 Shibata T, Aburatani H. Exploration of liver cancer genomes. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 340-349 [PMID: 24473361 DOI: 10.1038/nrgastro.2014.6]
 - 40 Katz SF, Lechel A, Obenauf AC, Begus-Nahrmann Y, Kraus JM, Hoffmann EM, Duda J, Eshraghi P, Hartmann D, Liss B, Schirmacher P, Kestler HA, Speicher MR, Rudolph KL. Disruption of Trp53 in livers of mice induces formation of carcinomas with bilineal differentiation. *Gastroenterology* 2012; 142: 1229-1239.e3 [PMID: 22342966 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.02.009]
 - 41 Liu F, Song Y, Liu D. Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA. *Gene Ther* 1999; 6: 1258-1266 [PMID: 10455434 DOI: 10.1038/sj.gt.3300947]
 - 42 Calvisi DF, Conner EA, Ladu S, Lemmer ER, Factor VM, Thorgerisson SS. Activation of the canonical Wnt/ β -catenin pathway confers growth advantages in c-Myc/E2F1 transgenic mouse model of liver cancer. *J Hepatol* 2005; 42: 842-849 [PMID: 15885355 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.01.029]
 - 43 Tward AD, Jones KD, Yant S, Cheung ST, Fan ST, Chen X, Kay MA, Wang R, Bishop JM. Distinct pathways of genomic progression to benign and malignant tumors of the liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 14771-14776 [PMID: 17785413 DOI: 10.1073/pnas.0706578104]
 - 44 Cao X, Zhang Y, Zhou Q, Sun S, He M, Wang X, Ma P, Yang X, Lv L, Zhan L. Establishment of a Novel Mouse Hepatocellular Carcinoma Model for Dynamic Monitoring of Tumor Development by Bioluminescence Imaging. *Front Oncol* 2022; 12: 794101 [PMID: 35251971 DOI: 10.3389/fonc.2022.794101]
 - 45 Ott PA, Hodi FS, Kaufman HL, Wigginton JM, Wolchok JD. Combination immunotherapy: a road map. *J Immunother Cancer* 2017; 5: 16 [PMID: 28239469 DOI: 10.1186/s40425-017-0218-5]
 - 46 Ruiz de Galarreta M, Bresnahan E, Molina-Sánchez P, Lindblad KE, Maier B, Sia D, Puigvehi M, Miguela V, Casanova-Acebes M, Dhainaut M, Villacorta-Martin C, Singhi AD, Moghe A, von Felden J, Tal Grinspan L, Wang S, Kamphorst AO, Monga SP, Brown BD, Villanueva A, Llovet JM, Merad M, Lujambio A. β -Catenin Activation Promotes Immune Escape and Resistance to Anti-PD-1 Therapy in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Discov* 2019; 9: 1124-1141 [PMID: 31186238 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0074]
 - 47 Verna L, Whysner J, Williams GM. N-nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation. *Pharmacol Ther* 1996; 71: 57-81 [PMID: 8910949 DOI: 10.1016/0163-7258(96)00062-9]
 - 48 Connor F, Rayner TF, Aitken SJ, Feig C, Lukk M, Santoyo-Lopez J, Odom DT. Mutational landscape of a chemically-induced mouse model of liver cancer. *J Hepatol* 2018; 69: 840-850 [PMID: 29958939 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.06.009]
 - 49 Berger ML, Bhatt H, Combes B, Estabrook RW. CCl₄-induced toxicity in isolated hepatocytes: the importance of direct solvent injury. *Hepatology* 1986; 6: 36-45 [PMID: 3943788 DOI: 10.1002/hep.1840060108]

- 50 Vesselinovitch SD, Mihailovich N. Kinetics of diethylnitrosamine hepatocarcinogenesis in the infant mouse. *Cancer Res* 1983; 43: 4253-4259 [PMID: 6871863]
- 51 Fox JG, Feng Y, Theve EJ, Raczyński AR, Fiala JL, Doernste AL, Williams M, McFaline JL, Essigmann JM, Schauer DB, Tannenbaum SR, Dedon PC, Weinman SA, Lemon SM, Fry RC, Rogers AB. Gut microbes define liver cancer risk in mice exposed to chemical and viral transgenic hepatocarcinogens. *Gut* 2010; 59: 88-97 [PMID: 19850960 DOI: 10.1136/gut.2009.183749]
- 52 Leenders MW, Nijkamp MW, Borel Rinkes IH. Mouse models in liver cancer research: a review of current literature. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6915-6923 [PMID: 19058325 DOI: 10.3748/wjg.14.6915]
- 53 McGlynn KA, Hunter K, LeVoyer T, Roush J, Wise P, Michielli RA, Shen FM, Evans AA, London WT, Buetow KH. Susceptibility to aflatoxin B1-related primary hepatocellular carcinoma in mice and humans. *Cancer Res* 2003; 63: 4594-4601 [PMID: 12907637]
- 54 Hernandez-Gea V, Toffanin S, Friedman SL, Llovet JM. Role of the microenvironment in the pathogenesis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2013; 144: 512-527 [PMID: 23313965 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.01.002]
- 55 Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, Budinská E, Byrne AT, Caldas C, Clarke RB, de Jong S, Jonkers J, Mælandsmo GM, Roman-Roman S, Seoane J, Trusolino L, Villanueva A. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discov* 2014; 4: 998-1013 [PMID: 25185190 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0001]
- 56 Boetto J, Peyre M, Kalamarides M. Mouse Models in Meningioma Research: A Systematic Review. *Cancers (Basel)* 2021; 13 [PMID: 34359639 DOI: 10.3390/cancers13153712]
- 57 Hu B, Li H, Guo W, Sun YF, Zhang X, Tang WG, Yang LX, Xu Y, Tang XY, Ding GH, Qiu SJ, Zhou J, Li YX, Fan J, Yang XR. Establishment of a hepatocellular carcinoma patient-derived xenograft platform and its application in biomarker identification. *Int J Cancer* 2020; 146: 1606-1617 [PMID: 31310010 DOI: 10.1002/ijc.32564]
- 58 Nadarevic T, Giljaca V, Colli A, Fraquelli M, Casazza G, Miletic D, Štimac D. Computed tomography for the diagnosis of hepatocellular carcinoma in adults with chronic liver disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2021; 10: CD013362 [PMID: 34611889 DOI: 10.1002/14651858.CD013362.pub2]
- 59 Duchosal MA, Eming SA, McConahey PJ, Dixon FJ. The hu-PBL-SCID mouse model. Long-term human serologic evolution associated with the xenogeneic transfer of human peripheral blood leukocytes into SCID mice. *Cell Immunol* 1992; 139: 468-477 [PMID: 1733515 DOI: 10.1016/0008-8749(92)90086-5]
- 60 Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, Suzue K, Kawahata M, Hioki K, Ueyama Y, Koyanagi Y, Sugamura K, Tsuji K, Heike T, Nakahata T. NOD/SCID/γ(c)(null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood* 2002; 100: 3175-3182 [PMID: 12384415 DOI: 10.1182/blood-2001-12-0207]
- 61 Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, Gott B, Chen X, Chaleff S, Kotb M, Gillies SD, King M, Mangada J, Greiner DL, Handgretinger R. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol* 2005; 174: 6477-6489 [PMID: 15879151 DOI: 10.4049/jimmunol.174.10.6477]
- 62 Ito M, Kobayashi K, Nakahata T. NOD/Shi-scid IL2r gamma (null) (NOG) mice more appropriate for humanized mouse models. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008; 324: 53-76 [PMID: 18481452 DOI: 10.1007/978-3-540-75647-7_3]
- 63 Traggiai E, Chicha L, Mazzucchelli L, Bronz L, Piffaretti JC, Lanzavecchia A, Manz MG. Development of a human adaptive immune system in cord blood cell-transplanted mice. *Science* 2004; 304: 104-107 [PMID: 15064419 DOI: 10.1126/science.1093933]
- 64 Dhanasekaran R, Bandoh S, Roberts LR. Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma and impact of therapeutic advances. *F1000Res* 2016; 5 [PMID: 27239288 DOI: 10.12688/f1000research.6946.1]
- 65 Hasegawa M, Kawai K, Mitsui T, Taniguchi K, Monnai M, Wakui M, Ito M, Suematsu M, Peltz G, Nakamura M, Suemizu H. The reconstituted 'humanized liver' in TK-NOG mice is mature and functional. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 405: 405-410 [PMID: 21238430 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.01.042]
- 66 Wang M, Yao LC, Cheng M, Cai D, Martinek J, Pan CX, Shi W, Ma AH, De Vere White RW, Airhart S, Liu ET, Banchereau J, Brehm MA, Greiner DL, Shultz LD, Palucka K, Keck JG. Humanized mice in studying efficacy and mechanisms of PD-1-targeted cancer immunotherapy. *FASEB J* 2018; 32: 1537-1549 [PMID: 29146734 DOI: 10.1096/fj.201707040R]
- 67 Zhao Y, Shuen TWH, Toh TB, Chan XY, Liu M, Tan SY, Fan Y, Yang H, Lye SG, Bonney GK, Loh E, Chang KTE, Tan TC, Zhai W, Chan JKY, Chow EK, Chee CE, Lee GH, Dan YY, Chow PK, Toh HC, Lim SG, Chen Q. Development of a new patient-derived xenograft humanised mouse model to study human-specific tumour microenvironment and immunotherapy. *Gut* 2018; 67: 1845-1854 [PMID: 29602780 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-315201]
- 68 Azuma H, Paulk N, Ranade A, Dorrell C, Al-Dhalimy M, Ellis E, Strom S, Kay MA, Finegold M, Grompe M. Robust expansion of human hepatocytes in Fah^{-/-}/Rag2^{-/-}/IL2rg^{-/-} mice. *Nat Biotechnol* 2007; 25: 903-910 [PMID: 17664939 DOI: 10.1038/nbt1326]
- 69 Zhou ZF, Peng F, Li JY, Ye YB. Intratumoral IL-12 Gene Therapy Inhibits Tumor Growth In A HCC-Hu-PBL-NOD/SCID Murine Model. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 7773-7784 [PMID: 31571927 DOI: 10.2147/OTT.S222097]
- 70 Bhargavan B, Woollard SM, McMillan JE, Kanmogne GD. CCR5 antagonist reduces HIV-induced amyloidogenesis, tau pathology, neurodegeneration, and blood-brain barrier alterations in HIV-infected hu-PBL-NSG mice. *Mol Neurodegener* 2021; 16: 78 [PMID: 34809709 DOI: 10.1186/s13024-021-00500-0]
- 71 Dierksheide JE, Baiocchi RA, Ferketic AK, Roychowdhury S, Pelletier RP, Eisenbeis CF, Caligiuri MA, VanBuskirk AM. IFN-gamma gene polymorphisms associate with development of EBV+ lymphoproliferative disease in hu PBL-SCID mice. *Blood* 2005; 105: 1558-1565 [PMID: 15498860 DOI: 10.1182/blood-2003-07-2476]
- 72 Washburn ML, Bility MT, Zhang L, Kovalev GI, Buntzman A, Frelinger JA, Barry W, Ploss A, Rice CM, Su L. A humanized mouse model to study hepatitis C virus infection, immune response, and liver disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1334-1344 [PMID: 21237170 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.001]
- 73 Czechowicz A, Kraft D, Weissman IL, Bhattacharya D. Efficient transplantation via antibody-based clearance of hematopoietic stem cell niches. *Science* 2007; 318: 1296-1299 [PMID: 18033883 DOI: 10.1126/science.1149726]
- 74 Lan P, Tonomura N, Shimizu A, Wang S, Yang YG. Reconstitution of a functional human immune system in immunodeficient mice through combined human fetal thymus/liver and CD34⁺ cell transplantation. *Blood* 2006; 108: 487-492 [PMID: 16410443 DOI: 10.1182/blood-2005-11-4388]
- 75 Melkus MW, Estes JD, Padgett-Thomas A, Gatlin J, Denton PW, Othieno FA, Wege AK, Haase AT, Garcia JV. Humanized mice mount specific adaptive and innate immune responses to EBV and TSST-1. *Nat Med* 2006; 12: 1316-1322 [PMID: 17057712 DOI: 10.1038/nm1431]
- 76 Zhou SL, Yin D, Hu ZQ, Luo CB, Zhou ZJ, Xin HY, Yang XR, Shi YH, Wang Z, Huang XW, Cao Y, Fan J, Zhou J. A Positive Feedback Loop Between Cancer Stem-Like Cells and Tumor-Associated Neutrophils Controls Hepatocellular Carcinoma Progression. *Hepatology* 2019; 70: 1214-1230 [PMID: 30933361 DOI: 10.1002/hep.30630]

- 77 Song M, He J, Pan QZ, Yang J, Zhao J, Zhang YJ, Huang Y, Tang Y, Wang Q, He J, Gu J, Li Y, Chen S, Zeng J, Zhou ZQ, Yang C, Han Y, Chen H, Xiang T, Weng DS, Xia JC. Cancer-Associated Fibroblast-Mediated Cellular Crosstalk Supports Hepatocellular Carcinoma Progression. *Hepatology* 2021; 73: 1717-1735 [PMID: 33682185 DOI: 10.1002/hep.31792]
- 78 Craig AJ, von Felden J, Garcia-Lezana T, Sarcognato S, Villanueva A. Tumour evolution in hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17: 139-152 [PMID: 31792430 DOI: 10.1038/s41575-019-0229-4]
- 79 Asai A, Yasuoka H, Matsui M, Tsuchimoto Y, Fukunishi S, Higuchi K. Programmed Death 1 Ligand Expression in the Monocytes of Patients with Hepatocellular Carcinoma Depends on Tumor Progression. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 32824016 DOI: 10.3390/cancers12082286]
- 80 Tsuchida T, Lee YA, Fujiwara N, Ybanez M, Allen B, Martins S, Fiel MI, Goossens N, Chou HI, Hoshida Y, Friedman SL. A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer. *J Hepatol* 2018; 69: 385-395 [PMID: 29572095 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.03.011]
- 81 Kametani Y, Ohno Y, Ohshima S, Tsuda B, Yasuda A, Seki T, Ito R, Tokuda Y. Humanized Mice as an Effective Evaluation System for Peptide Vaccines and Immune Checkpoint Inhibitors. *Int J Mol Sci* 2019; 20 [PMID: 31888191 DOI: 10.3390/ijms20246337]
- 82 Domenicali M, Caraceni P, Giannone F, Baldassarre M, Lucchetti G, Quarta C, Patti C, Catani L, Nanni C, Lemoli RM, Bernardi M. A novel model of CCl4-induced cirrhosis with ascites in the mouse. *J Hepatol* 2009; 51: 991-999 [PMID: 19853952 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.09.008]
- 83 Li J, Zhao W, Akbani R, Liu W, Ju Z, Ling S, Vellano CP, Roebuck P, Yu Q, Eterovic AK, Byers LA, Davies MA, Deng W, Gopal YN, Chen G, von Euw EM, Slamon D, Conklin D, Heymach JV, Gazdar AF, Minna JD, Myers JN, Lu Y, Mills GB, Liang H. Characterization of Human Cancer Cell Lines by Reverse-phase Protein Arrays. *Cancer Cell* 2017; 31: 225-239 [PMID: 28196595 DOI: 10.1016/j.ccell.2017.01.005]
- 84 Zhao W, Li J, Chen MM, Luo Y, Ju Z, Nesser NK, Johnson-Camacho K, Boniface CT, Lawrence Y, Pande NT, Davies MA, Herlyn M, Muranen T, Zervantonakis IK, von Euw E, Schultz A, Kumar SV, Korkut A, Spellman PT, Akbani R, Slamon DJ, Gray JW, Brugge JS, Lu Y, Mills GB, Liang H. Large-Scale Characterization of Drug Responses of Clinically Relevant Proteins in Cancer Cell Lines. *Cancer Cell* 2020; 38: 829-843.e4 [PMID: 33157050 DOI: 10.1016/j.ccell.2020.10.008]
- 85 Goyama S, Wunderlich M, Mulloy JC. Xenograft models for normal and malignant stem cells. *Blood* 2015; 125: 2630-2640 [PMID: 25762176 DOI: 10.1182/blood-2014-11-570218]
- 86 Nardone RM, MacLeod RA, Capes-Davis A. Cancer: Authenticate new xenograft models. *Nature* 2016; 532: 313 [PMID: 27127813 DOI: 10.1038/532313a]
- 87 Lai Y, Wei X, Lin S, Qin L, Cheng L, Li P. Current status and perspectives of patient-derived xenograft models in cancer research. *J Hematol Oncol* 2017; 10: 106 [PMID: 28499452 DOI: 10.1186/s13045-017-0470-7]
- 88 Byrne AT, Alferez DG, Amant F, Annibali D, Arribas J, Biankin AV, Bruna A, Budinská E, Caldas C, Chang DK, Clarke RB, Clevers H, Coukos G, Dangles-Marie V, Eckhardt SG, Gonzalez-Suarez E, Hermans E, Hidalgo M, Jarzabek MA, de Jong S, Jonkers J, Kemper K, Lanfrancone L, Mælandsmo GM, Marangoni E, Marine JC, Medico E, Norum JH, Palmer HG, Peeper DS, Pelicci PG, Piris-Gimenez A, Roman-Roman S, Rueda OM, Seoane J, Serra V, Soucek L, Vanhecke D, Villanueva A, Vinolo E, Bertotti A, Trusolino L. Interrogating open issues in cancer precision medicine with patient-derived xenografts. *Nat Rev Cancer* 2017; 17: 254-268 [PMID: 28104906 DOI: 10.1038/nrc.2016.140]
- 89 Aparicio S, Hidalgo M, Kung AL. Examining the utility of patient-derived xenograft mouse models. *Nat Rev Cancer* 2015; 15: 311-316 [PMID: 25907221 DOI: 10.1038/nrc3944]
- 90 Zanella ER, Grassi E, Trusolino L. Towards precision oncology with patient-derived xenografts. *Nat Rev Clin Oncol* 2022; 19: 719-732 [PMID: 36151307 DOI: 10.1038/s41571-022-00682-6]
- 91 Brown ZJ, Heinrich B, Greten TF. Mouse models of hepatocellular carcinoma: an overview and highlights for immunotherapy research. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15: 536-554 [PMID: 29904153 DOI: 10.1038/s41575-018-0033-6]
- 92 Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, Dive C, Dowlati A, George J, Heymach JV, Johnson JE, Lehman JM, MacPherson D, Massion PP, Minna JD, Oliver TG, Quaranta V, Sage J, Thomas RK, Vakoc CR, Gazdar AF. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nat Rev Cancer* 2019; 19: 289-297 [PMID: 30926931 DOI: 10.1038/s41568-019-0133-9]
- 93 Hill W, Caswell DR, Swanton C. Capturing cancer evolution using genetically engineered mouse models (GEMMs). *Trends Cell Biol* 2021; 31: 1007-1018 [PMID: 34400045 DOI: 10.1016/j.tcb.2021.07.003]
- 94 Kersten K, de Visser KE, van Miltenburg MH, Jonkers J. Genetically engineered mouse models in oncology research and cancer medicine. *EMBO Mol Med* 2017; 9: 137-153 [PMID: 28028012 DOI: 10.15252/emmm.201606857]
- 95 Chuprin J, Buettner H, Seedhom MO, Greiner DL, Keck JG, Ishikawa F, Shultz LD, Brehm MA. Humanized mouse models for immuno-oncology research. *Nat Rev Clin Oncol* 2023; 20: 192-206 [PMID: 36635480 DOI: 10.1038/s41571-022-00721-2]
- 96 De La Rochere P, Guil-Luna S, Decaudin D, Azar G, Sidhu SS, Piaggio E. Humanized Mice for the Study of Immuno-Oncology. *Trends Immunol* 2018; 39: 748-763 [PMID: 30077656 DOI: 10.1016/j.it.2018.07.001]
- 97 Choi Y, Lee S, Kim K, Kim SH, Chung YJ, Lee C. Studying cancer immunotherapy using patient-derived xenografts (PDXs) in humanized mice. *Exp Mol Med* 2018; 50: 1-9 [PMID: 30089794 DOI: 10.1038/s12276-018-0115-0]
- 98 Horowitz NB, Mohammad I, Moreno-Nieves UY, Koliesnik I, Tran Q, Sunwoo JB. Humanized Mouse Models for the Advancement of Innate Lymphoid Cell-Based Cancer Immunotherapies. *Front Immunol* 2021; 12: 648580 [PMID: 33968039 DOI: 10.3389/fimmu.2021.648580]
- 99 Lau HCH, Kranenburg O, Xiao H, Yu J. Organoid models of gastrointestinal cancers in basic and translational research. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17: 203-222 [PMID: 32099092 DOI: 10.1038/s41575-019-0255-2]
- 100 LeSavage BL, Suh RA, Broguiere N, Lutolf MP, Heilshorn SC. Next-generation cancer organoids. *Nat Mater* 2022; 21: 143-159 [PMID: 34385685 DOI: 10.1038/s41563-021-01057-5]
- 101 Dedhia PH, Bertaux-Skeirik N, Zavros Y, Spence JR. Organoid Models of Human Gastrointestinal Development and Disease. *Gastroenterology* 2016; 150: 1098-1112 [PMID: 26774180 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.12.042]
- 102 Aboulkheyr Es H, Montazeri L, Aref AR, Vosough M, Baharvand H. Personalized Cancer Medicine: An Organoid Approach. *Trends Biotechnol* 2018; 36: 358-371 [PMID: 29366522 DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.12.005]
- 103 Sun Y, Revach OY, Anderson S, Kessler EA, Wolfe CH, Jenney A, Mills CE, Robitschek EJ, Davis TGR, Kim S, Fu A, Ma X, Gwee J, Tiwari P, Du PP, Sindurakar P, Tian J, Mehta A, Schneider AM, Yizhak K, Sade-Feldman M, LaSalle T, Sharova T, Xie H, Liu S, Michaud WA, Saad-Beretta R, Yates KB, Iracheta-Vellve A, Spetz JKE, Qin X, Sarosiek KA, Zhang G, Kim JW, Su MY, Cicerchia AM, Rasmussen MQ, Klempner SJ, Juric D, Pai SI, Miller DM, Giobbie-Hurder A, Chen JH, Pelka K, Frederick DT, Stinson S, Ivanova E, Aref AR, Pawletz CP, Barbie DA, Sen DR, Fisher

- DE, Corcoran RB, Hacohen N, Sorger PK, Flaherty KT, Boland GM, Manguso RT, Jenkins RW. Targeting TBK1 to overcome resistance to cancer immunotherapy. *Nature* 2023; 615: 158-167 [PMID: 36634707 DOI: 10.1038/s41586-023-05704-6]
- 104 Aref AR, Campisi M, Ivanova E, Portell A, Larios D, Piel BP, Mathur N, Zhou C, Coakley RV, Bartels A, Bowden M, Herbert Z, Hill S, Gilhooley S, Carter J, Cañadas I, Thai TC, Kitajima S, Chiono V, Paweletz CP, Barbie DA, Kamm RD, Jenkins RW. 3D microfluidic ex vivo culture of organotypic tumor spheroids to model immune checkpoint blockade. *Lab Chip* 2018; 18: 3129-3143 [PMID: 30183789 DOI: 10.1039/c8lc00322j]
- 105 Gao Q, Zhu H, Dong L, Shi W, Chen R, Song Z, Huang C, Li J, Dong X, Zhou Y, Liu Q, Ma L, Wang X, Zhou J, Liu Y, Boja E, Robles AI, Ma W, Wang P, Li Y, Ding L, Wen B, Zhang B, Rodriguez H, Gao D, Zhou H, Fan J. Integrated Proteogenomic Characterization of HBV-Related Hepatocellular Carcinoma. *Cell* 2019; 179: 561-577.e22 [PMID: 31585088 DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.052]
- 106 Dong LQ, Peng LH, Ma LJ, Liu DB, Zhang S, Luo SZ, Rao JH, Zhu HW, Yang SX, Xi SJ, Chen M, Xie FF, Li FQ, Li WH, Ye C, Lin LY, Wang YJ, Wang XY, Gao DM, Zhou H, Yang HM, Wang J, Zhu SD, Wang XD, Cao Y, Zhou J, Fan J, Wu K, Gao Q. Heterogeneous immunogenomic features and distinct escape mechanisms in multifocal hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2020; 72: 896-908 [PMID: 31887370 DOI: 10.1016/j.jhep.2019.12.014]
- 107 Song F, Wang CG, Mao JZ, Wang TL, Liang XL, Hu CW, Zhang Y, Han L, Chen Z. PANoptosis-based molecular subtyping and HPAN-index predicts therapeutic response and survival in hepatocellular carcinoma. *Front Immunol* 2023; 14: 1197152 [PMID: 37398672 DOI: 10.3389/fimmu.2023.1197152]

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 © 2023 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)。

肠道微生物与胰腺癌的相关研究进展

秦雨萌, 沙杰

秦雨萌, 沙杰, 靖江市人民医院 江苏省泰州市 214500

秦雨萌, 医师, 主要从事胰腺疾病的研究和诊治。

基金项目: 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室资助项目, No. 202223.

作者贡献分布: 本文写作由秦雨萌和沙杰完成; 秦雨萌与沙杰对此文贡献均等。

通讯作者: 沙杰, 博士, 主任医师, 214500, 江苏省泰州市靖江市中州路28号, 靖江市人民医院消化科. shajie0414@126.com

收稿日期: 2023-10-30

修回日期: 2023-11-30

接受日期: 2023-12-20

在线出版日期: 2023-12-28

Progress in understanding of relationship between intestinal microecology and pancreatic cancer

Yu-Meng Qin, Jie Sha

Yu-Meng Qin, Jie Sha, Jingjiang People's Hospital, Taizhou 214500, Jiangsu Province, China

Supported by: Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for the Prevention and Treatment of Geriatric Diseases, No. 202223.

Corresponding author: Jie Sha, Doctor, Chief Physician, Department of Digestive Diseases, Jingjiang People's Hospital, No. 28 Zhongzhou Road, Jingjiang City, Taizhou 214500, Jiangsu Province, China. shajie0414@126.com

Received: 2023-10-30

Revised: 2023-11-30

Accepted: 2023-12-20

Published online: 2023-12-28

Abstract

In recent years, the association between the gut microbiota

(GM) and pancreatic cancer (PC) has attracted extensive attention. Studies have shown that the oral, intestinal, and pancreatic microbiota of PC patients is different from that of healthy people, showing different characteristics. On this basis, the application of characteristic GM and its metabolites as biomarkers for early diagnosis and prognosis evaluation of PC holds great potential. Intestinal microecological therapy targeting the GM, such as probiotics and fecal microbiota transplantation, may affect the response to chemotherapy and immunotherapy by remodeling the tumor microenvironment, to improve the prognosis. In this paper, we review the role of the GM in PC development, early diagnosis, prognosis assessment, and treatment.

© **The Author(s) 2023.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gut microbiota; Pancreatic cancer; Metabolism; Tumor microenvironment

Citation: Qin YM, Sha J. Progress in understanding of relationship between intestinal microecology and pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(24): 1001-1006

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1001.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v31.i24.1001>

摘要

近年来, 肠道微生物(gut microbiota, GM)与胰腺癌(pancreatic cancer, PC)的相关性引发了广泛的关注。研究表明, PC患者的口腔、肠道及胰腺内微生物群区别于健康人群, 呈现出不同特征。在此基础上, 应用特征性的GM及代谢产物作为PC早期诊断、预后评估的生物标志物, 具有很大的研究潜力。以GM为靶点的肠道微生态疗法, 如益生菌、粪菌移植等, 可能通过重塑肿瘤微环境影响对化疗、免疫治疗的应答效果, 从而改善预后。本文对GM参与PC发生发展、早期诊断、预后评估、治疗等方面的最新研究进行简要综述。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠道菌群; 胰腺癌; 代谢产物; 肿瘤微环境

核心提要: 胰腺癌(pancreatic cancer, PC)作为预后最差的恶性肿瘤之一, 因其起病隐匿、早筛早诊困难、治疗应答欠佳, 严重危害人类健康. 传统的治疗方式包括手术治疗、化疗和免疫治疗等. 近来, 多种消化系肿瘤微环境内微生物失调的发现拓宽了研究范围, 肠道微生态(gut microbiota, GM)也愈发受到重视. GM在PC起病、早期诊断、预后评估、治疗干预等多个环节能发挥作用.

文献来源: 秦雨萌, 沙杰. 肠道微生态与胰腺癌的相关研究进展. 世界华人消化杂志 2023; 31(24): 1001–1006

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1001.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.1001>

0 引言

人体微生态包含了机体不同部位的生物群落, 比如皮肤、口腔、呼吸道、消化道、生殖道等. 其中, 肠道微生态(intestinal microecology, IM)数量最大、功能最复杂. 人体肠道微生物(gut microbiota, GM)已知有细菌、古菌、真菌和病毒组成, 正常成年人的肠道细菌由厚壁菌门和拟杆菌门主导, 此外还存在放线菌门、变形菌门、梭杆菌门和疣微菌门等^[1]. 健康情况下, GM与宿主处于相互依赖又制约的稳定状态, 当这种稳态被抗生素、疾病、创伤等因素破坏, 肠道菌落的构成种类、数量、比例、共生部位和代谢特征会发生改变, 称为肠道微生态失调(microbiota dysbiosis, MD), MD与多种疾病的发生发展密切相关. 16S rRNA基因测序是当前研究微生物群落组成和分布的重要手段^[2]. 此外, 肠道微生态治疗, 如益生菌、益生元、粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)等, 作为新兴的治疗方法, 能协助重构患者IM, 促进GM恢复平衡, 以达到缓解病情、改善预后的目的.

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)作为预后最差的恶性实体肿瘤之一, 因其起病隐匿、致病机制不清、早期筛查及诊断困难, 常在明确诊断时就已属晚期. 胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是PC最常见的病理类型, 占PC的80%-90%. PC的治疗方法目前较有限, 外科根治性手术是可能治愈PC的重要手段, 但能够接受手术者仅占少数, 且术后五年生存率仍低于30%. 放化疗、免疫治疗等手段也未取得满意的效果^[3,4].

胰腺不直接与消化道的菌群接触, 且胰腺能分泌大量强碱性的胰液, 被认为不适宜微生物生存, 过去很长一段时间, 胰腺被认为是一个无菌器官. 直到2020年前后在PC肿瘤组织和囊性液中检测到了丰富的微生物菌

群^[5-7], 揭示了IM可能与PC的致病过程相关, “肠—胰腺轴”的概念被提出. 近几年来, 人们对IM参与PC致病机制、诊疗干预、评估预后等方面进行了大量的研究, 本文就该领域所取得的主要研究进展进行述评, 以便同行参阅学习.

1 肠道微生态参与胰腺癌发生发展

GM一般可通过激活致癌信号、增强致癌代谢途径、改变癌细胞增殖、触发抑制肿瘤免疫的慢性炎症等方式促进癌症的发生和发展^[8,9]. 吸烟、肥胖、糖尿病、饮酒、慢性胰腺炎、遗传易感基因等是PC发生的危险因素^[10,11], PC的发生发展涉及一个多因素参与的多步骤复杂变化的过程, 其中持续引起机体内组织结构、代谢和基因表达的异常, 现有的研究成果尚难完全阐明具体病因和病机^[12].

1.1 口腔、消化道中的潜在致病菌群 Li等^[13]发现, 牙周病是PC的危险因素, 诱发牙周病的口腔微生物能迁移、定植到胰腺、肾脏等其他远处组织. 一项荟萃分析提示, 暴露于牙龈卟啉单胞菌(引起牙周病的重要致病微生物之一)可能会导致PC患病风险增加, 在PC患者的唾液、舌苔中发现了高水平的牙龈假单胞菌及其相关放线菌的存在^[14]. Herremans等^[15]研究发现, 长链奈瑟菌、链球菌等细菌在PC与健康人群口腔中丰度明显不同. 关于感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是否增加PC致病风险, 当前相关研究尚未有定论, 未来需要更大样本量、高质量的前瞻性队列研究, 兼顾到不同种族人群、不同*H. pylori*菌株和混杂因素等来进一步探索^[16,17].

尽管真菌在GM中的数量要远少于细菌, 但多项研究表明肠道真菌与PC发病相关. Ost和Round检测发现^[18], 在PC患者粪便和PDAC小鼠胰腺组织中均检测到丰富的真菌, 马拉色菌属(*Malassezia globosa*)是其中数量最多的真菌. 该研究进一步对PDAC小鼠进行抗真菌治疗, 发现抗真菌治疗减小了肿瘤大小并增强了化疗的效果. 当用马拉色菌和另外三种真菌分别重新接种给去除真菌的PDAC小鼠时, 只有马拉色菌定植的小鼠的肿瘤体积比真菌缺失的小鼠大, 表明在PC环境下马拉色菌可能驱动MBL信号传导, 促进肿瘤生长^[19]. Alam等^[20]发现, 在PDAC组织中高表达的IL-33能在真菌(主要是交链孢霉属)的驱动下招募并激活辅助型T细胞II和固有淋巴细胞II, 进而分泌促肿瘤细胞因子来加快病情进展. 由此可见, 肠道真菌有望成为PC干预的靶点.

1.2 胰腺癌患者的肠道菌群特征 PC患者的GM与健康人不同. Mendez等^[21]评估了PDAC小鼠和患者的肠道组织及其代谢产物, 其发现, 在PDAC发生发展的早期, GM中致病和产生脂多糖的变形菌门增加, 厚壁菌门减少^[22].

Del Castillo等^[23]发现PC的GM中乳酸杆菌丰度下降, 也有研究显示假长双歧杆菌在PC肠道中富集^[24]. 整体趋势表现为潜在致病菌的丰度增加和有益菌的减少^[25]. 在PDAC进展的不同阶段, 可切除和不可切除的PDAC患者GM及代谢组份也表现出明显差异, 具体为不可切除的患者组肠道另枝菌属、厌氧棒状杆菌、粪杆菌属和微单胞菌的相对丰度降低, 而假诺卡菌、鲁巴胡管道杆菌和人结肠厌氧棍状菌的相对丰度升高^[26]. 有研究显示, 肠道中富集动物双歧杆菌、肺炎克雷伯菌、嗜热链球菌、产气柯林斯菌等的PC患者死亡风险相应增加^[27].

据此推测, GM是一种潜在的无创早期检测、判断预后的工具, 及时分析GM可能成为PC早期诊断、评估预后的依据, 以解决PC缺乏有效筛查工具和特异生物标志物的难题^[28,29].

尽管很多研究证实了GM与PC的相关性, 但是对于GM与PC的孰因孰果尚无确凿证据, 许多PC的危险因素如饮食、肥胖^[30]等都能诱发GM的改变. 这类混杂因素使得研究IM与PC关系时需要精心设计严格的对照试验.

1.3 肠道菌群代谢产物对胰腺癌的影响

除了GM的组成比例、相对丰度改变与PC息息相关, 其代谢产物(microbial metabolism, MM)也被证实与PC高度关联^[26]. MM不仅介导GM与宿主之间的相互作用, 而且能介导不同肠道微生物之间的相关作用. 目前关于MM的研究主要集中为三大类, 分别是短链脂肪酸^[31] (short-chain fatty acids, SCFAs)、胆汁酸和色氨酸.

肠道中最多的SCFAs是乙酸、丙酸、丁酸. 戊酸和丁酸在体外试验中通过代谢和表观遗传重编程增强细胞毒性T淋巴细胞和嵌合抗原受体T细胞的抗肿瘤活性, 并显著增强了同系PDAC小鼠模型中抗原特异性ctl和靶向ror1的CAR T细胞的抗肿瘤活性^[32]. Panebianco等^[33]通过动物实验发现, 丁酸在PDAC细胞系中具有促分化、抗增殖、促凋亡和抗侵袭作用, 发挥组蛋白去乙酰化酶抑制剂的功能, 达到抗炎抗癌、抗胰腺纤维化的作用. 通过肠内营养增加肠道SCFAs丰富度, 能直接影响到肿瘤微环境并改善胰腺炎症反应^[31]. 总体来说, SCFAs对PC的发生发展有抑制作用, SCFAs能否作为新的肿瘤检测标志物或治疗靶点有待进一步探索.

胆汁酸对PC的影响则存在争议. 人胰腺癌PANC-1细胞与不同浓度胆汁酸混合培养, 通过检测PANC-1的活力、迁移和侵袭能力, 研究者发现高胆汁酸环境可以通过ROS诱导和EMT通路显著抑制PANC-1细胞的增殖和迁移, 从而促进癌细胞的凋亡^[34]. 不过有其他研究提出了一种相反的观点胆汁酸可引起胰腺细胞损伤, 促进癌细胞增殖, 并可改变PDAC对化疗的应答, 从而影响患者结局^[35].

色氨酸作为一种免疫调节因子, 能通过引起吲哚胺2,3-双加氧酶1的表达上调以抑制CD11c和树突状细胞的成熟以及T细胞增殖, 甚至上调Kyn的表达来诱导和激活芳香烃受体, 导致程序性细胞死亡蛋白1表达上调, 增强抗肿瘤提呈T细胞疗法的疗效^[36].

Irajizad等^[37]近期开发了一个基于MM组合的PC五年风险预测模型, 检测血液中MM的增加是否与PC风险相关, 发现MM组合能与CA19-9互补, MM联合CA19-9评分位于前2.5百分位数的个体的5年绝对风险估计值为>13%, 提示MM能为识别PC高危人群提供了一个潜在的工具, 从而有利于研究相应的预防策略.

1.4 胰腺肿瘤内微生物群

在胰腺肿瘤组织中, Pushalkar等^[38]发现变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门的含量较高. 根据临床前模型, 在胰腺肿瘤组织中检测到的微生物丰度比健康胰腺组织高1000倍^[38]. 胰腺肿瘤组织中发现的细菌序列大部分属于厚壁菌门和变形菌门, 与健康GM的组成相似^[39].

已有研究表明, GM在肿瘤形成过程中触发了许多先天性和适应性免疫反应, 这是当前的研究热点也是关键环节. 而先天免疫系统又能通过识别鞭毛蛋白、脂多糖(LPS)、肽聚糖、toll样受体(TLR)和Nodlike受体(NLR)来调节微生物^[12]. GM与肿瘤内微生物群通过诱导先天免疫抑制和适应性免疫抑制, 局部调节肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME), 从而影响癌症的发生、发展和治疗^[40]. 最近发表的研究描述了许多恶性肿瘤组织中拥有自己独特的微生物组, 且验证了这些微生物对癌症生长的驱动作用^[41], 也是影响免疫治疗效果的关键之处.

PDAC的肿瘤细胞因其高度异质性, 具有免疫逃避的固有特性, 可通过遗传改变及下游途径与其它细胞发生交互, 在免疫抑制性微环境的塑造中发挥着巨大的作用. 肠道和胰腺微生物群作为构成TME的一员, 更揭示了其肿瘤免疫微环境塑造的复杂性^[42], 微生物或可通过对TME的调控来阻碍或促进肿瘤发展. 因此有一些研究聚焦于通过激活固有淋巴细胞或在TME中产生炎症反应, 进而引入细胞毒性T细胞, 从而使肿瘤具有免疫活性^[42]. 最近, Simnica和Kobold^[43]将携带破伤风毒素编码基因的非致病李斯特菌注射到PDAC小鼠模型中, 当联合使用低剂量吉西他滨时, 李斯特菌可以刺激记忆T细胞产生细胞毒性T细胞, 致使肿瘤体积缩小80%. Hayashi等^[44]发现, PDAC瘤内具核梭菌通过CXCL1-CXCR2轴的自分泌和旁分泌机制, 抑制肿瘤浸润的CD8+T细胞, 从而导致肿瘤进展.

肠道、胰腺微生物群在TME塑造中的驱动机制, 可能是改善PC预后的突破口, 需要更多的研究来阐明其机

制^[45], 并通过临床转化来改善目前PDAC令人失望的治疗效果。

2 肠道微生态对胰腺癌不同治疗方式及预后的影响

PC的治疗方法包括手术、化疗、HIFU治疗、放疗、靶向及免疫治疗等。多学科综合诊治是任何分期PC的治疗基础, 根据患者身体状况、肿瘤部位、侵及范围、临床症状, 有计划、合理地应用现有的诊疗手段, 以确保最大程度根治、控制肿瘤、减少并发症、改善生活治疗^[3]。研究表明^[46,47], GM与这些治疗方式相互作用, 并影响其疗效。

2.1 关于化疗 胆胰恶性肿瘤化疗后, 随着免疫功能紊乱和肠上皮屏障的破坏, GM的类型和组成常会发生变化, 通常表现为益生菌减少和机会病原菌增加。然而, 这些细菌的增减又反向改变着常用化疗药物的敏感性。GM可通过多种方式影响胆胰恶性肿瘤的化疗耐药性, 包括调节肿瘤周围的局部免疫反应和炎症、通过信号通路调节癌症自噬、影响药物代谢、增加药物转运蛋白的表达以及抗凋亡等^[48,49]。

国外一项研究, 纳入了20例PDAC患者, 在新辅助化疗前后两个时间点收集粪便样本, 发现化疗后的放线菌门相对丰度显著降低, 且其中双歧杆菌属的丰度与肿瘤组织破坏程度呈正相关, 提示双歧杆菌可能对新辅助化疗治疗效果起到了增强作用^[50]。对于接受胰腺十二指肠切除术的PC患者, 通过定向补液维持GM的多样性有利于改善术后恢复^[51]。

2.2 关于免疫治疗 前文提及, PDAC因其复杂的TME被认为是“冷”肿瘤。以免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICI)为代表药物的免疫治疗手段在很多实体肿瘤中都显示出明显的疗效, 但对PDAC的治疗令人失望。

调节GM可以改善肿瘤免疫治疗反应, 减少并发症。研究显示, GM来源的代谢产物氧化三甲胺(trimethylamine N-oxide, TMAO)可增强PDAC对ICI的免疫应答。将TMAO注射至PDAC小鼠腹腔及肿瘤组织中, 可抑制与免疫刺激肿瘤相关巨噬细胞(TAM)表型相关的肿瘤生长, 并激活TME中的效应T细胞, 提高ICI治疗的生存率^[52]。

目前较为成熟的菌群调节方法是FMT, 即将供者的菌群以胶囊或粪菌悬液的形式转移到受者体内, 以恢复受者GM的丰富度。对一些ICI应答欠佳的肿瘤进行FMT也许能有改善^[53,54]。FMT的这一作用已在黑色素瘤等肿瘤疾病中得到证实^[55], 而对PC则缺少证据。近期M.D.安德森癌症中心(MD Anderson Cancer Center)为FMT与PC的临床研究(NCT04975217)招募患者, 这项正在进行中

的研究将在PC患者接受FMT治疗后再手术切除胰腺肿瘤, 随后分别评估FMT对患者口腔、胰腺和肠道微生物群的变化, 以及移植后对PC免疫环境或分子结构变化的影响, 这也是目前唯一一项关于FMT与PC的随机对照试验, 我们关注并期待结果^[56]。

3 结论

综上, 很多研究分析对比PC患者与健康人群的口腔、肠道、胰腺微生物特征, 试图找到PC的潜在致病菌群, 从而对这些致病菌早期干预来降低发病风险。PC发病隐匿、早期发现和诊断困难, 需要高灵敏度、高特异度的生物标志物, GM及其代谢组分在这方面表现出巨大的潜力。PC的治疗难点在于其免疫特性, 研究者们已关注到肠道、肿瘤内微生物与PC预后、免疫应答之间的相关性, 未来研究以GM及其代谢产物为靶点的干预疗法将有助于改善PC的生存预测以及个体化诊疗方案的制定。

4 参考文献

- Heintz-Buschart A, Wilmes P. Human Gut Microbiome: Function Matters. *Trends Microbiol* 2018; 26: 563-574 [PMID: 29173869 DOI: 10.1016/j.tim.2017.11.002]
- Zhao J, Yang Y, Xu H, Zheng J, Shen C, Chen T, Wang T, Wang B, Yi J, Zhao D, Wu E, Qin Q, Xia L, Qiao L. Data-independent acquisition boosts quantitative metaproteomics for deep characterization of gut microbiota. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2023; 9: 4 [PMID: 36693863 DOI: 10.1038/s41522-023-00373-9]
- Kolbeinsson HM, Chandana S, Wright GP, Chung M. Pancreatic Cancer: A Review of Current Treatment and Novel Therapies. *J Invest Surg* 2023; 36: 2129884 [PMID: 36191926 DOI: 10.1080/08941939.2022.2129884]
- McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 4846-4861 [PMID: 30487695 DOI: 10.3748/wjg.v24.i43.4846]
- McAllister F, Khan MAW, Helmink B, Wargo JA. The Tumor Microbiome in Pancreatic Cancer: Bacteria and Beyond. *Cancer Cell* 2019; 36: 577-579 [PMID: 31951558 DOI: 10.1016/j.ccell.2019.11.004]
- Riquelme E, Zhang Y, Zhang L, Montiel M, Zoltan M, Dong W, Quesada P, Sahin I, Chandra V, San Lucas A, Scheet P, Xu H, Hanash SM, Feng L, Burks JK, Do KA, Peterson CB, Nejman D, Tzeng CD, Kim MP, Sears CL, Ajami N, Petrosino J, Wood LD, Maitra A, Straussman R, Katz M, White JR, Jenq R, Wargo J, McAllister F. Tumor Microbiome Diversity and Composition Influence Pancreatic Cancer Outcomes. *Cell* 2019; 178: 795-806.e12 [PMID: 31398337 DOI: 10.1016/j.cell.2019.07.008]
- Tijeras-Raballand A, Hilmi M, Astorgues-Xerri L, Nicolle R, Bièche I, Neuzillet C. Microbiome and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2021; 45: 101589 [PMID: 33607375 DOI: 10.1016/j.clinre.2020.101589]
- Lu Y, Yuan X, Wang M, He Z, Li H, Wang J, Li Q. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies. *J Hematol Oncol* 2022; 15: 47 [PMID: 35488243 DOI: 10.1186/s13045-022-01273-9]
- Fan JQ, Wang MF, Chen HL, Shang D, Das JK, Song J. Current advances and outlooks in immunotherapy for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Cancer* 2020; 19: 32 [PMID: 32061257 DOI: 10.1186/s12943-020-01151-3]

- 10 Ruze R, Song J, Yin X, Chen Y, Xu R, Wang C, Zhao Y. Mechanisms of obesity- and diabetes mellitus-related pancreatic carcinogenesis: a comprehensive and systematic review. *Signal Transduct Target Ther* 2023; 8: 139 [PMID: 36964133 DOI: 10.1038/s41392-023-01376-w]
- 11 Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021; 18: 493-502 [PMID: 34002083 DOI: 10.1038/s41575-021-00457-x]
- 12 Zhao Z, Liu W. Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *Technol Cancer Res Treat* 2020; 19: 1533033820962117 [PMID: 33357065 DOI: 10.1177/1533033820962117]
- 13 Li L, Zhang YL, Liu XY, Meng X, Zhao RQ, Ou LL, Li BZ, Xing T. Periodontitis Exacerbates and Promotes the Progression of Chronic Kidney Disease Through Oral Flora, Cytokines, and Oxidative Stress. *Front Microbiol* 2021; 12: 656372 [PMID: 34211440 DOI: 10.3389/fmicb.2021.656372]
- 14 Reitano E, de'Angelis N, Gavrilidis P, Gaiani F, Memeo R, Inchingolo R, Bianchi G, de'Angelis GL, Carra MC. Oral Bacterial Microbiota in Digestive Cancer Patients: A Systematic Review. *Microorganisms* 2021; 9 [PMID: 34946186 DOI: 10.3390/microorganisms9122585]
- 15 Herremans KM, Riner AN, Cameron ME, McKinley KL, Triplett EW, Hughes SJ, Trevino JG. The oral microbiome, pancreatic cancer and human diversity in the age of precision medicine. *Microbiome* 2022; 10: 93 [PMID: 35701831 DOI: 10.1186/s40168-022-01262-7]
- 16 Lee AA, Wang QL, Kim J, Babic A, Zhang X, Perez K, Ng K, Nowak J, Rifai N, Sesso HD, Buring JE, Anderson GL, Wactawski-Wende J, Wallace R, Manson JE, Giovannucci EL, Stampfer MJ, Kraft P, Fuchs CS, Yuan C, Wolpin BM. Helicobacter pylori Seropositivity, ABO Blood Type, and Pancreatic Cancer Risk From 5 Prospective Cohorts. *Clin Transl Gastroenterol* 2023; 14: e00573 [PMID: 36854058 DOI: 10.14309/ctg.0000000000000573]
- 17 Zhou BG, Mei YZ, Wang JS, Xia JL, Jiang X, Ju SY, Ding YB. Is Helicobacter pylori infection associated with pancreatic cancer? A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Ther Adv Chronic Dis* 2023; 14: 20406223231155119 [PMID: 36890981 DOI: 10.1177/20406223231155119]
- 18 Ost KS, Round JL. Commensal fungi in intestinal health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2023; 20: 723-734 [PMID: 37479823 DOI: 10.1038/s41575-023-00816-w]
- 19 Aykut B, Pushalkar S, Chen R, Li Q, Abengozar R, Kim JL, Shadaloey SA, Wu D, Preiss P, Verma N, Guo Y, Saxena A, Vardhan M, Diskin B, Wang W, Leinwand J, Kurz E, Kochen Rossi JA, Hundeyin M, Zambrinis C, Li X, Saxena D, Miller G. The fungal mycobiome promotes pancreatic oncogenesis via activation of MBL. *Nature* 2019; 574: 264-267 [PMID: 31578522 DOI: 10.1038/s41586-019-1608-2]
- 20 Alam A, Levanduski E, Denz P, Villavicencio HS, Bhatta M, Alhorebi L, Zhang Y, Gomez EC, Morreale B, Senchanthisai S, Li J, Turowski SG, Sexton S, Sait SJ, Singh PK, Wang J, Maitra A, Kalinski P, DePinho RA, Wang H, Liao W, Abrams SI, Segal BH, Dey P. Fungal mycobiome drives IL-33 secretion and type 2 immunity in pancreatic cancer. *Cancer Cell* 2022; 40: 153-167.e11 [PMID: 35120601 DOI: 10.1016/j.ccell.2022.01.003]
- 21 Mendez R, Kesh K, Arora N, Di Martino L, McAllister F, Merchant N, Banerjee S, Banerjee S. Microbial dysbiosis and polyamine metabolism as predictive markers for early detection of pancreatic cancer. *Carcinogenesis* 2020; 41: 561-570 [PMID: 31369062 DOI: 10.1093/carcin/bgz116]
- 22 Han Z, Zhang H, Lu L, Li X, Zhang C, Zhu J, Li C, Wang Q, Chen K. Research Progress in Intestinal Microecology in Pancreatic Cancer Diagnosis and Treatment. *J Oncol* 2022; 2022: 6069403 [PMID: 36510609 DOI: 10.1155/2022/6069403]
- 23 Del Castillo E, Meier R, Chung M, Koestler DC, Chen T, Paster BJ, Charpentier KP, Kelsey KT, Izard J, Michaud DS. The Microbiomes of Pancreatic and Duodenum Tissue Overlap and Are Highly Subject Specific but Differ between Pancreatic Cancer and Noncancer Subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2019; 28: 370-383 [PMID: 30373903 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-18-0542]
- 24 Wei MY, Shi S, Liang C, Meng QC, Hua J, Zhang YY, Liu J, Zhang B, Xu J, Yu XJ. The microbiota and microbiome in pancreatic cancer: more influential than expected. *Mol Cancer* 2019; 18: 97 [PMID: 31109338 DOI: 10.1186/s12943-019-1008-0]
- 25 Chai Y, Huang Z, Shen X, Lin T, Zhang Y, Feng X, Mao Q, Liang Y. Microbiota Regulates Pancreatic Cancer Carcinogenesis through Altered Immune Response. *Microorganisms* 2023; 11 [PMID: 37317214 DOI: 10.3390/microorganisms11051240]
- 26 Guo X, Hu Z, Rong S, Xie G, Nie G, Liu X, Jin G. Integrative analysis of metabolome and gut microbiota in Patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Cancer* 2022; 13: 1555-1564 [PMID: 35371330 DOI: 10.7150/jca.52943]
- 27 Matsukawa H, Iida N, Kitamura K, Terashima T, Seishima J, Makino I, Kannon T, Hosomichi K, Yamashita T, Sakai Y, Honda M, Yamashita T, Mizukoshi E, Kaneko S. Dysbiotic gut microbiota in pancreatic cancer patients form correlation networks with the oral microbiota and prognostic factors. *Am J Cancer Res* 2021; 11: 3163-3175 [PMID: 34249452]
- 28 Chen Z, Zhang S, Dong S, Xu H, Zhou W. Association of the Microbiota and Pancreatic Cancer: Opportunities and Limitations. *Front Immunol* 2022; 13: 844401 [PMID: 35309293 DOI: 10.3389/fimmu.2022.844401]
- 29 Nagata N, Nishijima S, Kojima Y, Hisada Y, Imbe K, Miyoshi-Akiyama T, Suda W, Kimura M, Aoki R, Sekine K, Ohsugi M, Miki K, Osawa T, Ueki K, Oka S, Mizokami M, Kartal E, Schmidt TSB, Molina-Montes E, Estudillo L, Malats N, Trebicka J, Kersting S, Langheinrich M, Bork P, Uemura N, Itoi T, Kawai T. Metagenomic Identification of Microbial Signatures Predicting Pancreatic Cancer From a Multinational Study. *Gastroenterology* 2022; 163: 222-238 [PMID: 35398347 DOI: 10.1053/j.gastro.2022.03.054]
- 30 Almanza-Aguilera E, Cano A, Gil-Lespinard M, Burguera N, Zamora-Ros R, Agudo A, Farrás M. Mediterranean diet and olive oil, microbiota, and obesity-related cancers. From mechanisms to prevention. *Semin Cancer Biol* 2023; 95: 103-119 [PMID: 37543179 DOI: 10.1016/j.semcancer.2023.08.001]
- 31 Temel HY, Kaymak Ö, Kaplan S, Bahcivanci B, Gkoutos GV, Acharjee A. Role of microbiota and microbiota-derived short-chain fatty acids in PDAC. *Cancer Med* 2023; 12: 5661-5675 [PMID: 36205023 DOI: 10.1002/cam4.5323]
- 32 Luu M, Riestler Z, Baldrich A, Reichardt N, Yuille S, Busetti A, Klein M, Wempe A, Leister H, Raifer H, Picard F, Muhammad K, Ohl K, Romero R, Fischer F, Bauer CA, Huber M, Gress TM, Lauth M, Danhof S, Bopp T, Nerretter T, Mulder IE, Steinhoff U, Hudecek M, Visekruna A. Microbial short-chain fatty acids modulate CD8(+) T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer. *Nat Commun* 2021; 12: 4077 [PMID: 34210970 DOI: 10.1038/s41467-021-24331-1]
- 33 Panebianco C, Villani A, Pisati F, Orsenigo F, Ulaszewska M, Latiano TP, Potenza A, Andolfo A, Terracciano F, Tripodo C, Perri F, Paziienza V. Butyrate, a postbiotic of intestinal bacteria, affects pancreatic cancer and gemcitabine response in vitro and in vivo models. *Biomed Pharmacother* 2022; 151: 113163 [PMID: 35617803 DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113163]
- 34 Zhu S, Yang K, Yang S, Zhang L, Xiong M, Zhang J, Chen B. A high bile acid environment promotes apoptosis and inhibits migration in pancreatic cancer. *Bioengineered* 2022; 13: 6719-6728 [PMID: 35245979 DOI: 10.1080/21655979.2022.2045823]
- 35 Malhotra P, Palanisamy R, Caparros-Martin JA, Falasca M. Bile

- Acids and Microbiota Interplay in Pancreatic Cancer. *Cancers (Basel)* 2023; 15 [PMID: 37509236 DOI: 10.3390/cancers15143573]
- 36 Hezaveh K, Shinde RS, Klötgen A, Halaby MJ, Lamorte S, Ciudad MT, Quevedo R, Neufeld L, Liu ZQ, Jin R, Grünwald BT, Foerster EG, Chaharlangi D, Guo M, Makhijani P, Zhang X, Pugh TJ, Pinto DM, Co IL, McGuigan AP, Jang GH, Khokha R, Ohashi PS, O'Kane GM, Gallinger S, Navarre WW, Maughan H, Philpott DJ, Brooks DG, McGaha TL. Tryptophan-derived microbial metabolites activate the aryl hydrocarbon receptor in tumor-associated macrophages to suppress anti-tumor immunity. *Immunity* 2022; 55: 324-340.e8 [PMID: 35139353 DOI: 10.1016/j.immuni.2022.01.006]
 - 37 Irajizad E, Kenney A, Tang T, Vykoukal J, Wu R, Murage E, Dennison JB, Sans M, Long JP, Loftus M, Chabot JA, Kluger MD, Kastrinos F, Brais L, Babic A, Jajoo K, Lee LS, Clancy TE, Ng K, Bullock A, Genkinger JM, Maitra A, Do KA, Yu B, Wolpin BM, Hanash S, Fahrman JF. A blood-based metabolomic signature predictive of risk for pancreatic cancer. *Cell Rep Med* 2023; 4: 101194 [PMID: 37729870 DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101194]
 - 38 Correction: The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. *Cancer Discov* 2020; 10: 1988 [PMID: 33262184 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-1573]
 - 39 Nejman D, Livyatan I, Fuks G, Gavert N, Zwang Y, Geller LT, Rotter-Maskowitz A, Weiser R, Mallel G, Gigi E, Meltzer A, Douglas GM, Kamer I, Gopalakrishnan V, Dadosh T, Levin-Zaidman S, Avnet S, Atlan T, Cooper ZA, Arora R, Cogdill AP, Khan MAW, Ologun G, Bussi Y, Weinberger A, Lotan-Pompan M, Golani O, Perry G, Rokah M, Bahar-Shany K, Rozeman EA, Blank CU, Ronai A, Shaoul R, Amit A, Dorfman T, Kremer R, Cohen ZR, Harnof S, Siegal T, Yehuda-Shnaidman E, Gal-Yam EN, Shapira H, Baldini N, Langille MGI, Ben-Nun A, Kaufman B, Nissan A, Golan T, Dadiani M, Levanon K, Bar J, Yust-Katz S, Barshack I, Peeper DS, Raz DJ, Segal E, Wargo JA, Sandbank J, Shental N, Straussman R. The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria. *Science* 2020; 368: 973-980 [PMID: 32467386 DOI: 10.1126/science.aay9189]
 - 40 Yang X, Guo Y, Chen C, Shao B, Zhao L, Zhou Q, Liu J, Wang G, Yuan W, Sun Z. Interaction between intestinal microbiota and tumour immunity in the tumour microenvironment. *Immunology* 2021; 164: 476-493 [PMID: 34322877 DOI: 10.1111/imm.13397]
 - 41 Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov* 2022; 12: 31-46 [PMID: 35022204 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059]
 - 42 Liu X, Tang R, Xu J, Tan Z, Liang C, Meng Q, Lei Y, Hua J, Zhang Y, Liu J, Zhang B, Wang W, Yu X, Shi S. CRIP1 fosters MDSC trafficking and resets tumour microenvironment via facilitating NF- κ B/p65 nuclear translocation in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gut* 2023; 72: 2329-2343 [PMID: 37541772 DOI: 10.1136/gutjnl-2022-329349]
 - 43 Simnica D, Kobold S. Neoantigen T-Cell Receptor Gene Therapy in Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 2022; 387: 573 [PMID: 35947720 DOI: 10.1056/NEJMc2208623]
 - 44 Hayashi M, Ikenaga N, Nakata K, Luo H, Zhong P, Date S, Oyama K, Higashijima N, Kubo A, Iwamoto C, Torata N, Abe T, Yamada Y, Ohuchida K, Oda Y, Nakamura M. Intratumor *Fusobacterium nucleatum* promotes the progression of pancreatic cancer via the CXCL1-CXCR2 axis. *Cancer Sci* 2023; 114: 3666-3678 [PMID: 37438965 DOI: 10.1111/cas.15901]
 - 45 Halbrook CJ, Lyssiotis CA, Pasca di Magliano M, Maitra A. Pancreatic cancer: Advances and challenges. *Cell* 2023; 186: 1729-1754 [PMID: 37059070 DOI: 10.1016/j.cell.2023.02.014]
 - 46 Bangolo AI, Trivedi C, Jani I, Pender S, Khalid H, Alqinai B, Intisar A, Randhawa K, Moore J, De Deugd N, Faisal S, Suresh SB, Gopani P, Nagesh VK, Proverbs-Singh T, Weissman S. Impact of gut microbiome in the development and treatment of pancreatic cancer: Newer insights. *World J Gastroenterol* 2023; 29: 3984-3998 [PMID: 37476590 DOI: 10.3748/wjg.v29.i25.3984]
 - 47 Pandya G, Kirtonia A, Singh A, Goel A, Mohan CD, Rangappa KS, Pandey AK, Kapoor S, Tandon S, Sethi G, Garg M. A comprehensive review of the multifaceted role of the microbiota in human pancreatic carcinoma. *Semin Cancer Biol* 2022; 86: 682-692 [PMID: 34051351 DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.05.027]
 - 48 Bai L, Yan X, Lv J, Qi P, Song X, Zhang L. Intestinal Flora in Chemotherapy Resistance of Biliary Pancreatic Cancer. *Biology (Basel)* 2023; 12 [PMID: 37627035 DOI: 10.3390/biology12081151]
 - 49 Tintelnot J, Xu Y, Lesker TR, Schönlein M, Konczalla L, Giannou AD, Pelczar P, Kyllies D, Puelles VG, Bielecka AA, Peschka M, Cortesi F, Riecken K, Jung M, Amend L, Bröring TS, Trajkovic-Arsic M, Siveke JT, Renné T, Zhang D, Boeck S, Strowig T, Uzunoglu FG, Güngör C, Stein A, Izbicki JR, Bokemeyer C, Sinn M, Kimmelman AC, Huber S, Gagliani N. Microbiota-derived 3-IAA influences chemotherapy efficacy in pancreatic cancer. *Nature* 2023; 615: 168-174 [PMID: 36813961 DOI: 10.1038/s41586-023-05728-y]
 - 50 Takaori A, Hashimoto D, Ikeura T, Ito T, Nakamaru K, Masuda M, Nakayama S, Yamaki S, Yamamoto T, Fujimoto K, Matsuo Y, Akagawa S, Ishida M, Yamaguchi K, Imoto S, Hirota K, Uematsu S, Sato S, Sekimoto M, Naganuma M. Impact of neoadjuvant therapy on gut microbiome in patients with resectable/borderline resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreatology* 2023; 23: 367-376 [PMID: 37088586 DOI: 10.1016/j.pan.2023.04.001]
 - 51 Lu X, Wang Y, Luo Y, Yu B. Influence of different regimens of volumetric therapy on perioperative intestinal flora in the surgical patients with pancreas tumor, a randomized controlled trial study. *BMC Anesthesiol* 2022; 22: 162 [PMID: 35614395 DOI: 10.1186/s12871-022-01693-7]
 - 52 Mirji G, Worth A, Bhat SA, El Sayed M, Kannan T, Goldman AR, Tang HY, Liu Q, Auslander N, Dang CV, Abdel-Mohsen M, Kossenkova A, Stanger BZ, Shinde RS. The microbiome-derived metabolite TMAO drives immune activation and boosts responses to immune checkpoint blockade in pancreatic cancer. *Sci Immunol* 2022; 7: eabn0704 [PMID: 36083892 DOI: 10.1126/sciimmunol.abn0704]
 - 53 Zhang J, Wu K, Shi C, Li G. Cancer Immunotherapy: Fecal Microbiota Transplantation Brings Light. *Curr Treat Options Oncol* 2022; 23: 1777-1792 [PMID: 36279081 DOI: 10.1007/s11864-022-01027-2]
 - 54 Xu H, Cao C, Ren Y, Weng S, Liu L, Guo C, Wang L, Han X, Ren J, Liu Z. Antitumor effects of fecal microbiota transplantation: Implications for microbiome modulation in cancer treatment. *Front Immunol* 2022; 13: 949490 [PMID: 36177041 DOI: 10.3389/fimmu.2022.949490]
 - 55 Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzale G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L, Adler K, Dick-Necula D, Raskin S, Bloch N, Rotin D, Anafi L, Avivi C, Melnichenko J, Steinberg-Silman Y, Mamtani R, Harati H, Asher N, Shapira-Frommer R, Brosh-Nissimov T, Eshet Y, Ben-Simon S, Ziv O, Khan MAW, Amit M, Ajami NJ, Barshack I, Schachter J, Wargo JA, Koren O, Markel G, Boursi B. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science* 2021; 371: 602-609 [PMID: 33303685 DOI: 10.1126/science.abb5920]
 - 56 Attebury H, Daley D. The Gut Microbiome and Pancreatic Cancer Development and Treatment. *Cancer J* 2023; 29: 49-56 [PMID: 36957973 DOI: 10.1097/PP0.0000000000000647]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



MSS型mCRC的免疫治疗策略及中医药研究探索

江雨静, 郭乃婷, 夏雪萍, 季漪, 霍介格

江雨静, 郭乃婷, 夏雪萍, 南京中医药大学第三临床医学院 江苏省南京市 210028

季漪, 霍介格, 南京中医药大学附属中西医结合医院 江苏省南京市 210028

江雨静, 硕士研究生, 研究方向为中医内科学肿瘤临床。

基金项目: 国家自然科学基金, No. 82004288; 国家中医药管理局第七批全国老中医药专家学术经验继承工作, 国中医药人教[2022]76号; 江苏省卫健委医学科研重点项目, No. ZD2022020; 江苏省中医消化肿瘤临床医学创新中心, 苏中医科教[2021]6号。

作者贡献分布: 本综述由江雨静撰写; 霍介格指导; 文献收集由江雨静、郭乃婷、夏雪萍及季漪共同完成; 霍介格审核。

通讯作者: 霍介格, 医学博士, 主任中医师, 210028, 江苏省南京市栖霞区迈皋桥红山路十字街100号, 南京中医药大学附属中西医结合医院。huojiege@jsatcm.com

收稿日期: 2023-10-30

修回日期: 2023-11-24

接受日期: 2023-12-20

在线出版日期: 2023-12-28

Immunotherapy strategies and traditional Chinese medicine treatment for microsatellite stable metastatic colorectal cancer

Yu-Jing Jiang, Nai-Ting Guo, Xue-Ping Xia, Yi Ji, Jie-Ge Huo

Yu-Jing Jiang, Nai-Ting Guo, Xue-Ping Xia, The Third Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, Jiangsu Province, China

Yi Ji, Jie-Ge Huo, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 82004288; State Administration of Traditional Chinese Medicine Seventh Batch of National Traditional Chinese Medicine Experts Academic Experience Inheritance Work, Guo Zhong Yi Yao Ren Jiao No. [2022]76; Key Project of Medical Research of Jiangsu Provincial Health Commission, No. ZD2022020; Jiangsu TCM Digestive Tumor

Clinical Medicine Innovation Center, Su Zhong Yi Ke Jiao No. [2021]6.

Corresponding author: Jie-Ge Huo, MD, Chief TCM Physician, Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, No. 100 Hongshan Road Cross Street, Maigaoqiao, Qixia District, Nanjing 210028, Jiangsu Province, China. huojiege@jsatcm.com.

Received: 2023-10-30

Revised: 2023-11-24

Accepted: 2023-12-20

Published online: 2023-12-28

Abstract

The incidence and mortality of colorectal cancer (CRC) have increased year by year. In addition to traditional radiotherapy, chemotherapy, and targeted therapy, immunotherapy also brings hope to more patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). However, these treatments are limited to patients with high microsatellite instability, and about 95% of mCRC patients with microsatellite stability (MSS) can not benefit from them. How to enhance the response of MSS mCRC patients to immunotherapy is the focus of current research. In recent years, it has been found that immunotherapy strategies are expected to improve the clinical efficacy for such patients, and the research reports of TCM combined with immunotherapy are increasing day by day. Therefore, this article aims to review the immunotherapy and traditional Chinese medicine treatment for MSS colorectal cancer.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Microsatellite stable; Immunotherapy; Traditional Chinese medicine

Citation: Jiang YJ, Guo NT, Xia XP, Ji Y, Huo JG. Immunotherapy strategies and traditional Chinese medicine treatment for microsatellite stable metastatic colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2023; 31(24): 1007-1013

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1007.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v31.i24.1007>

摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病率和死亡率逐年上升,除传统的放疗、化疗、靶向治疗模式外,免疫治疗也为更多转移性结直肠癌患者带来希望,但这仅限于对高微卫星不稳定型的患者,对约占95%的微卫星稳定(microsatellite stable, MSS)型的转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者尚不能从中获益,如何增强MSS型mCRC患者对免疫治疗的应答是当前研究的热点.近年来研究发现免疫治疗的联合策略有望改善此类患者的临床疗效,中医药联合免疫治疗的研究报道日趋增多.因此,本文旨在对MSS型结直肠癌的免疫治疗和中医药研究进行综述.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; 微卫星稳定; 免疫治疗; 中医药

核心提要: 微卫星稳定(microsatellite stable, MSS)型转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)对单一免疫检查点抑制剂基本无效,通过联合免疫治疗或探索新的疗效预测标志物有可能提高MSS型mCRC的临床疗效.本文旨在对MSS型结直肠癌的免疫治疗和中医药研究进行综述.

文献来源: 江雨静, 郭乃婷, 夏雪萍, 季漪, 霍介格. MSS型mCRC的免疫治疗策略及中医药研究探索. 世界华人消化杂志 2023; 31(24): 1007-1013

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1007.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.1007>

0 引言

全球结直肠癌发病呈上升趋势.2020年约4.20%的癌症相关死亡是由结直肠癌引起的^[1].目前,我国CRC的防控形势也不容乐观,发病人数和死亡人数均呈增长趋势^[2],且发病率和死亡率高于全球平均水平^[3].

尽管手术、化疗、放疗和分子靶向治疗等常规治疗发展迅速,但mCRC总体疗效并不乐观,平均中位生存时间仅30 mo左右^[4].近年来,以免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)为主的肿瘤免疫治疗给mCRC带来新希望.遗憾的是,占绝大多数(约95%)的DNA错配修复正常/微卫星稳定(pMMR/MSS)型CRC患者并不能从中获益^[5],故被称为“冷肿瘤”.因此,如何提高MSS型mCRC中免疫应答,从而改善其临床预后已经成为临床的难点、热点问题.

1 免疫治疗

免疫治疗是通过肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)在肿瘤微环境(tumor microenvironment,

TME)中起免疫调节作用,从而影响肿瘤进展,与肿瘤细胞的免疫逃逸密切相关.其目标是启动宿主免疫系统,以提供针对恶性肿瘤的被动或主动免疫.免疫疗法旨在增强自身免疫系统以清除恶性细胞,对多种癌症类型免疫治疗显示出持续的临床反应^[6-8].特别是近年来,包括程序性死亡受体1(programmed death receptor1, PD-1)/细胞程序性死亡-配体1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)抑制剂的ICI联合治疗在临床研究中初步展现了较好的疗效和安全性^[9-11],开启了肿瘤治疗的新时代.但对于pMMR/MSS型CRC鲜有疗效.

MSS型CRC对PD-1/PD-L1抑制剂低响应,除了因肿瘤抗原呈递不足而难以被免疫系统识别外,还与TME中的T细胞、骨髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)、巨噬细胞等密切相关^[12],越来越多的研究发现多种治疗方法联合能够提高PD-1抑制剂在MSS型CRC中的响应率.

2 MSS型mCRC的免疫联合治疗策略

2.1 免疫治疗联合分子靶向治疗 免疫联合靶向治疗是指将免疫治疗与分子靶向治疗结合起来,通过协同作用来增强抗肿瘤效应.其原理是通过靶向治疗抑制肿瘤生长和转移,同时通过免疫治疗激活机体免疫系统,增强对肿瘤的免疫应答.总结如表1.

2.1.1 联合抗EGFR药物: 抗表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)药物是RAS野生型mCRC患者一线治疗的标准方案,通过抑制EGFR介导的肿瘤细胞生长,并诱导免疫原性细胞死亡达到抗肿瘤效果.有临床前研究显示抗EGFR治疗能引起肿瘤特异性免疫反应和免疫原性细胞凋亡,免疫治疗联合抗EGFR治疗可能增强抗肿瘤效应^[13].西妥昔单抗具有最高的刺激抗体依赖性细胞介导的细胞毒性的能力.2021年公布的一项多中心、单臂的II期临床试验讨论了阿维单抗+西妥昔单抗治疗RAS野生型mCRC患者的治疗效果,在纳入的71例MSS型mCRC患者中,中位总生存期(median overall survival, mOS)为11.6 mo,中位无进展生存期(median progression-free survival, mPFS)为3.6 mo^[14].另外,联合西妥昔单抗及化疗一线治疗MSS RAS/BRAF野生型 mCRC的临床试验结果显示ORR为50%,中位无进展生存期为7.2 mo^[15].以上研究显示了免疫治疗联合抗EGFR药物的良好临床应用前景.

2.1.2 联合抗VEGF药物: 抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物主要是以VEGF为作用靶点,通过抑制其表达而达到抑制肿瘤细胞生长和转移的作用.2021年进行的一项临床试验对化疗和贝伐珠单抗联合或不联合atezolizumab治疗

表 1 免疫治疗联合分子靶向治疗

研究类型	入组患者	治疗方案	总缓解率	中位无进展生存期
免疫治疗+抗EGFR药物	RAS WT MSS型mCRC	阿维+西妥昔	8.50%	3.6 m
	RAS WT型mCRC	阿维+西妥昔	50%	7.2 m
免疫治疗+抗VEGF药物	MSS型mCRC	阿替利珠+贝伐珠	59%	13.1 m
免疫治疗+TKI	MSS型mCRC	纳武利尤+瑞戈非尼	33.30%	6.3 m
	MSS型mCRC	阿维+瑞戈非尼	/	3.6 m

EGFR: 抗表皮生长因子受体; VEGF: 抗血管内皮生长因子; TKI: 酪氨酸激酶抑制剂.

mCRC的疗效进行了比较和评估, 结果显示在199例MSS型mCRC患者中, 联合治疗组的无进展生存期(progression-free survival, PFS)大于未联合治疗组^[16], 表明免疫治疗联合抗VEGF药物能增强免疫治疗的抗肿瘤效果.

2.1.3 联合酪氨酸激酶抑制剂: 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)通过阻断酪氨酸激酶的活性, 抑制细胞增殖, 发挥抗肿瘤效应^[17]. 特别是多靶点的TKI, 如瑞戈非尼、呋喹替尼等, 靶点更加广泛. 研究发现瑞戈非尼除具有抗血管生成效应, 还能够进一步抑制CSF-1通路, 通过阻断CSF-1通路影响肿瘤微环境中的M2型巨噬细胞^[18], 增强了肿瘤免疫相关的吞噬作用, 从而进一步提高抗肿瘤的免疫活性, 逆转免疫治疗的耐药, 这为联合免疫的治疗带来可能. REGONIVO研究纳入了25例均接受过治疗两种化疗方案的结直肠癌患者, 予以瑞戈非尼联合纳武利尤单抗治疗, 研究结果显示, 瑞戈非尼80 mg加纳武利尤单抗的联合治疗方案具有可控的安全性和较好的抗肿瘤活性. 在排除1例MSI-H的CRC患者后, MSS型CRC患者的ORR为33.3%, PFS约为6.3 mo^[19]. REGOMUNE试验评估了瑞戈非尼联合PD-L1抑制剂avelumab治疗48例MSS型mCRC患者的疗效和安全性. 研究结果显示, 该联合治疗方案在微卫星稳定结直肠癌患者中表现出了一定的疗效, 中位无进展生存期为3.6 mo, 中位总生存期为10.8 mo. 研究表明, 与瑞戈非尼单药治疗相比, 该联合治疗方案的疗效更好^[20].

2.2 联合化疗 目前结直肠癌的化疗药物以氟尿嘧啶类的氟尿嘧啶、卡培他滨, 铂类的奥沙利铂和喜树碱类的伊立替康三类药为主. 研究表明^[21], 这些药物能通过影响肿瘤细胞的核酸和蛋白质结构与功能, 直接抑制肿瘤细胞增殖或诱导细胞凋亡. KEYNOTE-651研究对帕博利珠单抗同步联合标准用法的一线mFOLFOX7或二线FOLFIRI方案治疗mCRC的疗效和预后进行了长期随访, 结果显示帕博利珠单抗联合mFOLFOX7方案的ORR为58.1%, 帕博利珠单抗联合FOLFIRI方案的ORR为15.6%, 值得进一步研究.

2.3 联合放疗 放射治疗通过多种机制增加其免疫协同的作用. 一方面, 放疗引发细胞损伤以激活细胞保护机制, 通过损伤细胞内DNA和其他细胞成分以触发一系列细胞保护反应; 另一方面, 放疗可以激活临床可行的信号通路, 并通过靶向抗癌治疗来提高临床疗效^[22]. VOLTAGE研究是第一个随机接受新辅助放疗(卡培他滨+50.4 Gy)和纳武利尤单抗免疫治疗局部晚期CRC的患者的研究. 结果显示, 37例MSS型结直肠癌患者中有11例达到病理完全缓解(pathologic complete response, PCR)^[23]. AVANA研究是一项关于局部晚期直肠癌术前放疗联合avelumab的多中心II期研究, 显示22例(23%)患者实现了PCR且59例(61.5%)患者达到了主要病理反应. 观察到主要的病理反应. 新辅助放疗(neoadjuvant chemoradiotherapy, NCRT)和avelumab的联合使用进一步增加了PD-L1在肿瘤细胞中的表达, 因此, NCRT和免疫检查点抑制剂的联合使用非常有价值^[24].

2.4 联合双特异性抗体 双特异性抗体(bispecific antibody, BsAb)是指能同时特异性结合两个抗原或抗原表位的人工抗体, 通常通过细胞融合或重组DNA技术制备而成. 双特异性抗体能增强对肿瘤细胞的杀伤力, 影响肿瘤细胞的生长增殖及存活, 或增强与肿瘤细胞的特异性结合并直接杀伤肿瘤细胞.

LY6G6D是位于6号染色体主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)III类区域的白细胞抗原簇, 由于其在MSS中的高表达及其在正常组织和其他肿瘤类型中的低表达, 被鉴定为肿瘤选择性表达的CRC抗原^[25-27]. 优化的LY6G6D-TDB靶向LY6G6D的膜近端表位, 并以高亲和力与CD3结合, 在体外和体内均表现出强大的抗肿瘤活性. 在小鼠异种移植肿瘤模型中, LY6G6D-TDB作为单一药物对已建立的结直肠癌表现出抗肿瘤功效, 当LY6G6D-TDB与PD-1阻断剂联合使用时, 可以实现增强的疗效^[28].

3 MSS型mCRC的免疫治疗预测性标志物

由于各个临床试验的样本量较小, 目前对于MSS型结直肠癌免疫治疗相关的预测潜在生物标志物或临床病理

特征尚未形成共识, 但学者们仍认为精准人群的筛选更有利于肿瘤治疗。

3.1 POLE/POLD1基因突变 结直肠癌发生POLE/POLD1的突变概率约为7.37%, 且多见于MSS型结直肠癌。研究表明, 携带POLE/POLD1基因突变的患者, 其肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)显著高于未携带者。徐瑞华团队研究发现, POLE/POLD1基因突变是非常有潜力的免疫治疗独立标志物, 且不限癌种, 对于癌种中检测为MSS的患者群体将会有很大的应用意义^[29]。

3.2 TMB状态 TMB即肿瘤突变负荷, 是指肿瘤基因组中去除胚系突变后的体细胞突变数量。有专家认为高TMB联合免疫治疗具有更好的抗肿瘤效果, 2021年的一项回顾性随访了157名高TMB患者, 结果显示单独接受化疗和单独接受免疫治疗的患者, 其PFS分别为6.75 mo和24.2 mo, 表明TMB或可作为疗效预测标志物而使用^[30]。但也有研究结果显示对于MSS型mCRC患者来说, TMB对OS的影响不如其他标志物(如BRAF)强, 其与直接治疗的相关性仍有待确定^[31,32]。

3.3 肿瘤转移部位 肿瘤转移是导致患者死亡的主要原因, 肝脏则是最常发生转移的器官之一^[33]。新近研究发现, 肝脏微环境中肿瘤相关的巨噬细胞诱导癌细胞和肝细胞分泌FGL1升高, 从而通过抑制T细胞的浸润以实现CRC转移^[34]。因此肝转移或许可以作为独立因素预测免疫治疗的响应情况。有研究表明^[35,36], 相较于具有其他器官转移的癌症患者, 具有肝转移的患者对于免疫治疗的应答率更低、患者生存期更短, 其机制可能与肝脏免疫微环境中巨噬细胞亚群诱导CD8T细胞凋亡或树突状细胞(dendritic cell, DC)有关。

3.4 肿瘤浸润性淋巴细胞 肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)是免疫治疗过程中最重要的效应细胞类型。在上世纪, 就有学者提出TILs可作为判断结直肠癌预后的一个独立因素, 且优于Dukes分期。近年来, 多个团队运用现代技术如免疫组化、HE染色等对TILs进行研究, 均显示其中期结直肠癌中的预后预测价值甚至高于TNM分期及MSI状态, 有实验表明CD8和CD45RO的高表达与II期CRC的更佳疾病结局和更好的长期癌症特异性生存相关^[37,38]。

3.5 循环肿瘤DNA 循环肿瘤DNA(ctDNA)是一种由肿瘤细胞释放到血液中从而随血液全身循环的DNA, 能携带来源于肿瘤细胞相关的遗传学特征。2022-06-04, 《新英格兰杂志》发表了一项关于结直肠癌的随机对照试验, 研究结果表明, ctRNA指导下的辅助化疗策略可以在不影响患者总体无复发生存期的前提下, 降低接近50%(从28%降低至15%)的术后辅助化疗率, 避免了相当一部分患者的无效化疗^[39]。新近研究显示, 在49例结肠癌术后

患者中, 免疫评分高的患者, 其ctDNA阳性率普遍较低, 表明他们最有资格接受无化疗治疗^[40]。

4 中医药协同免疫治疗的探索

4.1 中医药调节免疫代谢重编程 代谢重编程被认为是恶性肿瘤的标志性特征。在各种压力刺激之下, 代谢产物的环境随着代谢途径一起改变的现象, 被称为代谢重编程。肿瘤细胞为满足其快速增殖的生物能量和生物合成需求, 并适应肿瘤微环境, 能量代谢模式会相应进行重编程, 主要体现在葡萄糖、脂质、氨基酸代谢的异常。由于乳酸脱氢酶^[41]、线粒体TNF受体关联蛋白^[42]、转录调控因子^[43]等的参与, 结直肠癌的肿瘤细胞和免疫细胞也发生了代谢途径的重编程。王建华^[44]通过复方肠泰制剂诱导结直肠癌细胞发生自噬, 从而促进肿瘤相关的巨噬细胞向M1极化以发挥抗肿瘤效果; 结果显示, 与对照组相比, 复方肠泰治疗组的小鼠质量与小鼠体积均受到明显抑制。刘宗瑜等^[45]将养正消积胶囊用于治疗结直肠癌, 结果显示结直肠癌中的NK细胞数量得到了显著提高, 明显改善了结直肠癌患者的生活质量。多种研究表明, 中医药可以通过调控免疫代谢重编程, 改善免疫状态, 从而进一步增强抗肿瘤效果。

4.2 中医药调节肠道菌群 肠道菌群可通过多种方式使结直肠癌发生改变, 如失调菌群激活“炎-癌”转化信号通路^[46]、刺激炎症因子的产生以抑制免疫微环境^[47]、通过细菌来源的基因毒素影响细胞DNA^[48]等。王楠等^[49]研究发现, 葛根芩连汤(GQD)能下调结肠癌模型大鼠肠道大肠埃希菌、肠球菌数量, 上调乳酸杆菌及双歧杆菌数量, 且同时Wnt/ β -catenin通路蛋白表达降低, 提示GQD调控Wnt/ β -catenin通路可减轻肠道炎症反应。王布江等^[50]的研究也同样验证了这一观点, 他们通过实验发现GQD能减轻大鼠结直肠癌所致的病理损伤, 调节血清脂肪酶、白细胞介素-6、细胞介素-10及肿瘤坏死因子- α 炎症指标, 明显降低结肠内容物中肠球菌和大肠埃希菌含量, 提高双歧杆菌和乳酸杆菌含量。Cai等^[51]研究者通过实验发现参芪益肠颗粒可纠正CRC荷瘤小鼠肠道菌群的紊乱状态, 并初步探索出其抗肿瘤作用可能与调控PI3K/Akt/mTOR信号通路相关。多种研究结果显示, 中医药可以通过调节肠道菌群起到抗肿瘤效果, 干预结直肠癌的发生发展。

4.3 中医药联合免疫检查点抑制剂 目前, 中医药联合免疫检查点抑制剂治疗结肠癌的研究相对较少, 但我们仍可以从一些肿瘤相关的研究中探寻到未来MSS型mCRC的治疗之路。王冰冰等^[52]纳入初次使用免疫检查点抑制剂治疗的中晚期恶性肿瘤患者60名, 根据是否使用中药分成中药组和对照组, 其中中药组44人, 对照组16人。通

过受试者曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)对联合中药变量进行分析, 结果显示联合中药的曲线下面积(area under curve, AUC)为0.699, 表明中医药对于免疫检查点抑制剂使用的疗效有预测价值。2021年进行的一项研究发现大黄附子败酱汤(DFB)能抑制CCL2并保留祖细胞末端耗竭的T细胞, 通过调节适应性免疫来防止肿瘤进展^[53]。新近研究表明^[54], 通关藤提取物(MTE)抑制结CRC细胞系HCT116和LoVo中TGF- β 1和PD-L1的表达, 从而抑制癌细胞的免疫逃逸。另外, 在MC38小鼠结肠癌中发现丹参水浸泡(SMAE)通过调节Cox1/PGE2级联反应与抗PD-L2协同治疗并减弱了TAM对肿瘤的浸润, 直接证明中医药联合免疫治疗能起到更佳的抗肿瘤效果^[55]。

5 结论

MSS型mCRC作为一种对免疫检查点抑制剂不敏感的“冷肿瘤”, 其免疫治疗之路近年来已有所进展, 虽进程较缓慢, 但多项临床试验正在积极探索中。目前, 相关数据的正确和准确仍需反复验证, 进行对应的早期试验, 以夯实免疫联合治疗策略的有效性。与此同时, 加强对生物分子标志物的探索和中医药的临床和基础研究, 进一步加强转化性研究。MSS型结直肠癌免疫联合治疗之路值得期待。

6 参考文献

- 1 Yu Z, Bai X, Zhou R, Ruan G, Guo M, Han W, Jiang S, Yang H. Differences in the incidence and mortality of digestive cancer between Global Cancer Observatory 2020 and Global Burden of Disease 2019. *Int J Cancer* 2023 [PMID: 37750191 DOI: 10.1002/ijc.34740]
- 2 刘宗超, 李哲轩, 张阳. 2020全球癌症统计报告解读. 肿瘤综合治疗电子杂志 2021; 7: 1-14 [DOI: 10.12151/JMCM.2021.02-01]
- 3 周雄, 胡明, 李子帅. 2020年全球及中国结直肠癌流行状况分析. 海军军医大学学报 2022; 43: 1356-1364 [DOI: 10.16781/j.cn31-2187/R.20220593]
- 4 Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* 2020; 70: 145-164 [PMID: 32133645 DOI: 10.3322/caac.21601]
- 5 Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, Lu S, Kemberling H, Wilt C, Luber BS, Wong F, Azad NS, Rucki AA, Laheru D, Donehower R, Zaheer A, Fisher GA, Crocenzi TS, Lee JJ, Greten TF, Duffy AG, Ciombor KK, Eyring AD, Lam BH, Joe A, Kang SP, Holdhoff M, Danilova L, Cope L, Meyer C, Zhou S, Goldberg RM, Armstrong DK, Bever KM, Fader AN, Taube J, Housseau F, Spetzler D, Xiao N, Pardoll DM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Eshleman JR, Vogelstein B, Anders RA, Diaz LA Jr. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 2017; 357: 409-413 [PMID: 28596308 DOI: 10.1126/science.aan6733]
- 6 Tawbi HA, Schadendorf D, Lipson EJ, Ascierto PA, Matamala L, Castillo Gutiérrez E, Rutkowski P, Gogas HJ, Lao CD, De Menezes JJ, Dalle S, Arance A, Grob JJ, Srivastava S, Abaskharoun M, Hamilton M, Keidel S, Simonsen KL, Sobieski AM, Li B, Hodi FS, Long GV; RELATIVITY-047 Investigators. Relatlimab and Nivolumab versus Nivolumab in Untreated Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 2022; 386: 24-34 [PMID: 34986285 DOI: 10.1056/NEJMoa2109970]
- 7 Niu J, Maurice-Dror C, Lee DH, Kim DW, Nagrial A, Voskoboinik M, Chung HC, Mileham K, Vaishampayan U, Rasco D, Golan T, Bauer TM, Jimeno A, Chung V, Chartash E, Lala M, Chen Q, Healy JA, Ahn MJ. First-in-human phase 1 study of the anti-TIGIT antibody vibostolimab as monotherapy or with pembrolizumab for advanced solid tumors, including non-small-cell lung cancer(☆). *Ann Oncol* 2022; 33: 169-180 [PMID: 34800678 DOI: 10.1016/j.annonc.2021.11.002]
- 8 Kaptein P, Jacobberger-Foissac C, Dimitriadis P, Voabil P, de Bruijn M, Brokamp S, Reijers I, Versluis J, Nallan G, Triscott H, McDonald E, Tay J, Long GV, Blank CU, Thommen DS, Teng MWL. Addition of interleukin-2 overcomes resistance to neoadjuvant CTLA4 and PD1 blockade in ex vivo patient tumors. *Sci Transl Med* 2022; 14: eabj9779 [PMID: 35476594 DOI: 10.1126/scitranslmed.abj9779]
- 9 Li Q, Han J, Yang Y, Chen Y. PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors in advanced hepatocellular carcinoma immunotherapy. *Front Immunol* 2022; 13: 1070961 [PMID: 36601120 DOI: 10.3389/fimmu.2022.1070961]
- 10 Yi M, Zheng X, Niu M, Zhu S, Ge H, Wu K. Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions. *Mol Cancer* 2022; 21: 28 [PMID: 35062949 DOI: 10.1186/s12943-021-01489-2]
- 11 Yang Z, Wu G, Zhang X, Gao J, Meng C, Liu Y, Wei Q, Sun L, Wei P, Bai Z, Yao H, Zhang Z. Current progress and future perspectives of neoadjuvant anti-PD-1/PD-L1 therapy for colorectal cancer. *Front Immunol* 2022; 13: 1001444 [PMID: 36159842 DOI: 10.3389/fimmu.2022.1001444]
- 12 Ghiringhelli F, Fumet JD. Is There a Place for Immunotherapy for Metastatic Microsatellite Stable Colorectal Cancer? *Front Immunol* 2019; 10: 1816 [PMID: 31447840 DOI: 10.3389/fimmu.2019.01816]
- 13 Wang L, Wei Y, Fang W, Lu C, Chen J, Cui G, Diao H. Cetuximab Enhanced the Cytotoxic Activity of Immune Cells during Treatment of Colorectal Cancer. *Cell Physiol Biochem* 2017; 44: 1038-1050 [PMID: 29179214 DOI: 10.1159/000485404]
- 14 Martinelli E, Martini G, Famiglietti V, Troiani T, Napolitano S, Pietrantonio F, Ciardiello D, Terminiello M, Borrelli C, Vitiello PP, De Braud F, Morano F, Avallone A, Normanno N, Nappi A, Maiello E, Latiano T, Falcone A, Cremolini C, Rossini D, Santabarbara G, Pinto C, Santini D, Cardone C, Zanaletti N, Di Liello A, Renato D, Esposito L, Marrone F, Ciardiello F. Cetuximab Rechallenge Plus Avelumab in Pretreated Patients With RAS Wild-type Metastatic Colorectal Cancer: The Phase 2 Single-Arm Clinical CAVE Trial. *JAMA Oncol* 2021; 7: 1529-1535 [PMID: 34382998 DOI: 10.1001/jamaoncol.2021.2915]
- 15 Napolitano S, Martini G, Ciardiello D, Di Maio M, Normanno N, Avallone A, Martinelli E, Maiello E, Troiani T, Ciardiello F. CAVE-2 (Cetuximab-Avelumab) mCRC: A Phase II Randomized Clinical Study of the Combination of Avelumab Plus Cetuximab as a Rechallenge Strategy in Pre-Treated RAS/BRAF Wild-Type mCRC Patients. *Front Oncol* 2022; 12: 940523 [PMID: 35832541 DOI: 10.3389/fonc.2022.940523]
- 16 Cremolini C, Rossini D, Antoniotti C, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab (bev) plus atezolizumab (atezo) versus FOLFOXIRI plus bev as first-line treatment of unresectable metastatic colorectal cancer (mCRC) patients: Results of the phase II randomized AtezoTRIBE study by GONO. *Ann Oncol* 2021; 32: S1295-S1295 [DOI: 10.1016/j.annonc.2021.08.2094]
- 17 Cifticler R, Haznedaroglu IC. Tailored tyrosine kinase inhibitor (TKI) treatment of chronic myeloid leukemia (CML) based on current evidence. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2021; 25: 7787-7798 [PMID: 34982440 DOI: 10.26355/eurrev_202112_27625]
- 18 Ou DL, Chen CW, Hsu CL, Chung CH, Feng ZR, Lee BS, Cheng

- AL, Yang MH, Hsu C. Regorafenib enhances antitumor immunity via inhibition of p38 kinase/Creb1/Klf4 axis in tumor-associated macrophages. *J Immunother Cancer* 2021; 9 [PMID: 33753566 DOI: 10.1136/jitc-2020-001657]
- 19 Fukuoka S, Hara H, Takahashi N, Kojima T, Kawazoe A, Asayama M, Yoshii T, Kotani D, Tamura H, Mikamoto Y, Hirano N, Wakabayashi M, Nomura S, Sato A, Kuwata T, Togashi Y, Nishikawa H, Shitara K. Regorafenib Plus Nivolumab in Patients With Advanced Gastric or Colorectal Cancer: An Open-Label, Dose-Escalation, and Dose-Expansion Phase Ib Trial (REGONIVO, EPOC1603). *J Clin Oncol* 2020; 38: 2053-2061 [PMID: 32343640 DOI: 10.1200/JCO.19.03296]
- 20 Cousin S, Cantarel C, Guegan JP, Gomez-Roca C, Metges JP, Adenis A, Pernot S, Belleria C, Kind M, Auzanneau C, Le Loarer F, Soubeyran I, Bessede A, Italiano A. Regorafenib-Avelumab Combination in Patients with Microsatellite Stable Colorectal Cancer (REGOMUNE): A Single-arm, Open-label, Phase II Trial. *Clin Cancer Res* 2021; 27: 2139-2147 [PMID: 33495314 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3416]
- 21 Salas-Benito D, Pérez-Gracia JL, Ponz-Sarvisé M, Rodríguez-Ruiz ME, Martínez-Forero I, Castañón E, López-Picazo JM, Sanmamed MF, Melero I. Paradigms on Immunotherapy Combinations with Chemotherapy. *Cancer Discov* 2021; 11: 1353-1367 [PMID: 33712487 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-1312]
- 22 Petroni G, Cantley LC, Santambrogio L, Formenti SC, Galluzzi L. Radiotherapy as a tool to elicit clinically actionable signalling pathways in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2022; 19: 114-131 [PMID: 34819622 DOI: 10.1038/s41571-021-00579-w]
- 23 Yoshino T, Bando H, Tsukada Y, Inamori K, Yuki S, Komatsu Y. Voltage: Investigator-initiated clinical trial of nivolumab monotherapy and subsequent radical surgery following preoperative chemoradiotherapy in patients with microsatellite stable locally advanced rectal cancer. *J Clin Oncol* 2019; 37: 3606-3606 [DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.3606]
- 24 Salvatore L, Bensi M, Corallo S, Bergamo F, Pellegrini I, Rasola C, et al. Phase II study of preoperative (PREOP) chemoradiotherapy (CTRT) plus avelumab (AVE) in patients (PTS) with locally advanced rectal cancer (LARC): The AVANA study. *J Clin Oncol* 2021; 39: 3511-3511
- 25 Mallya M, Campbell RD, Aguado B. Transcriptional analysis of a novel cluster of LY-6 family members in the human and mouse major histocompatibility complex: five genes with many splice forms. *Genomics* 2002; 80: 113-123 [PMID: 12079290 DOI: 10.1006/geno.2002.6794]
- 26 Mallya M, Campbell RD, Aguado B. Characterization of the five novel Ly-6 superfamily members encoded in the MHC, and detection of cells expressing their potential ligands. *Protein Sci* 2006; 15: 2244-2256 [PMID: 17008713 DOI: 10.1110/ps.062242606]
- 27 Loughner CL, Bruford EA, McAndrews MS, Delp EE, Swamynathan S, Swamynathan SK. Organization, evolution and functions of the human and mouse Ly6/uPAR family genes. *Hum Genomics* 2016; 10: 10 [PMID: 27098205 DOI: 10.1186/s40246-016-0074-2]
- 28 Wang P, Sun LL, Clark R, Hristopoulos M, Chiu CPC, Dillon M, Lin W, Lo AA, Chalsani S, Das Thakur M, Zimmerman Savill KM, Rougé L, Lupardus P, Piskol R, Husain B, Ellerman D, Shivva V, Leong SR, Ovacik M, Totpal K, Wu Y, Spiess C, Lee G, Leipold DD, Polson AG. Novel Anti-LY6G6D/CD3 T-Cell-Dependent Bispecific Antibody for the Treatment of Colorectal Cancer. *Mol Cancer Ther* 2022; 21: 974-985 [PMID: 35364611 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-21-0599]
- 29 Wang F, Zhao Q, Wang YN, Jin Y, He MM, Liu ZX, Xu RH. Evaluation of POLE and POLD1 Mutations as Biomarkers for Immunotherapy Outcomes Across Multiple Cancer Types. *JAMA Oncol* 2019; 5: 1504-1506 [PMID: 31415061 DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.2963]
- 30 Palmeri M, Mehnert J, Silk AW, Jabbour SK, Ganesan S, Popli P, Riedlinger G, Stephenson R, de Meritens AB, Leiser A, Mayer T, Chan N, Spencer K, Girda E, Malhotra J, Chan T, Subbiah V, Groisberg R. Real-world application of tumor mutational burden-high (TMB-high) and microsatellite instability (MSI) confirms their utility as immunotherapy biomarkers. *ESMO Open* 2022; 7: 100336 [PMID: 34953399 DOI: 10.1016/j.esmoop.2021.100336]
- 31 Romero D. TMB is linked with prognosis. *Nat Rev Clin Oncol* 2019; 16: 336 [PMID: 30932077 DOI: 10.1038/s41571-019-0206-4]
- 32 Innocenti F, Ou FS, Qu X, Zemla TJ, Niedzwiecki D, Tam R, Mahajan S, Goldberg RM, Bertagnoli MM, Blanke CD, Sanoff H, Atkins J, Polite B, Venook AP, Lenz HJ, Kabbarah O. Mutational Analysis of Patients With Colorectal Cancer in CALGB/SWOG 80405 Identifies New Roles of Microsatellite Instability and Tumor Mutational Burden for Patient Outcome. *J Clin Oncol* 2019; 37: 1217-1227 [PMID: 30865548 DOI: 10.1200/JCO.18.01798]
- 33 Mehlen P, Puisieux A. Metastasis: a question of life or death. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 449-458 [PMID: 16723991 DOI: 10.1038/nrcl886]
- 34 Li JJ, Wang JH, Tian T, Liu J, Zheng YQ, Mo HY, Sheng H, Chen YX, Wu QN, Han Y, Liao K, Pan YQ, Zeng ZL, Liu ZX, Yang W, Xu RH, Ju HQ. The liver microenvironment orchestrates FGL1-mediated immune escape and progression of metastatic colorectal cancer. *Nat Commun* 2023; 14: 6690 [PMID: 37872170 DOI: 10.1038/s41467-023-42332-0]
- 35 Yu J, Green MD, Li S, Sun Y, Journey SN, Choi JE, Rizvi SM, Qin A, Waninger JJ, Lang X, Chopra Z, El Naqa I, Zhou J, Bian Y, Jiang L, Tezel A, Skvarce J, Achar RK, Sitto M, Rosen BS, Su F, Narayanan SP, Cao X, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Mayo C, Morgan MA, Schonewolf CA, Cuneo K, Kryczek I, Ma VT, Lao CD, Lawrence TS, Ramnath N, Wen F, Chinnaiyan AM, Cieslik M, Alva A, Zou W. Liver metastasis restrains immunotherapy efficacy via macrophage-mediated T cell elimination. *Nat Med* 2021; 27: 152-164 [PMID: 33398162 DOI: 10.1038/s41591-020-1131-x]
- 36 Ho WW, Gomes-Santos IL, Aoki S, Datta M, Kawaguchi K, Talele NP, Roberge S, Ren J, Liu H, Chen IX, Andersson P, Chatterjee S, Kumar AS, Amoozgar Z, Zhang Q, Huang P, Ng MR, Chauhan VP, Xu L, Duda DG, Clark JW, Pittet MJ, Fukumura D, Jain RK. Dendritic cell paucity in mismatch repair-proficient colorectal cancer liver metastases limits immune checkpoint blockade efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021; 118 [PMID: 34725151 DOI: 10.1073/pnas.2105323118]
- 37 Chew A, Salama P, Robbshaw A, Klopch B, Zeps N, Platell C, Lawrance IC. SPARC, FOXP3, CD8 and CD45 correlation with disease recurrence and long-term disease-free survival in colorectal cancer. *PLoS One* 2011; 6: e22047 [PMID: 21818290 DOI: 10.1371/journal.pone.0022047]
- 38 Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou FS, Bifulco C, Lugli A, Zlobec I, Rau TT, Berger MD, Nagtegaal ID, Vink-Börger E, Hartmann A, Geppert C, Kolwelter J, Merkel S, Grützmann R, Van den Eynde M, Jouret-Mourin A, Kartheuser A, Léonard D, Remue C, Wang JY, Bavi P, Roehrl MHA, Ohashi PS, Nguyen LT, Han S, MacGregor HL, Hafezi-Bakhtiari S, Wouters BG, Masucci GV, Andersson EK, Zavadova E, Vocka M, Spacek J, Petruzella L, Konopasek B, Dundr P, Skalova H, Nemejcova K, Botti G, Tatangelo F, Delrio P, Ciliberto G, Maio M, Laghi L, Grizzi F, Fredriksen T, Buttard B, Angelova M, Vasaturo A, Maby P, Church SE, Angell HK, Lafontaine L, Bruni D, El Sissy C, Haicheur N, Kirilovsky A, Berger A, Lagorce C, Meyers JP, Paustian C, Feng Z, Ballesteros-Merino C, Dijkstra J, van de Water C, van Lent-van Vliet S, Knijn N, Muşină AM, Scripcariu DV, Popivanova B, Xu M, Fujita T, Hazama S, Suzuki N, Nagano H, Okuno K, Torigoe T, Sato N, Furuhashi T, Takemasa I, Itoh K, Patel PS, Vora HH, Shah B, Patel JB, Rajvik KN, Pandya SJ,

- Shukla SN, Wang Y, Zhang G, Kawakami Y, Marincola FM, Ascierto PA, Sargent DJ, Fox BA, Galon J. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* 2018; 391: 2128-2139 [PMID: 29754777 DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30789-X]
- 39 Tie J, Cohen JD, Lahouel K, Lo SN, Wang Y, Kosmider S, Wong R, Shapiro J, Lee M, Harris S, Khattak A, Burge M, Harris M, Lynam J, Nott L, Day F, Hayes T, McLachlan SA, Lee B, Ptak J, Silliman N, Dobbyn L, Popoli M, Hruban R, Lennon AM, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Tomasetti C, Gibbs P; DYNAMIC Investigators. Circulating Tumor DNA Analysis Guiding Adjuvant Therapy in Stage II Colon Cancer. *N Engl J Med* 2022; 386: 2261-2272 [PMID: 35657320 DOI: 10.1056/NEJMoa2200075]
- 40 Wang F, Lu S, Cao D, Qian J, Li C, Zhang R, Wang F, Wu M, Liu Y, Pan Z, Wu X, Lu Z, Ding P, Li L, Lin J, Catteau A, Galon J, Chen G. Prognostic and predictive value of Immunoscore and its correlation with ctDNA in stage II colorectal cancer. *Oncoimmunology* 2023; 12: 2161167 [PMID: 36632564 DOI: 10.1080/2162402X.2022.2161167]
- 41 Ždravlević M, Brand A, Di Ianni L, Dettmer K, Reinders J, Singer K, Peter K, Schnell A, Bruss C, Decking SM, Koehl G, Felipe-Abrio B, Durivault J, Bayer P, Evangelista M, O'Brien T, Oefner PJ, Renner K, Pouyssegur J, Kreutz M. Double genetic disruption of lactate dehydrogenases A and B is required to ablate the "Warburg effect" restricting tumor growth to oxidative metabolism. *J Biol Chem* 2018; 293: 15947-15961 [PMID: 30158244 DOI: 10.1074/jbc.RA118.004180]
- 42 Amoroso MR, Matassa DS, Sisinni L, Lettini G, Landriscina M, Esposito F. TRAP1 revisited: novel localizations and functions of a 'next-generation' biomarker (review). *Int J Oncol* 2014; 45: 969-977 [PMID: 24990602 DOI: 10.3892/ijo.2014.2530]
- 43 谢玉丹. YY1调控结肠癌细胞糖代谢重编程的作用及其分子机制研究. 重庆大学 2017
- 44 王建华. 复方肠泰诱导结肠癌细胞自噬促进肿瘤相关巨噬细胞极化的机制研究. 南京医科大学 2018
- 45 刘宗瑜, 李伟冬, 周荣耀. 养正消积胶囊联合化疗治疗大肠癌. 世界最新医学信息文摘 2016; 16: 109-110 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2016.40.081]
- 46 Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 2013; 14: 195-206 [PMID: 23954158 DOI: 10.1016/j.chom.2013.07.012]
- 47 Noshio K, Sukawa Y, Adachi Y, Ito M, Mitsunashi K, Kurihara H, Kanno S, Yamamoto I, Ishigami K, Igarashi H, Maruyama R, Imai K, Yamamoto H, Shinomura Y. Association of *Fusobacterium nucleatum* with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 557-566 [PMID: 26811607 DOI: 10.3748/wjg.v22.i2.557]
- 48 Wang AH, Li M, Li CQ, Kou GJ, Zuo XL, Li YQ. Human colorectal mucosal microbiota correlates with its host niche physiology revealed by endomicroscopy. *Sci Rep* 2016; 6: 21952 [PMID: 26916597 DOI: 10.1038/srep21952]
- 49 王楠, 方兴刚, 廖莎. 葛根苓连汤基于Wnt/ β -catenin信号通路对结肠癌模型大鼠肠道菌群作用机制研究. 辽宁中医药大学学报 2023; 25: 49-53 [DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2023.02.011]
- 50 王布江, 罗远. 葛根苓连汤对结肠癌大鼠病理损伤、炎症反应及肠道微生态的影响. 现代实用医学 2020; 32: 1185-1188+1303 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-0800.2020.10.010]
- 51 Cai M, Xiao Y, Lin Z, Lu J, Wang X, Rahman SU, Zhu S, Chen X, Gu J, Ma Y, Chen Z, Huo J. Disordered Gut Microbiota in Colorectal Tumor-Bearing Mice Altered Serum Metabolome Related to Fufangchangtai. *Front Pharmacol* 2022; 13: 889181 [PMID: 35694271 DOI: 10.3389/fphar.2022.889181]
- 52 王冰冰, 高宏, 李夏平. 中晚期恶性肿瘤患者中药联合免疫检查点抑制剂治疗的疗效相关性探析. 中医临床研究 2023; 15: 50-56 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2023.14.009]
- 53 Xu Y, Wang H, Wang T, Chen C, Sun R, Yao W, Ma Y, Zhang Q, Wu L, Zeng S, Sun X. Dahuang Fuzi Baijiang decoction restricts progenitor to terminally exhausted T cell differentiation in colorectal cancer. *Cancer Sci* 2022; 113: 1739-1751 [PMID: 35238098 DOI: 10.1111/cas.15311]
- 54 Yi B, Zhang S, Yan S, Liu Y, Feng Z, Chu T, Liu J, Wang W, Xue J, Zhang C, Wang Y. *Marsdenia tenacissima* enhances immune response of tumor infiltrating T lymphocytes to colorectal cancer. *Front Immunol* 2023; 14: 1238694 [PMID: 37649480 DOI: 10.3389/fimmu.2023.1238694]
- 55 Song M, Qian C, Zhang T, Tang Y, Zhou Y, Wei Z, Wang A, Zhong C, Zhao Y, Lu Y. *Salvia miltiorrhiza* Bunge aqueous extract attenuates infiltration of tumor-associated macrophages and potentiates anti-PD-L1 immunotherapy in colorectal cancer through modulating Cox2/PGE2 cascade. *J Ethnopharmacol* 2023; 316: 116735 [PMID: 37286115 DOI: 10.1016/j.jep.2023.116735]

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 © 2023 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.

乙肝病毒感染相关肝细胞癌组织中转化因子- β 1/Smad2 信号通路表达及其与临床病理特征、预后相关性

张利, 郭明

张利, 郭明, 安吉县人民医院消化内科 浙江省湖州市 313300

张利, 主治医师, 研究方向为消化病学.

作者贡献分布: 张利负责课题的设计、研究的过程、结果的分析以及文章的撰写; 郭明负责提供实验相关的设备、试剂等.

通讯作者: 郭明, 硕士, 主治医师, 313300, 浙江省安吉县天目中路, 安吉县人民医院消化内科. azrsm10451@163.com

收稿日期: 2023-11-03

修回日期: 2023-11-18

接受日期: 2023-12-20

在线出版日期: 2023-12-28

Correlation of TGF- β 1 and Smad2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in hepatitis B virus associated hepatocellular carcinoma

Li Zhang, Ming Guo

Li Zhang, Ming Guo, Department of Gastroenterology, Ji'an People's Hospital, Huzhou 313300, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Ming Guo, Master, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Ji'an People's Hospital, Tianmu Middle Road, Ji'an Country, Huzhou 313300, Zhejiang Province, China. azrsm10451@163.com

Received: 2023-11-03

Revised: 2023-11-18

Accepted: 2023-12-20

Published online: 2023-12-28

Abstract

BACKGROUND

The occurrence and development of liver cancer are affected by many classical signaling pathways, and as a result, the

growth of cancer cells is either inhibited or promoted. The transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/Smad2 signaling pathway is often involved in the development of cancer.

AIM

To investigate the expression of TGF- β 1 and Smad2 in hepatocellular carcinoma tissues and its correlation with hepatitis B virus (HBV) infection.

METHODS

Sixty-five patients with hepatocellular carcinoma diagnosed by pathology after surgical resection at our hospital from February 2016 to March 2019 were selected for the study, and they were divided into 37 HBV-infected cases and 28 non-infected cases based on whether HBV infection occurred. Eight cases were lost after 3 years of follow-up, and the remaining patients with hepatocellular carcinoma were divided into two subgroups based on their survival status: 36 cases in survival group and 21 cases in death group. The expression of TGF- β 1 and Smad2 in liver cancer tissues and paraneoplastic tissues was detected by protein immunoblotting (Western blot). The correlation of TGF- β 1 and Smad2 protein expression with clinicopathological characteristics and survival rate was analyzed. Cox regression analysis of prognostic factors was performed.

RESULTS

The expression of TGF- β 1 and Smad2 in hepatocellular carcinoma tissues of both HBV-infected and non-infected patients was higher than that in paracancerous tissues, and their expression in HBV-infected patients was higher than that of non-infected patients ($P < 0.05$). The expression of TGF- β 1 and Smad2 was associated with the degree of differentiation, satellite lesions, cirrhosis, TNM stage, and lymph node metastasis ($P < 0.05$). TGF- β 1 and Smad2 expression was higher in dead patients than in survivors ($P < 0.05$). The survival rate within 3 years was lower in

patients with high TGF- β 1 expression (48.28%) than in those with low expression (78.57%; $P = 0.003$). The survival rate within 3 years was also lower in patients with high Smad2 expression (50.00%) than in those with low expression (77.78%; $P = 0.012$). TNM stage, lymph node metastasis, TGF- β 1 expression, and Smad2 expression were identified to be independent risk factors for poor prognosis within 3 years ($P < 0.05$).

CONCLUSION

The expression levels of TGF- β 1 and Smad2 in HBV-infected hepatocellular carcinoma tissues are elevated, and are associated with clinical pathological characteristics and poor prognosis.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Hepatitis B virus; Transforming growth factor- β 1; Smad2; Prognosis

Citation: Zhang L, Guo M. Correlation of TGF- β 1 and Smad2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in hepatitis B virus associated hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(24): 1014-1021

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1014.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.1014>

摘要

背景

肝癌的发生和发展受多种经典信号通路的调控影响, 癌细胞的生长或是被抑制或是被促进. 其中, 转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/Smad2信号通路在癌细胞的发展研究中较为经典.

目的

探讨TGF- β 1/Smad2信号通路在肝细胞癌组织中表达及其与乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)感染相关性.

方法

选取2016-02/2019-03本院经手术切除后病理诊断明确的肝细胞癌患者65例为研究对象, 依据是否发生HBV感染分为感染者37例、非感染者28例. 随访3年后失访8例, 根据3年内生存情况肝细胞癌患者分为生存者36例、死亡者21例. 采用蛋白免疫印迹法检测肝细胞癌组织、癌旁组织中TGF- β 1、Smad2表达量. 分析HBV感染者、非感染者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2蛋白表达量与临床病理特征相关性, 及其与生存率相关性. Cox回归分析预后影响因素.

结果

HBV感染者、非感染者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量高于癌旁组织, 且HBV感染者高于非感染者($P < 0.05$); TGF- β 1、Smad2表达量与分化程度、

卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$); 死亡者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量高于生存者($P < 0.05$); TGF- β 1高表达者3年内生存率48.28%低于低表达者78.57%($P = 0.003$); Smad2高表达者3年内生存率50.00%低于低表达者77.78%($P = 0.012$); TNM分期、淋巴结转移、TGF- β 1表达量、Smad2表达量为3年内预后不良的独立危险因素($P < 0.05$).

结论

HBV感染肝细胞癌组织中 TGF- β 1、Smad2表达量升高, 且与临床病理特征、预后不良有关.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞癌; 乙肝病毒; 转化生长因子- β 1; Smad2; 预后

核心提要: 肝癌组织中转化生长因子- β 1、Smad2的表达能够影响患者的分化程度、卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移, 并与患者的预后有着紧密的联系.

文献来源: 张利, 郭明. 乙肝病毒感染相关肝细胞癌组织中转化因子- β 1/Smad2信号通路表达及其与临床病理特征、预后相关性. *世界华人消化杂志* 2023; 31(24): 1014-1021

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1014.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.1014>

0 引言

我国肝癌发病率呈上升趋势, 其主要病理类型为肝细胞癌、混合型癌、胆管癌细胞癌, 乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)占肝癌病因的90%左右, 随着医疗水平进步, 肝癌诊疗方法不断改善, 但术后5年复发率较高, 预后较差^[1]. 大部分肝癌早期发病较为隐匿, 临床症状不明显, 确诊时已处于晚期, 目前肝癌治疗以手术为主, 合并HBV感染者治疗效果不佳, 病死率较高, 因而探究HBV感染相关肝癌发病机制及治疗靶点具有重要意义^[2]. 转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)与受体结合调控下游Smad蛋白表达, 可调节细胞增殖、凋亡、转移等生物学行为, 研究表明炎症因子释放量增加可激活TGF- β 1, 促进Smad蛋白表达, Smads根据其结构、功能不同分为受体调节性Smads(Smad1、Smad2等)、共介导Smads、抑制Smads, 该信号通路可参与多种肿瘤发生发展过程^[3,4]. TGF- β 1/Smads信号通路是否与HBV感染性肝细胞癌有关尚未明确, 本研究比较HBV感染、非感染肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量, 分析其与患者临床病理特征相关性, 为临床诊断、治疗HBV感染相关肝细胞癌提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2016-02/2019-03本院经手术切除后病理诊断明确的肝细胞癌患者65例为研究对象, 其中男43例、女22例, 年龄40-60(50.26 ± 3.17)岁, 肿瘤直径4-7(5.10 ± 0.35) cm. 依据是否发生HBV感染分为感染者37例、非感染者28例. 随访3年后失访8例, 依据生存情况肝细胞癌患者分为2个亚组: 生存者36例、死亡者21例. 收集肝细胞癌患者临床资料, 包括分化程度、卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移. 本研究经本院伦理委员会批准, 批准号: GJ7678. 感染者、非感染者临床资料见表1, 具有可比性.

纳入标准: 符合肝细胞癌诊断标准^[5], 经影像学、病理学诊断确诊; HBV感染符合《慢性乙型肝炎防治指南》中诊断标准^[6]; 术前未进行放化疗者; 接受根治术、放化疗等治疗者; 签署知情同意书. 排除标准: 其他肝炎病毒所致肝细胞癌者; 继发性肝细胞癌者; 合并其他恶性肿瘤者; 自身免疫系统疾病者; 酒精性肝病者; 药物性肝损伤者. HBV感染程度.

1.2 方法

1.2.1 Western blot法检测癌组织中TGF- β 1、Smad2蛋白表达量: 采集肝细胞癌患者空腹外周静脉血3 mL, 常规离心后分离血清, 采用荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测HBV-DNA水平, 上海新波生物公司提供检测试剂盒. 分别在肝癌组织12点、3点、6点、9点位置上, 于肝癌、癌旁组织交界处取材, 在肿瘤组织内部取材1块, 并切取距肿瘤组织边缘>1 cm处肝组织作为癌旁组织, 肝细胞癌组织、癌旁组织中分别加入500 μ L RIPA裂解液(上海联迈生物工程有限公司)提取总蛋白. 采用Western blot法检测组织中TGF- β 1、Smad2蛋白表达量, 操作方法如下: 二喹啉甲酸(BCA)法(武汉博士德生物工程有限公司)检测蛋白浓度, 取上清液转移至新离心管, 加入上样缓冲液(北京百奥莱博科技有限公司), 100 $^{\circ}$ C高温下变性10 min. 取40 μ g蛋白样品经SDS-PAGE(碧云天生物技术有限公司)反应, 结束后蛋白质转移至PVDF膜(迈博瑞生物膜技术有限公司), 使用5%脱脂牛奶封闭2 h, 分别加入TGF- β 1(1:1000)、Smad2(1:1000)、内参GAPDH(1:3000)一抗(美国CST公司, 目录号: 3711、5678、8884)稀释液, 4 $^{\circ}$ C孵育24 h后弃一抗, 加入二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司, 目录号: 2306)稀释液(1:5000)后室温孵育2 h, Tis-HCl缓冲液(TBST)洗涤(上海科拉曼试剂有限公司), 增强型化学发光试剂(ECL)发光液(南京森贝伽生物科技有限公司)作用后显影, 使用Quantity One软件对蛋白条带进行定量.

1.2.2 原代培养肝癌细胞: 取HBV感染的肝癌组织标本

3 g, 在含有少量PBS中使用眼科剪剪碎组织样本, 加入11 mL消化酶后放入37 $^{\circ}$ C水浴锅内处理30 min, 使用孔径为70 μ m筛网过滤细胞, 然后加入10%灭活胎牛血清5 mL, 促使胰蛋白酶失活, 以10000 r/min转速离心10 min后细胞悬浮, 将细胞接种于含有聚-L-赖氨酸的6孔板上, 加入含有10%胎牛血清的DMEM培养基培养, 培养48 h后收集肿瘤细胞. 采用脂质体转染法分别将小分子干扰RNA(siRNA)TGF- β 1(简称si-TGF- β 1)、TGF- β 1过表达(pcDNA-TGF- β 1)加入肝癌细胞中, 采用RT-qPCR法检测肝癌细胞中TGF- β 1表达水平, si-TGF- β 1、pcDNA-TGF- β 1购自上海吉玛制药公司, RT-qPCR法检测所需试剂均购自北京天根生化公司.

1.3 观察指标 (1)比较HBV感染者、非感染者中TGF- β 1、Smad2表达量与不同临床病理特征的相关性; (2)以门诊复查、电话、微信等方式随访3年, 平均随访时间(24.32 ± 3.16) mo, 统计随访期间生存情况; (3)分析生存者、死亡者中TGF- β 1、Smad2表达量, 及其与生存率相关性.

统计学处理 应用SPSS 22.0处理数据, 计量资料以(mean $\pm$ SD)表示, 两组比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验; 采用Kaplan-Meier生存曲线、Log-Rank检验分析3年生存情况, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝细胞癌组织、癌旁组织中TGF- β 1、Smad2表达量 HBV感染的肝细胞癌患者血清HBV-DNA水平为(2.39 ± 0.41) IgU/mL. 与癌旁组织比较, 肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量升高($P < 0.05$), 见图1, 表2. HBV感染者中TGF- β 1、Smad2表达量与HBV-DNA水平呈正相关($r = 0.524$ 、 0.553 , $P = 0.041$ 、 0.038). 肝癌细胞中TGF- β 1过表达处理前后, TGF- β 1 mRNA表达水平分别为 1.00 ± 0.02 、 3.26 ± 0.57 , 肝癌细胞中干扰TGF- β 1表达处理前后, TGF- β 1 mRNA表达水平分别为 1.01 ± 0.01 、 0.24 ± 0.02 , 表明TGF- β 1表达水平变化来源于肝癌细胞自分泌.

2.2 感染者、非感染者肝细胞癌组织及癌旁组织中TGF- β 1、Smad2表达量 感染者、非感染者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量高于癌旁组织($P < 0.05$), 且感染者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量高于非感染者($P < 0.05$), 见图2、表3.

2.3 TGF- β 1、Smad2表达量与不同临床病理特征相关性 感染者、非感染者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量与分化程度、卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$), 见表4.

表 1 两组临床资料比较

组别	<i>n</i>	性别		年龄(岁)	肿瘤直径(cm)	TNM分期			淋巴结转移		分化程度		卫星病灶		肝硬化	
		男	女			I 期	II 期	III 期	有	无	低分化	中高分化	有	无	有	无
感染者	37	25(67.57)	12(32.43)	49.86 ± 2.12	5.13 ± 0.28	17(45.95)	12(32.43)	8(21.62)	7(18.92)	30(81.08)	15(40.54)	22(59.46)	24(64.86)	13(35.14)	10(27.03)	27(72.97)
非感染者	28	18(64.29)	10(35.71)	50.79 ± 2.03	5.06 ± 0.21	13(46.43)	10(35.71)	5(17.86)	5(17.86)	23(82.14)	11(39.29)	17(60.71)	17(60.71)	11(39.29)	8(28.57)	20(71.43)
χ^2		0.077		1.783	1.107	0.164			0.012		0.010		0.118		0.019	
<i>P</i>		0.782		0.079	0.272	0.921			0.913		0.919		0.731		0.890	

表 2 肝细胞癌组织、癌旁组织中TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达量(mean ± SD)

组织	<i>n</i>	TGF- $\beta 1$	Smad2
癌旁组织	65	0.18 ± 0.03	0.14 ± 0.01
肝细胞癌组织	65	0.86 ± 0.10	0.61 ± 0.08
<i>t</i>		52.511	47.000
<i>P</i>		<0.001	<0.001

TGF- $\beta 1$: 转化生长因子- $\beta 1$; Smad2: 细胞信号转导分子2.

表 3 HBV感染者、非感染者肝细胞癌组织及癌旁组织中TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达量(mean ± SD)

指标	感染者(<i>n</i> = 37)			非感染者(<i>n</i> = 28)		
	癌旁组织	肝细胞癌组织	<i>t/P</i>	癌旁组织	肝细胞癌组织	<i>t/P</i>
TGF- $\beta 1$	0.17 ± 0.02	0.93 ± 0.15 ^{ab}	30.549/0.000	0.19 ± 0.04	0.77 ± 0.10 ^a	32.757/0.000
Smad2	0.13 ± 0.01	0.78 ± 0.12 ^{ab}	32.834/0.000	0.15 ± 0.03	0.39 ± 0.06 ^a	21.762/0.000

^a*P*<0.05, 与癌旁组织比较; ^b*P*<0.05, 与非感染者肝细胞癌组织比较. HBV: 乙肝病毒; TGF- $\beta 1$: 转化生长因子- $\beta 1$; Smad2: 细胞信号转导分子2.

2.4 不同预后肝细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达量 随访3年, 失访8例. 死亡者肝细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达量高于生存者(*P*<0.05), 见表5.

2.5 TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达与肝细胞癌患者生存率关系 随访结束后根据TGF- $\beta 1$ 表达量平均值(0.80)、Smad2表达量平均值(0.55)将肝细胞癌患者分为TGF- $\beta 1$ 高表达29例、低表达28例; Smad2高表达30例、低表达27例. TGF- $\beta 1$ 高表达者3年生存率48.28%(14/29)低于低表达者78.57%(22/28)(*P* = 0.003), 见图3; Smad2高表达者3年生存率50.00%(15/30)低于低表达者77.78%(21/27)(*P* = 0.012), 见图4.

2.6 Cox回归分析预后影响因素 以预后情况为因变量(生存 = 0、死亡 = 1), 以性别(男 = 1、女 = 2)、年龄(原值代入)、肿瘤直径(原值代入)、分化程度(低分化 = 1、中分化 = 2、高分化 = 3)、卫星病灶(无 = 0、有 = 1)、肝硬化(无 = 0、有 = 1)、TNM分期(I 期 = 1、II 期 = 2、III 期 = 3)、淋巴结转移(无 = 0、有 = 1)、TGF- $\beta 1$ 表达量(原值代入)、Smad2表达量(原值代入)为自变量, Cox回归分析显示TNM分期、淋巴结转移、TGF- $\beta 1$

表达量、Smad2表达量为预后不良的独立危险因素(*P*<0.05), 见表6.

3 讨论

肝细胞癌发病机制与HBV感染、酒精/非酒精脂肪性肝病、肝硬化、化学致癌物质病变、多种基因、蛋白表达异常有关^[7,8]. HBV感染后宿主肝细胞内HBV DNA整合、肿瘤抑制基因表达失调, 且与肿瘤反应、肝功能、免疫学指标间相互作用, 深入探究肝细胞癌发病机制可为抗HBV感染寻找潜在靶点^[9,10].

TGF- $\beta 1$ /Smad2激活可促进细胞增殖、转移, 抑制细胞凋亡, 可能作为肿瘤靶向治疗的潜在靶点^[11,12]. TGF- $\beta 1$ 与细胞膜表面受体结合后Smad2磷酸化, 其与Smad4结合进入细胞核内可调控转录因子表达, 促进肿瘤细胞侵袭、转移, 抑制该信号通路可减弱肿瘤细胞转移能力^[13]. 本研究显示肝细胞癌组织中TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达量升高, 有无HBV感染与TGF- $\beta 1$ 、Smad2表达量有关. TGF- $\beta 1$ 在血细胞生成、细胞趋化、炎症反应等方面发挥重要调节作用, 其表达量升高可诱发血管内皮细胞

表 4 TGF-β1、Smad2表达量与不同临床病理特征相关性(mean ± SD)

项目		n	TGF-β1				Smad2			
			感染者(n = 37)	非感染者(n = 28)	t	P	感染者(n = 37)	非感染者(n = 28)	t	P
性别	男	43	0.85 ± 0.16	0.88 ± 0.22	0.637	0.527	0.62 ± 0.11	0.60 ± 0.12	0.698	0.488
	女	22	0.88 ± 0.23	0.82 ± 0.15	1.200	0.235	0.59 ± 0.09	0.63 ± 0.10	1.691	0.096
年龄(岁)	≤50	41	0.86 ± 0.22	0.84 ± 0.20	0.377	0.707	0.63 ± 0.15	0.59 ± 0.09	1.250	0.216
	>50	24	0.85 ± 0.27	0.89 ± 0.23	0.630	0.531	0.58 ± 0.12	0.54 ± 0.10	1.428	0.158
肿瘤直径(cm)	≤5	32	0.88 ± 0.24	0.90 ± 0.19	0.363	0.718	0.60 ± 0.15	0.65 ± 0.17	1.256	0.214
	>5	33	0.84 ± 0.21	0.82 ± 0.22	0.373	0.711	0.62 ± 0.13	0.57 ± 0.15	1.437	0.156
分化程度	低分化	26	0.96 ± 0.11	0.80 ± 0.18	1.429	0.000	0.85 ± 0.13	0.51 ± 0.10	11.495	0.000
	中高分化	39	0.79 ± 0.08	0.70 ± 0.10	4.032	0.000	0.45 ± 0.09	0.38 ± 0.08	3.255	0.002
卫星病灶	有	41	1.05 ± 0.28	0.58 ± 0.11	8.393	0.000	0.71 ± 0.10	0.48 ± 0.13	8.067	0.000
	无	24	0.54 ± 0.12	0.42 ± 0.08	4.574	0.000	0.44 ± 0.08	0.33 ± 0.07	5.788	0.000
肝硬化	有	18	1.92 ± 0.39	0.53 ± 0.15	17.859	0.000	0.88 ± 0.13	0.57 ± 0.16	8.617	0.000
	无	47	0.45 ± 0.12	0.39 ± 0.11	2.068	0.043	0.51 ± 0.11	0.43 ± 0.12	2.792	0.007
TNM分期	I 期	30	0.37 ± 0.08	0.21 ± 0.04	9.693	0.000	0.44 ± 0.12	0.23 ± 0.05	8.694	0.000
	II 期	22	0.93 ± 0.20	0.74 ± 0.18	3.957	0.000	0.67 ± 0.19	0.45 ± 0.09	5.658	0.000
	III期	13	1.87 ± 0.45	1.26 ± 0.32	6.096	0.000	0.90 ± 0.21	0.66 ± 0.18	4.846	0.000
淋巴结转移	有	12	1.88 ± 0.41	0.68 ± 0.15	14.736	0.000	1.77 ± 0.44	0.42 ± 0.13	15.698	0.000
	无	53	0.63 ± 0.17	0.50 ± 0.14	3.288	0.002	0.35 ± 0.10	0.25 ± 0.04	4.990	0.000

TGF-β1: 转化生长因子-β1; Smad2: 细胞信号转导分子2.

表 5 不同预后肝细胞癌组织中TGF-β1、Smad2表达量(mean ± SD)

组别	<i>n</i>	TGF-β1	Smad2
死亡者	21	1.29 ± 0.32	1.07 ± 0.30
生存者	36	0.51 ± 0.14	0.24 ± 0.05
<i>t</i>		12.741	16.317
<i>P</i>		<0.001	<0.001

TGF-β1: 转化生长因子-β1; Smad2: 细胞信号转导分子2.

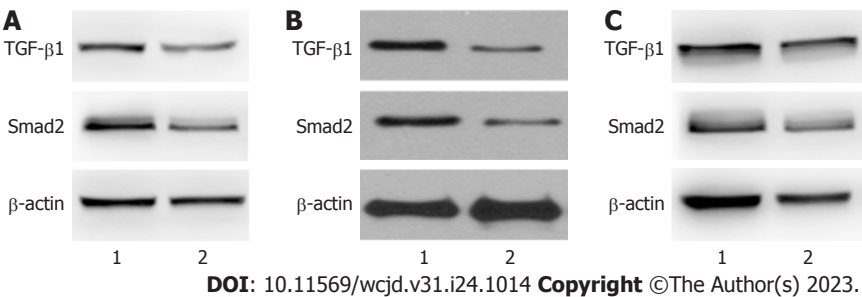


图 1 Western blot检测TGF-β1、Smad2蛋白表达. A: 男性患者; B: 女性患者; C: 男性患者. 1: 肝细胞癌组织; 2: 癌旁组织. TGF-β1: 转化生长因子-β1; Smad2: 细胞信号转导分子2; β-Actin: β-肌动蛋白.

增生, 促进肿瘤恶化^[14]. TGF-β1、Smad2表达上调可促进肝细胞癌细胞增殖、迁移、上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 促使肿瘤细胞免疫逃逸、血管生成, 研究表明上游基因特异性蛋白1、丝氨酸/苏氨酸激酶39可调节TGF-β1/Smad2通路, 进而影响肝细胞

癌细胞恶性生物学行为^[15,16]. 由此推测TGF-β1、Smad2可能通过调节癌细胞生物学行为, 影响肝细胞癌发生发展进程. 本研究通过临床试验证实HBV感染者、非感染者肝细胞癌组织中TGF-β1、Smad2表达量与分化程度、卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移有关,

表 6 Cox回归分析预后影响因素

影响因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
性别	0.809	0.638–1.026	>0.05	–	–	–
年龄	0.767	0.587–1.001	>0.05	–	–	–
肿瘤直径	0.899	0.784–1.032	>0.05	–	–	–
分化程度	0.782	0.639–0.958	<0.05	–	–	–
卫星病灶	4.455	1.885–10.527	<0.05	–	–	–
肝硬化	0.947	0.886–1.013	>0.05	–	–	–
TNM分期	9.797	4.152–23.118	<0.05	6.330	2.163–18.524	<0.05
淋巴结转移	7.369	2.695–20.147	<0.05	8.253	3.021–22.547	<0.05
TGF-β1表达量	13.586	7.184–25.695	<0.05	10.153	5.132–20.085	<0.05
Smad2表达量	13.490	6.021–30.225	<0.05	10.680	5.217–21.863	<0.05

TGF-β1: 转化生长因子-β1; Smad2: 细胞信号转导分子2.

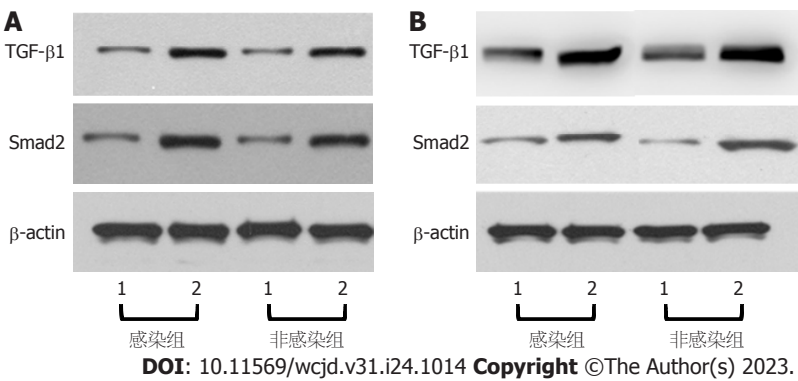


图 2 Western blot检测TGF-β1、Smad2蛋白表达. A: 男性患者; B: 女性患者. 1: 癌旁组织; 2: 肝细胞癌组织. TGF-β1: 转化生长因子-β1; Smad2: 细胞信号转导分子2; β-Actin: β-肌动蛋白.

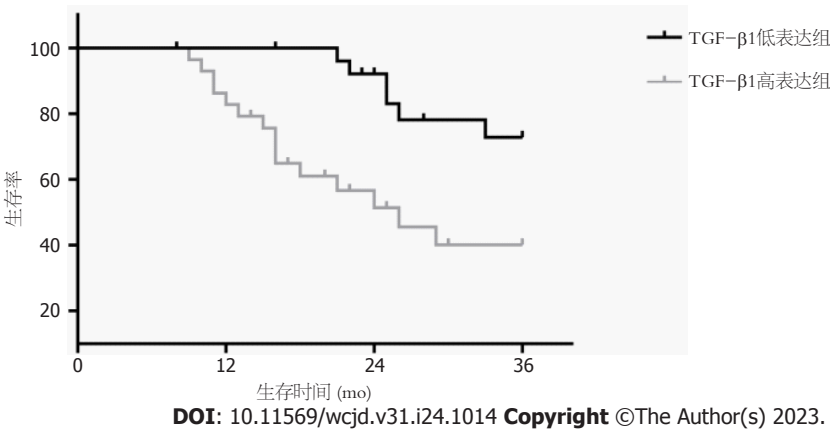
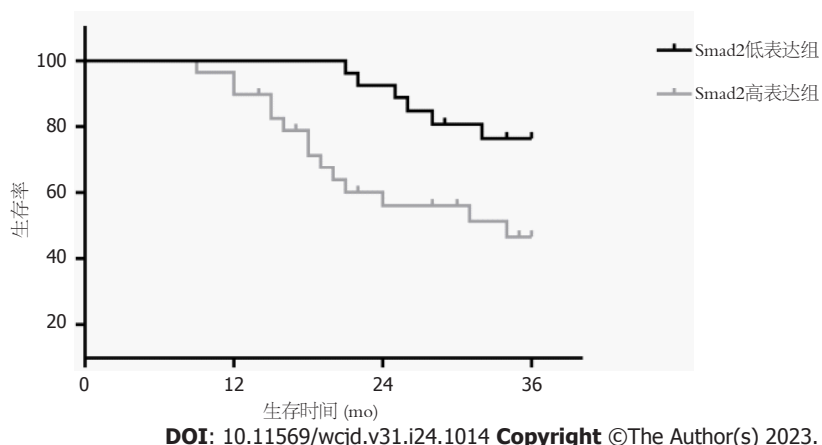


图 3 TGF-β1不同表达者生存曲线. TGF-β1: 转化生长因子-β1.

表明TGF-β1、Smad2表达水平升高与HBV感染相关肝细胞癌发生发展密切相关.

HBV病毒不断被复制可激活TGF-β1/Smad2通路, 诱发肝细胞癌细胞发生EMT, 具有极性的上皮细胞失去极性转化成间充质细胞, 细胞迁移、侵袭能力增强,

TGF-β1、Smad2可能为HBV感染相关肝细胞癌进展的关键基因. 阻断TGF-β1/Smad2通路可抑制EMT, 减弱肝细胞癌^[17]、伯基特淋巴瘤^[18]细胞增殖、迁移、侵袭能力. 因而探究TGF-β1/Smad2通路与肝细胞癌发生发展的关联性具有重要意义. 本研究显示HBV感染者低分



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i24.1014 Copyright ©The Author(s) 2023.

图4 Smad2不同表达者生存曲线. Smad2: 细胞信号转导分子2.

化、伴有卫星病灶、伴有肝硬化、伴有淋巴结转移中TGF- β 1、Smad2表达量高于非感染者, 表明TGF- β 1、Smad2表达水平升高可促进HBV感染者恶性进展, 可能作为HBV感染相关肝细胞癌靶向治疗的潜在靶点. 既往研究表明趋化因子受体(chemokine receptor7, CXCR7)可增加TGF- β 1分泌量, 调节肿瘤细胞增殖、迁移等生物学行为, 促使肿瘤恶性进展, 临床表现为淋巴结转移、临床分期增高^[19]. LIM和SH3结构域蛋白1(LIM and SH3 domain protein 1, LASP1)表达增加可激活TGF- β 1, 沉默其表达可减弱TGF- β 1诱导的肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移能力^[20]. 由此推测其原因可能为HBV感染后CXCR7、LASP1表达水平升高可激活TGF- β 1/Smad2通路, 增强肝细胞癌细胞增殖、转移能力, 进一步参与HBV感染相关肝细胞癌病情进展, 同时TGF- β 1/Smad2通路异常还可能与HBV感染后发生的免疫耐受、病毒清除率有关. 本研究尝试性分析TGF- β 1、Smad2表达量与肝细胞癌患者预后相关性, 结果发现死亡者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量高于生存者, 且TGF- β 1、Smad2高表达者生存率低于低表达者. 既往研究表明TGF- β 1激活后Smad2磷酸化, 可增强KL $\ddot{u}$ ppel样因子8启动子活性, 其高表达与患者预后不良有关^[21]. TGF- β 1、Smad2表达量升高还与较低生存率有关^[22]. 结合本研究结果分析其原因可能为TGF- β 1/Smad2通路活化后可促进下游分子核心2 β -1, 6-乙酰氨基葡萄糖转移酶表达, 诱导细胞周期进展, 促进肿瘤恶性进展, 导致患者预后不良^[23]. 同时本研究发现TNM分期、淋巴结转移、TGF- β 1表达量、Smad2表达量为预后不良的独立危险因素, 提示TGF- β 1、Smad2表达量可能作为评估肝细胞癌患者预后的潜在指标.

4 结论

综上所述, 肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达水平升

高, 其表达量与HBV感染、分化程度、卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移有关, 且HBV感染者中TGF- β 1、Smad2表达量与临床病理特征相关性更为密切, 可能作为判断肝细胞癌预后的指标, 还可为肝细胞癌个体化治疗提供新方向. 但本研究仅观察TGF- β 1、Smad2, 下一步需探究Smad2与其他信号分子的磷酸化水平及其磷酸化机制, 同时仍需增加HBV(+)肝癌细胞、HBV(-)肝癌细胞的体外表型验证, 并分析其内在机制.

文章亮点

实验背景

携带乙肝病毒的肝癌患者病情恶化的速度更快, 且手术后的预后效果、5年期生存率等不理想. 停留在血液学生化指标的检测手段并不能充分了解患者治疗不理想的机制.

实验动机

转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/Smad2信号通路能够肝细胞癌的增殖和分化. 但是在同时感染乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)的情况下是否会对表达有影响报道较少.

实验目标

TGF- β 1/Smad2信号通路在调控癌细胞的生长发挥了重要作用, 本研究旨在探讨在乙肝病毒感染的肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2的表达情况及其与HBV的相关性.

实验方法

在临床病理学、影像学、血液学等检测手段的基础上确定研究对象, 通过分子生物学、蛋白质化学的方法对TGF- β 1、Smad2的表达进行检测, 并对术后患者进行定期随访, 了解预后情况.

实验结果

与癌旁组织比较, 肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量升高。感染者肝细胞癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量高于非感染者, 且TGF- β 1、Smad2表达量与HBV-DNA水平呈正相关。肝癌组织中TGF- β 1、Smad2表达量与分化程度、卫星病灶、肝硬化、TNM分期、淋巴结转移、生存期有关。

实验结论

感染HBV的肝癌患者TGF- β 1、Smad2表达量更高, 预后效果更差。TGF- β 1、Smad2的表达对肝细胞癌预后情况的判断, 以及肝细胞癌个体化治疗具有一定的临床意义。

展望前景

TGF- β 1、Smad2在调控肝癌病情发展中起到一定的作用, 尤其与感染HBV的肝癌患者的病情发展和预后生存有较大的相关性。但是机制研究还需要探讨信号通路相关分子的磷酸化水平等。

5 参考文献

- 1 毛彦杰, 李文. 长链非编码RNA CCHE1在乙型肝炎病毒感染相关肝癌组织中的表达及其临床意义. 中国现代医学杂志 2020; 30: 43-47 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.20.009]
- 2 张金辉, 吴铮, 王健, 于敬昆, 李藏妥. 肝癌组织中miR-888、miR-570表达与HBV感染的相关性. 中华医院感染学杂志 2021; 31: 2571-2574 [DOI: 10.11816/cn.ni.2021-203204]
- 3 黄亚伟, 熊莉, 窦德宇, 吕梦娟, 马玉红. 调节TGF- β 1/Smad信号通路对内质网应激状态下肝细胞癌HepG2细胞凋亡的影响. 中国应用生理学杂志 2021; 37: 266-272 [DOI: 10.12047/j.cjap.6039.2021.013]
- 4 蔡丹磊, 黄中伟, 包玉华, 姜岱山, 王亚运. 慢性阻塞性肺疾病合并肺部感染患者TGF- β 1/Smads信号通路的表达. 中华医院感染学杂志 2020; 30: 3253-3257 [DOI: 10.11816/cn.ni.2020-192149]
- 5 中国抗癌协会肝癌专业委员会; 中华医学会肝病学分会肝癌学组; 中国抗癌协会病理专业委员会; 中华医学会病理学分会消化病学组; 中华医学会外科学分会肝脏外科学组; 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会; 全国肝胆肿瘤及移植病理协作组. 原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015年版). 解放军医学杂志 2015; 40: 865-872 [DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2015.11.03]
- 6 中华医学会感染病学分会; 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版). 中华肝脏病杂志 2019; 27: 938-961 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.12.007]
- 7 张小芳, 刘志良, 蔡勇, 黄传生, 罗庆丰. HIF-1 α 、MITF、CRP、NLR在乙型肝炎病毒感染相关性肝癌中的表达及其意义. 实用癌症杂志 2021; 36: 1084-1086 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2021.07.010]
- 8 Hu Z, Zhang H, Liu W, Yin Y, Jiang J, Yan C, Wang Y, Li L. Mechanism of HBV-positive liver cancer cell exosomal miR-142-3p by inducing ferroptosis of M1 macrophages to promote liver cancer progression. *Transl Cancer Res* 2022; 11: 1173-1187 [PMID: 35706810 DOI: 10.21037/tcr-22-96]
- 9 Jia L, Gao Y, He Y, Hooper JD, Yang P. HBV induced hepatocellular carcinoma and related potential immunotherapy. *Pharmacol Res* 2020; 159: 104992 [PMID: 32505833 DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104992]

- 10 Pan S, Yu Y, Wang S, Tu B, Shen Y, Qiu Q, Liu X, Su N, Zuo Y, Luan J, Zhang JY, Shi M, Meng F, Wang FS. Correlation of HBV DNA and Hepatitis B Surface Antigen Levels With Tumor Response, Liver Function and Immunological Indicators in Liver Cancer Patients With HBV Infection Undergoing PD-1 Inhibition Combinational Therapy. *Front Immunol* 2022; 13: 892618 [PMID: 35711409 DOI: 10.3389/fimmu.2022.892618]
- 11 牛永莉, 贾晓波, 王艳. 芒柄花素调控miR-19b-3p/TGF- β /Smad2信号通路影响卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡. 沈阳药科大学学报 2021; 38: 1068-1075 [DOI: 10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2020.1202]
- 12 魏旭静, 李林, 张红真, 王景, 徐静. LncRNA CCAT1通过TGF- β /Smad信号通路对子宫内膜癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响. 吉林大学学报(医学版) 2020; 46: 1016-1022 [DOI: 10.13481/j.1671-587x.20200519]
- 13 李瑞锋, 崔燕, 曾湘晖, 李文元, 郭清民. 桔梗皂苷D基于TGF- β /Smad通路调控上皮-间质转化对子宫内腺癌Ishiwaka细胞迁移及侵袭的作用. 西部医学 2022; 34: 633-638 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.05.002]
- 14 谢云鹏, 柳新, 刘兵, 于森, 呼铁民. 脑胶质瘤人巨细胞病毒感染对TGF- β /Smads信号转导通路的影响. 中华医院感染学杂志 2021; 31: 2149-2153 [DOI: 10.11816/cn.ni.2021-203120]
- 15 Li Z, Liu H, Zhang Y, Tan H. The effect of propofol on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through TGF- β 1/Smad2 signaling pathway. *Bioengineered* 2021; 12: 4581-4592 [PMID: 34323647 DOI: 10.1080/21655979.2021.1955177]
- 16 Wang J, Fan Z, Li J, Yang J, Liu X, Cheng J. Transcription factor specificity protein 1-mediated Serine/threonine kinase 39 upregulation promotes the proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells by activating the transforming growth factor- β 1/Smad2/3 pathway. *Bioengineered* 2021; 12: 3566-3577 [PMID: 34281492 DOI: 10.1080/21655979.2021.1947939]
- 17 Yang C, Xiao Y, Du Y, Xiong J, Deng L, Liang Q, Yuan J, He C, He F, Huang X. Iodine-125 Seeds Inhibit Carcinogenesis of Hepatocellular Carcinoma Cells by Suppressing Epithelial-Mesenchymal Transition via TGF- β 1/Smad Signaling. *Dis Markers* 2022; 2022: 9230647 [PMID: 35578690 DOI: 10.1155/2022/9230647]
- 18 Mao S, Jin J, Li Z, Yang W. Knockdown of long non-coding RNA ANRIL inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of Burkitt lymphoma cells through the TGF- β 1 signaling pathway. *Mol Med Rep* 2021; 23 [PMID: 33325535 DOI: 10.3892/mmr.2020.11785]
- 19 Kim N, Ryu H, Kim S, Joo M, Jeon HJ, Lee MW, Song IC, Kim MN, Kim JM, Lee HJ. CXCR7 promotes migration and invasion in head and neck squamous cell carcinoma by upregulating TGF- β 1/Smad2/3 signaling. *Sci Rep* 2019; 9: 18100 [PMID: 31792315 DOI: 10.1038/s41598-019-54705-x]
- 20 Xue Q, Jiang H, Wang J, Wei D. LASP1 Induces Epithelial-Mesenchymal Transition in Lung Cancer through the TGF- β 1/Smad/Snail Pathway. *Can Respir J* 2021; 2021: 5277409 [PMID: 34912481 DOI: 10.1155/2021/5277409]
- 21 Cherukunnath A, Davargaon RS, Ashraf R, Kamdar U, Srivastava AK, Tripathi PP, Chatterjee N, Kumar S. KLF8 is activated by TGF- β 1 via Smad2 and contributes to ovarian cancer progression. *J Cell Biochem* 2022; 123: 921-934 [PMID: 35293014 DOI: 10.1002/jcb.30235]
- 22 Lu F, Chen S, Shi W, Su X, Wu H, Liu M. GPC1 promotes the growth and migration of colorectal cancer cells through regulating the TGF- β 1/SMAD2 signaling pathway. *PLoS One* 2022; 17: e0269094 [PMID: 35671267 DOI: 10.1371/journal.pone.0269094]
- 23 Liu J, Zhang Y, Yu C, Li J, Liu W, Luo B. Epstein-Barr Virus-Encoded Latent Membrane Protein 2A Downregulates GCNT3 via the TGF- β 1/Smad-mTORC1 Signaling Axis. *J Virol* 2021; 95 [PMID: 33658337 DOI: 10.1128/JVI.02481-20]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



浅析细胞自噬在溃疡性结肠炎发病机制中的作用

时艺榕, 郝微微, 张尔馨, 王珠环, 李乐

时艺榕, 郝微微, 张尔馨, 王珠环, 李乐, 上海中医药大学附属曙光医院 上海市 200120

时艺榕, 2022年上海中医药大学硕士在读, 研究方向为中医药防治脾胃病。

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81874450和81403362; 上海市中医优势病种培育建设项目, No. ZY(2018-20200-ZYBZ-03); 上海市中医诊疗模式创新试点建设项目, No. ZY(2018-20200-FWTX-6028)。

作者贡献分布: 细胞自噬与自噬基因相关文献由张尔馨查阅; 细胞自噬与自噬蛋白相关文献由王珠环和李乐查阅; 其余相关文献由时艺榕查阅; 本论文写作由时艺榕和郝微微完成。

通讯作者: 郝微微, 博士, 主任医师, 200120, 上海市浦东新区张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院消化内科。hwwwork@163.com

收稿日期: 2023-09-27

修回日期: 2023-11-18

接受日期: 2023-11-27

在线出版日期: 2023-12-28

Role of autophagy in pathogenesis of ulcerative colitis

Yi-Rong Shi, Wei-Wei Hao, Er-Xin Zhang, Zhu-Huan Wang, Le Li

Yi-Rong Shi, Wei-Wei Hao, Er-Xin Zhang, Zhu-Huan Wang, Le Li, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200120, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874450 and No. 81403362; Project of Cultivation and Construction of Dominant Diseases of Traditional Chinese Medicine in Shanghai, No. ZY (2018-20200-ZYBZ-03); Shanghai TCM Diagnosis and Treatment Model Innovation Pilot Construction Project, No. ZY (2018-20200-FWTX-6028)。

Corresponding author: Wei-Wei Hao, Professor, Doctor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, No. 528 Zhangheng Road, Pudong New area, Shanghai 200120, China. hwwwork@163.com

Received: 2023-09-27

Revised: 2023-11-18

Accepted: 2023-11-27

Published online: 2023-12-28

Abstract

Ulcerative colitis is a chronic idiopathic inflammatory disease involving the colorectal mucosa. It is characterized by recurrent attacks, such as abdominal pain, diarrhea, mucus, and purulent stool. At present, the pathogenesis of ulcerative colitis is not fully understood. Most scholars generally believe that the pathogenesis of ulcerative colitis is affected by genetic susceptibility, environmental factors, immune system disorders, microflora and intestinal microflora disorders, and other factors. In recent years, the concept of autophagy has gradually attracted the attention of the scientific community, and more and more scholars have begun to study the pathogenesis of ulcerative colitis on the basis of autophagy theory. This review will give an overview of cellular autophagy and discuss its role in the pathogenesis of ulcerative colitis.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Cell autophagy; Pathogenesis

Citation: Shi YR, Hao WW, Zhang EX, Wang ZH, Li L. Role of autophagy in pathogenesis of ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2023; 31(24): 1022-1028

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1022.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v31.i24.1022>

摘要

溃疡性结肠炎是病变累及结直肠黏膜的一种慢性特发性炎症性疾病, 病情特点是反复发作, 主要临床表现为腹痛、腹泻及黏液脓血便等。目前对溃疡性结肠炎的发病机制尚未完全明了, 多数学者普遍认为其发病受遗传易感性、环境因素、免疫系统紊乱、微生物组和肠道微菌群失调等因素的影响。近年来, 细胞自噬的概念逐渐受到科学界的关注, 越来越多的学者在

自噬理论的基础上开始研究溃疡性结肠炎的发病机制. 本篇综述将从细胞自噬入手浅析其在溃疡性结肠炎发病机制中的作用.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 溃疡性结肠炎; 细胞自噬; 发病机制

核心提要: 细胞自噬在维持肠道稳态、调节肠道微生物群与机体免疫等方面发挥重要作用, 自噬缺乏可激活一系列信号通路, 促进机体发生免疫应答和炎症反应, 导致溃疡性结肠炎的发生发展, 这可能与参与自噬的蛋白和基因异常有关.

文献来源: 时艺榕, 郝微微, 张尔馨, 王珠环, 李乐. 浅析细胞自噬在溃疡性结肠炎发病机制中的作用. 世界华人消化杂志 2023; 31(24): 1022-1028

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i24/1022.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i24.1022>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因和发病机制尚不十分明确的反复发作的慢性非特异性炎症性肠病, 以粘膜炎症为特征, 病变主要限于大肠黏膜与黏膜下层, 呈连续性弥漫性分布. 多从直肠开始, 逆行向近端扩展, 可累及全结肠甚至末端回肠. 临床起病多缓慢, 少数急骤偶有暴发. 病程多迁延, 呈发作与缓解期交替, 少数可持续并逐渐加重. 以反复发作的腹泻、腹痛、粘液脓血便等为临床特征^[1,2].

UC的发病机制复杂, 尚未形成统一的共识. 普遍认为疾病的发作是由于扰乱粘膜屏障、改变肠道微生物群的健康平衡和异常刺激肠道免疫反应的事件触发的, 和遗传易感、环境、免疫、微生物组和肠道菌群等密切相关^[3]. 现代科学家不断深入研究, 探索UC的发病机制, 发现细胞自噬功能障碍与肠道异常炎症有关^[4], 还会引起肠上皮细胞损伤, 调控自噬可以改善肠粘膜的功能; 而溃疡性结肠炎便是以粘膜炎症为特征, 因此细胞自噬与溃疡性结肠炎的联系值得研究. 本篇综述旨在浅析细胞自噬在溃疡性结肠炎发病机制中的作用, 为进一步阐释UC的发病机制提供新的思路.

1 细胞自噬概述

1.1 细胞自噬概念 自噬是指细胞内成分被输送到溶酶体室进行降解和再循环的复合分子途径. 细胞自噬是细胞组分降解与再利用的重要机制. 自噬有三种形式: 微自噬、伴侣介导的自噬和巨自噬. 微自噬是溶酶体膜延伸内陷细胞内容物的降解过程. 伴侣介导的自噬需要蛋

白质中的KFERQ序列进行降解, 具有这种序列的蛋白质被一种伴侣蛋白HSC70识别, 将它们带到溶酶体膜上, 被膜受体转运到溶酶体中, 并在溶酶体腔内降解^[5]. 巨自噬是一种选择性的大细胞自噬, 需要特殊的结构自噬体以包埋细胞内容物和靶向蛋白质. 自噬体与溶酶体融合, 并将其内容物输送到腔内降解. 其机制通常包括自噬体的生长发育、与溶酶体的融合以及最终的降解等一系列事件^[6]. 在这三种类型中, 巨自噬是细胞清除受损细胞器和其他相关碎片的主要或普遍的途径, 因此细胞自噬通常指的是巨自噬^[7]. 细胞自噬需要自噬(小)体和多种自噬相关的蛋白等参与和介导, 和自噬相关的基因亦有关系.

1.2 细胞自噬对维持肠道正常功能发挥作用 肠道的第一道防线是由单层上皮细胞赋予的, 肠道上皮细胞(intestinal epithelial cells, IEC)和紧密连接复合物是构成肠上皮屏障的主要组成物, IEC还建立了粘膜屏障^[8,9]. 肠上皮屏障是保护肠道微生物群稳态和最小化肠道炎症反应的重要防线^[10], 细胞自噬在保护上皮屏障功能方面起着一定的作用^[11], 其可以通过调节细胞因子来诱导IEC程序性死亡, 限制肠道炎症^[12]; 自噬调节细胞应激和保护细胞免受应激诱导的凋亡是自噬在IEC死亡中发挥作用的另一个方面^[13]. 缺陷的细胞自噬可能导致IEC过度死亡, 而防止细胞死亡对维持功能性的肠上皮屏障是至关重要的^[11]. 肠道对细菌毒素和病原体的防御是由紧密连接蛋白控制的^[14], 自噬介导的调节紧密连接蛋白正常功能有助于维持肠道屏障作用^[13]. 紧密连接蛋白的破坏会导致肠道通透性增加, 有研究表明细胞自噬可通过诱导紧密连接蛋白降解降低肠上皮紧密连接通透性, 从而维持肠道功能^[9].

细胞自噬和肠道菌群之间存在相互作用的关系, 细胞自噬功能失调与肠道菌群失调有关. 自噬通过限制侵入性病原体从肠腔向肠外部位的传播抑制其在肠道微生物群中的持久性^[15]. 有实验发现自噬缺乏的小鼠肠道菌群失调, 微生物群组成改变, 多样性降低, 控制炎症反应的菌群数量减少; 粪便微生物群组成改变, 细菌总数增加, 促炎细菌群富集^[16]. 覆盖在肠道上皮、由高度糖基化蛋白(粘蛋白)组成的粘液层是限制腔内微生物与上皮接触的重要物理屏障^[17], 在维持宿主与肠道微生物的共生关系中起着关键作用^[18]. 粘液通过杯状细胞分泌到肠腔, 而自噬可调节杯状细胞的分泌功能从而维持肠道菌群的稳态. Yeom等^[19]认为: 肠道菌群中的部分有益菌可刺激细胞自噬促进杯状细胞的粘蛋白生成. 自噬和自噬相关蛋白亦可通过调节肠细胞、免疫细胞等释放一些抗菌化合物到肠腔影响肠道微生物群的组成等^[20].

细胞自噬在维持肠道免疫稳态中的作用被广泛研

究. 自噬可调节天然免疫和适应性免疫细胞功能从而影
响免疫应答的结果. 其可促进免疫细胞如中性粒细胞、
单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞等, 包括非典型免疫
细胞, 如上皮细胞、内皮细胞和间充质细胞参与固有免
疫应答^[21]. 亦可通过调节CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、调
节性T(Treg)细胞、Th17细胞等多种T细胞诱导适应性免
疫应答并使之处于平衡, 保护肠道免受侵袭^[13]. 细胞自
噬还可通过破坏免疫突触的稳定性负向调节适应性免
疫反应^[22]. Sun等^[23]发现细胞自噬具有介导触发和调节先
天免疫和适应性免疫应答的关键功能, 如抗原提呈、细
胞因子分泌和抗菌肽产生等.

正常状态下, 细胞自噬在维持肠道稳态、调节肠道
微生物群与天然免疫和适应性免疫的相互作用以及宿
主防御肠道病原体等方面发挥重要作用^[24]. 因此, 细胞
自噬功能失调可能会引起肠道稳态的失衡和功能障
碍等, 从而导致肠道疾病的发生.

2 细胞自噬在溃疡性结肠炎发病机制中的作用

大量研究表明细胞自噬的缺乏与UC的发生发展有着很
大的联系, 其可通过诱发肠道功能紊乱和肠道炎症导致
UC的发生发展^[25]. 机体氧化应激, 细胞发生自噬, 包括通
过激活一系列信号通路, 引起信号转导级联反应, 分泌
促炎因子, 发生免疫应答和炎症反应. 因此, 我们发现UC
会出现细胞自噬功能的障碍, 与多种蛋白、基因的表达
异常, 信号通路激活导致过度的免疫和炎症反应等有关.
但细胞自噬在UC的发病机制中究竟扮演怎样的角色以
及发挥怎样的作用仍值得我们不断深入探索和总结.

2.1 UC和自噬体及参与自噬的蛋白之间的关系 细胞
自噬离不开很多蛋白的参与和调节, 其最后的过程是
自噬体与溶酶体融合后, 溶酶体酶降解并回收包裹的
物质^[26]. 其中自噬体的形成以分层的方式涉及一组自
噬相关蛋白(autophagy-related proteins, ATG). ATG参与调
节自噬的起始以及延伸阶段, 为一类自噬组成蛋白. 自
噬相关基因微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated
protein 1 light chain 3, LC3)前体分子被蛋白酶ATG4剪
去C端的5肽, 裂解形成胞浆型LC3(LC3-I). ATG9和
ATG8的募集促进了吞噬细胞膜的扩张^[27], 在泛素激活
酶ATG7、泛素结合酶ATG3和泛素连接酶复合物ATG5-
ATG12-ATG16L作用下, LC3-I与膜脂磷脂酰乙醇胺结
合而被活化^[28], 转变为膜型LC3(LC3-II). 在吞噬细胞中
插入LC3-II完成自噬体的伸长和成熟. 因此, LC3参与自
噬体形成到成熟的全部过程, 是自噬过程中最重要的蛋
白质分子. 同时, ATG12与ATG5的结合对于LC3脂质化
和自噬体的形成也是必不可少的. LC3是自噬标志物, 通
常以LC3-II/LC3-I的比值来判断自噬水平的高低^[29,30].

邓慧君等发现ATG7在小鼠结肠组织中的表达下降, 与
临床UC患者血清中ATG7降低的检测结果一致^[31,32].

此外, 泛素结合蛋白62(sequestosome 1, p62)在自噬
体与溶酶体融合后赋予自噬降解的选择性^[33]. p62作为自
噬底物可与泛素化蛋白及LC3-II结合, 从而参与自噬体
形成, 而p62本身与异常蛋白质结合可进入溶酶体中降
解. 因此p62能够反映自噬活性^[34]. 自噬相关因子肌球
蛋白样BCL2结合蛋白(myosin-like BCL2 interacting protein,
Beclin-1)Beclin-1复合物是自噬途径中最重要的蛋白质
复合物之一. ATG14可以通过正调控Beclin-1复合物促进
自噬体的产生; 该复合体亦可促进自噬小体膜的形成与
延伸^[35,36].

研究表明UC以参与自噬的蛋白LC3-II/LC3-I比
值、Beclin-1表达增加, p62蛋白的表达减少为特征^[37],
自噬相关蛋白ATG表达以降低为主. 当然, 参与自噬的
蛋白不胜枚举, 最具有代表性的就是LC3-II/LC3-I、
Beclin-1、p62以及ATG家族. 参与自噬的蛋白表达异常
会抑制细胞自噬, 从而引起UC的发生.

2.2 UC和自噬相关基因的关系 micro RNA(mi RNA)是
非编码RNA中的一员, 可以从转录后水平影响蛋白的合
成. mi RNA在细胞自噬发生过程的不同阶段中起到重
要的作用, 可通过对下游靶基因表达的调控, 参与机体
慢性炎症反应^[38]. SCHAEFER等先使用寡核苷酸微阵列
筛选出具有研究意义的自噬基因, 再通过qRT-PCR等分
析发现mi R-21、mi R-31和mi R-142在UC患者的结肠组
织、外周血、唾液中升高^[39]. 曹勇等^[40]发现mi R-26a的
表达在UC患者组织及血清中明显升高. Xu等^[41]研究表
明, miR-29a可直接靶向ATG9A抑制细胞自噬, 并间接影
响Beclin-1、ATG5、ATG16L1的表达, 抑制细胞自噬参
与UC的调节.

此外, 与自噬相关蛋白相对应的自噬相关基因
(autophagy-related genes, ATG)亦可调控细胞自噬, 其在
UC结肠组织的表达中有所改变. Beclin-1基因是哺乳动
物中第一个被确认的自噬调控基因, 它通过与磷脂酰
肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)结合形成
复合物, 主要在自噬早期阶段的形成中发挥作用^[42]. 陆
嘉伟^[43]从GEO数据库中挖掘490个UC相关结肠标本, 采
用加权相关网络分析的方法分析基因与疾病严重性的
关系, 利用CIBERSORT免疫浸润分析免疫细胞谱与自
噬调节基因的相关性, 结果发现促自噬的关键基因如
ATG5、Beclin-1、LC3等与UC严重程度呈负相关, 而且
和组织中浸润促炎细胞的浸润呈负相关; 抑制自噬的关
键基因如雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,
mTOR)、丝氨酸/苏氨酸激酶(protein kinase B, AKT)与
UC的进展呈正相关. 邓慧君等^[32]在实验中也发现, 葡聚

糖硫酸钠盐(dextran sulfate sodium salt, DSS)诱导的UC小鼠结肠组织中自噬相关基因LC3-b、P62以及ATG7均表达下降. 为了确定ATG16L1基因多态性在UC中的作用, Palomino-Morales等^[44]研究了425名UC患者以及相匹配对照组的ATG16L1 G等位基因进行Meta分析, 表明自噬相关基因ATG16L1变异与UC的发病存在相关性.

2.3 UC中细胞自噬和炎症反应的关系 细胞自噬受上游蛋白激酶mTOR的负调控, mTOR是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 由mTOR复合物1和mTOR复合物2组成. 越来越多的证据表明, mTOR复合物1的激活与多种复杂的信号通路有关, 包括下游的炎症反应^[45,46]. 核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路是免疫及炎症反应的经典通路; 研究发现UC的发生与PI3K/AKT/mTOR、NF- κ B等信号通路的过度激活相关^[47,48]. Cosin-Roger等^[45]采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导BALB/c小鼠、人结肠腺癌细胞株Caco-2和HT-29细胞发生实验性结肠炎和氧化应激, 结果显示上游Toll样受体4(toll-like receptor4, TLR4)信号通路激活mTOR并抑制自噬, 从而使mTOR依赖的自噬下游NF- κ B被激活, 导致抗炎性细胞因子的产生和氧化应激. 此外, 在活动性UC患者的大肠组织中进一步证实发生了mTOR磷酸化和自噬相关蛋白的功能异常, TLR4-MYD88-MAPK信号通路和NF- κ B通路参与了UC的异常调节. 体外和体内研究进一步表明在UC的发病机制中, TLR4-MYD88-MAPK信号转导和NF- κ B通路与细胞依赖性自噬的调节异常有关^[4,49]. Dong等^[48]通过LPS诱导的UC细胞模型和DSS诱导的UC小鼠模型发现PI3K/Akt/mTOR信号通路被激活, 肠道菌群失调. 同时阻断DSS诱导的急性UC小鼠PI3K/AKT/mTOR信号通路激活, 结果促进细胞自噬, 抑制了炎症细胞因子的分泌, 肠上皮屏障功能修复, 肠道菌群得到调节, 调控了Th17/Treg免疫细胞的平衡^[50]. 腺苷酸激活蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)是自噬调控的重要因子, 亦有实验表明可通过调控AMPK/mTOR信号通路促进UC细胞的自噬, 降低UC结肠粘膜的氧化应激^[51,52]. 因此, 我们有理由认为细胞自噬的异常使mTOR相关的信号通路过度激活, 促进炎症反应, 从而导致UC的发生.

NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)炎症小体是一个多分子复合体, 激活后启动促炎细胞因子白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 和IL-18的分裂和分泌. IL-1 β 通过直接诱导IL-2表达和招募中性粒细胞来增强炎症级联和释放其他促炎细胞因子和趋化因子: 如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和IL-6来加速炎症; 而IL-18则促进干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)的释放,

从而促进Th1细胞的增殖, 进一步调节炎症^[53,54]. UC中NLRP3上游启动信号被刺激, 激活NLRP3炎症小体相关通路, 从而发生炎症反应. 主要的信号通路有TLR4/NF- κ B/NLRP3通路、mi RNAs/NLRP3通路等^[55,56]. 同时, 越来越多的证据表明NLRP3炎症小体和细胞自噬途径通过相互调节联系在一起, 自噬途径被抑制可增强NLRP3炎症小体的激活^[57,58]. 正常情况下, 细胞自噬可以去除NLRP3炎症小体激活因子, NLRP3炎症小体可被自噬小体吞噬和降解^[58], NLRP3的降解也是通过自噬进行的^[59]. 而NLRP3可以与Beclin-1相互作用调节细胞自噬; NLRP3炎症小体的信号通路也可以调节细胞自噬的过程^[60]. 在大量证据的基础上推测UC的发生与细胞自噬的抑制作用, 可能与NLRP3炎症小体的信号通路被激活, 导致一系列炎症反应有关.

Slit是在免疫系统中表达的糖蛋白^[61], Slit可以与环形受体Robo结合以激活Slit/Robo信号^[62]. Zhou等^[63]发现Slit2和Robo1特异性地表达于肠隐窝的LGR5+干细胞中, 促进LGR5+干细胞向上皮细胞分化以维持肠道的完整性. Xie研究表明^[64]Slit2/Robo1信号参与调节LGR5+干细胞的自噬过程, 使促炎性细胞因子过量产生, 导致炎症反应, 从而影响UC的发生发展等.

很多信号通路通过调控细胞自噬参与了UC的过程, 发挥着重要作用. 细胞自噬的缺乏会引起一系列信号通路异常, 引发炎症反应, 从而导致UC的发生.

3 结论

UC是胃肠道难治的慢性炎症性疾病. 其特点是复发性和弥漫性黏膜炎症, 从直肠开始, 持续延伸到结肠近端^[65]. 流行病学研究表明, UC的发病率和患病率在西方国家乃至一些亚洲国家都呈上升趋势, 病情迁延难愈^[66]. 临床以腹痛, 腹泻, 粘液脓血便等为主要表现. 现代研究认为遗传易感性、上皮屏障破坏、肠道菌群失调等因素导致的免疫反应紊乱和炎症信号异常等是其发生发展的主要原因, 但对UC的确切病因和发病机制尚不清楚^[67]. 其中, 细胞自噬逐渐进入科学家的视野, 对其研究也越来越多, 细胞自噬或将成为治疗UC新的靶点.

本篇综述介绍了细胞自噬在维持肠道稳态、调节肠道微生物群与天然免疫和适应性免疫、宿主防御肠道病原体等方面发挥重要作用, 自噬缺乏可激活一系列信号通路, 引起信号转导级联反应, 分泌促炎因子, 发生免疫应答和炎症反应, 诱发肠道功能紊乱和肠道炎症导致UC的发生发展, 这与参与自噬的蛋白和基因异常密切相关. 在探讨UC与自噬和炎症反应的关系时, 有大量证据证明UC与炎症有关, 自噬抑制会导致炎症反应, 从而推断三者之间的联系, 但细胞自噬、炎症反应和UC

的确切关系值得更深入的研究证实。此外, Slit2/Robo1等信号通路研究不多, 有待进一步探索和验证。

当然, 细胞自噬只是UC发病机制中的一个因素, 每个个体基因的不同、所处环境的差异、生活习惯的区别等使得UC的发生发展是多个因素共同作用的综合结果。一些研究者在参与自噬的信号通路基础上研究治疗UC药物的作用机制, 比如基于AMPK/mTOR信号通路探讨白头翁汤、黄柏碱、薯蓣皂甙等对UC的治疗效果^[51,52,68], 载卡格列净壳聚糖-透明质酸微球通过调节AMPK NF- κ B/NLRP3轴治疗UC或将成为一个新模式^[69]。未来在细胞自噬的基础上研发治疗UC的新药将成为一个新思路。细胞自噬在其他领域如肿瘤、心血管、神经退行性疾病等已成为研究热点, 其在炎症性肠病发病机制中的作用也逐渐受到重视, 在不影响其他生物过程的情况下严格选择自噬途径或靶点是基于自噬的炎症性肠病治疗策略的关键。未来, 还需进一步验证自噬作为炎症性肠病治疗靶点的适用性, 并确定其有效性和可行性。

4 参考文献

- Segal JP, LeBlanc JF, Hart AL. Ulcerative colitis: an update. *Clin Med (Lond)* 2021; 21: 135-139 [PMID: 33762374 DOI: 10.7861/clinmed.2021-0080]
- 葛均波, 徐永建, 王辰. 《内科学》第九版. 人民卫生出版社 2018; 6
- Porter RJ, Kalla R, Ho GT. Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Res* 2020; 9 [PMID: 32399194 DOI: 10.12688/f1000research.20805.1]
- Zhou M, Xu W, Wang J, Yan J, Shi Y, Zhang C, Ge W, Wu J, Du P, Chen Y. Boosting mTOR-dependent autophagy via upstream TLR4-MyD88-MAPK signalling and downstream NF- κ B pathway quenches intestinal inflammation and oxidative stress injury. *EBioMedicine* 2018; 35: 345-360 [PMID: 30170968 DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.08.035]
- Gomes LR, Menck CFM, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy prevents cellular transformation by regulating MYC proteasomal degradation. *Autophagy* 2017; 13: 928-940 [PMID: 28410006 DOI: 10.1080/15548627.2017.1293767]
- Feng Y, He D, Yao Z, Klionsky DJ. The machinery of macroautophagy. *Cell Res* 2014; 24: 24-41 [PMID: 24366339 DOI: 10.1038/cr.2013.168]
- Ravanan P, Srikumar IF, Talwar P. Autophagy: The spotlight for cellular stress responses. *Life Sci* 2017; 188: 53-67 [PMID: 28866100 DOI: 0.1016/j.lfs.2017.08.029]
- Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 141-153 [PMID: 24566914 DOI: 10.1038/nri3608]
- Ganapathy AS, Saha K, Suchanec E, Singh V, Verma A, Yochum G, Koltun W, Nighot M, Ma T, Nighot P. AP2M1 mediates autophagy-induced CLDN2 (claudin 2) degradation through endocytosis and interaction with LC3 and reduces intestinal epithelial tight junction permeability. *Autophagy* 2022; 18: 2086-2103 [PMID: 34964704 DOI: 10.1080]
- Barker N. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 19-33 [PMID: 24326621 DOI: 10.1038/nrm3721]
- Larabi A, Barnich N, Nguyen HTT. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD. *Autophagy* 2020; 16: 38-51 [PMID: 31286804 DOI: 10.1080/15548627.2019.1635384]
- Matsuzawa-Ishimoto Y, Shono Y, Gomez LE, Hubbard-Lucey VM, Cammer M, Neil J, Dewan MZ, Lieberman SR, Lazrak A, Marinis JM, Beal A, Harris PA, Bertin J, Liu C, Ding Y, van den Brink MRM, Cadwell K. Autophagy protein ATG16L1 prevents necroptosis in the intestinal epithelium. *J Exp Med* 2017; 214: 3687-3705 [PMID: 29089374 DOI: 10.1084/jem.20170558]
- Foerster EG, Mukherjee T, Cabral-Fernandes L, Rocha JDB, Girardin SE, Philpott DJ. How autophagy controls the intestinal epithelial barrier. *Autophagy* 2022; 18: 86-103 [PMID: 33906557 DOI: 10.1080/15548627.2021.1909406]
- Nighot PK, Hu CA, Ma TY. Autophagy enhances intestinal epithelial tight junction barrier function by targeting claudin-2 protein degradation. *J Biol Chem* 2015; 290: 7234-7246 [PMID: 25616664 DOI: 10.1074/jbc.M114.597492]
- Bretin A, Carrière J, Dalmasso G, Bergougnoux A, B'chir W, Maurin AC, Müller S, Seibold F, Barnich N, Bruhat A, Darfeuille-Michaud A, Nguyen HT. Activation of the EIF2AK4-EIF2A/eIF2 α -ATF4 pathway triggers autophagy response to Crohn disease-associated adherent-invasive Escherichia coli infection. *Autophagy* 2016; 12: 770-783 [PMID: 26986695 DOI: 10.1080/15548627.2016.1156823]
- Tsuboi K, Nishitani M, Takakura A, Imai Y, Komatsu M, Kawashima H. Autophagy Protects against Colitis by the Maintenance of Normal Gut Microflora and Secretion of Mucus. *J Biol Chem* 2015; 290: 20511-20526 [PMID: 26149685 DOI: 10.1074/jbc.M114.632257]
- Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut* 2020; 69: 2232-2243 [PMID: 32917747 DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322260]
- Wu M, Wu Y, Li J, Bao Y, Guo Y, Yang W. The Dynamic Changes of Gut Microbiota in Muc2 Deficient Mice. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 30231491 DOI: 10.3390/ijms19092809]
- Yeom J, Ma S, Lim YH. Oxysresveratrol Induces Autophagy via the ER Stress Signaling Pathway, and Oxysresveratrol-Induced Autophagy Stimulates MUC2 Synthesis in Human Goblet Cells. *Antioxidants (Basel)* 2020; 9 [PMID: 32150901 DOI: 10.3390/antiox9030214]
- Lapaquette P, Bizeau JB, Acar N, Bringer MA. Reciprocal interactions between gut microbiota and autophagy. *World J Gastroenterol* 2021; 27: 8283-8301 [PMID: 35068870 DOI: 10.3748/wjg.v27.i48.8283]
- Brazil JC, Louis NA, Parkos CA. The role of polymorphonuclear leukocyte trafficking in the perpetuation of inflammation during inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1556-1565 [PMID: 23598816 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318281f54e]
- Wildenberg ME, Vos AC, Wolfkamp SC, Duijvestein M, Verhaar AP, Te Velde AA, van den Brink GR, Hommes DW. Autophagy attenuates the adaptive immune response by destabilizing the immunologic synapse. *Gastroenterology* 2012; 142: 1493-503.e6 [PMID: 22370477 DOI: 0.1053/j.gastro]
- Sun M, He C, Cong Y, Liu Z. Regulatory immune cells in regulation of intestinal inflammatory response to microbiota. *Mucosal Immunol* 2015; 8: 969-978 [PMID: 26080708 DOI: 10.1038/mi.2015.49]
- Mizushima N. A brief history of autophagy from cell biology to physiology and disease. *Nat Cell Biol* 2018; 20: 521-527 [PMID: 29686264 DOI: 10.1038/s41556-018-0092-5]
- Kubota M, Kakimoto K, Nakagawa T, Koubayashi E, Nakazawa K, Tawa H, Hirata Y, Okada T, Kawakami K, Asai A, Hosomi S, Takeuchi T, Fukunishi S, Inoue T, Asahi M, Higuchi K. Autophagy deficiency exacerbates colitis through excessive oxidative stress and MAPK signaling pathway activation. *PLoS One* 2019; 14: e0225066 [PMID: 31703091 DOI: 10.1371/journal.pone.0225066]

- 26 Engedal N, Seglen PO. Autophagy of cytoplasmic bulk cargo does not require LC3. *Autophagy* 2016; 12: 439-441 [PMID: 26237084 DOI: 10.1080/15548627.2015.107660]
- 27 Lamb CA, Yoshimori T, Tooze SA. The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 759-774 [PMID: 24201109 DOI: 10.1038/nrm3696]
- 28 Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2011; 27: 107-132 [PMID: 21801009 DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005]
- 29 郑知强. 氧化苦参碱介导细胞自噬减轻溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜氧化性损伤的作用机制研究. *中国现代应用药学* 2019; 36: 2014-2019 [DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.16.006]
- 30 Ohnstad AE, Delgado JM, North BJ, Nasa I, Kettenbach AN, Schultz SW, Shoemaker CJ. Receptor-mediated clustering of FIP200 bypasses the role of LC3 lipidation in autophagy. *EMBO J* 2020; 39: e104948 [PMID: 33226137 DOI: 10.15252/embj.2020104948]
- 31 Lankarani KB, Sepehrimanesh M, Seghatoleslam SF, Hoseini SE, Ghavami S. Autophagy-related protein 7 level in patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2017; 52: 468 [PMID: 27881025 DOI: 10.1080/00365521.2016.1259655]
- 32 邓慧君, 顾取良, 陈佳园, 邹一贺, 王丽京, 李卫东. 自噬相关因子在DSS诱导的溃疡性结肠炎中的作用. *广东药科大学学报* 2018; 34: 233-238 [DOI: 10.16809/j.cnki.2096-3653.2017120501]
- 33 Rogov V, Dötsch V, Johansen T, Kirkin V. Interactions between autophagy receptors and ubiquitin-like proteins form the molecular basis for selective autophagy. *Mol Cell* 2014; 53: 167-178 [PMID: 24462201 DOI: 10.1016/j.molcel.2013.12.014]
- 34 Moscat J, Diaz-Meco MT. p62 at the crossroads of autophagy, apoptosis, and cancer. *Cell* 2009; 137: 1001-1004 [PMID: 19524504 DOI: 10.1016/j.cell.2009.05.023]
- 35 Funderburk SF, Wang QJ, Yue Z. The Beclin 1-VPS34 complex--at the crossroads of autophagy and beyond. *Trends Cell Biol* 2010; 20: 355-362 [PMID: 20356743 DOI: 10.1016/j.tcb.2010.03.002]
- 36 Li X, Yang KB, Chen W, Mai J, Wu XQ, Sun T, Wu RY, Jiao L, Li DD, Ji J, Zhang HL, Yu Y, Chen YH, Feng GK, Deng R, Li JD, Zhu XF. CUL3 (hullin 3)-mediated ubiquitination and degradation of BECN1 (beclin 1) inhibit autophagy and promote tumor progression. *Autophagy* 2021; 17: 4323-4340 [PMID: 33977871 DOI: 10.1080/15548627.2021.1912270]
- 37 Kim KH, Lee MS. Autophagy--a key player in cellular and body metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10: 322-337 [PMID: 24663220 DOI: 10.1038/nrendo.2014.35]
- 38 Liguori M, Nuzziello N, Licciulli F, Consiglio A, Simone M, Viterbo RG, Creanza TM, Ancona N, Tortorella C, Margari L, Grillo G, Giordano P, Liuni S, Trojano M. Combined microRNA and mRNA expression analysis in pediatric multiple sclerosis: an integrated approach to uncover novel pathogenic mechanisms of the disease. *Hum Mol Genet* 2018; 27: 66-79 [PMID: 29087462 DOI: 10.1093/hmg/ddx385]
- 39 Schaefer JS, Attumi T, Opekun AR, Abraham B, Hou J, Shelby H, Graham DY, Streckfus C, Klein JR. MicroRNA signatures differentiate Crohn's disease from ulcerative colitis. *BMC Immunol* 2015; 16: 5 [PMID: 25886994 DOI: 10.1186/s12865-015-0069-0]
- 40 曹勇, 王东旭, 孙妍, 杨俊, 张营, 郑长清. miR-26a在溃疡性结肠炎中的表达及对自噬的影响. *中国医科大学学报* 2018; 47: 807-811 [DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2018.09.009]
- 41 Xu Y, Yang J, Li F, Lian G, Ouyang M. MiR-29a inhibited intestinal epithelial cells autophagy partly by decreasing ATG9A in ulcerative colitis. *Anticancer Drugs* 2018; 29: 652-659 [PMID: 29916896 DOI: 10.1097/CAD.0000000000000636]
- 42 Ahn CH, Jeong EG, Lee JW, Kim MS, Kim SH, Kim SS, Yoo NJ, Lee SH. Expression of beclin-1, an autophagy-related protein, in gastric and colorectal cancers. *APMIS* 2007; 115: 1344-1349 [PMID: 18184403 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.00858.x]
- 43 陆嘉伟. 自噬相关基因mTOR介导溃疡性结肠炎炎症作用. *浙江大学* 2021; 3 [DOI: 10.27461/d.cnki.gzjdx.2021.003614]
- 44 Palomino-Morales RJ, Oliver J, Gómez-García M, López-Nevot MA, Rodrigo L, Nieto A, Alizadeh BZ, Martín J. Association of ATG16L1 and IRGM genes polymorphisms with inflammatory bowel disease: a meta-analysis approach. *Genes Immun* 2009; 10: 356-364 [PMID: 19491842 DOI: 10.1038/gene.2009.25]
- 45 Cosin-Roger J, Simmen S, Melhem H, Atrott K, Frey-Wagner I, Hausmann M, de Vallière C, Spalinger MR, Spielmann P, Wenger RH, Zeitz J, Vavricka SR, Rogler G, Ruiz PA. Hypoxia ameliorates intestinal inflammation through NLRP3/mTOR downregulation and autophagy activation. *Nat Commun* 2017; 8: 98 [PMID: 28740109 DOI: 10.1038/s41467-017-00213-3]
- 46 Newton PT, Vuppapapati KK, Boudierlique T, Chagin AS. Pharmacological inhibition of lysosomes activates the MtorC1 signaling pathway in chondrocytes in an autophagy-independent manner. *Autophagy* 2015; 11: 1594-1607 [PMID: 26259639 DOI: 10.1080/15548627.2015.1068489]
- 47 赵增强. 半夏泻心汤对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中TLRs/NF-κB通路相关因子表达的影响. *中国药房* 2017; 28: 3095-3098 [DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.19]
- 48 Dong L, Du H, Zhang M, Xu H, Pu X, Chen Q, Luo R, Hu Y, Wang Y, Tu H, Zhang J, Gao F. Anti-inflammatory effect of Rhein on ulcerative colitis via inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and regulating gut microbiota. *Phytother Res* 2022; 36: 2081-2094 [PMID: 35229916 DOI: 10.1002/ptr.7429]
- 49 Taniguchi K, Karin M. IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *Semin Immunol* 2014; 26: 54-74 [PMID: 24552665 DOI: 10.1016/j.smim.2014.01.001]
- 50 He H, Chen Q, Fan H, Leng XY, Zhu F, Gao F, Zhou Q, Dong Y, Yang J. Extracellular vesicles produced by bone marrow mesenchymal stem cells overexpressing programmed death-ligand 1 ameliorate dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis in rats by regulating Th17/Treg cell balance through PTEN/PI3K/AKT/mTOR axis. *J Gastroenterol Hepatol* 2022; 37: 2243-2254 [PMID: 36044618 DOI: 10.1111/jgh.15987]
- 51 Su S, Wang X, Xi X, Zhu L, Chen Q, Zhang H, Qin Y, Yang B, Che N, Cao H, Zhong W, Wang B. Phellodendrine promotes autophagy by regulating the AMPK/mTOR pathway and treats ulcerative colitis. *J Cell Mol Med* 2021; 25: 5707-5720 [PMID: 34002930 DOI: 10.1111/jcmm.16587]
- 52 Li H, Pang B, Nie B, Qu S, Zhang K, Xu J, Yang M, Liu J, Li S. Dioscin promotes autophagy by regulating the AMPK-mTOR pathway in ulcerative colitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2022; 44: 238-246 [PMID: 35174751 DOI: 10.1080/08923973.2022.2037632]
- 53 Jo EK, Kim JK, Shin DM, Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol* 2016; 13: 148-159 [PMID: 26549800 DOI: 10.1038/cmi.2015.95]
- 54 Drummond RA, Swamydas M, Oikonomou V, Zhai B, Dambuza IM, Schaefer BC, Bohrer AC, Mayer-Barber KD, Lira SA, Iwakura Y, Filler SG, Brown GD, Hube B, Naglik JR, Hohl TM, Lionakis MS. CARD9(+) microglia promote antifungal immunity via IL-1β- and CXCL1-mediated neutrophil recruitment. *Nat Immunol* 2019; 20: 559-570 [PMID: 30996332 DOI: 10.1038/s41590-019-0377-2]
- 55 Luo M, Yan D, Sun Q, Tao J, Xu L, Sun H, Zhao H. Ginsenoside Rg1 attenuates cardiomyocyte apoptosis and inflammation via the TLR4/NF-κB/NLRP3 pathway. *J Cell Biochem* 2020; 121: 2994-3004 [PMID: 31709615 DOI: 10.1002/jcb.29556]
- 56 Qu S, Shen Y, Wang M, Wang X, Yang Y. Suppression of miR-21 and miR-155 of macrophage by cinnamaldehyde ameliorates ulcerative colitis. *Int Immunopharmacol* 2019; 67: 22-34 [PMID: 30530166 DOI: 10.1016/j.intimp.2018.11.045]
- 57 Schroder K, Zhou R, Tschopp J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger? *Science* 2010; 327: 296-300 [PMID: 20075245 DOI: 10.1126/science.1184003]
- 58 Shi CS, Shenderov K, Huang NN, Kabat J, Abu-Asab M, Fitzgerald KA, Sher A, Kehrl JH. Activation of autophagy by

- inflammatory signals limits IL-1 β production by targeting ubiquitinated inflammasomes for destruction. *Nat Immunol* 2012; 13: 255-263 [PMID: 22286270 DOI: 10.1038/ni.2215]
- 59 Kimura T, Jain A, Choi SW, Mandell MA, Schroder K, Johansen T, Deretic V. TRIM-mediated precision autophagy targets cytoplasmic regulators of innate immunity. *J Cell Biol* 2015; 210: 973-989 [PMID: 26347139 DOI: 10.1083/jcb.201503023]
 - 60 Jounai N, Kobiyama K, Shiina M, Ogata K, Ishii KJ, Takeshita F. NLRP4 negatively regulates autophagic processes through an association with beclin1. *J Immunol* 2011; 186: 1646-1655 [PMID: 21209283 DOI: 10.4049/jimmunol.1001654]
 - 61 Dunwell TL, Dickinson RE, Stankovic T, Dallol A, Weston V, Austen B, Catchpole D, Maher ER, Latif F. Frequent epigenetic inactivation of the SLIT2 gene in chronic and acute lymphocytic leukemia. *Epigenetics* 2009; 4: 265-269 [PMID: 19550140 DOI: 10.4161/epi.9137]
 - 62 Tong M, Jun T, Nie Y, Hao J, Fan D. The Role of the Slit/Robo Signaling Pathway. *J Cancer* 2019; 10: 2694-2705 [PMID: 31258778 DOI: 10.7150/jca.31877]
 - 63 Zhou WJ, Geng ZH, Spence JR, Geng JG. Induction of intestinal stem cells by R-spondin 1 and Slit2 augments chemoradioprotection. *Nature* 2013; 501: 107-111 [PMID: 23903657 DOI: 10.1038/nature12416]
 - 64 Xie J, Li L, Deng S, Chen J, Gu Q, Su H, Wen L, Wang S, Lin C, Qi C, Zhang Q, Li J, He X, Li W, Wang L, Zheng L. Slit2/Robo1 Mitigates DSS-induced Ulcerative Colitis by Activating Autophagy in Intestinal Stem Cell. *Int J Biol Sci* 2020; 16: 1876-1887 [PMID: 32398956 DOI: 10.7150/ijbs.42331]
 - 65 Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet* 2017; 389: 1756-1770 [PMID: 27914657 DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32126-2]
 - 66 Wei SC, Sollano J, Hui YT, Yu W, Santos Estrella PV, Llamado LJQ, Koram N. Epidemiology, burden of disease, and unmet needs in the treatment of ulcerative colitis in Asia. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2021; 15: 275-289 [PMID: 33107344 DOI: 10.1080/17474124.2021.1840976]
 - 67 Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of Disease: Inflammatory Bowel Diseases. *Mayo Clin Proc* 2019; 94: 155-165 [PMID: 30611442 DOI: 10.1016/j.mayocp.2018.09.013]
 - 68 Pan SM, Wang CL, Hu ZF, Zhang ML, Pan ZF, Zhou RY, Wang XJ, Huang SW, Li YY, Wang Q, Luo X, Zhou L, Hou JT, Chen B. Baitouweng decoction repairs the intestinal barrier in DSS-induced colitis mice via regulation of AMPK/mTOR-mediated autophagy. *J Ethnopharmacol* 2024; 318: 116888 [PMID: 37437793 DOI: 10.1016/j.jep.2023.116888]
 - 69 Nasr M, Cavalu S, Saber S, Youssef ME, Abdelhamid AM, Elagamy HI, Kamal I, Gaafar AGA, El-Ahwany E, Amin NA, Girgis S, El-Sandarosy R, Mahmoud F, Rizk H, Mansour M, Hasaballah A, El-Rafi AA, El-Azez RA, Essam M, Mohamed D, Essam N, Mohammed OA. Canagliflozin-loaded chitosan-hyaluronic acid microspheres modulate AMPK/NF- κ B/NLRP3 axis: A new paradigm in the rectal therapy of ulcerative colitis. *Biomed Pharmacother* 2022; 153: 113409 [PMID: 36076534 DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113409]

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 © 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-3991568

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密密度, 例如6347意指6000分之一的精密密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可1次完成, 不得多次完成, 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写, 如1985年4月12日可写作1985-04-12; 1985年4月写作1985-04; 从1985年4月12日23

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

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

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

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

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

3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

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

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

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

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字。摘要包括背景、目的、方法、结果和结论。背景应简要阐述研究的基本原理和设想。目的应阐明研究所

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

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

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

0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法

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

2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论

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

解分别叙述, 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。
A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G:…。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用^a $P<0.05$ 或^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则用^c $P<0.05$ 和^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$ 和^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献

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

4 手稿英文摘要书写要求

4.1 题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

首字母大写; 双名之间用半字线“-”分开; 多作者时姓名间加逗号。格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

4.3 单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码, 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

4.4 基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801.

4.5 通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

4.6 摘要 英文摘要包括背景、目的、方法、结果和结论, 书写要求与中文摘要一致。

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

5 手稿写作格式实例

5.1 病例报告写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/224>

5.2 基础研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/225>

5.3 临床实践写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/227>

5.4 临床研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/228>

5.5 述评写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/229>

5.6 文献综述写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/230>

5.7 研究快报写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/231>



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

