

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

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 1 月 8 日      第 21 卷      第 1 期      (Volume 21 Number 1)**



**1 / 2013**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思凤教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

季国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

庾必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王艳艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凜教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云南教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授



汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰璜教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泱副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯凤刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李媛教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赓宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 1 月 8 日 第 21 卷 第 1 期 (总第405期)

## 述 评

- 1 鹅大肠杆菌性腹泻的研究进展  
刘洋, 任晓峰, 吴金花, 布日额, 薛晓阳
- 6 SIRT1与肿瘤的研究进展  
张广, 吴俊华

## 基 础 研 究

- 13 阿司匹林对HT-29、SW480结肠癌细胞株CD133表达的影响  
陈小燕, 廖永美, 刘胜远, 赵遼

## 临 床 研 究

- 19 Th17细胞及其相关因子在活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义  
张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰

## 焦 点 论 坛

- 27 动物腹泻性疾病-现状、进展与展望  
任晓峰, 陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 赵凯, 王靓靓, 李训良, 李鹏冲, 殷相平, 柳纪省, 茅翔, 范京惠, 左玉柱, 赵高伟, 仇铮, 崔尚金, 杨青
- 28 猪流行性腹泻研究的进展  
陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 任晓峰, 赵凯
- 33 猪流行性腹泻的诊断与预防  
王靓靓, 李训良, 李鹏冲, 任晓峰
- 39 猪传染性胃肠炎病毒致病机制的研究进展  
殷相平, 任晓峰, 柳纪省
- 44 猪流行性腹泻病毒蛋白结构与功能的初探  
茅翔, 任晓峰
- 54 猪流行性腹泻病毒的基因结构及其诊断技术  
范京惠, 左玉柱, 任晓峰
- 60 轮状病毒感染机制及防治的研究进展  
赵高伟, 任晓峰
- 66 猪细小病毒的致病机制与防控策略  
仇铮, 任晓峰, 崔尚金
- 71 纳米氧化物材料在仔猪抗腹泻中的应用  
杨青, 任晓峰

## 文 献 综 述

- 75 贲门失弛缓症的研究进展  
王爽, 刘冰熔
- 82 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的应用进展  
陈琴, 王晓锋, 李华山

## 研 究 快 报

- 87 龙血素对肝星状细胞的影响  
李玉莲, 宋正己, 范红, 彭伟, 高建梅, 沈涛

## 临 床 经 验

- 93 三种消化道重建术对非肥胖性2型糖尿病患者糖脂代谢的影响  
胡东平, 成晓舟, 景武堂, 赖瑞敏, 郭天康

## 病 例 报 告

- 98 以消化系症状为首发表现的系统性红斑狼疮1例  
陈迪诗, 曾飞, 毛胜勋, 林静, 勒义官

附 录	102 《世界华人消化杂志》投稿须知 107 2013年国内国际会议预告
志 谢	108 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	5 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 18 《世界华人消化杂志》外文字符标准 26 《世界华人消化杂志》修回稿须知 32 《世界华人消化杂志》栏目设置 38 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 43 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 53 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 59 《世界华人消化杂志》参考文献要求 74 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 81 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 92 《世界华人消化杂志》正文要求 97 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 任晓峰, 教授, 博士生导师, 黑龙江省“龙江学者”奖励计划特聘教授, 150030, 黑龙江省哈尔滨市, 东北农业大学动物医学学院预防兽医学系
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 田滢, 翟欢欢; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-01-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锐, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No.90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有



# World Chinese Journal of Digestology

## January 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 1

<b>EDITORIAL</b>	<p>1 Diarrheagenic <i>Escherichia coli</i> infection in geese <i>Liu Y, Ren XF, Wu JH, Bu RE, Xue XY</i></p> <p>6 Relationship between SIRT1 and tumors <i>Zhang G, Wu JH</i></p>
<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>13 Treatment with aspirin inhibits the expression of CD133 in human colorectal cancer cells HT-29 and SW480 <i>Chen XY, Liao YM, Liu SY, Zhao K</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>19 Significance of number of Th17 cells and expression of Th17-related cytokines in patients with active ulcerative colitis <i>Zhang XF, Jiang WY, Yu PL, Li WJ, Zhang HJ</i></p>
<b>TOPIC HIGHLIGHT</b>	<p>27 Porcine epidemic diarrhea: Current status, progress, and future prospects <i>Ren XF, Chen G, Li W, Zhang Y, Wu H, Shi C, Zhao K, Wang JJ, Li XL, Li PC, Yin XP, Liu JX, Mao X, Fan JH, Zuo YZ, Zhao GW, Qiu Z, Cui SJ, Yang Q</i></p> <p>28 Progress in research of porcine epidemic diarrhea <i>Chen G, Li W, Zhang Y, Wu H, Shi C, Ren XF, Zhao K</i></p> <p>33 Diagnosis and prevention of porcine epidemic diarrhea <i>Wang JJ, Li XL, Li PC, Ren XF</i></p> <p>39 Progress in understanding pathogenic mechanisms of porcine transmissible gastroenteritis virus <i>Yin XP, Ren XF, Liu JX</i></p> <p>44 Functions of proteins of porcine epidemic diarrhea virus <i>Mao X, Ren XF</i></p> <p>54 Progress in research of genetic characteristics of porcine epidemic diarrhea virus and diagnostic methods for porcine epidemic diarrhea <i>Fan JH, Zuo YZ, Ren XF</i></p> <p>60 Rotavirus infections: mechanisms, prevention and treatment <i>Zhao GW, Ren XF</i></p> <p>66 Porcine parvovirus: Pathogenic mechanisms and preventive and control strategies <i>Qiu Z, Ren XF, Cui SJ</i></p> <p>71 Use of nano-oxide materials as anti-diarrhea agents in piglets <i>Yang Q, Ren XF</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>75 Recent progress in treatment of achalasia <i>Wang S, Liu BR</i></p> <p>82 Progress in the use of thread-drawing therapy for perianorectal abscess <i>Chen Q, Wang XF, Li HS</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>87 Influence of treatment with loureirin on rat hepatic stellate cells <i>in vitro</i> <i>Li YL, Song ZJ, Fang H, Peng W, Gao JM, Shen T</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>93 Impact of three digestive tract reconstruction procedures on carbohydrate and lipid metabolism in non-obese patients with type 2 diabetes mellitus <i>Hu DP, Cheng XZ, Jing WT, Lai RM, Guo TK</i></p>

<b>CASE REPORT</b>	98 Systemic lupus erythematosus with gastrointestinal symptoms as the first manifestation: A case report <i>Chen DS, Zeng F, Mao SX, Lin J, Le YG</i>
<b>APPENDIX</b>	102 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 107 Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	108 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Xiao-Feng Ren, Professor, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ying Tian, Huan-Huan Zhai</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date January 8, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 鹅大肠杆菌性腹泻的研究进展

刘洋, 任晓峰, 吴金花, 布日额, 薛晓阳

刘洋, 吴金花, 布日额, 薛晓阳, 内蒙古民族大学生命科学院 内蒙古自治区通辽市 028000  
任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030  
任晓峰, 教授, 博士生导师, 主要从事预防兽医学与分子病毒学研究。  
作者贡献分布: 本综述由刘洋、任晓峰、吴金花、布日额及薛晓阳合作完成。  
通讯作者: 布日额, 教授, 硕士生导师, 028000, 内蒙古自治区通辽市霍林河大街22号, 内蒙古民族大学生命科学院。  
wjhbre@yahoo.com.cn  
收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30  
接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Diarrheal *E. coli* infection of geese

Yang Liu, Xiao-Feng Ren, Jin-Hua Wu, Ri-E Bu, Xiao-Yang Xue

Yang Liu, Jin-Hua Wu, Ri-E Bu, Xiao-Yang Xue, School of Life Sciences, Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028000, Inner Mongolia Autonomous Region, China  
Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China  
Correspondence to: Ri-E Bu, Professor, School of Life Sciences, Inner Mongolia University for the Nationalities, 22 Huolinhe Street, Tongliao 028000, Inner Mongolia Autonomous Region, China. wjhbre@yahoo.com.cn  
Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30  
Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

*Escherichia coli* (*E. coli*) is widely distributed in nature is one of several types of bacteria that normally inhabit the intestinal tract of humans and most warm-blooded animals. Recent evidence indicates that many strains of *E. coli* can cause diarrhea and even death. Diarrheagenic *E. coli* can cause an acute contagious disease in geese, resulting in a decrease in egg production and even death. Geese of all ages are susceptible to this pathogen. In this review, we provide a comprehensive description of the pathogenic characteristics and virulence of diarrheagenic *E. coli* and the epidemiology, clinical features, reasonable and effective preventive measures, and rapid detection and treatment of *E. coli*-induced diarrhea in geese.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Diarrheagenic *E. coli*; Virulence etiology; Rapid diagnosis; Prevention; Treatment

Liu Y, Ren XF, Wu JH, Bu RE, Xue XY. Diarrheagenic *E. coli* infection in geese. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 1-5

## 摘要

大肠杆菌在自然界中广泛分布, 本属于人类和大多数温血动物肠道中的正常菌群, 但是近年来, 发现许多菌株可引起腹泻, 甚至死亡。在鹅群中, 腹泻性大肠杆菌是急性接触性传染, 各种年龄的鹅均能感染, 对种鹅的危害尤其严重, 可使母鹅产蛋量下降甚至死亡, 是严重威胁到养鹅业发展。本文针对鹅致腹泻性大肠杆菌存在现状、毒力病原学特点、流行病学、临床特征等方面的综合比较, 进行分析说明, 提出合理有效的防御措施, 并且对快速检测和治疗鹅腹泻性大肠杆菌进展进行总结, 强调在禽类养殖过程中重视对大肠杆菌病的防治。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 致腹泻性大肠杆菌; 毒力病原学; 快速诊断; 预防; 治疗

刘洋, 任晓峰, 吴金花, 布日额, 薛晓阳. 鹅大肠杆菌性腹泻的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 1-5  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1.asp>

## 0 引言

目前, 养鹅业正在迅速发展, 经济效益可观, 是脱贫致富效益较高的养殖业。鹅抗病力较强, 一般很少患病, 但由于饲养管理不当, 鹅舍密集化, 已造成部分养鹅环境的恶劣。大肠杆菌普遍存在于饲料、饮水、鹅的体表、孵化场、孵化器等处, 主要通过种蛋、空气中的尘埃、污染的饲料和饮水而传播, 致腹泻性大肠杆菌又是条件性致病菌, 在环境恶劣的条件下, 极易爆发大规模的鹅疫, 造成巨大的经济损失。该病已成为鹅重要的、常见的细菌性传染病之一。目

## ■背景资料

在鹅群中, 腹泻性大肠杆菌是急性接触性传染, 对种鹅的危害尤其严重, 直接影响养鹅业的发展。本文通过对鹅致腹泻性大肠杆菌的综合比较和分析, 提出了有效的防御措施和治疗方案。

## ■同行评议者

刘森, 副教授, 安徽医科大学病原生物学



## ■研发前沿

目前在世界得到公认的致泻性大肠杆菌已有5种,即致病性大肠杆菌(EPEC)、产肠毒素大肠杆菌(ETEC)、侵袭性大肠杆菌(EIEC)、肠出血性大肠杆菌(EHEC)和肠集聚性大肠杆菌(EAEC)。研究每种类型的大肠杆菌独特的致病机制,根据其致病机制进行更好的预防和诊治是该研究领域的重点和难点。

## ■创新盘点

本文分析不同菌株群的腹泻性大肠杆菌,确定毒力标志,根据其致病机制,提出致病防治方案,并且对该病的流行病学和临床特征等方面都有很强的综合性总结比较,这是之前该领域报道中不曾有过的,让读者对鹅大肠杆菌性腹泻有更全面的认知。

前在世界上得到公认的致泻性大肠杆菌已有5种,即致病性大肠杆菌(entero-pathogenic *E. coli*, EPEC)、产肠毒素大肠杆菌(enterotoxigenic *E. coli*, ETEC)、侵袭性大肠杆菌(enteroinvasive *E. coli*, EIEC)、肠出血性大肠杆菌(enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC, EHEC)和肠集聚性大肠杆菌(enteroadherent *E. coli*, EAEC)<sup>[1]</sup>。这些菌均能引起人类和温血动物腹泻,当其污染食品或者水源后,可引起细菌性食物中毒和水源性腹泻,然后大规模的爆发流行,此外还可引起尿路感染、胆囊炎、肺炎等多种疾病<sup>[2]</sup>。这些群体分类是根据其基础上独特的致病因素,并且只能由这些毒力性质、临床症状、流行病学特点等因素来鉴定。因此,分析这些不同菌株群的腹泻性大肠杆菌,通常首先需要确定毒力标志,进行测试<sup>[3]</sup>。只有再确定菌体后,才能根据其致病机理进行更好的诊治,达到预期的治疗效果,制止鹅疫的发展,及时挽回养殖者的经济损失。本文因此对鹅致腹泻性大肠杆菌存在现状、毒力病原学特点、流行病学和临床特征等方面进行综述,通过对该病的深入了解,才能更好的防治腹泻性大肠杆菌,防患于未然。

## 1 各类腹泻性大肠杆菌毒力病原学特点

1.1 致病性大肠杆菌 国外曾报道,因EPEC而引起过胃肠炎的食物源性和水源性爆发流行。饲养人员污染饲料或者粪便污染水源是主要原因。该菌致病性涉及到EAE基因编码的蛋白,导致病变,同时也涉及到质粒编码的蛋白质,称为EPEC黏附因子,使细菌黏附于肠细胞。EPEC黏附因子的产生可以通过检测该菌是否含有Hep-2细胞和EAE基因来判定,还可以通过PCR检测断定<sup>[4]</sup>。这种紧密黏连与糖蛋白复合物溶解、微绒毛破坏萎缩、黏膜变薄、固有层化脓性感染以及腺管细胞增生有关。黏膜的改变与黏膜刷状缘上酶的减少,致使吸收功能损伤,导致腹泻<sup>[5]</sup>。

1.2 产肠毒素大肠杆菌 通常发生在发达的国家,ETEC的感染途径主要是由于污染的饲料和饮用水引起的,临床表现以水样性腹泻为主。发生机制是产生了多种肠毒素,能产生不耐热肠毒素(LT)、霍乱毒素(CT)和热稳定毒素(ST)<sup>[6]</sup>。其中ST有几个变种,其中STa是可以在人或动物中分离到的,STb只在人类中才能分离到<sup>[7]</sup>。产生的这些肠毒素中,LT可以激活细胞的腺苷酸环化酶,STa则激活鸟苷酸环化酶<sup>[8]</sup>,导致腺苷-3',5'-环化一磷酸和环磷酸鸟苷积聚,进而引起肠液过

度的分泌,引起水样腹泻。而STb并非是通过激活腺苷酸和鸟氨酸酶系统,就可引起肠液分泌增加产生腹泻现象<sup>[9]</sup>。

1.3 侵袭性大肠杆菌 EIEC可引起类似痢疾杆菌的腹泻形式,主要感染人类,也是可以通过食物和饮水来进行传播,感染后典型现象是化脓性结肠炎,里急后重,血性或痢疾样腹泻<sup>[10]</sup>。EIEC具有非能动性,不发酵乳糖<sup>[11]</sup>。他是入侵性的杆菌,致病性主要因为侵犯肠黏膜上皮细胞并在细胞内繁殖,直接破坏肠组织能力,导致急性黏膜和黏膜下层化脓性感染并伴有溃疡所引起的腹泻<sup>[12]</sup>。

1.4 出血性大肠杆菌 EHEC可导致血性肠炎及血性腹泻,他是溶血性尿毒中和症的主要原因。O157: H7是这类病菌的主要菌株<sup>[13]</sup>,自1982年在美国首次发现后,先后发生多次大规模的爆发,我国也在1987年发现第一株EHEC,主要途径也是通过食物和水源传播,母鹅生蛋后,蛋壳上携带的病菌也可以进行传播<sup>[14]</sup>。感染出血性大肠杆菌,会出现腹泻,便血等症状,一般雏鹅最易感染。EHEC主要是因为志贺样毒素的产生达到致病效果,这类毒素呈细胞毒性,有很多变种存在,全球性疾病很多都与该毒素有关<sup>[15]</sup>。志贺样毒素进入血液后可破坏血细胞和血小板,导致出血,随后作用于结肠,定居肠道内,引起肠黏膜炎症,随后患者出现腹泻、便血、水肿等典型症状<sup>[16]</sup>。

1.5 集聚性大肠杆菌 1985年发现首例EAEC,对人类和动物都有致腹泻的作用,并且伴有便血、呕吐等症状,病程时间较长,在发展中国家发病率较高。但是至今EAEC的致病机制尚不是十分清楚,很多专家认为可能与细胞黏附定居,毒力因子作用等因素有关,所以EAEC仍是盲区,很多问题需要去研究解决<sup>[17]</sup>。

## 2 流行病学特点

大肠杆菌是自然界分布最广的细菌,致病性大肠杆菌可引起急性传染病。传染源主要是病鹅和带菌鹅,传播途径主要是通过食物和饮水污染,还有饲养场和饲养工具等多方面因素<sup>[18]</sup>。本病主要通过消化道进入鹅体内,雏鹅感染一般都种与种有关,而成年母鹅感染后,产蛋高峰期发病最多,产蛋量下降,严重导致种鹅大批量的死亡,公鹅感染后虽然死亡率没有母鹅高,但是可通过配种传播此病。当患畜的机体免疫力降低或者患有其他疾病的时候,最易使体内潜藏的致腹泻性大肠杆菌趁虚而入,进入肠道和

血管, 分布全身. 本病的发生多与饲养环境恶劣, 饲养管理疏忽有关. 种鹅经过长途运输, 车内空间狭窄, 鹅群过度拥挤, 闷热, 缺水; 应激反应, 天气寒冷, 温度突然变化; 鹅群体过密, 鹅舍内通风不良, 污秽潮湿; 饲养管理不当, 水源受到污染, 饲料发霉变质; 饲料配方营养不全, 维生素缺乏等均会导致本病的发生. 尽管有报道表明该病在发达国家中爆发率大于发展中国家, 但是近几年来发展中国家发病率直线上升<sup>[19]</sup>. 因此我国必须对此病提高警惕, 以防止对我国养鹅业造成影响.

### 3 临床特征

患病鹅首先体温升高、精神沉郁、昏睡、采食减少或不食、饮水增加、腹泻、粪便恶臭并带有白色黏液或混有血丝或气泡, 肛门周围沾污粪便, 呼吸困难, 最后窒息死亡. 母鹅产软壳蛋, 产蛋率下降, 在产蛋后不久, 部分母鹅精神不振, 食欲减退, 不愿走动, 经常离群独处或在水面漂浮, 呼吸困难, 站立不稳, 头向下弯曲嘴能触及地面, 排黄白色稀便, 肛门周围沾有污秽发臭的排泄物, 其中混有蛋清, 凝固的蛋白, 消瘦, 呈现脱水症状, 最后因体力衰竭而死亡, 即使有少数鹅能康复, 也不能恢复产蛋<sup>[20]</sup>. 公鹅患该病后, 主要是性生殖器官病, 表现阴茎红肿、溃疡或结节, 病情严重者阴茎表面布满绿豆大小的坏死灶, 剥去痴块即露出溃疡灶, 阴茎无法收回, 丧失交配能力.

### 4 检测方法

由于致腹泻性大肠杆菌的血清型很多, 因此, 针对检测的方法也有很多, 例如针对EPEC, 他分泌的毒素LT可以通过肾上腺皮质细胞检测或乳胶凝集试验和酶联免疫吸附试验检测到<sup>[21]</sup>, ST的产生也可以用ELISA法检测到. LT和ST的基因已经被测序, 利用PCR和基因探针也是常用的检验方法. EIEC可以检测入侵的HeLa或Hep-2, 还可通过细胞组织培养和PCR以及入侵基因探针来确定. EPEC可以证明Hep-2细胞和EAE基因的存在来确定该菌株, 也可以通过PCR检测<sup>[22]</sup>. EHEC不发酵山梨醇或者发酵十分缓慢, 不具有葡萄糖醛酸酶的活性, 因此, 这些特性经常被用来从食物中分离这种病菌, 使用ELISA毒性实验或者基因探针, 利用出血性大肠杆菌标记特定的PCR检测也可以<sup>[23]</sup>. 但是这些过程往往需要增菌, 生化管发酵, 药敏试验等鉴定, 最后还要经过血清学的鉴定, 时间较长<sup>[24]</sup>. 免疫珠法是近年来发展的

一项细胞免疫分离检测技术, 它具有免疫反应高度保守性和固相化试剂的优势, 已在免疫检测、免疫吸附、细胞分离和培养上获得了较好的成绩<sup>[25]</sup>. 利用免疫吸附原理制备吸附有腹泻性大肠杆菌诊断血清的免疫珠<sup>[26]</sup>, 再根据特异性血清学反应, 分离出腹泻性大肠杆菌<sup>[27]</sup>. 利用大肠杆菌能发酵乳糖产酸产气这一特征进行鉴定<sup>[28]</sup>, 能在18 h内快速检测出致腹泻病性大肠杆菌. 该方法简单, 操作方便, 灵敏度高, 可测出样液中含有>10 CFU/mL数的腹泻性大肠杆菌<sup>[29]</sup>.

### 5 防治措施

5.1 致腹泻性大肠杆菌的防治 对致腹泻性大肠杆菌防治问题, 首先应重视种蛋间的细菌传播. 改善饲养环境, 保持鹅舍的清洁, 对鹅接触的用具、设备和鹅舍、道路等用百毒杀溶液喷雾消毒. 饲料中添加微量元素及维生素, 增强应激和抗病能力<sup>[30]</sup>. 保持鸭舍通风良好, 饲养密度要适宜, 坚持全进全出制度, 适时淘汰病弱残, 如发现患病鹅, 应与健康的鹅群及时隔离.

5.2 免疫接种 由于各地鹅源致病性大肠杆菌血清型差异很大, 通过分离当地流行菌株, 筛选免疫源性较好的菌株制备灭活疫苗是预防本病的有效途径<sup>[31]</sup>. 母鹅产蛋前15 d, 每只肌肉注射1 mL, 然后将其所产的蛋留做种用. 雏鹅7-10 d接种, 每只皮下注射0.5 mL. 鹅大肠杆菌性生殖器官病已研制成菌苗, 公鹅在本病的传播上也起着重要的作用, 因此对公鹅也应提早注射性生殖器官病疫苗, 防止在配种时候传播疾病.

5.3 药物治疗 致病性大肠杆菌易产生耐药性, 治疗需在患病的早期进行磺胺类抗生素类和呋喃类药物进行治疗本病, 均有良效<sup>[32]</sup>. 但须注意鹅场常用某种药物作为饲料添加剂, 而使一些菌株产生耐药性的问题<sup>[33]</sup>. 饲料中还可添加多维素和微量元素, 以提高鹅体的抗病能力, 还可添加大蒜素, 改变肠道环境, 增加肠道有益菌<sup>[34]</sup>. 在我国根据中兽医辩证施治, 鹅的大肠杆菌属于病毒内侵, 血瘀气滞. 治宜清热解毒, 活血散瘀. 方用五味消毒法治疗, 既黄芩、连翘、金银花、菊花、紫花地丁, 疗效也很显著<sup>[35]</sup>. 对发病严重的地区, 可采取有针对性的自家苗进行预防, 尽量少用或不用抗生素, 为百姓提供更多的绿色食品.

### 6 结论

近年来随着养鹅业的兴起, 也随之带来了许多鹅高度传染病的爆发流行, 造成养鹅者经济效

#### ■应用要点

本文对鹅致腹泻性大肠杆菌存在现状、毒力病原学特点、流行病学和临床特征等方面进行综述, 通过对该病的深入了解, 才能更好的防治腹泻性大肠杆菌, 防患于未然, 挽回养殖者的经济损失.



## ■名词解释

鸟苷酸环化酶(GC): 可将三磷酸鸟苷催化为环磷酸鸟苷。其中, 与膜受体结合的鸟苷酸环化酶和可以在膜受体与肽类激素(如心房钠泵肽)结合后被激活。而胞质中的游离鸟苷酸环化酶可被NO激活进而合成环磷酸鸟苷;

EAE基因: 位于LEE致病岛编码一个94-97 kDa被称为紧密素的外膜蛋白, 紧密素属于细胞黏附分子家族, 可介导细菌与肠上皮细胞紧密黏附, 是EPEC在肠道黏膜定居并引起A/E损伤所必须的;

腺苷-3',5'-环化一磷酸: 一种环状核苷酸, 简称为cAMP, 是由三磷酸腺苷(ATP)脱掉两个磷酸缩合而成的。以微量存在于动植物细胞和微生物中。体内多种激素作用于细胞时, 可促使细胞生成此物, 转而调节细胞的生理活动与物质代谢。

益下降, 所以国内外许多畜牧专家都对鹅传染病进入深入研究, 其中鹅致腹泻性大肠杆菌, 可导致20%的鹅快速死亡, 国内外对该病已经有很多例报道。所以首先预防是关键, 饲料和水源污染是阻止腹泻性大肠杆菌流行的重要环节。其次是检测和治疗, ETEC是我国致腹泻性大肠杆菌的主要病原菌型, 所以应加强对该病原菌的研究和治疗。我国对该菌的鉴定主要是靠生化反应和血清学方法, 这主要是因为其由一些优势血清型构成, 只有在少数试验室才能进行毒素等检测。不过有相关报道我国会陆续将较先进的测试理念和仪器投入到检测机关, 更加完善检测系统。通过本文对鹅致腹泻性大肠杆菌的总结, 希望能给饲养管理者带来一定的指导意义, 提高对鹅养殖业的重视, 提前做好预防工作, 同时也为研究致腹泻性大肠杆菌的学者们提供一定的参考。

## 7 参考文献

- Estrada-Garcia T, Lopez-Saucedo C, Thompson-Bonilla R, Abonce M, Lopez-Hernandez D, Santos JI, Rosado JL, DuPont HL, Long KZ. Association of diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes with infection and diarrhea among Mexican children and association of atypical Enteropathogenic *E. coli* with acute diarrhea. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 93-98 [PMID: 19020055 DOI: 10.1128/JCM.01166-08]
- 郁庆福. 现代卫生微生物学. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 36-37
- 黄宗梅, 陈红英, 崔沛. 60株大肠杆菌的分离与致病性鉴定. *中国畜牧兽医* 2011; 38: 217-219
- Lim YS, Ngan CC, Tay L. Enteropathogenic *Escherichia coli* as a cause of diarrhoea among children in Singapore. *J Trop Med Hyg* 1992; 95: 339-342 [PMID: 1404557]
- 徐文杰, 戴峰, 张娟. 致腹泻性大肠杆菌病原学调查. *中国卫生检验杂志* 1999; 9: 294-295
- Kansal R, Rasko DA, Sahl JW, Munson GP, Roy K, Luo Q, Sheikh A, Kuhne KJ, Fleckenstein JM. Transcriptional Modulation of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Virulence Genes in Response to Epithelial Cell Interactions. *Infect Immun* 2013; 81: 259-270 [PMID: 23115039 DOI: 10.1128/IAI.00919-12]
- Behiry IK, Abada EA, Ahmed EA, Labeeb RS. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. *ScientificWorld-Journal* 2011; 11: 2613-2619 [PMID: 22262949 DOI: 10.1100/2011/485381]
- Vanderkelen L, Van Herreweghe JM, Callewaert L, Michiels CW. Goose-type lysozyme inhibitor (Plig) enhances survival of *Escherichia coli* in goose egg albumen. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77: 4697-4699 [PMID: 21602367 DOI: 10.1128/AEM.00427-11]
- Onnberg A, Mölling P, Zimmermann J, Söderquist B. Molecular and phenotypic characterization of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases with focus on CTX-M in a low-endemic area in Sweden. *APMIS* 2011; 119: 287-295 [PMID: 21492229 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2011.02730.x]
- Vieira N, Bates SJ, Solberg OD, Ponce K, Howsmon R, Cevallos W, Trueba G, Riley L, Eisenberg JN. High prevalence of enteroinvasive *Escherichia coli* isolated in a remote region of northern coastal Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76: 528-533 [PMID: 17360879]
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing document M100-S19, CLSI, Wayne. pp. 52, 2009
- van den Beld MJ, Reubsaet FA. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 899-904 [PMID: 21901636 DOI: 10.1007/s10096-011-1395-7]
- Jokinen C, Edge TA, Ho S, Koning W, Laing C, Mauro W, Medeiros D, Miller J, Robertson W, Taboada E, Thomas JE, Topp E, Ziebell K, Gannon VP. Molecular subtypes of *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157: H7 isolated from faecal and surface water samples in the Oldman River watershed, Alberta, Canada. *Water Res* 2011; 45: 1247-1257 [PMID: 20971491 DOI: 10.1016/j.watres.2010.10.001]
- Srinivasan V, Nguyen LT, Headrick SI, Murinda SE, Oliver SP. Antimicrobial resistance patterns of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 and O157: H7- from different origins. *Microb Drug Resist* 2007; 13: 44-51 [PMID: 17536933 DOI: 10.1089/mdr.2006.9996]
- 徐建国. 一种新的腹泻病原-肠产志贺毒素且具侵袭力的大肠杆菌. *中华流行病学杂志* 1994; 15: 205
- Mandomando I, Jaintilal D, Pons MJ, Vallès X, Espasa M, Mensa L, Sigaúque B, Sanz S, Sacarlal J, Macete E, Abacassamo F, Alonso PL, Ruiz J. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance in *Shigella* and *Salmonella* isolates from children under five years of age with diarrhea in rural Mozambique. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 2450-2454 [PMID: 19332670 DOI: 10.1128/AAC.01282-08]
- 欧阳颖. 致腹泻性大肠杆菌感染. *当代医师杂志* 1996; 1: 3-4
- 张明. 鹅大肠杆菌病的防治措施. *畜牧兽医科技信息* 2012; 19: 98
- 王洪君, 高继新. 鹅大肠杆菌病的诊治. *吉林农业* 2011; (6): 257
- 郑丽. 浅谈鹅大肠杆菌病的防控措施. *中国畜禽种业* 2010; 6: 141
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 969-976 [PMID: 19995920 DOI: 10.1128/AAC.01009-09]
- Green HC, Dick LK, Gilpin B, Samadpour M, Field KG. Genetic markers for rapid PCR-based identification of gull, Canada goose, duck, and chicken fecal contamination in water. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 503-510 [PMID: 22081573 DOI: 10.1128/AEM.05734-11]
- 陈绍红, 刘艳芬, 马龙, 刘轴. 源致病性大肠杆菌 O<sub>1</sub>(86)K<sub>1</sub>(61)和O<sub>1</sub>(44)K<sub>1</sub>(74)亚型的分离与鉴定. *中国畜牧兽医* 2010; 37: 75-78
- 钱丽萍. 鹅大肠杆菌的诊断与药敏选择. *中国畜禽种业* 2011; 7: 148-149
- de Boer E, Beumer RR. Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms. *Int J Food*



- Microbiol* 1999; 50: 119-130 [PMID: 10488848 DOI: 10.1016/S0168-1605(99)00081-1]
- 26 徐宜为. 免疫检测技术. 北京: 科学出版社, 1997: 290-301
- 27 Bouvrette P, Luong JH. Development of a flow injection analysis (FIA) immunosensor for the detection of *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol* 1995; 27: 129-137 [PMID: 8579984 DOI: 10.1016/0168-1605(94)00157-2]
- 28 Colquhoun KO, Timms S, Fricker CR. Detection of *Escherichia coli* in potable water using direct impedance technology. *J Appl Bacteriol* 1995; 79: 635-639 [PMID: 8557618 DOI: 10.1111/j.1365-2672.1995.tb00948.x]
- 29 Meerburg BG, Koene MG, Kleijn D. *Escherichia coli* concentrations in feces of geese, coots, and gulls residing on recreational water in The Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11: 601-603 [PMID: 21548761 DOI: 10.1089/vbz.2010.0218]
- 30 Silva-Sanchez J, Barrios H, Reyna-Flores F, Bello-Diaz M, Sanchez-Perez A, Rojas T, Garza-Ramos U. Prevalence and characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolates in Mexico. *Microb Drug Resist* 2011; 17: 497-505 [PMID: 21834663 DOI: 10.1089/mdr.2011.0086]
- 31 陈育峰, 刘艳芬, 陈绍, 红刘铀. 鹅大肠杆菌油佐剂灭活疫苗的研制. *中国畜牧兽医* 2011; 38: 100-102
- 32 Cattoir V, Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: an update. *Curr Med Chem* 2009; 16: 1028-1046 [PMID: 19275610 DOI: 10.2174/092986709787581879]
- 33 Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol* 2010; 8: 260-271 [PMID: 20208551]
- 34 Smith KE, Wilker PR, Reiter PL, Hedican EB, Bender JB, Hedberg CW. Antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157 infection and the risk of hemolytic uremic syndrome, Minnesota. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 37-41 [PMID: 21892124 DOI: 10.1097/INF.0b013e31823096a8]
- 35 程汉. 雏鹅大肠杆菌病的中药治疗. *湖北畜牧兽医* 2009; 16: 31

#### ■同行评价

本文选题新颖, 文章结构合理, 语言文字流畅, 论述较深刻, 内容丰富, 分层次对鹅致腹泻性大肠杆菌存在现状、毒力病原学特点、流行病学、临床特征及快速检测和治疗进展进行总结, 对鹅大肠杆菌性腹泻研究有重要意义, 故有一定学术价值。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (编辑部主任: 李军亮 2012-03-08)。

# SIRT1与肿瘤的研究进展

张广, 吴俊华

## ■背景资料

关于肿瘤起源、发展、侵袭、耐药等方面的问题一直是研究的热点。多种肿瘤细胞中的长寿基因SIRT1过表达引起人们的关注, 认为这一与长寿关系密切的脱乙酰基酶在肿瘤的各种特性中起到至关重要的作用。

张广, 吴俊华, 南京大学医学院 江苏省南京市 210093  
张广, 主要从事新型抗肝癌化合物的发现与作用机制的研究。  
作者贡献分布: 本文综述由张广完成; 吴俊华审校。  
通讯作者: 吴俊华, 副教授, 210093, 江苏省南京市鼓楼区汉口路22号, 南京大学医学院。wujunhua@nju.edu.cn  
电话: 025-83593192  
收稿日期: 2012-08-23 修回日期: 2012-11-23  
接受日期: 2012-12-03 在线出版日期: 2013-01-08

## Relationship between SIRT1 and tumors

Guang Zhang, Jun-Hua Wu

Guang Zhang, Jun-Hua Wu, School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210093, Jiangsu Province, China  
Correspondence to: Jun-Hua Wu, Associate Professor, School of Medicine, Nanjing University, 22 Hankou Road, Gulou District, Nanjing 210093, Jiangsu Province, China. wujunhua@nju.edu.cn  
Received: 2012-08-23 Revised: 2012-11-23  
Accepted: 2012-12-03 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Tumorigenesis is closely related to overexpression of oncogenes and/or down-expression of tumor suppressor genes. Gene expression and deacetylase activity of SIRT1, a class III histone deacetylase, are up-regulated in tumor cells, which suggests that SIRT1 may be involved in tumorigenesis. SIRT1 may induce deacetylation of tumor suppressor proteins to promote tumorigenesis. SIRT1 promotes tumor occurrence, development, and maintenance of various characteristics possibly by promoting cell proliferation, inhibiting apoptosis, and preventing senescence. On the other hand, SIRT1 can also deacetylate tumor inducers to inhibit tumorigenesis. Therefore, further investigation of the role of SIRT1 in tumorigenesis is of great importance, and SIRT1 may be used as a therapeutic target for tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: SIRT1; Tumors

Zhang G, Wu JH. Relationship between SIRT1 and tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 6-12

## 摘要

肿瘤的发生与癌基因的过表达或者抑癌基因的低表达密切相关。III型组蛋白脱乙酰酶SIRT1的基因表达和脱乙酰酶活性在肿瘤细胞中均发生上调, 由此推测这些也许导致了肿瘤的发生。SIRT1也能够引起肿瘤抑制因子的脱乙酰化从而促进肿瘤发生。在肿瘤的发生、发展、各种特性维持中, SIRT1因其能够促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡、衰老等活性很可能扮演着重要角色。然而, 另一方面, SIRT1也能够脱乙酰化肿瘤促进因子而起到抑制肿瘤作用。SIRT1在肿瘤的发生过程中扮演的角色存在争议。因此, 对SIRT1进行进一步研究就显得尤为重要, 而其作为肿瘤治疗靶点的可能性使得研究更具临床意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: SIRT1; 肿瘤

张广, 吴俊华. SIRT1与肿瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 6-12  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/6.asp>

## 0 引言

肿瘤的形成是一个复杂的过程, 在这一过程中, 正常细胞转变成为肿瘤细胞, 即所谓的恶变。在细胞恶变过程中, 在细胞水平及基因水平逐渐发生变化, 并最终演变成生长及分化都不可控制的肿瘤细胞<sup>[1,2]</sup>。通常能够编码那些在肿瘤形成中起到促进作用蛋白的基因被称之为癌基因, 而抑癌基因则是那些能够编码抑制肿瘤蛋白的基因。癌基因与抑癌基因都因其在肿瘤形成过程中扮演重要角色而被人们广泛研究。在所有肿瘤中, 消化系统肿瘤以其高发生率、易转移、发现晚、预后差等为人们重视。其中, 胃癌、肝癌、肠癌发生率分别占我国人群肿瘤发生的第1、3、4位, 胰腺癌、胆囊癌等虽然发生率较低, 但预后极差, 因此从癌基因与抑癌基因角度对消化系统肿瘤的深入研究显得愈发重要。在过去的十余年间, SIRT1因其在肿瘤形成过程

## ■同行评议者

陈洪, 主任医师, 副教授, 东南大学附属中大医院消化科

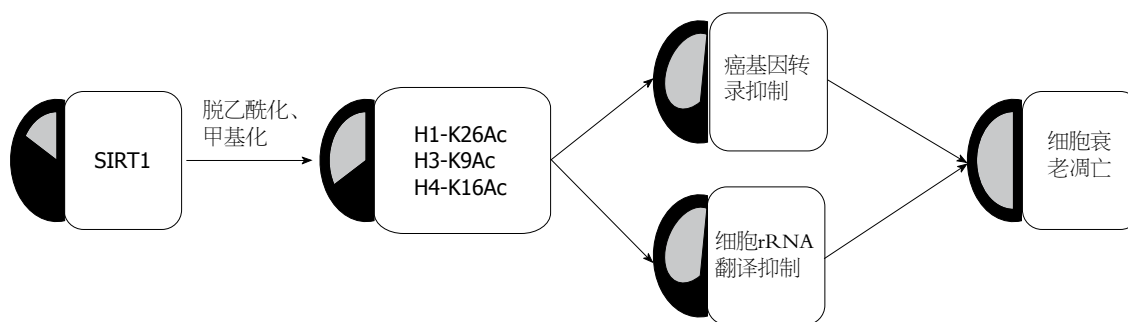


图1 SIRT1的生理学作用。

中扮演的重要角色而被人们不断研究<sup>[3-6]</sup>。SIRT1是sirtuin家族中组蛋白3的脱乙酰基酶,他是酵母沉默信号调节因子2(silencing information regulator 2, sir2)在人体中的类似物。sirtuin蛋白广泛分布于细胞内外,对诸多正常的生理学过程起到调节作用。这些生理学过程包括:细胞增殖、炎症反应、新陈代谢(包括ATP生成、胰岛素分泌和尿素循环)等<sup>[7-11]</sup>。关于SIRT蛋白在细胞中的分布和功能的详细信息见图1<sup>[7-11]</sup>。在SIRT的7个成员当中, SIRT1在总的DNA及氨基酸序列方面是最大的,同时针对SIRT1的研究也最多。SIRT1在肿瘤形成过程中既有癌基因也有抑癌基因的作用,可以说SIRT1对癌基因与抑癌基因的平衡关系是起到重要作用的。随着对SIRT1研究的不断深入,其在消化系肿瘤中所扮演的角色也逐渐被人们认识并争论,以SIRT1作为靶点,为消化系肿瘤的治疗提供了新的途径,并且正逐渐成为研究热点。因此,本文综述了SIRT1在肿瘤发生、发展等过程中的争议性角色,并着重探讨了SIRT1在消化系肿瘤中的作用,以期以SIRT1作为消化系肿瘤治疗靶点的研究做好铺垫。

## 1 SIRT1的生理学作用

### 1.1 SIRT1通过脱乙酰基及甲基化修饰作用调节组蛋白

SIRT1通过与转录因子、共调节子相互作用而被募集到染色体周围。在细胞核中, SIRT1对相关组蛋白特定部位赖氨酸起脱乙酰基作用, 这些组蛋白包括: H1组蛋白26位点赖氨酸(H1-K26Ac)、H3组蛋白9位点赖氨酸(H3-K9Ac)和H4组蛋白16位点赖氨酸(H4-K16Ac)<sup>[12,13]</sup>。同时SIRT1还是组蛋白修饰酶的调控因子。SIRT1能够通过与组蛋白乙酰转移酶P300的结合而对其起抑制作用, 进而间接促进组蛋白的低乙酰化。

SIRT1对组蛋白的脱乙酰基作用与其促进

组蛋白甲基化作用相辅相成。SIRT1能够募集组蛋白甲基转移酶SUV39H1并对其进行脱乙酰作用, 进而增进其甲基转移酶的活性, 这样一来, 增加了SIRT1的靶向位点-H3K9me3<sup>[14]</sup>。另外, 通过与另一组蛋白甲基转移酶(Ezh2)的局部化作用, SIRT1间接的调控了H3K27和H1K26的甲基化<sup>[15,16]</sup>。

### 1.2 SIRT1通过对非组蛋白的脱乙酰作用来调控众多基因的表达

SIRT1通过修饰非组蛋白来调控众多基因的表达情况。SIRT1能够调控的非组蛋白主要包括: (1)转录因子: p53、FOXO蛋白、E2F1、HIC1、BCL6、TAF68、Rb、PGC18、过氧化物酶增殖活化因子 $\gamma$ 、P73、雄激素受体、NF- $\kappa$ B、心肌细胞增强因子2、MyoD、HDAC4等; (2)DNA修复蛋白: 包括Ku70与MRE11-RAD50-NBS1(MRN); (3)信号因子: 内皮一氧化氮合成酶与Smad7<sup>[17-19]</sup>。

### 1.3 SIRT1对DNA的甲基化作用

SIRT1除了能够甲基化组蛋白, 他还对DNA同样起到甲基化的作用。有报道称, 在肿瘤细胞中, SIRT1能够定位于抑癌基因的启动子区域, 进而通过超甲基化作用该区域。而抑制SIRT1的活性, 能够逆转超甲基化作用对这些抑癌基因的抑制<sup>[20]</sup>。在上皮肿瘤形成、发展、转移过程中常常被抑制的抑癌基因CDH1就是一种能被SIRT1抑制的抑癌基因。此外, SIRT1介导的这种转变还抑制了包括: 转录因子P27、GATA4、GATA5、分泌性卷曲相关蛋白和错配修复基因MLH1<sup>[20]</sup>。

## 2 SIRT1在肿瘤形成中的双重作用

### 2.1 SIRT1作为潜在的肿瘤促进因子

肿瘤组织及肿瘤细胞中甚至在鼠类的肿瘤中SIRT1的过表达, 自然而然让人们猜测SIRT1是肿瘤促进因子<sup>[21-23]</sup>。有研究报道, SIRT1在人前列腺癌、人原发性结肠癌、急性髓细胞性白血病中均明显过表达<sup>[24-26]</sup>。此外, SIRT1在人鳞状上皮细胞癌、基底

### ■相关报道

有报道SIRT1在胃癌、前列腺癌、肝癌、血液肿瘤中均明显上调, 并且SIRT1水平与肿瘤分期、预后密切相关, 后期的进一步研究发现, SIRT1还通过其脱乙酰基作用调控着诸多与肿瘤关系密切的信号因子, 进而影响着肿瘤的各种特性。



# ■创新盘点

本文以一种全新的思维,即列举多种消化系统肿瘤中SIRT1作为癌基因/抑癌基因被研究并争论,进而发现SIRT1的研究、应用价值。

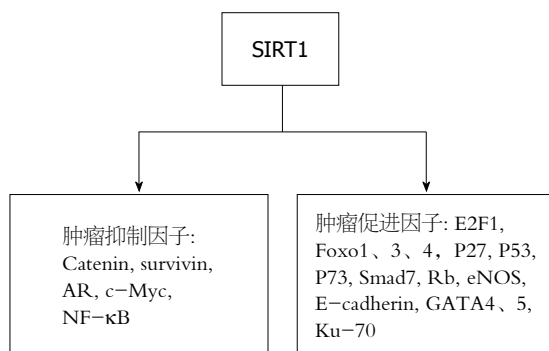


图2 SIRT1对癌基因/抑癌基因的作用。

细胞癌中也高表达<sup>[27]</sup>。Ford等<sup>[28]</sup>通过沉默SIRT1,能够导致人上皮细胞癌细胞的生长停滞与凋亡。相比之下,正常的人上皮细胞及二倍体成纤维细胞对SIRT1的沉默表现出良好的抗性。Heltweg等<sup>[18]</sup>报道在基因毒性应激期间使用cambinol抑制SIRT1的活性,能够导致关键应激反应蛋白的超乙酰化,进而导致细胞周期停滞。使用cambinol作用于BCL6表达的Brucella淋巴瘤细胞能够导致细胞凋亡,这一凋亡过程被认为与BCL6及P53的超乙酰化相关。Liang等<sup>[30]</sup>报道通过使用一种siRNA降低SIRT1水平,能够将一种肝癌顺铂耐药细胞的药物敏感程度提高20倍。通过cDNA转染能够在普通肝癌顺铂敏感细胞中增加顺铂耐药程度达2-3倍。Chen等<sup>[30]</sup>通过研究多例肝癌标本发现,SIRT1表达水平与肝癌化疗耐药呈正相关,另外通过统计学分析,还得出结论,SIRT1在肝癌中表达情况与肝癌的预后呈正相关。因此,过表达SIRT1进而上调SIRT1功能能够阻止肿瘤细胞的凋亡并降低肿瘤细胞对一些抗肿瘤药物的敏感性。相对地,降低SIRT1功能能够得到相反的作用。此外,SIRT1能够使P53、FOXO脱乙酰基,进而阻断了P53、FOXO依赖的转录及凋亡作用<sup>[30,31]</sup>。

诸多临床病理研究与细胞系SIRT1水平的研究表明,SIRT1水平往往与肿瘤转移、侵袭及其他生物学特性相关,并最终与患者的预后相关。Lee等<sup>[32]</sup>通过统计多例乳腺癌患者的SIRT1与DBC1水平与患者预后发现,SIRT1与DBC1水平与患者手术术后的预后密切相关。同样的,Elangovan等<sup>[33]</sup>的研究也表明,SIRT1在乳腺癌形成中起到了重要作用。在胃癌中,同样的方法也显示SIRT1与肿瘤分期、患者预后密切相关<sup>[34]</sup>。Chen等<sup>[30]</sup>研究发现,在肝癌中SIRT1也同样扮演相同的角色,而且SIRT1促进了化疗耐药。另外Wang等<sup>[35]</sup>还发现,SIRT1是通过PI3K/PTEN/AKT途径促进肝癌的

发生。此外,在胰腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤中均发现,SIRT1与肿瘤的发生关系密切,通过不同手段影响SIRT1水平与功能,显著影响了肿瘤细胞的凋亡、转移、侵袭。

SIRT1对肿瘤的生物学特性有一定影响。抑制SIRT1除了能够影响肿瘤细胞的凋亡,还影响了肿瘤细胞的增殖、转移、侵袭等特性。Nakane等<sup>[36]</sup>在使用siRNA敲除前列腺癌细胞中SIRT1后发现,肿瘤的转移、侵袭能力明显受到影响。Liu等<sup>[13]</sup>研究miR-520与miR-373对纤维母细胞瘤的转移、侵袭能力影响,发现miR-520与miR-373时通过影响SIRT1进而影响了Ras/Raf/MEK/Erk通路与NF-κB来影响的肿瘤转移、侵袭。

遗传工程小鼠为评价基因体内功能提供了有力的途径。然而由于SIRT1阴性胚胎的致死率较高,SIRT1在肿瘤形成中的作用并不能通过这一方法来检验<sup>[37,38]</sup>。由于DNA损伤修复及组蛋白修饰功能受到抑制,SIRT1阴性的鼠胚胎成纤维细胞表现出了明显的染色体不稳定性。因此,这些数据表明SIRT1在肿瘤形成过程中能够作为肿瘤促进因子。

**2.2 SIRT1作为潜在的肿瘤抑制因子** SIRT1可以作为肿瘤促进因子。然而,其他的研究同时表明,SIRT1还能够作为肿瘤抑制因子(图2)。

在过表达SIRT1的转基因鼠中,没有任何肿瘤形成<sup>[39,40]</sup>。敲除或者使用其他方法抑制SIRT1也并不能够活化P53的功能<sup>[41,42]</sup>。Firestein等<sup>[43]</sup>报道,在结肠腺瘤息肉突变转基因小鼠中,过表达SIRT1可以通过其脱乙酰基作用失活β-catenin,进而降低结肠癌的发生率。他们进一步研究发现,过表达SIRT1能够显著抑制结肠癌细胞的增殖。另外,有研究表明,在小鼠转移瘤模型中,敲除SIRT1增加了HCT116结肠癌细胞的增殖<sup>[44]</sup>。

Wang等<sup>[45]</sup>发现,SIRT1的表达在BRCA1相关的乳癌中表达高于非BRCA1相关的乳癌。他们进一步研究表明,使用SIRT1激活剂resveratrol能够促进这些细胞的凋亡。Howitz等<sup>[46]</sup>的研究也表明,当恢复BRCA1突变癌细胞中SIRT1水平时,肿瘤细胞的增殖被明显抑制。这些表明,SIRT1抑制了BRCA1相关乳癌细胞的Survivin, Survivin是多种肿瘤细胞中上调的一种抗凋亡蛋白<sup>[47]</sup>。Pazienza等<sup>[48]</sup>研究了19例结直肠癌标本,发现肿瘤组织中SIRT1水平并非高表达,同时他还研究了结肠癌细胞系CaCo2与SW480细胞,发现两种细胞系中SIRT1水平表现出了明显的差异性。

SIRT1作为肿瘤抑制因子的另一证据来源

于对小鼠p53杂合子的研究. P53+/-在被照射后因丢失p53杂合子而表现出肿瘤加速形成的现象<sup>[49]</sup>. 因为SIRT1能够减低培养细胞中的P53水平, 那么SIRT1+/-P53+/-则应该不易形成肿瘤. 然而结果却并非如同想象, 从5月龄开始SIRT1+/-P53+/-小鼠在诸多器官中均形成了自然发生的肿瘤. 到20月龄, 76%的小鼠发生肿瘤. 其中21只SIRT1+/-小鼠中2只及22只P53+/-小鼠中3只形成肿瘤. 有趣的是, 使用resveratrol药物可以显著减低肿瘤的形成<sup>[50]</sup>.

NF- $\kappa$ B以显与上调控制细胞存活的基因产物相关. Yeung等<sup>[51]</sup>的研究表明, SIRT1能够通过对NF- $\kappa$ B过对的亚单位RelA/p65脱乙酰化, 进而促进TNF-, 导致的凋亡. c-Myc在细胞增殖、凋亡、干细胞更新换代中起着重要作用. SIRT1能够通过脱乙酰化降低c-Myc的稳定性, 进而抑制c-Myc的活性. 最后, 在LNCaP前列腺癌细胞中, SIRT1通过同时脱乙酰化雄激素受体和组蛋白抑制抑制了双氢睾酮依赖的细胞生长<sup>[52,53]</sup>. 综上所述, 多种证据表明, SIRT1作为潜在的肿瘤抑制因子, 显著抑制了肿瘤的发生.

### 3 SIRT1在消化系肿瘤中的双重作用

从上文可以看出, SIRT1作为癌基因/抑癌基因被人们所广泛研究, 而在消化系肿瘤(包括肝癌、胃癌、结直肠癌、胰腺癌等)中亦被重视, 或者说, SIRT1在消化系肿瘤中的研究相比其在其他肿瘤的研究似乎更为广泛与深入. 与其他肿瘤中的角色类似, SIRT1在消化系肿瘤中的角色也被人们所争论.

首先, SIRT1在肝癌中所扮演的角色具有两面性. Chen等<sup>[30]</sup>的研究发现, SIRT1表达水平与肝癌化疗耐药呈正相关, 还得出结论, SIRT1在肝癌中表达情况与肝癌的预后呈正相关. 此外Liang等<sup>[30]</sup>报道使用siRNA降低SIRT1水平, 能够将一种肝癌顺铂耐药细胞的药物敏感程度提高20倍. 通过cDNA转染能够在普通肝癌顺铂敏感细胞中增加顺铂耐药程度达2-3倍. 这些研究都表明, SIRT1在肝癌的发生、侵袭、耐药等过程中起到了重要的作用. 另一方面, 在代谢相关的肝癌中, SIRT1又被认为扮演着抑癌基因的角色. Herranz等<sup>[54]</sup>发现, 通过过表达SIRT1或是去除SIRT1抑制剂DBC1达到上调SIRT1水平, 能够明显改善代谢相关肝癌小鼠模型的肝癌发生率, 而且上调SIRT1水平后, 正常肝脏遭受的高脂损伤明显降低.

在结肠癌的发生过程中, SIRT1更多充当抑癌基因的角色. Stünkel等<sup>[26]</sup>研究了不同的结肠癌细胞系及结肠癌组织标本, 发现在结肠癌细胞系及结肠癌组织标本中SIRT1水平均明显高表达. Akao等<sup>[55]</sup>通过沉默SIRT1改善了结肠癌耐药细胞系DLD-1对5-Fu的药物敏感性, 进而证实了SIRT1在结肠癌耐药中起到作用. 但是随后的研究发现, SIRT1在结肠癌的发生、发展中更多的扮演着抑癌基因的角色. Firestein与Kabra等<sup>[43,44]</sup>的研究发现, 在25%的I/II/III期结肠癌组织中SIRT1水平高表达, 但是在IV肿瘤中并未发现SIRT1水平的上调, 同时, 在所有结肠癌组织中, 尚有30%检测到SIRT1水平低于正常. 此外, 他们还发现, 通过siRNA敲除SIRT1增加了小鼠模型中的结肠癌发生率, 而用白藜芦醇上调SIRT1明显减低了其发生率.

胰腺肿瘤中, SIRT1的作用同样存在争议. Zhao等<sup>[56]</sup>研究了胰腺癌组织及细胞系, 发现HIC1/SIRT1途径在胰腺癌组织及细胞系中均明显上调, 得出结论, SIRT1很可能在胰腺癌的发生、发展过程中起到重要作用. 同时, Cho等<sup>[57]</sup>的研究发现, 在过表达胰腺癌上调因子的胰腺癌细胞系中, SIRT1能够通过抑制 $\beta$ -catenin进而起到抑制细胞增殖的作用.

在胃癌中, SIRT1的研究更加倾向于与胃癌的发生、发展正相关. Cha等<sup>[58]</sup>通过研究胃癌组织标本发现胃癌中DBC1与SIRT1的水平与胃癌的预后明显相关, 胃癌组织中DBC1与SIRT1明显高表达, 而且DBC1与SIRT1的水平和肿瘤分期、淋巴结转移、肿瘤侵袭、P53水平均明显相关.

综上, SIRT1在消化系肿瘤中的角色同其他肿瘤类似, 大都存在争议, 而争论最多的肝癌、结肠癌中, SIRT1到底是作为促进肿瘤发生的癌基因还是抑制肿瘤形成的抑癌基因仍存在明显争议. 而在胃癌中, SIRT1因其在肿瘤组织中高表达及与肿瘤分期等的正相关性而被认为是癌基因, 但在胃癌中的进一步研究结论是否与其他肿瘤类似需要进一步证实.

### 4 结论

通过甲基化组蛋白, 脱乙酰化组蛋白与非组蛋白、甲基化DNA等作用, SIRT1调控着众多细胞内因子, 这些细胞内因子在细胞增殖、衰老、凋亡及血管发生中起到了重要的作用. 肿瘤抑制因子与促进因子平衡关系的打破最终导致了

#### ■应用要点

本文着重从消化系肿瘤方面探讨SIRT1在诸如胃癌、肝癌、胰腺癌、结肠癌等中的关键性作用、存在的争议以及需要进一步解决的问题.

# 同行评价

本文选题具有新颖性, 对肿瘤分子学的研究有一定参考意义。

肿瘤的发生。SIRT1促进肿瘤发生的机制包括: (1)SIRT1通过改变E2F1、FOXO1、FOXO3、FOXO4、P27、P53、P73、SMAD7、Rb、Bcl-6、Ku-70、E-cadherin、GATA4与GATA5的功能抑制了细胞的凋亡; (2)SIRT1通过修饰E2F1、P53、FOXO1/3/4、Rb和P16抑制细胞衰老与分化; (3)SIRT1通过促进肿瘤血管发生促进肿瘤生长。SIRT1去乙酰化FOXO1, 抑制了细胞衰老, 进而促进内皮细胞增殖与血管发生, 而肿瘤血管的发生与肿瘤的营养供应又密切相关。此外, SIRT1能够通过增加eNOS的功能导致氮氧化物水平的增高, 而氮氧化物水平增高则导致了肿瘤血管数目增加及营养增加。相反地, SIRT1有可能通过抑制肿瘤促进因子如: catenin、survivin、c-Myc、NF- $\kappa$ B和AR来抑制肿瘤形成。诸多的SIRT1上游调控因子则对SIRT1水平起到调控作用。例如: E2F1、AROS、HuR和resveratrol能够上调SIRT1水平或者功能, 而p53、HIC1、DBC1和cyclin B/CDK1能够下调SIRT1水平或其功能。有趣的是, 很多SIRT1上游调控因子同时是SIRT1下游调控因子, 当然这很可能是SIRT1的负反馈调节。

在消化系肿瘤中, 多方面的研究得到了不同的结果。在肝癌、结肠癌、胰腺癌中人们存在广泛争论, SIRT1能够在同一肿瘤中同时作为癌基因与抑癌基因, 肝癌、结肠癌、胰腺癌细胞系/组织中均检测到SIRT1水平高表达, 而通过不同途径上调SIRT1水平降低了小鼠模型的肿瘤发生率, 这一矛盾的现象为人们多不解。在胃癌中, 大都倾向于SIRT1促进了肿瘤的发生、发展、耐药, 原因类似于其他肿瘤中的SIRT1水平高表达, 所以, 胃癌中的SIRT1深入研究是否同其他肿瘤类似将会非常有趣。

SIRT1在肿瘤发生中的作用仍具有争议性, 而SIRT1在肿瘤发生过程中到底起到抑制作用还是促进作用可能依赖于时间点不同及上下游调控因子的不同。显而易见的是, SIRT1是调控细胞增殖、凋亡、衰老和血管发生等过程的众多细胞因子中最具典型的一种。事实上, 在肿瘤抑制因子与促进因子之间的平衡关系才是在肿瘤发生中起到决定性作用的。因此, 对于SIRT1在特定肿瘤环境中的特别作用的进一步研究是非常有必要的。然而, 虽然目前技术不断进步, 但是SIRT1的活性如何检测仍没有确切的办法。SIRT1蛋白水平、NAD<sup>+</sup>浓度和SIRT1甲基化片段都被用来替代检测SIRT1功能。然而用这些指

标来替代却并不能确切衡量, 因为许多蛋白都可能调节SIRT1的功能。所有研究的终极目的都在研究药物能够于上调或者下调SIRT1功能。虽然已经有大量关于SIRT1的研究, 但是进一步的深入研究无疑可以增加我们对于SIRT1在不同肿瘤中扮演的不同角色的认识。在未来不久, 我们期望对SIRT1的靶向治疗能够转变成成为肿瘤治疗的新方法。

## 参考文献

- Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 502-511 [PMID: 18234754 DOI: 10.1056/NEJMra072367]
- Knudson AG. Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 157-162 [PMID: 11905807 DOI: 10.1038/35101031]
- Herranz D, Serrano M. SIRT1: recent lessons from mouse models. *Nat Rev Cancer* 2010; 10: 819-823 [PMID: 21102633 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.026]
- Chung S, Yao H, Caito S, Hwang JW, Arunachalam G, Rahman I. Regulation of SIRT1 in cellular functions: role of polyphenols. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501: 79-90 [PMID: 20450879 DOI: 10.1016/j.ab.2010.05.003]
- Yi J, Luo J. SIRT1 and p53, effect on cancer, senescence and beyond. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1804: 1684-1689 [PMID: 20471503 DOI: 10.1016/j.bbapap.2010.05.002]
- Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol* 2010; 5: 253-295 [PMID: 20078221 DOI: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092250]
- de Boer VC, de Goffau MC, Arts IC, Hollman PC, Keijer J. SIRT1 stimulation by polyphenols is affected by their stability and metabolism. *Mech Ageing Dev* 2006; 127: 618-627 [PMID: 16603228 DOI: 10.1016/j.mad.2006.02.007]
- Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-342 [PMID: 17086191 DOI: 10.1038/nature05354]
- Argmann C, Auwerx J. Insulin secretion: SIRT4 gets in on the act. *Cell* 2006; 126: 837-839 [PMID: 16959562 DOI: 10.1016/j.cell.2006.08.031]
- Nakagawa T, Lomb DJ, Haigis MC, Guarente L. SIRT5 Deacetylates carbamoyl phosphate synthetase 1 and regulates the urea cycle. *Cell* 2009; 137: 560-570 [PMID: 19410549]
- Michishita E, McCord RA, Berber E, Kioi M, Padilla-Nash H, Damian M, Cheung P, Kusumoto R, Kawahara TL, Barrett JC, Chang HY, Bohr VA, Ried T, Gozani O, Chua KF. SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin. *Nature* 2008; 452: 492-496 [PMID: 18337721 DOI: 10.1038/nature06736]
- Vaquero A, Scher M, Lee D, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Reinberg D. Human SirT1 interacts with



- histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Mol Cell* 2004; 16: 93-105 [PMID: 15469825 DOI: 10.1016/j.molcel.2004.08.031]
- 13 Liu T, Liu PY, Marshall GM. The critical role of the class III histone deacetylase SIRT1 in cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 1702-1705 [PMID: 19244112 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3365]
- 14 Vaquero A, Scher M, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Serrano L, Reinberg D. SIRT1 regulates the histone methyl-transferase SUV39H1 during heterochromatin formation. *Nature* 2007; 450: 440-444 [PMID: 18004385 DOI: 10.1038/nature06268]
- 15 Kuzmichev A, Margueron R, Vaquero A, Preissner TS, Scher M, Kirmizis A, Ouyang X, Brockdorff N, Abate-Shen C, Farnham P, Reinberg D. Composition and histone substrates of polycomb repressive group complexes change during cellular differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 1859-1864 [PMID: 15684044 DOI: 10.1073/pnas.0409875102]
- 16 Zhang T, Kraus WL. SIRT1-dependent regulation of chromatin and transcription: linking NAD(+) metabolism and signaling to the control of cellular functions. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1804: 1666-1675 [PMID: 19879981 DOI: 10.1016/j.bbapap.2009.10.022]
- 17 Wang C, Chen L, Hou X, Li Z, Kabra N, Ma Y, Nemoto S, Finkel T, Gu W, Cress WD, Chen J. Interactions between E2F1 and SirT1 regulate apoptotic response to DNA damage. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 1025-1031 [PMID: 16892051 DOI: 10.1038/ncb1468]
- 18 Heltweg B, Gattabont T, Schuler AD, Posakony J, Li H, Goehle S, Kollipara R, Depinho RA, Gu Y, Simon JA, Bedalov A. Antitumor activity of a small-molecule inhibitor of human silent information regulator 2 enzymes. *Cancer Res* 2006; 66: 4368-4377 [PMID: 16618762 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3617]
- 19 Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, Guarente L, Gu W. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell* 2001; 107: 137-148 [PMID: 11672522 DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00524-4]
- 20 Pruitt K, Zinn RL, Ohm JE, McGarvey KM, Kang SH, Watkins DN, Herman JG, Baylin SB. Inhibition of SIRT1 reactivates silenced cancer genes without loss of promoter DNA hypermethylation. *PLoS Genet* 2006; 2: e40 [PMID: 16596166 DOI: 10.1371/journal.pgen.0020040]
- 21 Chen WY, Wang DH, Yen RC, Luo J, Gu W, Baylin SB. Tumor suppressor HIC1 directly regulates SIRT1 to modulate p53-dependent DNA-damage responses. *Cell* 2005; 123: 437-448 [PMID: 16269335 DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.011]
- 22 Ford J, Ahmed S, Allison S, Jiang M, Milner J. JNK2-dependent regulation of SIRT1 protein stability. *Cell Cycle* 2008; 7: 3091-3097 [PMID: 18838864 DOI: 10.4161/cc.7.19.6799]
- 23 Jung-Hynes B, Nihal M, Zhong W, Ahmad N. Role of sirtuin histone deacetylase SIRT1 in prostate cancer. A target for prostate cancer management via its inhibition? *J Biol Chem* 2009; 284: 3823-3832 [PMID: 19075016 DOI: 10.4161/cc.8.10.8408]
- 24 Huffman DM, Grizzle WE, Bamman MM, Kim JS, Eltoum IA, Elgavish A, Nagy TR. SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 6612-6618 [PMID: 17638871 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0085]
- 25 Bradbury CA, Khanim FL, Hayden R, Bunce CM, White DA, Drayson MT, Craddock C, Turner BM. Histone deacetylases in acute myeloid leukaemia show a distinctive pattern of expression that changes selectively in response to deacetylase inhibitors. *Leukemia* 2005; 19: 1751-1759 [PMID: 16121216 DOI: 10.1038/sj.leu.2403910]
- 26 Stükel W, Peh BK, Tan YC, Nayagam VM, Wang X, Salto-Tellez M, Ni B, Entzeroth M, Wood J. Function of the SIRT1 protein deacetylase in cancer. *Bio-technol J* 2007; 2: 1360-1368 [PMID: 17806102]
- 27 Lim CS. SIRT1: tumor promoter or tumor suppressor? *Med Hypotheses* 2006; 67: 341-344 [PMID: 16546327 DOI: 10.1016/j.mehy.2006.01.050]
- 28 Ford J, Jiang M, Milner J. Cancer-specific functions of SIRT1 enable human epithelial cancer cell growth and survival. *Cancer Res* 2005; 65: 10457-10463 [PMID: 16288037 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1923]
- 29 Liang XJ, Finkel T, Shen DW, Yin JJ, Aszalos A, Gottesman MM. SIRT1 contributes in part to cisplatin resistance in cancer cells by altering mitochondrial metabolism. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 1499-1506 [PMID: 18723829 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-2130]
- 30 Chen HC, Jeng YM, Yuan RH, Hsu HC, Chen YL. SIRT1 promotes tumorigenesis and resistance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma and its expression predicts poor prognosis. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2011-2019 [PMID: 22146883]
- 31 Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, Chua KF, Greer PL, Lin Y, Tran H, Ross SE, Mostoslavsky R, Cohen HY, Hu LS, Cheng HL, Jedrychowski MP, Gygi SP, Sinclair DA, Alt FW, Greenberg ME. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 303: 2011-2015 [PMID: 14976264 DOI: 10.1126/science.1094637]
- 32 Lee H, Kim KR, Noh SJ, Park HS, Kwon KS, Park BH, Jung SH, Youn HJ, Lee BK, Chung MJ, Koh DH, Moon WS, Jang KY. Expression of DBC1 and SIRT1 is associated with poor prognosis for breast carcinoma. *Hum Pathol* 2011; 42: 204-213 [PMID: 21056897]
- 33 Elangovan S, Ramachandran S, Venkatesan N, Ananth S, Gnana-Prakasam JP, Martin PM, Browning DD, Schoenlein PV, Prasad PD, Ganapathy V, Thangaraju M. SIRT1 is essential for oncogenic signaling by estrogen/estrogen receptor  $\alpha$  in breast cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 6654-6664 [PMID: 21920899]
- 34 Feng AN, Zhang LH, Fan XS, Huang Q, Ye Q, Wu HY, Yang J. Expression of SIRT1 in gastric cardiac cancer and its clinicopathologic significance. *Int J Surg Pathol* 2011; 19: 743-750 [PMID: 21865267]
- 35 Wang H, Liu H, Chen K, Xiao J, He K, Zhang J, Xiang G. SIRT1 promotes tumorigenesis of hepatocellular carcinoma through PI3K/PTEN/AKT signaling. *Oncol Rep* 2012; 28: 311-318 [PMID: 22552445]
- 36 Nakane K, Fujita Y, Terazawa R, Atsumi Y, Kato T, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. Inhibition of cortactin and SIRT1 expression attenuates migration and invasion of prostate cancer DU145 cells. *Int J Urol* 2012; 19: 71-79 [PMID: 22050448]
- 37 Cardiff RD, Anver MR, Gusterson BA, Hennighausen L, Jensen RA, Merino MJ, Rehm S, Russo J, Tavassoli FA, Wakefield LM, Ward JM, Green JE. The mammary pathology of genetically engineered mice: the consensus report and recommendations from the Annapolis meeting. *Oncogene* 2000; 19: 968-988 [PMID: 10713680 DOI: 10.1038/sj.onc.1203277]

- 38 McBurney MW, Yang X, Jardine K, Bieman M, Th'ng J, Lemieux M. The absence of SIR2alpha protein has no effect on global gene silencing in mouse embryonic stem cells. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 402-409 [PMID: 12651913]
- 39 Cheng HL, Mostoslavsky R, Saito S, Manis JP, Gu Y, Patel P, Bronson R, Appella E, Alt FW, Chua KF. Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 10794-10799 [PMID: 12960381]
- 40 Banks AS, Kon N, Knight C, Matsumoto M, Gutiérrez-Juárez R, Rossetti L, Gu W, Accili D. SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metab* 2008; 8: 333-341 [PMID: 18840364 DOI: 10.1016/j.cmet.2008.08.014]
- 41 Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschöp MH. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 9793-9798 [PMID: 18599449 DOI: 10.1073/pnas.0802917105]
- 42 Solomon JM, Pasupuleti R, Xu L, McDonagh T, Curtis R, DiStefano PS, Huber LJ. Inhibition of SIRT1 catalytic activity increases p53 acetylation but does not alter cell survival following DNA damage. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 28-38 [PMID: 16354677]
- 43 Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, Bhimavarapu A, Luikenhuis S, de Cabo R, Fuchs C, Hahn WC, Guarente LP, Sinclair DA. The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PLoS One* 2008; 3: e2020 [PMID: 18414679 DOI: 10.1371/journal.pone.0002020]
- 44 Kabra N, Li Z, Chen L, Li B, Zhang X, Wang C, Yeatman T, Coppola D, Chen J. SirT1 is an inhibitor of proliferation and tumor formation in colon cancer. *J Biol Chem* 2009; 284: 18210-18217 [PMID: 19433578 DOI: 10.1074/jbc.M109.000034]
- 45 Wang RH, Zheng Y, Kim HS, Xu X, Cao L, Luhasen T, Lee MH, Xiao C, Vassilopoulos A, Chen W, Gardner K, Man YG, Hung MC, Finkel T, Deng CX. Interplay among BRCA1, SIRT1, and Survivin during BRCA1-associated tumorigenesis. *Mol Cell* 2008; 32: 11-20 [PMID: 18851829 DOI: 10.1016/j.molcel.2008.09.011]
- 46 Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425: 191-196 [PMID: 12939617 DOI: 10.1038/nature01960]
- 47 Altieri DC. Survivin, cancer networks and pathway-directed drug discovery. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 61-70 [PMID: 18075512 DOI: 10.1038/nrc2293]
- 48 Paziienza V, Piepoli A, Panza A, Valvano MR, Benegiamo G, Vinciguerra M, Andriulli A, Mazzocchi G. SIRT1 and the clock gene machinery in colorectal cancer. *Cancer Invest* 2012; 30: 98-105 [PMID: 22149272]
- 49 Yuan J, Pu M, Zhang Z, Lou Z. Histone H3-K56 acetylation is important for genomic stability in mammals. *Cell Cycle* 2009; 8: 1747-1753 [PMID: 19411844 DOI: 10.4161/cc.8.11.8620]
- 50 Yuan J, Minter-Dykhouse K, Lou Z. A c-Myc-SIRT1 feedback loop regulates cell growth and transformation. *J Cell Biol* 2009; 185: 203-211 [PMID: 19364925 DOI: 10.1083/jcb.200809167]
- 51 Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS, Keller MD, Jones DR, Frye RA, Mayo MW. Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J* 2004; 23: 2369-2380 [PMID: 15152190 DOI: 10.1038/sj.emboj.7600244]
- 52 Dai Y, Ngo D, Forman LW, Qin DC, Jacob J, Faller DV. Sirtuin 1 is required for antagonist-induced transcriptional repression of androgen-responsive genes by the androgen receptor. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1807-1821 [PMID: 17505061 DOI: 10.1210/me.2006-0467]
- 53 Fu M, Liu M, Sauve AA, Jiao X, Zhang X, Wu X, Powell MJ, Yang T, Gu W, Avantiaggiati ML, Patabiraman N, Pestell TG, Wang F, Quong AA, Wang C, Pestell RG. Hormonal control of androgen receptor function through SIRT1. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 8122-8135 [PMID: 16923962 DOI: 10.1128/MCB.00289-06]
- 54 Herranz D, Muñoz-Martin M, Cañamero M, Mulero F, Martinez-Pastor B, Fernandez-Capetillo O, Serrano M. Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer. *Nat Commun* 2010; 1: 3 [PMID: 20975665]
- 55 Akao Y, Noguchi S, Iio A, Kojima K, Takagi T, Naoe T. Dysregulation of microRNA-34a expression causes drug-resistance to 5-FU in human colon cancer DLD-1 cells. *Cancer Lett* 2011; 300: 197-204 [PMID: 21067862]
- 56 Zhao G, Qin Q, Zhang J, Liu Y, Deng S, Liu L, Wang B, Tian K, Wang C. Hypermethylation of HIC1 Promoter and Aberrant Expression of HIC1/SIRT1 Might Contribute to the Carcinogenesis of Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol* 2012 May 3. [Epub ahead of print] [PMID: 22552606]
- 57 Cho IR, Koh SS, Malilas W, Srisuttee R, Moon J, Choi YW, Horio Y, Oh S, Chung YH. SIRT1 inhibits proliferation of pancreatic cancer cells expressing pancreatic adenocarcinoma up-regulated factor (PAUF), a novel oncogene, by suppression of beta-catenin. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 423: 270-275 [PMID: 22640743]
- 58 Cha EJ, Noh SJ, Kwon KS, Kim CY, Park BH, Park HS, Lee H, Chung MJ, Kang MJ, Lee DG, Moon WS, Jang KY. Expression of DBC1 and SIRT1 is associated with poor prognosis of gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4453-4459 [PMID: 19509139 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3329]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 阿司匹林对HT-29、SW480结肠癌细胞株CD133表达的影响

陈小燕, 廖永美, 刘胜远, 赵 逵

陈小燕, 廖永美, 赵逵, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

刘胜远, 遵义医学院附属医院神经外科 贵州省遵义市 563099

陈小燕, 在读硕士, 主要从事大肠癌的研究工作.

贵州省高层次人才科研条件特助经费基金资助项目, No. T ZJF-2011-32

作者贡献分布: 此课题由赵逵与廖永美设计; 研究过程由廖永美操作完成; 本论文初稿写作、修改及定稿由陈小燕与刘胜远共同完成; 文献查阅及校对由陈小燕完成; 赵逵审阅.

通讯作者: 赵逵, 教授, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市大连路201号, 遵义医学院附属医院消化内科. kuizhao95868@msn.com

收稿日期: 2012-11-14 修回日期: 2012-12-20

接受日期: 2012-12-28 在线出版日期: 2013-01-08

## Treatment with aspirin inhibits the expression of CD133 in human colorectal cancer cells HT-29 and SW480

Xiao-Yan Chen, Yong-Mei Liao, Sheng-Yuan Liu, Kui Zhao

Xiao-Yan Chen, Yong-Mei Liao, Kui Zhao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 536099, Guizhou Province, China  
Sheng-Yuan Liu, Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 536099, Guizhou Province, China

Supported by: the Special Scientific Research Fund for High-level Talents of Guizhou Province, No. TZJF-2011-32

Correspondence to: Kui Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Zunyi 536099, Guizhou Province, China. kuizhao95868@msn.com

Received: 2012-11-14 Revised: 2012-12-20

Accepted: 2012-12-28 Published online: 2013-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of treatment with aspirin on CD133 protein expression in colorectal cancer cell (CRC) lines.

**METHODS:** HT-29 and SW480 cells were treated with different concentrations of aspirin (0.0, 2.5, 5.0, or 10.0 mmol/L), and the expression of CD133 was detected by flow cytometry.

**RESULTS:** Flow cytometry results demonstrated that the proportions of CD133<sup>+</sup> cells were 88.37% ± 1.00% and 65.22% ± 1.52% in HT-29

and SW480 cells, respectively. Treatment with aspirin significantly reduced the expression of CD133 in HT-29 and SW480 cells in a concentration-dependent manner (both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Treatment with aspirin can inhibit the expression of CD133 in HT-29 and SW480 cells in a concentration-dependent manner.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Aspirin; Colorectal cancer; Colorectal cancer cells; CD133; Flow Cytometry; HT-29; SW480

Chen XY, Liao YM, Liu SY, Zhao K. Treatment with aspirin inhibits the expression of CD133 in human colorectal cancer cells HT-29 and SW480. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 13-18

## 摘要

**目的:** 观察阿司匹林对人结肠癌肿瘤干细胞标志物CD133表达的影响, 探讨其对结肠癌干细胞的作用.

**方法:** 流式细胞仪检测结肠癌细胞株HT-29和SW480在不同浓度阿司匹林(0、2.5、5.0、10.0 mmol/L)作用下CD133的表达变化.

**结果:** 流式细胞仪检测结果显示CD133<sup>+</sup>细胞在HT-29细胞株中的比例为88.37% ± 1.00%, 在SW480细胞系中的比例为65.22% ± 1.50%. 用阿司匹林干预后, 随着阿司匹林浓度的增加, CD133在结肠癌细胞系HT-29和SW480中的表达呈下降趋势, 差异有统计学意义(45.41 ± 1.09, 55.31 ± 1.07 vs 73.45 ± 1.04; 28.28 ± 0.30, 42.27 ± 0.78 vs 58.96 ± 0.09, 均 $P < 0.05$ ).

**结论:** 阿司匹林能抑制结肠癌细胞株HT-29和SW480中CD133的表达, 呈剂量依赖性.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 阿司匹林; 结肠癌; 肿瘤干细胞; CD133; 流式细胞仪; HT-29; SW480

## ■背景资料

肿瘤干细胞(CSCs)是肿瘤发生的根源, 也是彻底根治肿瘤的靶点. CD133是CSCs标志物之一, 在多种实体肿瘤中表达, 包括结直肠癌、脑胶质瘤等. CD133<sup>+</sup>细胞比例与肿瘤的侵袭性、病理分级及临床预后密切相关, 可能成为潜在的治疗靶点.

## ■同行评议者

杜祥, 教授, 主任医师, 上海复旦大学附属肿瘤医院



## ■ 研发前沿

非甾体抗炎药(NSAIDs)阿司匹林除具有解热镇痛抗炎作用外,还可以降低腺瘤和结直肠癌发生的风险,有效预防结直肠癌发生,甚至可以降低患者的死亡率以及改善生存质量。然而阿司匹林对肿瘤干细胞标志物CD133有何影响以及如何作用于结直肠癌干细胞,都尚不清楚,需进一步研究。

陈小燕, 廖永美, 刘胜远, 赵逵. 阿司匹林对HT-29、SW480结肠癌细胞株CD133表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 13-18

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/13.asp>

## 0 引言

近年来,肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)概念<sup>[1,2]</sup>的提出更好地解释了放、化疗与生物免疫治疗等方法能够杀灭大部分肿瘤细胞而无法从根本上治愈结直肠癌的问题,并为研究肿瘤细胞的生物学特性提供了新的方向和思路以及为肿瘤的临床治疗提供了新的靶点,目前已逐渐成为肿瘤防治研究的新热点。CD133是CSCs标志物之一<sup>[3]</sup>,在多种实体肿瘤中表达,包括结直肠癌、脑胶质瘤等<sup>[4,5]</sup>。CD133<sup>+</sup>细胞比例与肿瘤的侵袭性、病理分级及临床预后密切相关<sup>[6]</sup>,可能成为潜在的治疗靶点。阿司匹林作为一种临床常用的非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs),除具有解热镇痛抗炎作用外,还可以降低腺瘤和结直肠癌发生的风险<sup>[7,8]</sup>,有效预防结直肠癌发生<sup>[9]</sup>,甚至可以降低患者的死亡率以及改善生存质量<sup>[7]</sup>,尤其是在最初的5年<sup>[8]</sup>。然而阿司匹林是如何作用于结直肠癌干细胞,对CSCs标志物CD133又有何影响,都尚不清楚。本研究拟通过对不同浓度的阿司匹林对人结肠癌细胞株HT-29、SW480中CSCs标志物CD133表达的影响进行研究,以探讨其对结直肠癌干细胞是否有潜在的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结肠癌细胞株HT-29、SW480分别购自中科院上海细胞库、重庆医科大学细胞实验室;阿司匹林、McCoy'S 5a培养基及胰蛋白酶购自美国Sigma公司;胎牛血清购自美国Hyclone公司;小鼠抗人CD133单克隆抗体、同型抗体mouse IgG2a-PE购自德国Miltenyi-Biotec公司;流式细胞仪为美国BD公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞的培养:** 人结肠癌细胞株HT-29、SW480培养于含10%胎牛血清的McCoy'S 5a培养基,置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>的培养箱中常规培养,待细胞贴壁生长至80%-90%融合时,用0.25%胰蛋白酶与0.02% EDTA混合液进行消化传代。细胞生长状态良好、处于对数期时用于实验。

**1.2.2 流式细胞仪直接免疫荧光法检测在不同浓度阿司匹林作用下CD133的表达:** 取对数生长期

表1 HT-29细胞和SW480细胞中不同组别中表达CD133<sup>+</sup>百分率的比较 (*n* = 3)

分组	CD133阳性率(%)	
	HT-29	SW480
对照组	88.37 ± 1.00	65.22 ± 1.52
2.5 mmol/L	73.45 ± 1.04 <sup>a</sup>	58.96 ± 0.09 <sup>a</sup>
5.0 mmol/L	55.31 ± 1.07 <sup>ac</sup>	42.27 ± 0.78 <sup>ac</sup>
10.0 mmol/L	45.41 ± 1.09 <sup>ac</sup>	28.28 ± 0.30 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 对照组; <sup>b</sup>*P* < 0.01 vs 2.5 mmol/L组。

的结肠癌细胞株HT-29、SW480,用0.25%胰蛋白酶-0.02%EDTA混合液进行消化,离心计数,用McCoy'S 5a完全培养液稀释至5×10<sup>4</sup>个/mL的单细胞悬液,接种于50 mL细胞培养瓶中培养,待细胞培养24 h后,换用无血清培养基进行同步化培养。同步化培养24 h后按分组加药: 0、2.5、5.0、10.0 mmol/L, HT-29细胞再继续培养48 h、SW480细胞再继续培养72 h后,用0.25%胰蛋白酶与0.02% EDTA混合液进行消化制成单细胞悬液,离心计数, PBS洗涤1次,离心300 *g*, 10 min, 去上清,调整浓度为1×10<sup>7</sup>个/mL,每管加入100 μL单细胞悬液,加入PE标记的小鼠抗人CD133单克隆抗体10 μL,同时在对照细胞中添加相应的同型对照Mouse IgG2a-PE 10 μL,避光,4℃。放置30 min, PBS洗2次,除去未结合一抗,离心300 *g*, 10 min, 去除上清液体,各管加入500 μL PBS重悬;标记好的细胞悬液经200目筛网滤过,上流式细胞仪分析。

**统计学处理** 计量资料均采用mean ± SD表示,采用SPSS17.0统计学软件进行统计学处理,组内的比较采用单因素方差分析,组间比较采用独立样本*t*检验, *P* < 0.05表示差异有统计学意义。

## 2 结果

流式细胞仪检测结肠癌细胞株HT-29和SW480细胞中CD133<sup>+</sup>细胞在不同药物组的百分率比较结果显示(表1, 图1-3), CD133在结肠癌细胞株HT-29和SW480中大量表达, CD133<sup>+</sup>细胞在上述两种细胞系中的比例分别为88.37% ± 1.00%, 65.22% ± 1.52%。用阿司匹林干预后,随着药物浓度的增加, CD133<sup>+</sup>细胞在结肠癌细胞株HT-29和SW480细胞中的比例呈明显的下降趋势,并具有良好的量-效关系,与对照组相比,差异有统计学意义(45.41 ± 1.09, 55.31 ± 1.07 vs 73.45 ±

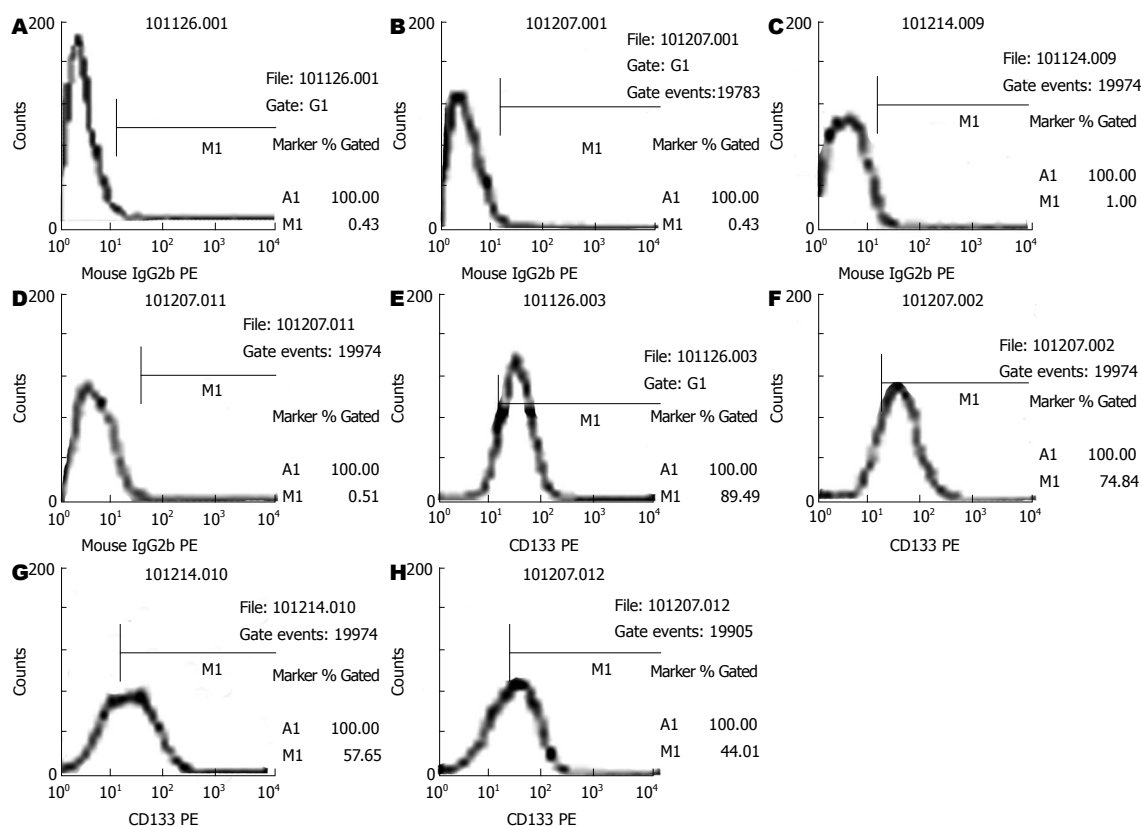


图 1 不同浓度阿司匹林作用后HT-29细胞中CD133<sup>+</sup>细胞比例流式图. A-D: 同型对照组; E-H: 药物组. A, E: 对照组; B-F: 2.5 mmol/L; C, G: 5.0 mmol/L; D, H: 10.0 mmol/L.

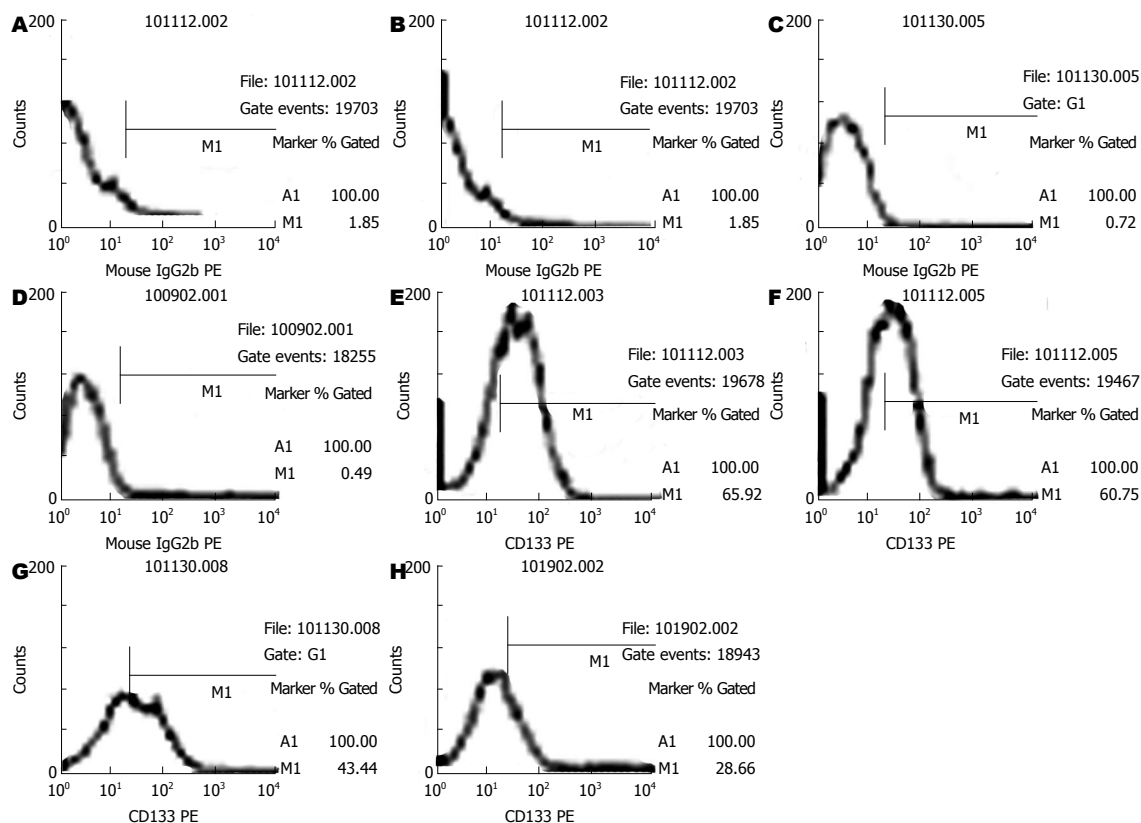


图 2 不同浓度阿司匹林作用后SW480细胞中CD133<sup>+</sup>细胞比例流式图. A-D: 同型对照组; E-H: 药物组. A, E: 对照组; B-F: 2.5 mmol/L; C, G: 5.0 mmol/L; D, H: 10.0 mmol/L.

#### ■ 相关报道

英国纽卡斯尔大学的研究发现长期服用小剂量阿司匹林可使易引发结直肠癌的林奇综合征患者肠癌的发病率降低, 他们认为阿司匹林对结肠内的异常干细胞存活有一定影响。

# ■ 创新盘点

本课题以流式细胞仪直接免疫荧光法检测在不同浓度阿司匹林作用下CD133的表达变化,探讨其对结肠癌干细胞的作用。

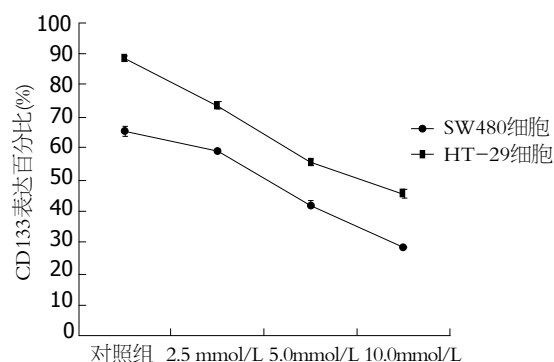


图3 HT-29细胞和SW480细胞中不同浓度阿司匹林对CD133表达的影响比较。

1.04;  $28.28 \pm 0.30$ ,  $42.27 \pm 0.78$  vs  $58.96 \pm 0.09$ , 均  $P < 0.05$ ).

## 3 讨论

结直肠癌是胃肠道中最常见的恶性肿瘤之一,居全球肿瘤发病率的第3位<sup>[10]</sup>,并且其治疗面临着多耐药性、高复发率等诸多挑战.近年来,CSCs理论认为CSCs是肿瘤发生的根源,也是彻底根治肿瘤的靶点<sup>[11]</sup>,因此为肿瘤研究和治疗提供了新的方向.CSCs是指存在于肿瘤组织内的一群数目极少但具有自我更新和增殖能力的细胞,能够分化为不同表型的癌细胞,在肿瘤的发生、发展和转归过程中发挥重要作用<sup>[1,12]</sup>.迄今为止,已经发现了大量与CSCs相关的表面标志物,如CD133、Lgr5<sup>[13,14]</sup>、CD44<sup>[15]</sup>、CD166<sup>[16]</sup>、Bmi-1<sup>[17]</sup>及DCAMKL-1<sup>[18]</sup>等,在这些标志物中最引人关注的是CD133,也是研究较多的CSCs标志物。

近年来研究发现,CD133可以作为结直肠癌干细胞鉴定的标志物.尽管CD133已经用于分离包括结肠癌在内的各种CSCs,但其功能目前还不是很清楚<sup>[19]</sup>.有研究发现CD133的表达与结直肠癌患者的预后密切相关,Zhang等<sup>[4]</sup>对II-III期结肠癌患者CD133和CXCR4共表达的研究表明,CD133和CXCR4共表达是患者不良预后的危险因素,同时指出CD133推动了癌症发展.Coco等<sup>[20]</sup>的研究也指出,CD133表达增高在结直肠癌中频繁发生,其高表达预示着患者预后较差,因此对CD133表达的评估可以帮助识别高危结肠癌患者.Horst等<sup>[21]</sup>还发现CD133与CD44、CD166相比而言,是预测患者预后最好的指标.研究表明,CD133<sup>+</sup>肿瘤细胞促进了肿瘤细胞的复发,可能是由于CD133<sup>+</sup>细胞能够逃避固有免疫和适应性免疫监视,参与肿瘤血管的形成,干细胞相关信号通路的激活,并借助自分泌作用产生IL-4介

导耐药<sup>[22]</sup>及阻止这些细胞凋亡<sup>[23]</sup>,其大量表达会导致化疗药物失效,造成肿瘤的复发和转移<sup>[24]</sup>.因此CD133可能成为结直肠癌治疗的一潜在靶点。

本研究结果显示,CD133<sup>+</sup>细胞在HT-29细胞株中的比例为 $88.37\% \pm 1.00\%$ ,在SW480细胞株中的比例为 $65.22\% \pm 1.50\%$ .Elsaba等<sup>[25]</sup>同样运用流式细胞仪检测8种结肠癌细胞株中CD133<sup>+</sup>细胞比例的结果显示,其比例在0%-95%不等,其中HT-29细胞中CD133<sup>+</sup>细胞比例最高,大于95%,而SW480细胞中CD133<sup>+</sup>细胞比例占40%左右的,这与本研究结果大致相符.Kawamoto等<sup>[26]</sup>的研究显示,结肠癌细胞株SW620含有CD133<sup>+</sup>和CD133<sup>-</sup>两种细胞表型,而前者与CSCs的特性相一致.由此表明,CD133可作为识别和鉴定结直肠癌干细胞的标志物.此外研究表明,CD133<sup>+</sup>细胞比例与肿瘤的侵袭性、病理分级及临床预后密切相关.Lee等<sup>[27]</sup>研究发现,HT-29细胞中,CD133<sup>+</sup>细胞较CD133<sup>-</sup>细胞有更强的致瘤性,并且上述两种细胞的蛋白表达是有差异的,例如与肿瘤转移和浸润有关的肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚单位和肌动蛋白结合蛋白在CD133<sup>+</sup>细胞中表达上调,其对肿瘤的发生和干细胞特性起重要作用。

大量的证据表明,服用阿司匹林或其他NSAIDs可以减少患结直肠癌的危险、改善结直肠癌患者的预后以及降低术后复发率等.Fox等<sup>[28]</sup>研究发现每日服用阿司匹林可使其癌症死亡风险降低16%.然而其对CSCs的作用机制尚不清楚,对CSCs标志物CD133有何影响,都有待进一步研究.本研究初步显示,不同药物浓度的阿司匹林能够有效抑制对体外培养的结肠癌细胞株HT-29和SW480细胞中CD133的表达,并呈良好的剂量依赖关系,对照组和药物组之间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ).这和英国纽卡斯尔大学的研究相符,其研究发现长期服用小剂量阿司匹林可使易引发结直肠癌的林奇综合征患者肠癌的发病率降低,他们认为阿司匹林对结肠内的异常干细胞存活有影响.同时Lou等<sup>[29]</sup>关于阿司匹林对内皮祖细胞生物学的研究也表明,阿司匹林可以降低受试者外周血中CD133<sup>+</sup>内皮祖细胞的比例,呈明显的时效关系,但与量效关系不大.Mak等<sup>[30]</sup>的研究指出,下调CD133导致 $\beta$ -catenin的乙酰化和降解的增加,从而抑制肿瘤的生长增殖.安敏等<sup>[31]</sup>研究也显示阿司匹林对结肠癌细胞株Caco-2的生长起抑制作用,呈剂



量-时间依赖性. Zhu等<sup>[32]</sup>发现内源性Wnt信号激活能破坏隐窝的结构并导致CD133<sup>+</sup>干细胞比例增加, 最终导致在小肠黏膜的恶性转化. 这一些结果均提示CD133<sup>+</sup>结肠癌干细胞与Wnt信号通路之间的潜在联系. 因此, 我们推测阿司匹林对结肠癌CSCs的作用可能涉及到Wnt/ $\beta$ -catenin通路.

总之, 本研究结果表明CD133在人结肠癌HT-29和SW480细胞株中大量表达, 表明其可作为识别和鉴定结直肠癌干细胞的标志物和进行干预治疗的观察指标. 同时阿司匹林可减少CSCs标志物CD133的表达而抑制CSCs, 其机制可能涉及到Wnt/ $\beta$ -catenin通路, 为NSAIDs阿司匹林临床防治结直肠癌提供了新的相关实验依据. 然而阿司匹林抑制CD133的表达所涉及的具体机制仍需进一步研究.

#### 4 参考文献

- Kemper K, Prasetyanti PR, De Lau W, Rodermond H, Clevers H, Medema JP. Monoclonal antibodies against Lgr5 identify human colorectal cancer stem cells. *Stem Cells* 2012; 30: 2378-2386 [PMID: 22969042 DOI: 10.1002/stem.1233]
- Dalerba P, Cho RW, Clarke MF. Cancer stem cells: models and concepts. *Annu Rev Med* 2007; 58: 267-284 [PMID: 17002552]
- Kawamoto A, Tanaka K, Saigusa S, Toiyama Y, Morimoto Y, Fujikawa H, Iwata T, Matsushita K, Yokoe T, Yasuda H, Inoue Y, Miki C, Kusunoki M. Clinical significance of radiation-induced CD133 expression in residual rectal cancer cells after chemoradiotherapy. *Exp Ther Med* 2012; 3: 403-409 [PMID: 22969903]
- Zhang NH, Li J, Li Y, Zhang XT, Liao WT, Zhang JY, Li R, Luo RC. Co-expression of CXCR4 and CD133 proteins is associated with poor prognosis in stage II-III colon cancer patients. *Exp Ther Med* 2012; 3: 973-982 [PMID: 22970002]
- Gopisetty G, Xu J, Sampath D, Colman H, Puduvali VK. Epigenetic regulation of CD133/PROM1 expression in glioma stem cells by Sp1/myc and promoter methylation. *Oncogene* 2012 Sep 3. [Epub ahead of print] [PMID: 22945648 DOI: 10.1038/onc.2012.331.]
- Liu G, Yuan X, Zeng Z, Tunici P, Ng H, Abdulkadir IR, Lu L, Irvin D, Black KL, Yu JS. Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133<sup>+</sup> cancer stem cells in glioblastoma. *Mol Cancer* 2006; 5: 67 [PMID: 17140455]
- McCowan C, Munro AJ, Donnan PT, Steele RJ. Use of aspirin post-diagnosis in a cohort of patients with colorectal cancer and its association with all-cause and colorectal cancer specific mortality. *Eur J Cancer* 2012 Nov 19. [Epub ahead of print] [PMID: 23182687 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.10.024.]
- Walker AJ, Grainge MJ, Card TR. Aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drug use and colorectal cancer survival: a cohort study. *Br J Cancer* 2012; 107: 1602-1607 [PMID: 23011483 DOI: 10.1038/bjc.2012.427.]
- Fernández Calderón M, Betés Ibáñez MT. [Aspirin in the primary prevention of colorectal cancer]. *An Sist Sanit Navar* 2012; 35: 261-267 [PMID: 22948427]
- Grizzi F, Celesti G, Basso G, Laghi L. Tumor budding as a potential histopathological biomarker in colorectal cancer: Hype or hope? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6532-6536 [PMID: 23236225 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6532.]
- Karlic H, Herrmann H, Schulenburg A, Grunt TW, Laffer S, Mirkina I, Hubmann R, Shehata M, Marian B, Selzer E, Pfeilstöcker M, Pittermann E, Jäger U, Pehamberger H, Zielinski C, Valent P. [Tumor stem cell research - basis and challenge for diagnosis and therapy]. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122: 423-436
- Mélin C, Perraud A, Akil H, Jauberteau MO, Cardot P, Mathonnet M, Battu S. Cancer stem cell sorting from colorectal cancer cell lines by sedimentation field flow fractionation. *Anal Chem* 2012; 84: 1549-1556 [PMID: 22236375 DOI: 10.1021/ac]
- Wu XS, Xi HQ, Chen L. Lgr5 is a potential marker of colorectal carcinoma stem cells that correlates with patient survival. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 244 [PMID: 23153436 DOI: 10.1186/1477-7819-10-244.]
- Kleist B, Xu L, Kersten C, Seel V, Li G, Poetsch M. Single nucleotide polymorphisms of the adult intestinal stem cell marker Lgr5 in primary and metastatic colorectal cancer. *Am J Transl Res* 2012; 4: 279-290 [PMID: 22937206]
- de Beça FF, Caetano P, Gerhard R, Alvarenga CA, Gomes M, Paredes J, Schmitt F. Cancer stem cells markers CD44, CD24 and ALDH1 in breast cancer special histological types. *J Clin Pathol* 2012 Oct 30. [Epub ahead of print] [PMID: 23112116]
- Piscuoglio S, Lehmann FS, Zlobec I, Tornillo L, Dietmaier W, Hartmann A, Wünsch PH, Sessa F, Rümmele P, Baumhoer D, Terracciano LM. Effect of EpCAM, CD44, CD133 and CD166 expression on patient survival in tumours of the ampulla of Vater. *J Clin Pathol* 2012; 65: 140-145 [PMID: 22130902 DOI: 10.1136/jclinpath-]
- Wang Y, Zhe H, Ding Z, Gao P, Zhang N, Li G. Cancer stem cell marker Bmi-1 expression is associated with basal-like phenotype and poor survival in breast cancer. *World J Surg* 2012; 36: 1189-1194 [PMID: 22366984 DOI: 10.1007/s00268-012-1514-3.]
- Sureban SM, May R, Ramalingam S, Subramaniam D, Natarajan G, Anant S, Houchen CW. Selective blockade of DCAMKL-1 results in tumor growth arrest by a Let-7a MicroRNA-dependent mechanism. *Gastroenterology* 2009; 137: 649-659, 659. e1-e2 [PMID: 19445940 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.004]
- Lin EH, Jiang Y, Deng Y, Lapsiwala R, Lin T, Blau CA. Cancer stem cells, endothelial progenitors, and mesenchymal stem cells: "seed and soil" theory revisited. *Cancer stem cells, endothelial progenitors, and mesenchymal stem cells: "seed and soil" theory revisited. Gastrointest Cancer Res* 2008; 2: 169-174 [PMID: 19259284]
- Coco C, Zannoni GF, Caredda E, Sioletic S, Boninsegna A, Migaldi M, Rizzo G, Bonetti LR, Genovese G, Stigliano E, Cittadini A, Sgambato A. Increased expression of CD133 and reduced dystroglycan expression are strong predictors of poor outcome in colon cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31: 71. [Epub ahead of print] [PMID: 22964035]
- Horst D, Kriegl L, Engel J, Kirchner T, Jung A. Prognostic significance of the cancer stem cell markers

#### ■应用要点

本文通过对不同浓度阿司匹林对人结肠癌细胞株HT-29和SW480中CSCs标志物CD133表达的影响进行研究, 初步探讨阿司匹林对结直肠癌的影响, 为其临床防治结直肠癌提供了新的相关实验依据.

## ■同行评价

本文整体思路清晰, 实验设计合理, 方法学恰当, 具有一定的科学性, 实验结果对临床具有一定指导意义。

- CD133, CD44, and CD166 in colorectal cancer. *Cancer Invest* 2009; 27: 844-850 [PMID: 19626493 DOI: 10.1080/07357900902744502]
- 22 Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, Cammareri P, Vermeulen L, Iovino F, Tripodo C, Russo A, Gulotta G, Medema JP, Stassi G. Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 389-402 [PMID: 18371377 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.001]
  - 23 Francipane MG, Alea MP, Lombardo Y, Todaro M, Medema JP, Stassi G. Crucial role of interleukin-4 in the survival of colon cancer stem cells. *Cancer Res* 2008; 68: 4022-4025 [PMID: 18519657 DOI: 10.1158/0008-5472.]
  - 24 Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, De Maria R. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445: 111-115 [PMID: 17122771]
  - 25 Elsaba TM, Martinez-Pomares L, Robins AR, Crook S, Seth R, Jackson D, McCart A, Silver AR, Tomlinson IP, Ilyas M. The stem cell marker CD133 associates with enhanced colony formation and cell motility in colorectal cancer. *PLoS One* 2010; 5: e10714 [PMID: 20502714 DOI: 10.1371/journal.]
  - 26 Kawamoto H, Yuasa T, Kubota Y, Seita M, Sasamoto H, Shahid JM, Hayashi T, Nakahara H, Hassan R, Iwamuro M, Kondo E, Nakaji S, Tanaka N, Kobayashi N. Characteristics of CD133(+) human colon cancer SW620 cells. *Cell Transplant* 2010; 19: 857-864 [PMID: 20587144 DOI: 10.3727/096368910X508988.]
  - 27 Lee HN, Park SH, Lee EK, Bernardo R, Kim CW. Proteomic profiling of tumor-initiating cells in HT-29 human colorectal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 427: 171-177 [PMID: 22995320 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.09.036]
  - 28 Jacobs EJ, Newton CC, Gapstur SM, Thun MJ. Daily aspirin use and cancer mortality in a large US cohort. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 1208-1217 [PMID: 22888140 DOI: 10.1093/jnci/djs318]
  - 29 Lou J, Povsic TJ, Allen JD, Adams SD, Myles S, Starr AZ, Ortel TL, Becker RC. The effect of aspirin on endothelial progenitor cell biology: preliminary investigation of novel properties. *Thromb Res* 2010; 126: e175-e179 [PMID: 20659762]
  - 30 Mak AB, Nixon AM, Kittanakom S, Stewart JM, Chen GI, Curak J, Gingras AC, Mazitschek R, Neel BG, Stagljar I, Moffat J. Regulation of CD133 by HDAC6 promotes  $\beta$ -catenin signaling to suppress cancer cell differentiation. *Cell Rep* 2012; 2: 951-963 [PMID: 23084749 DOI: 10.1016/j.celrep.2012.09.016]
  - 31 安敏, 张振玉. 阿司匹林对肠上皮细胞的损伤作用及机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1355-1358
  - 32 Zhu L, Gibson P, Currle DS, Tong Y, Richardson RJ, Bayazitov IT, Poppleton H, Zakharenko S, Ellison DW, Gilbertson RJ. Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation. *Nature* 2009; 457: 603-607 [PMID: 19092805 DOI: 10.1038/nature07589]

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, V<sub>max</sub>不能写Vmax,  $\mu$ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如ln-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ, Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T<sub>max</sub>, C<sub>max</sub>, Vd, T<sub>1/2</sub> CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

# Th17细胞及其相关因子在活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义

张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰

张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029

张晓斐, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 此课题由张红杰与张晓斐设计; 研究过程由张晓斐与蒋文瑜完成; 数据分析由张晓斐, 于鹏丽及李文杰完成; 文章由张晓斐撰写; 张红杰提供实验材料, 并审阅论文、指导论文修改。

兴卫工程重点人才基金资助项目, No. RC201163

通讯作者: 张红杰, 主任医师, 副教授, 研究生导师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科。hjzhang06@163.com

电话: 025-8371-8836

收稿日期: 2012-10-28 修回日期: 2012-12-16

接受日期: 2012-12-28 在线出版日期: 2013-01-08

## Significance of number of Th17 cells and expression of Th17-related cytokines in patients with active ulcerative colitis

Xiao-Fei Zhang, Wen-Yu Jiang, Peng-Li Yu, Wen-Jie Li, Hong-Jie Zhang

Xiao-Fei Zhang, Wen-Yu Jiang, Peng-Li Yu, Wen-Jie Li, Hong-Jie Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Health Department Foundation of Jiangsu Province for Key Talents, No. RC2011063

Correspondence to: Hong-Jie Zhang, Chief Physician, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. hjzhang06@163.com

Received: 2012-10-28 Revised: 2012-12-16

Accepted: 2012-12-28 Published online: 2013-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the association of number of Th17 cells and expression of Th17-related cytokines (IL-17 and IL-21) with disease activity, C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), endoscopic stage, and histological grade in patients with active ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Forty patients with active UC and 20 healthy controls were recruited. The infiltration of Th17 cells in colonic mucosa was assessed

by immunofluorescence. The expression of IL-17 and IL-21 was detected by immunohistochemistry. Serum levels of IL-17 and IL-21 were determined by ELISA.

**RESULTS:** Compared to healthy controls, the number of Th17 cells increased mainly in the lamina propria of active UC patients. The expression of IL-17 and IL-21 in the colonic mucosa and serum levels of these two cytokines in active UC patients were significantly higher than those in normal controls ( $0.0087 \pm 0.0019$  vs  $0.0008 \pm 0.0001$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.0082 \pm 0.0017$  vs  $0.0005 \pm 0.0001$ ,  $P < 0.01$ ). The expression of IL-17 and IL-21 was higher in severe UC than in moderate or mild UC ( $0.0020 \pm 0.0004$  vs  $0.0079 \pm 0.0016$  vs  $0.0173 \pm 0.0011$ ;  $0.0020 \pm 0.0004$  vs  $0.0097 \pm 0.0002$  vs  $0.0120 \pm 0.0006$ ). IL-17 and IL-21 expression was positively correlated with CRP, endoscopic stage, and histological grade in patients with active UC (all  $P < 0.05$ ). The expression of IL-17 was also positively correlated with ESR ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The number of Th17 cells and expression of Th17-related cytokines (IL-17 and IL-21) increase in the colonic mucosa of patients with active UC. Th17 cells and Th17-related cytokines may play an important role in disease activity and mucosal damage in patients with active UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Ulcerative colitis; Th17; Interleukin-17; Interleukin-21

Zhang XF, Jiang WY, Yu PL, Li WJ, Zhang HJ. Significance of number of Th17 cells and expression of Th17-related cytokines in patients with active ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 19-26

## 摘要

**目的:** 检测Th17细胞及其相关因子白介素17(interleukin-17, IL-17)、IL-21在活动期溃疡

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)的发病与遗传、免疫、微生物及环境等多种因素的相互作用有关,其中免疫异常在UC的发生发展中起重要作用。近年研究发现, Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21在UC患者肠道中高表达,但Th17细胞及其相关因子的增多与UC疾病活动程度以及黏膜损伤程度间的关系尚不明确。

## ■同行评议者

田宇彬, 教授, 青岛大学医学院附属医院



## ■研究前沿

本研究通过检测Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21在活动期UC患者肠黏膜组织中的分布与表达以及血清中IL-17、IL-21的水平,分析Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21的变化与UC疾病活动度、内镜下活动度分级、病理组织学分级以及血沉(ESR)、C反应蛋白(CRP)间的关系。

性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者中的分布与表达,并分析其与疾病活动度、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、内镜下活动度分级以及组织病理分级的关系。

**方法:** 免疫荧光双标法检测40例活动期UC患者及20例健康对照者肠黏膜组织中Th17细胞的分布,免疫组织化学SP法检测上述患者肠黏膜组织中IL-17、IL-21的表达与分布,酶联免疫吸附法检测血清IL-17、IL-21水平。

**结果:** 活动期UC患者肠黏膜固有层中Th17细胞数明显增多。活动期UC患者肠黏膜组织及血清中IL-17、IL-21的表达均明显高于对照组(分别为:  $0.0087 \pm 0.0019$  vs  $0.0008 \pm 0.0001$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.0082 \pm 0.0017$  vs  $0.0005 \pm 0.0001$ ,  $P < 0.01$ ),且IL-17、IL-21的表达在轻、中、重度患者间均有显著性差异(分别为:  $0.0020 \pm 0.0004$  vs  $0.0079 \pm 0.0016$  vs  $0.0173 \pm 0.0011$ ;  $0.0020 \pm 0.0004$  vs  $0.0097 \pm 0.0002$  vs  $0.0120 \pm 0.0006$ ),随疾病活动度增加而逐渐增强。IL-17、IL-21的表达与活动期UC患者CRP水平、内镜下活动度分级、组织病理分级均显著正相关( $P < 0.05$ ),IL-17的表达与活动期UC患者的ESR水平显著正相关( $P < 0.05$ )。

**结论:** Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21在活动期UC患者高表达,且随疾病活动程度增加而逐渐增强。Th17细胞及其相关因子与UC的疾病活动与黏膜损伤有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; Th17; 白介素17; 白介素21

张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰. Th17细胞及其相关因子在活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 19-26

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/19.asp>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性结肠炎症性疾病<sup>[1]</sup>,其病因及发病机制至今尚未完全阐明,与遗传、免疫、微生物及环境等多种因素的相互作用有关<sup>[2]</sup>,其中免疫异常在UC的发生发展中起重要作用。近年研究发现,辅助性T细胞17(T helper 17 cells, Th17)及其分泌的细胞因子如白介素17(interleukin-17, IL-17)、白细胞介素-21(IL-21)等,能够通过对应

应性及先天性免疫系统的调节来诱导炎症反应的发生及肠道黏膜的损伤,从而参与UC的发生发展<sup>[3-5]</sup>。

目前,国外已有研究证实Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21在UC患者肠道中高表达<sup>[6-8]</sup>,但Th17细胞及其相关因子的增多与UC疾病活动程度以及黏膜损伤程度间的关系尚不明确。本研究通过检测Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21在活动期UC患者肠黏膜组织中的分布与表达以及血清中IL-17、IL-21的水平,分析Th17细胞及其相关因子IL-17、IL-21的变化与UC疾病活动度、内镜下活动度分级、病理组织学分级以及血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究共纳入研究对象60例(UC组40例,健康对照组20例)。UC组为2009-01/2011-12在南京医科大学第一附属医院消化科诊断为活动期UC患者,对照组为肠息肉治疗后复查结肠镜,无异常者。活动期UC患者及健康对照者临床特征见表1,UC患者性别、年龄组成与健康对照组间无明显差异( $P > 0.05$ )。其中UC疾病活动度评分按照Southerland疾病活动指数<sup>[9]</sup>,内镜下UC活动度分级按照改进的Baron内镜下UC活动度分级标准<sup>[10]</sup>,UC病理组织学分级按照病理组织学分级标准<sup>[11]</sup>。UC诊断依据2007年中华医学会消化病学分会IBD协作组“对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见”。此项研究已获我院伦理委员会批准,所有患者及健康对照者标本留取前均签署知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫荧光双标染色:** 石蜡切片常规脱蜡至水,微波抗原修复,切片滴加CD4抗体(小鼠抗人,Abcam,英国,浓度1:100)、IL-17抗体(兔抗人,Abcam,英国,浓度1:100)4℃孵育过夜,滴加TRITC标记山羊抗小鼠IgG(Jackson ImmunoResearch,美国,浓度1:100)和FITC标记山羊抗兔IgG(Jackson ImmunoResearch,美国,浓度1:100)室温下孵育2 h后显色。以磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)代替一抗作为阴性对照。采用Leica激光共聚焦扫描显微镜观察免疫荧光双标结果并采集图片。

**1.2.2 免疫组织化学染色:** 石蜡切片常规脱蜡至水,用30 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>灭活内源性酶10 min。微波炉

表 1 活动期UC患者及健康对照者统计学数据及基本特征

病例特征	对照组( <i>n</i> = 20)	UC组( <i>n</i> = 40)
性别(男/女)	11/9	24/16
平均年龄 ± 标准差 (岁, 年龄范围)	41.2 ± 12.4 (25–64)	34.95 ± 11.1 (21–59)
疾病活动度 $n$ (%)		
轻度		12(30.0)
中度		20(50.0)
重度		8(20.0)
内镜下UC活动度分级 $n$ (%)		
I级		8(20.0)
II级		10(25.0)
III级		14(35.0)
IV级		8(20.0)
病理组织学分级 $n$ (%)		
I级		8(20.0)
II级		12(30.0)
III级		12(30.0)
IV级		8(20.0)

枸橼酸盐缓冲液抗原修复后, 免疫组织化学染色方法参照SP试剂盒产品说明书操作流程依次进行, 以PBS替代一抗作阴性对照。DAB显色后, 苏木素复染、脱水、透明、封片, 显微镜下观察。免疫组织化学试剂分别为IL-17抗体(兔抗人, Abcam, 浓度1:100)、IL-21抗体(兔抗人, Millipore, 美国, 浓度1:100)、SP免疫组织化学试剂盒(福建迈新公司)。结果判断及评估: 胞质染色呈棕黄色为阳性细胞。参照文献提供的方法对免疫组织化学结果进行评估<sup>[12-14]</sup>: (1)阳性细胞百分比: 每个样本随机选取5个高倍镜视野( $\times 400$ ), 计数肠黏膜固有层中细胞总数/阳性细胞数, 取均值; (2)平均光密度: 每个样本随机选取5个高倍镜视野( $\times 400$ ), 采用Image-Pro Plus图像分析软件(Version 6.0, Media Cybernetics, 美国), 计算平均光密度并取均值, 对各细胞因子在活动期UC患者肠黏膜组织中的蛋白表达程度进行半定量。

**1.2.3 酶联免疫吸附(ELISA)法:** UC组及对照组均于肠镜检查次日清晨空腹抽取肘静脉血, 离心后分离血清, 于-80℃冰箱中保存备检。分别使用IL-17、IL-21 ELISA试剂盒(eBioscience, 美国)检测血清中IL-17、IL-21的水平。操作过程严格按照试剂盒说明进行, 采用EXCEL软件绘制标准曲线, 计算血清中IL-17、IL-21的含量。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行统计学分析, 计量资料以mean ± SD表示, 用两独立

表 2 Th17细胞相关因子在不同活动程度UC的阳性细胞百分比 (%)

分组	IL-17	IL-21
对照组	3.2 ± 0.2	2.8 ± 0.4
UC组	15.9 ± 2.0 <sup>a</sup>	25.9 ± 1.3 <sup>a</sup>
轻度	9.5 ± 1.9 <sup>a</sup>	22.3 ± 0.9 <sup>a</sup>
中度	18.0 ± 1.0 <sup>ac</sup>	25.8 ± 0.6 <sup>ac</sup>
重度	23.4 ± 0.7 <sup>ace</sup>	29.1 ± 0.3 <sup>ace</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 轻度组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 中度组。

样本均数的 $t$ 检验(Student's  $t$ -test)进行活动期UC与对照组肠黏膜组织及血清IL-17、IL-21表达水平的比较; 用单因素方差分析(one way ANOVA)进行活动期UC轻、中、重3组间的比较; CRP、ESR分别与肠黏膜组织及血清IL-17、IL-21表达水平相关性的分析采用Pearson相关分析; 活动期UC内镜下活动度分级、病理组织学分级分别与肠黏膜组织及血清IL-17、IL-21表达水平相关性的分析采用Spearman相关分析, 所有的检验均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Th17细胞在活动期UC患者肠黏膜组织中的分布** 免疫荧光双标记结果显示, CD4+IL-17+细胞(Th17细胞)主要分布于黏膜固有层, 活动期UC患者肠黏膜组织中的CD4+IL-17+细胞数明显增多, 而对照组中CD4+IL-17+细胞数极少(图1)。

**2.2 Th17细胞相关因子在活动期UC患者肠黏膜组织中的分布与表达** 免疫组织化学染色结果显示, IL-17、IL-21阳性颗粒主要分布于黏膜固有层单个核细胞胞质中, 颗粒呈棕黄色; 活动期UC患者肠黏膜组织中IL-17、IL-21的阳性表达明显高于对照组(图2)。

**2.3 Th17细胞相关因子在UC疾病活动程度不同患者肠黏膜组织中的表达** 活动期UC患者肠黏膜组织中IL-17、IL-21阳性细胞百分比均明显高于对照组( $P < 0.01$ )。活动期UC轻、中、重度3组IL-17及IL-21阳性细胞百分比均随疾病活动度增加而明显增加, 且组间比较均有显著性差异( $P < 0.01$ , 表2)。

IL-17、IL-21在活动期UC患者肠黏膜组织中表达的平均吸光度明显高于对照组(分别为:  $0.0087 \pm 0.0019$  vs  $0.0008 \pm 0.0001$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.0082 \pm 0.0017$  vs  $0.0005 \pm 0.0001$ ,  $P < 0.01$ , 图

## ■ 相关报道

Fujino等研究显示, IL-17+细胞主要分布于活动期UC患者肠黏膜组织中, 其数量显著多于缓解期UC患者。同时, 活动期UC患者血清IL-17水平明显高于健康对照组。Yamamoto-Furusho等在对活动期UC患者直肠黏膜组织标本中IL-6、IL-21 mRNA表达水平的检测中发现, 与对照组及缓解期UC患者相比, IL-21的mRNA表达量显著增高, 且与组织学水平的疾病活动有关。



### ■ 创新盘点

已有研究显示 IL-17、IL-21 这两种细胞因子在 UC 患者均呈高表达, 但他们表达水平的变化与 UC 疾病活动程度以及黏膜损伤程度是否有关, 尚无明确阐述。本研究发现, IL-17、IL-21 不仅在活动期 UC 患者肠黏膜组织及血清中表达显著高于健康对照组, 而且随疾病活动度增加而逐渐增强。

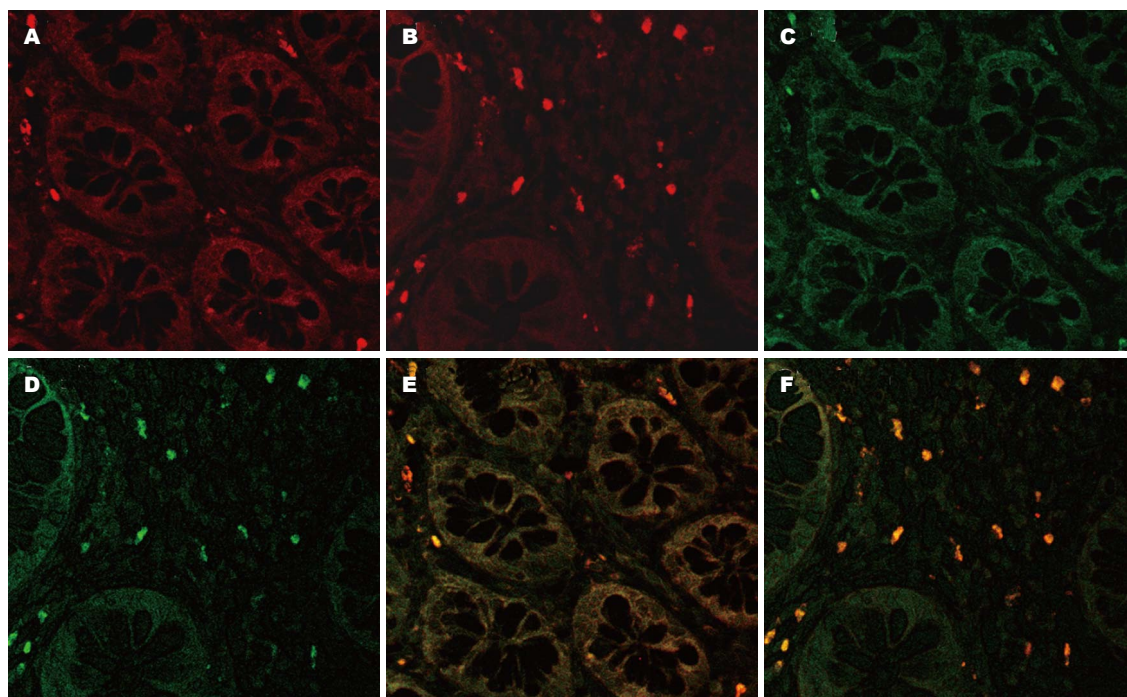


图 1 免疫荧光双标检测 Th17 细胞在结肠黏膜中的分布 ( $\times 400$ )。A, C, E: 对照组; B, D, F: UC 组; A, B: CD4 在结肠黏膜中的表达; C, D: IL-17 在结肠黏膜中的表达; E, F: CD4、IL-17 在结肠黏膜中的共表达; A, B: CD4; C, D: IL-17; E, F: CD4/IL-17。

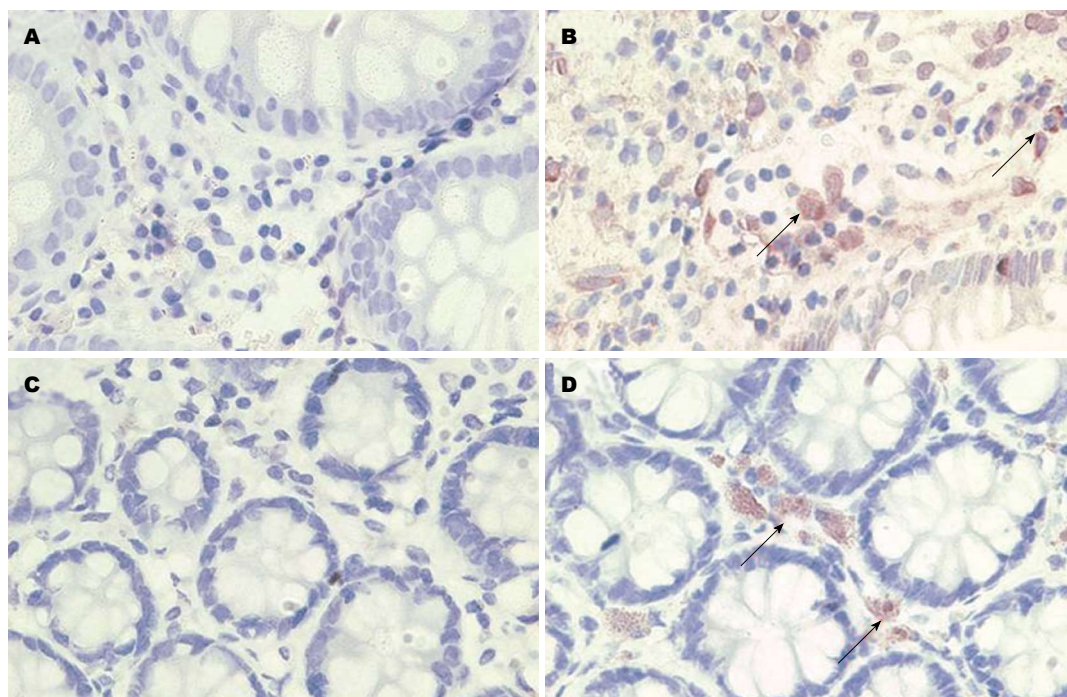
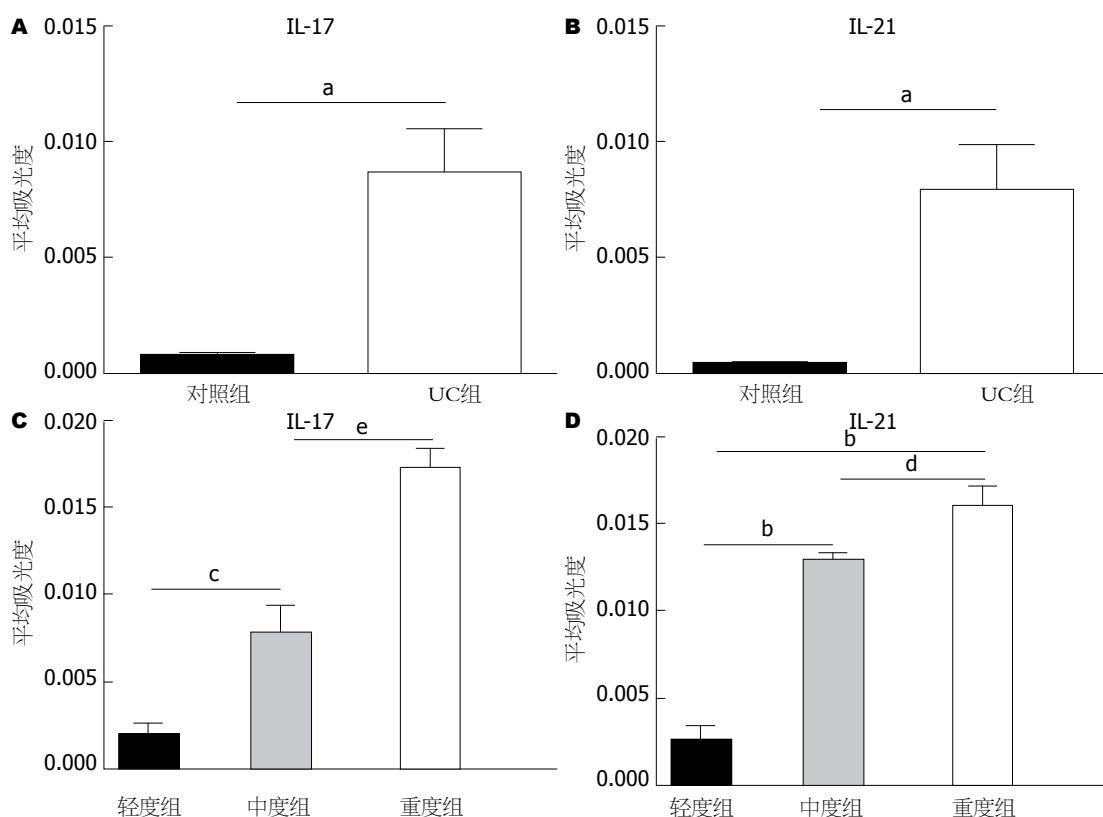


图 2 免疫组织化学 SP 法检测 IL-17、IL-21 在结肠黏膜中的表达 ( $\times 400$ )。A, C: 对照组; B, D: UC 组; A, B: IL-17 在结肠黏膜中的表达; C, D: IL-21 在结肠黏膜中的表达。

3A, B)。IL-17 和 IL-21 在活动期 UC 轻、中、重度 3 组表达的平均吸光度随疾病活动度增加而明显增加 (分别为:  $0.0020 \pm 0.0004$  vs  $0.0079 \pm 0.0016$  vs  $0.0173 \pm 0.0011$ ;  $0.0020 \pm 0.0004$  vs  $0.0097 \pm 0.0002$  vs  $0.0120 \pm 0.0006$ ), 且组间比较均有显著性差异 ( $P < 0.05$ , 图 3C, D)。

2.4 Th17 细胞相关因子在 UC 不同疾病活动度患者血清中的表达 活动期 UC 患者血清中 IL-17、IL-21 水平明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。活动期 UC 轻、中、重度 3 组血清 IL-17、IL-21 水平随疾病活动度增加而明显增加, 组间比较均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 其中, 轻度组 IL-17、IL-21 水





**应用要点**  
 活动期UC患者肠黏膜组织以及血清中IL-17、IL-21的表达随内镜下活动度分级、病理组织学分级的升高而逐渐增加,与疾病活动及黏膜损伤有关,在UC的发生发展中可能具有重要作用,其具体机制有待进一步研究。

图3 平均吸光度分析IL-17、IL-21在活动期UC患者肠黏膜的表达水平. A, B: 对照组与UC组的比较; C, D: UC患者轻、中、重度3组间的比较(\* $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs 轻度组; <sup>d</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.01$  vs 中度组).

表3 不同活动程度UC血清中Th17细胞相关因子水平的比较 (pg/mL)

分组	IL-17	IL-21
对照组	9.80 ± 1.49	200.73 ± 24.73
UC组	11.60 ± 1.15 <sup>a</sup>	249.96 ± 29.75 <sup>a</sup>
轻度	10.42 ± 0.44	217.47 ± 26.26
中度	11.44 ± 0.63 <sup>ac</sup>	249.37 ± 8.66 <sup>ac</sup>
重度	13.04 ± 0.61 <sup>ace</sup>	283.45 ± 17.84 <sup>ace</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 轻度组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 中度组.

平虽高于对照组,但两者间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表3).

**2.5 Th17细胞相关因子表达与活动期UC患者CRP、ESR的相关性分析** 以平均光密度表示活动期UC患者肠黏膜组织中IL-17、IL-21的表达,发现活动期UC患者肠黏膜组织中IL-17平均光密度与CRP和ESR水平均显著正相关( $P < 0.05$ ); IL-21平均光密度与CRP水平也呈显著正相关( $P < 0.01$ ),但与ESR间无显著相关性( $P > 0.05$ ,表4).

活动期UC患者血清IL-17水平也与CRP和ESR水平均显著正相关( $P < 0.05$ );血清IL-21水平

与CRP水平也呈显著正相关( $P < 0.01$ ),与ESR间仍无显著相关性( $P > 0.05$ ,表4).

**2.6 Th17细胞相关因子表达与活动期UC内镜下及组织学表现的相关性分析** 活动期UC患者肠黏膜组织中IL-17、IL-21表达的平均光密度,与内镜下活动度分级、病理组织学分级均显著正相关( $P < 0.01$ ,表5);活动期UC患者血清IL-17、IL-21水平,与内镜下活动度分级、病理组织学分级亦呈显著正相关( $P < 0.01$ ,表5).

### 3 讨论

Th17细胞是近来发现的一种不同于Th1、Th2细胞的新的辅助性T细胞亚群,因其能够特异性分泌IL-17而命名,Th17尚能分泌IL-6、IL-21、IL-22、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等多种细胞因子<sup>[15]</sup>.研究证实<sup>[16-18]</sup>,Th17细胞及其相关因子与多发性硬化症、类风湿性关节炎等多种炎症反应及自身免疫相关性疾病的发生发展有关.其中,IL-17可诱导与炎症相关的多个基因的表达(包括IL6、粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子、细胞间黏附分子1等)<sup>[19-21]</sup>,增强白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )及TNF- $\alpha$ 诱导的炎症反应,还

## ■同行评价

本文有一定的先进性和科学性。

表 4 Th17细胞相关因子的表达与CRP、ESR的相关性分析 ( $n = 40$ )

	CRP		ESR	
	Pearson相关系数( $r$ )	$P$	Pearson相关系数( $r$ )	$P$
组织水平(平均吸光度)				
IL-17	0.912	0.000	0.642	0.033
IL-21	0.751	0.008	0.359	0.278
血清水平(Elisa)				
IL-17	0.978	0.000	0.788	0.004
IL-21	0.827	0.002	0.600	0.051

表 5 Th17细胞相关因子的表达与内镜下及组织学表现的相关性分析 ( $n = 40$ )

	内镜下活动度分级		病理组织学分级	
	Spearman相关系数( $r$ )	$P$	Spearman相关系数( $r$ )	$P$
组织水平(平均吸光度)				
IL-17	0.902	0.000	0.906	0.000
IL-21	0.864	0.001	0.812	0.002
血清水平(Elisa)				
IL-17	0.935	0.000	0.878	0.000
IL-21	0.864	0.001	0.751	0.008

可通过诱导巨噬细胞产生促炎症细胞因子,建立适应性及先天性免疫的联系<sup>[3,22,23]</sup>,在各种组织的炎症反应中发挥重要的调节作用. IL-21能够调节T细胞的分化和功能,增加抗原激活的CD4+和CD8+T细胞的扩增,诱导白细胞介素-12受体(IL-12R), 白介素-18受体(IL-18R), 干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ), 白介素-2受体 $\alpha$ (IL-2R $\alpha$ )的基因编码<sup>[4]</sup>,还可介导T细胞向肠道炎症部位聚集以及引起肠道成纤维细胞分泌基质降解酶<sup>[24]</sup>. Th17细胞通过分泌IL-17、IL-21等相关因子所产生的对免疫系统的调节作用及其对促炎因子的诱导作用,介导了肠道炎症反应的发生及黏膜的损伤.

有研究结果显示,活动期UC患者外周血中Th17细胞数量明显增多<sup>[25,26]</sup>. 本研究通过免疫荧光双标记的方法,发现与对照组相比,活动期UC患者肠黏膜组织中CD4+IL-17+细胞(即Th17细胞)明显增多,提示Th17细胞可能参与UC患者肠黏膜的免疫炎症反应过程.

Fujino等<sup>[6]</sup>研究显示, IL-17阳性细胞主要分布于活动期UC患者肠黏膜组织中,其数量显著多于缓解期UC患者,并且在缺血性肠病、感染性结肠炎及健康对照组中无阳性表达;同时,活动期UC患者血清IL-17水平明显高于健康对照组. Yamamoto-Furusho等<sup>[27]</sup>在对活动期UC患者直肠黏膜组织标本中IL-6、IL-21 mRNA表达水平

的检测中发现,与对照组及缓解期UC患者相比,IL-21的mRNA表达量显著增高,且与组织学水平的疾病活动有关,但并没有对IL-21蛋白表达在肠黏膜组织中的分布,以及与疾病活动情况的相关性进行研究. 这两种细胞因子在UC患者均呈高表达,但他们表达水平的变化与UC疾病活动程度以及黏膜损伤程度是否有关,尚无明确阐述. 本研究发现, IL-17、IL-21不仅在活动期UC患者肠黏膜组织及血清中表达显著高于健康对照组,而且随疾病活动度增加而逐渐增强.

UC的发病是一种慢性炎症过程,但其急性活动期的表现类似于急性时相反应, CRP及ESR的水平均会在此炎症过程中发生改变,可在一定程度上反应UC的疾病活动程度<sup>[28,29]</sup>. 我们在对Th17细胞相关因子的表达水平与活动期UC患者CRP及ESR水平的相关性分析中发现, IL-17、IL-21的表达随CRP水平的增高而逐渐增高. 可见, Th17相关因子与疾病的活动密切相关. UC内镜下活动度分级及病理组织学分级能够有效反映疾病活动程度及黏膜损伤程度. 活动性UC患者肠黏膜组织中Th17细胞增多,其相关细胞因子IL-17及IL-21表达增加与内镜下黏膜损伤及组织学表现间有着怎样的关系? 我们在对Th17细胞相关因子的表达水平与活动期UC患者内镜下活动度分级及病理组织学分级的相关

性分析中发现, 活动期UC患者肠黏膜组织以及血清中IL-17、IL-21的表达随内镜下活动度分级、病理组织学分级的升高而逐渐增加, 与疾病活动及黏膜损伤有关。

总之, Th17细胞相关因子在活动期UC患者肠黏膜及血清中高表达, 且随疾病活动度、CRP、ESR水平以及内镜下活动度分级、病理组织学分级的增加而逐渐增强。Th17细胞及其相关因子与UC疾病活动程度、肠道黏膜损伤程度密切相关, 在UC的发生发展中可能具有重要作用, 其具体机制有待进一步研究。

#### 4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942.]
- 2 Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573-621 [PMID: 20192811 DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225.]
- 3 Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004; 21: 467-476 [PMID: 15485625]
- 4 Strengell M, Sareneva T, Foster D, Julkunen I, Mäkitäinen S. IL-21 up-regulates the expression of genes associated with innate immunity and Th1 response. *J Immunol* 2002; 169: 3600-3605 [PMID: 12244150]
- 5 Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1756-1767 [PMID: 21530742 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.016.]
- 6 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762]
- 7 Fantini MC, Monteleone G, MacDonald TT. IL-21 comes of age as a regulator of effector T cells in the gut. *Mucosal Immunol* 2008; 1: 110-115 [PMID: 19079168 DOI: 10.1038/mi.2007.17.]
- 8 Andoh A, Zhang Z, Inatomi O, Fujino S, Deguchi Y, Araki Y, Tsujikawa T, Kitoh K, Kim-Mitsuyama S, Takayanagi A, Shimizu N, Fujiyama Y. Interleukin-22, a member of the IL-10 subfamily, induces inflammatory responses in colonic subepithelial myofibroblasts. *Gastroenterology* 2005; 129: 969-984 [PMID: 16143135]
- 9 Sutherland LR, Martin F. 5-Aminosalicylic acid enemas in treatment of distal ulcerative colitis and proctitis in Canada. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 64S-66S [PMID: 3319459]
- 10 Jun S, Hua RZ, Lu TJ, Xiang C, Dong XS. Are endoscopic grading and scoring systems in inflammatory bowel disease the same? *Saudi Med J* 2008; 29: 1432-1437 [PMID: 18946568]
- 11 Pullan RD, Rhodes J, Ganesh S, Mani V, Morris JS, Williams GT, Newcombe RG, Russell MA, Feyerabend C, Thomas GA. Transdermal nicotine for active ulcerative colitis. *N Engl J Med* 1994; 330: 811-815 [PMID: 8114833]
- 12 Sun Y, Zhang D, Wang CF, Hu SW, Lan Z. [The expression and significance of TGF-beta 1 and its receptors in infertile women's fimbriae tubes with adhesions and atresias]. *Sichuan Daxue Xuebao Yi xueban* 2009; 40: 435-438 [PMID: 19626999]
- 13 Prasad K, Prabhu GK. Image analysis tools for evaluation of microscopic views of immunohistochemically stained specimen in medical research-a review. *J Med Syst* 2012; 36: 2621-2631 [PMID: 21584771 DOI: 10.1007/s10916-011-9737-7.]
- 14 Bai A, Lu N, Guo Y, Liu Z, Chen J, Peng Z. All-trans retinoic acid down-regulates inflammatory responses by shifting the Treg/Th17 profile in human ulcerative and murine colitis. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 959-969 [PMID: 19477911 DOI: 10.1189/jlb.0109006.]
- 15 Miossec P. IL-17 and Th17 cells in human inflammatory diseases. *Microbes Infect* 2009; 11: 625-630 [PMID: 19371791 DOI: 10.1016/j.micinf.2009.04.003.]
- 16 Raza A, Yousaf W, Giannella R, Shata MT. Th17 cells: interactions with predisposing factors in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2012; 8: 161-168 [PMID: 22288454 DOI: 10.1586/eci.11.96.]
- 17 Niu Q, Cai B, Huang ZC, Shi YY, Wang LL. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32: 2731-2736 [PMID: 21809006 DOI: 10.1007/s00296-011-1984-x.]
- 18 Becher B, Segal BM. T(H)17 cytokines in autoimmune neuro-inflammation. *Curr Opin Immunol* 2011; 23: 707-712 [PMID: 21907555 DOI: 10.1016/j.coi.2011.08.005.]
- 19 Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, Flores-Romo L, Ait-Yahia S, Maat C, Pin JJ, Garrone P, Garcia E, Saeland S, Blanchard D, Gaillard C, Das Mahapatra B, Rouvier E, Golstein P, Banchereau J, Lebecque S. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med* 1996; 183: 2593-2603 [PMID: 8676080]
- 20 Chabaud M, Fossiez F, Taupin JL, Miossec P. Enhancing effect of IL-17 on IL-1-induced IL-6 and leukemia inhibitory factor production by rheumatoid arthritis synoviocytes and its regulation by Th2 cytokines. *J Immunol* 1998; 161: 409-414 [PMID: 9647250]
- 21 Cai XY, Gommoll CP, Justice L, Narula SK, Fine JS. Regulation of granulocyte colony-stimulating factor gene expression by interleukin-17. *Immunol Lett* 1998; 62: 51-58 [PMID: 9672148]
- 22 Katz Y, Nadiv O, Beer Y. Interleukin-17 enhances tumor necrosis factor alpha-induced synthesis of interleukins 1, 6, and 8 in skin and synovial fibroblasts: a possible role as a "fine-tuning cytokine" in inflammation processes. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2176-2184 [PMID: 11592383]
- 23 LeGrand A, Fermor B, Fink C, Pisetsky DS, Weinberg JB, Vail TP, Guilak F. Interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-17 synergistically up-regulate nitric oxide and prostaglandin E2 production in explants of human osteoarthritic knee menisci. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2078-2083 [PMID: 11592370]
- 24 Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK, Hafler DA. IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells. *Nature* 2008; 454: 350-352 [PMID: 18469800 DOI: 10.1038/nature07021.]
- 25 Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, Cummins A, Barry S. Foxp3+ regulatory T cells, Th17



- effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 2010; 30: 80-89 [PMID: 19936899 DOI: 10.1007/s10875-009-9345-1.]
- 26 Beltrán CJ, Candia E, Erranz B, Figueroa C, Gonzalez MJ, Quera R, Hermoso MA. Peripheral cytokine profile in Chilean patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur Cytokine Netw* 2009; 20: 33-38 [PMID: 19318319 DOI: 10.1684/ecn.2009.0142.]
- 27 Yamamoto-Furusho JK, Miranda-Pérez E, Fonseca-Camarillo G, Sánchez-Muñoz F, Barreto-Zuñiga R, Dominguez-Lopez A. Interleukin 21 expression is increased in rectal biopsies from patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1090 [PMID: 19998455 DOI: 10.1002/ibd.21135.]
- 28 Solem CA, Loftus EV, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 707-712 [PMID: 16043984]
- 29 Cabrera-Abreu JC, Davies P, Matek Z, Murphy MS. Performance of blood tests in diagnosis of inflammatory bowel disease in a specialist clinic. *Arch Dis Child* 2004; 89: 69-71 [PMID: 14709513]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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

## 动物腹泻性疾病—现状、进展与展望

任晓峰, 陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 赵凯, 王靓靓, 李训良, 李鹏冲, 殷相平, 柳纪省, 茅翔, 范京惠, 左玉柱, 赵高伟, 仇铮, 崔尚金, 杨青

**编者按** “国以民为本, 民以食为天”, 随着中国经济的高速发展, 我国人民生活水平得到显著提高. 但由于多种动物病原体的不断出现和变异, 对我国畜禽业发展造成了严重危害, 在一定程度上对国民生活和健康产生了潜在影响. 多种病原如细菌或病毒可造成动物腹泻性疾病, 此类疾病的感染主要靶器官是消化道和胃肠道, 导致动物营养吸收障碍, 肠内容物增多, 出现呕吐、腹泻和脱水等临床症状, 幼龄动物死亡率极高. 尤其是病毒性腹泻疾病因常规抗生素治疗无效而产生更严重的危害.

病毒性腹泻病原体主要有属于冠状病毒科的猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和属于轮状病毒科的猪轮状病毒, 但另外一些动物病毒如猪细小病毒也可导致腹泻症状. 这些病毒尽管导致相似的临床症状, 但他们在病毒基因结构、细胞受体类型和致病机理等方面却不尽相同. 特别最近两年, 我国大部分地区均有猪病毒性腹泻病的爆发, 提醒我们应该对此类疾病的研究给予更大的重视.

在兽医科研人员的努力下, 动物腹泻性疾病的致病机理研究、诊断技术、预防手段和疫苗研制方面已经取得了一定的进展. 本焦点论坛邀请我国从事该类疾病相关研究的兽医专家对TGEV、PEDV、PRV、PPV以及禽大肠杆菌的感染特性、细胞受体功能区鉴定、病原结构蛋白功能研究进展、生物新技术对检测方法发展的影响以及包括合成肽、转基因植物和纳米材料基础的新型疫苗效果评价等方面进行综述. 一方面可为动物腹泻性疾病的预防与治疗提供理论指导; 另一方面, 由于部分动物腹泻病原, 例如PRV, 与人类相似病原体有一些共同的特性, 所以编者和本专辑所有作者希望本焦点论坛文献在能为人医同行提供参考借鉴的同时引起医学研究者的共鸣, 为此类疾病研究开展更广泛的交流并提供更好的建议; 通过我们共同努力及早有效地控制动物腹泻性疾病的发生, 为更好地为保障人类生活服务.

1	猪流行性腹泻的研究进展.....	28
2	猪流行性腹泻的诊断与预防.....	33
3	猪传染性胃肠炎病毒致病机制的研究进展.....	39
4	猪流行性腹泻病毒蛋白结构与功能的初探.....	44
5	猪流行性腹泻病毒基因的结构及其诊断技术.....	54
6	轮状病毒感染机制及防治的研究进展.....	60
7	猪细小病毒的致病机制与防控策略.....	66
8	纳米氧化物材料在仔猪抗腹泻中的应用.....	71

# 猪流行性腹泻的研究进展

陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 任晓峰, 赵凯

## ■背景资料

近年来, 猪流行性腹泻(PED)的流行区域和流行强度有不断扩大和增强的趋势, 对哺乳仔猪造成很高的致死率, 给养猪业造成了很大的经济损失. PED是由PEDV引起的猪的一种急性接触性肠道传染病, 以呕吐、腹泻、食欲下降和脱水为基本特征, 各种年龄的猪均易感染, 发病率达100%, 尤以哺乳仔猪受害最重, 本病的发生具有一定的季节性, 多发生于冬季.

陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 赵凯, 黑龙江大学生命科学学院 微生物黑龙江省高校重点实验室 黑龙江省哈尔滨市 150080

陈刚, 上海兽用生物制品工程技术中心 上海海利生物技术股份有限公司 上海市 201403

任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030

陈刚, 在读硕士, 主要从事动物疫苗黏膜免疫递送系统方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 2012DFA30250

“十一五”国家科技部支撑计划重大项目子课题基金资助项目, No. BAD06A03

国家自然科学基金资助项目, No. 31072119

教育部科学技术研究重点基金资助项目, No. 212048

哈尔滨市科技攻关计划基金资助项目, No. 2009AA6CN125

哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目, No. 2010RFQXN091, No. 2011RFQXN039

黑龙江省教育厅面上基金资助项目, No. 12521408

作者贡献分布: 文献检索、资料分析由陈刚、李伟、张阳及吴昊完成; 论文撰写由陈刚与李伟完成; 文字校对和排版由施慈完成; 选题和审校由赵凯、陈刚及任晓峰完成.

通讯作者: 赵凯, 教授, 150080, 黑龙江哈尔滨市南岗区学府路74号, 黑龙江大学生命科学学院, 微生物黑龙江省高校重点实验室. zk395@yahoo.com.cn

电话: 0451-86609046

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

versity, Harbin150080, Heilongjiang Province, China. zk395@yahoo.com.cn

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

Abstract

Porcine epidemic diarrhea (PED) is a highly contagious, enteric swine disease caused by porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), which is characterized by severe enteritis with vomiting, acute diarrhea, anorexia, and dehydration. In recent years, the epidemic area and intensity of PED have continuously enlarged, causing a significantly high mortality of suckling piglets and huge economic losses in pig industry. This paper summarizes the etiology, pathogenesis, diagnosis, and prevention of PED.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Porcine epidemic diarrhea; Etiology; Pathogenesis; Diagnosis; Prevention

Chen G, Li W, Zhang Y, Wu H, Shi C, Ren XF, Zhao K. Progress in research of porcine epidemic diarrhea. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(1): 28-32

摘要

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的猪的一种急性接触性肠道传染病, 以呕吐、腹泻、食欲下降和脱水为基本特征. 近年来, 该病的流行区域和强度有不断扩大和增强的趋势, 对哺乳仔猪造成了很高的致死率, 给养猪业造成了很大经济损失. 为了能有效防制PED, 本文就PED病原学、发病机制、诊断和预防等方面的研究进展做一概述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 猪流行性腹泻; 病原学; 发病机制; 诊断; 预防

陈刚, 李伟, 张阳, 吴昊, 施慈, 任晓峰, 赵凯. 猪流行性腹泻的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 28-32

http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/28.asp

同行评议者

李君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

郭君文, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所



## 0 引言

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的猪的一种急性接触性肠道传染病,以呕吐、腹泻、食欲下降和脱水为基本特征,各种年龄的猪均易感染,发病率达100%,尤以哺乳仔猪受害最重,本病的发生具有一定的季节性,多发生于冬季<sup>[1,2]</sup>。病毒存在于肠绒毛和肠系膜淋巴结中,随粪便排出,病猪是主要的传染源,感染的途径是胃肠道。本病的流行特点、临床症状和病理变化都与猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis of swine, TGE)十分相似,但哺乳仔猪死亡率较低,在猪群中的传播速度相对较慢。通过仔猪接种、直接免疫荧光、免疫电镜和中和试验,证明PEDV与TGE病毒在抗原上有明显差异。

PED于1971年首次在英国发现,主要引起架子猪和育肥猪急性腹泻,当时称为猪流行性病毒性腹泻(epidemic viral diarrhea, EDV)。1982年将该病统一命名为“猪流行性腹泻”。该病在许多国家如比利时、荷兰、德国、法国、瑞士、保加利亚、匈牙利、前苏联、日本及韩国均有发生。PEDV在亚洲与欧洲的致病情况有所差异,在欧洲地区, PEDV主要引起较大日龄猪的腹泻(6-15周龄),造成感染猪群较轻微腹泻流行,并在1 wk后很快康复,一般不造成很大的损失。而在亚洲地区, PEDV引起的仔猪死亡率较高,并且在我国PEDV感染更加严重<sup>[3]</sup>。我国自20世纪80年代以来陆续有本病的报道,并分离到病毒,之后PED在我国绝大多数省市自治区广泛流行。近年来,该病的流行区域和流行强度有不断扩大和增强的趋势,对哺乳仔猪造成很高的致死率,给养猪业造成了很大的经济损失<sup>[4-6]</sup>。

## 1 病原学

PEDV为套式病毒目(*Nidovirales*)冠状病毒科(*Coronaviridae*)冠状病毒属(*Coronavirus*)的成员。病毒粒子略呈球形,在粪便中的病毒粒子长呈多态形,直径约95-190 nm,平均直径为130 nm,有囊膜,囊膜上有花瓣状纤突,长12-24 nm,由核心向四周放射,其间距较大且排列规则,呈皇冠状。病毒核酸为线性单股正链RNA,具有侵染性。基因组全长为27 000-33 000个核苷酸,相对分子量为 $6 \times 10^6$ - $8 \times 10^6$ 。基因组5'端有帽子结构,3'端有PolyA尾,具有Kozak序列,基因组序列包括6个ORF,从5'到3'端依次是*Po1*基因、*S*基因、*ORF3*

基因、*sM*基因、*M*基因、*N*基因,分别编码复制多聚蛋白lab(pplab)、纤突蛋白(S)、ORF3蛋白、小膜蛋白(E)、膜糖蛋白(M)和核衣壳蛋白(N)<sup>[7]</sup>。

免疫荧光和免疫电镜试验表明, PEDV与鸡传染性支气管炎病毒、猪血凝性脑脊髓炎病毒、新生犊牛腹泻冠状病毒、犬冠状病毒、猫传染性腹膜炎冠状病毒之间没有抗原相关性<sup>[8]</sup>。中和试验和ELISA等都证明PEDV和TGEV在抗原性上不同,无共同抗原。目前,尚无迹象表明存在不同的PED血清型,所有分离的PEDV毒株属于同一个血清型。PEDV不能凝集家兔、小鼠、豚鼠、猪、牛、羊、雏鸡和人的红细胞。一般消毒药物都可将其杀灭。PEDV对外界抵抗力较弱,对乙醚和氯仿敏感,一般消毒药物都可将其杀灭。病毒在60 °C 30 min,可失去感染力,但在50 °C条件下相当稳定。病毒在4 °C pH 5.0-9.0或在37 °C pH 6.5-7.5时稳定。

最初, PEDV增值是经口腔接种仔猪完成的。病毒只能在肠上皮组织培养物内生长<sup>[9]</sup>。由于在细胞培养液中加入犊牛血清会抑制PEDV与红细胞受体的结合,故该细胞的细胞培养很长一段时间内未获得成功。后来发现Vero细胞(非洲绿猴肾细胞)有利于PEDV的持续增值,病毒生长依赖于无血清细胞培养液中的胰蛋白酶<sup>[10]</sup>。细胞病变(cell elongating factor, CEF)包括空胞化和形成合胞体。

## 2 发病机制

病毒经口鼻感染,侵入小肠后,在小肠和结肠绒毛吸收上皮细胞浆内通过内质网膜以出芽方式增值,在复制过程中损伤细胞器,继而出现细胞功能障碍,因线粒体肿胀引起细胞数量减少,营养物质吸收不良,这是绒毛萎缩前发生腹泻的主要原因<sup>[11]</sup>。随着病程的发展,吸收上皮损伤逐渐加重,直至上皮脱落,形成绒毛萎缩、变短,吸收面积减少<sup>[12]</sup>。引起吸收营养物质的机能显著障碍,另一方面由于肠黏膜上皮细胞内各种酶活性显著降低或缺乏,蛋白质、糖、脂肪不能彻底被分解,使肠内物质腐败发酵,刺激肠末梢感受器,蠕动增强,加之ATP酶活性降低或缺乏,肠上皮细胞内钠泵失活,又可造成晶体渗透压升高,最终导致仔猪发生渗透性腹泻。仔猪由于肠内碱性物质大量排出,而引起酸中毒、自体中毒、脱水 and 贫血,发生败血性休克衰竭而死<sup>[9,13]</sup>。

## 3 诊断

病猪表现为呕吐、迅速腹泻脱水、精神萎顿、

## ■ 研发前沿

虽然灭活疫苗具有安全、稳定的优点,但同时具有免疫期短,免疫剂量大等缺点,且灭活苗只能通过注射免疫,仔猪无法获得sIgA,保护效果不佳。而弱毒苗由于存在成本高、易返祖、有潜在感染危险等缺陷,很难在实践中推广应用。

### ■相关报道

免疫荧光和免疫电镜试验表明, PEDV与鸡传染性支气管炎病毒、猪血凝性脑脊髓炎病毒、新生犊牛腹泻冠状病毒、犬冠状病毒、猫传染性腹膜炎冠状病毒之间没有抗原相关性。

食欲下降. 病变区域局限在小肠, 肠管膨满扩张, 肠壁透明, 肠系膜充血, 肠系膜淋巴结水肿. 病理组织学变化表现为上皮细胞变性、坏死和脱落, 感染的上皮细胞, 电镜观察可见微绒毛缩短或减少, 细胞浆破裂, 在胞浆的空腔内或滑面内质网中可见到病毒粒子<sup>[14]</sup>. 超微结构变化主要发生于小肠细胞胞浆中, 可见细胞器减少, 出现电子半透明区, 接着绒毛和末端网状结构消失, 部分胞浆突入肠腔, 肠细胞变平、紧密连接消失, 脱落进入肠腔内. 在结肠内, 含毒的肠细胞出现一些CEF, 但未见细胞脱落.

本病依据临床、病理变化和流行病学很难做出诊断, 特别是与TEG不易区别, 必须依靠实验室技术才能作出确诊. 目前, 诊断方法有免疫电镜(IEM)、免疫荧光(IF)、间接血凝试验(IHA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、RT-PCR、中和试验等, 其中IF和ELISA是较常用的<sup>[15-17]</sup>.

王继科等<sup>[18]</sup>把PEDV的抗原和抗体分别经10 000 r/min离心、免疫复合物又经12 000 r/min离心后, 通过电镜观察到了典型的病毒粒子形成的免疫复合物, 并建立了具有3次筛选作用改良的IEM法. 朱维正等<sup>[19]</sup>以细胞培养的PED病毒致敏醛化鞣酸化红细胞, 对健康猪血清作间接血凝试验, 建立了IHA诊断PEDV的方法. 林志雄等<sup>[20]</sup>利用已适应于传代细胞生长的PED病毒PEDV-G1株, 以PK-15作指示细胞, 与被检血清进行微量中和, 测定待检血清中的特异性抗体, 48 h进行结果判定, 证实该方法可以用来检测PED病毒, 而且检测结果准确、可靠, 具有较高的敏感性, 可用于大规模的流行病学调查, 并建立了PED微量血清中和试验.

用直接免疫荧光法(fluorescent antibody technique, FAT)检测PEDV是最为敏感、快速、可靠的特异性诊断方法, 目前应用最为广泛, 但仅适用于急性腹泻期内患病仔猪切片的检查. 崔现兰等<sup>[21]</sup>应用FAT对PEDV人工感染仔猪的检出阳性率为91.4%(42/46), 应用间接FAT对PED阳性猪场血清的检出阳性率为89%. 林志雄等<sup>[22]</sup>用适应于Vero、PK-15等传代细胞株生长繁殖的PEDV-G1株建立了PEDV的FAT, 并与哈尔滨兽医研究所的荧光抗体方法检测结果相比较, 阳性符合率达95%, 阴性符合率90%, 且与TGE病毒、猪细小病毒、轮状病毒和大肠杆菌等没有交叉反应, 证明FAT法用于PED的诊断具有较高的准确性和特异性.

ELISA的最大的优点是可从粪便中直接检

查PEDV抗原, 目前应用也较为广泛. 此法最好在腹泻的急性期收集几个不同猪的粪便做检查. 对实验感染猪在感染后2-5 d检查, 可检出PED抗原. 朱维正等<sup>[23]</sup>用双抗体夹心法ELISA从腹泻病猪的粪便样本中直接检测PED病毒抗原, 其与电镜检查的阳性符合率为97.37%, 阴性符合率为100%.

近年来, 随着分子生物学的发展, 其诊断技术也发展迅速. 对于其病原的诊断, RT-PCR方法以其高度的敏感性和特异性在诊断中逐渐得到应用. 修金生等<sup>[24]</sup>参考GenBank上登录的PEDV的ORF3基因序列保守型片段设计特异性引物, 建立了检测PEDV的SYBR Green I 荧光定量RT-PCR方法, 结果表明, 建立的SYBR Green I 实时荧光定量RT-PCR方法为PEDV的早期感染的诊断及定量分析提供了新的方法. Ishikawa等<sup>[25]</sup>根据S基因序列设计了一对可扩增目的片段的引物, 成功地建立了诊断PEDV的RT-PCR方法, 可进行细胞毒和粪便毒的检测<sup>[25]</sup>. Jung等<sup>[26]</sup>使用了RT-PCR方法探测了PEDV的感染. Sozzi等<sup>[27]</sup>使用基于单克隆抗体的双抗体夹心法酶联免疫吸附试验(DAS-ELISA)和RT-PCR探测了PEDV, 并比较了两者在检测排泄物和肠道样品的相关性, 发现二者在检测排泄物时相关性较高.

## 4 免疫预防

疫苗免疫接种是目前预防PED的有效而可靠的方法. 该病由于发病日龄小、发病急、病死率高, 依靠自身的主动免疫往往来不及, 因此现行的PED疫苗大多是通过给母猪预防注射, 依靠初乳中的特异性抗体给仔猪提供良好的保护. 我国预防PED主要依赖于灭活疫苗和弱毒疫苗.

PED灭活疫苗安全性好, 母源抗体对免疫效果的影响小. 免疫妊娠母猪后, 产生的母源抗体对仔猪的保护性确实. 灭活疫苗可在母猪分娩前20-30 d肌肉或后海穴注射, 仔猪通过采食初乳而被动免疫获得保护. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所马思奇等在“八五”期间和“九五”期间分别完成了“TGE、PED二联灭活疫苗”的研制并应用于现地猪场. 哈药集团生物疫苗有限公司生产的TGE、PED二联灭活疫苗的主动免疫保护率为96%, 被动免疫保护率为85.1%, 可有效地预防PED的发生<sup>[28]</sup>.

Song等<sup>[29]</sup>将经Vero细胞致弱后的PEDV毒株通过口服途径免疫晚期妊娠母猪, 发病率明显降低, 且仔猪抗PEDV的SIgA含量明显升高.

研究表明, 细胞致弱的PEDV毒株可以用于口服疫苗, 诱导特异性的免疫, 从而有效预防PEDV感染. 李树根等<sup>[30]</sup>制备了PED和TGE弱毒二联疫苗, 用该弱毒二联疫苗免疫妊娠母猪, 对妊娠母猪安全, 其仔猪获得了良好的被动免疫, 用该二联弱毒疫苗免疫8-10日龄的哺乳仔猪证明安全, 并且免疫后能有效地保护妊娠母猪、初生仔猪、断奶猪和肥育猪抵抗TGEV和PEDV强毒的攻击. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所还研制出了PEDV、TGEV和RV三联活疫苗, 目前, 三联活疫苗在4个省的9个猪场先后进行了不同批次疫苗的临床试验(共计45 000头份). 临床试验各猪场反馈效果良好, 区域免疫保护率超过95%<sup>[31]</sup>.

虽然灭活疫苗具有安全、稳定的优点, 但同时具有免疫期短, 免疫剂量大等缺点. 且灭活苗只能通过注射免疫, 仔猪无法获得sIgA, 保护效果不佳. 而弱毒苗由于存在成本高、易返祖、有潜在感染危险等缺陷, 很难在实践中推广应用. 在病毒性腹泻的免疫机制中, 黏膜免疫具有非常重要的作用. 肠道黏膜分泌的IgA抗体能抵御入侵的病原体. 口服疫苗能刺激黏膜免疫, 并能产生黏膜和血清保护性IgA抗体, 是预防肠道传染病的有效途径<sup>[32]</sup>. Bae等<sup>[33]</sup>将PEDV的S基因转入烟草中, 构建了表达抗原的转基因烟草. 把这种携带抗原基因的转基因烟草饲喂动物, 试验结果表明这种转基因植物可诱导小鼠产生全身免疫和黏膜免疫. 焦茂兴等<sup>[34]</sup>构建了含有PEDV疫苗株sM、M、S基因的重组腺病毒, 将3个具有感染能力的复制缺陷性重组腺病毒共同感染Vero细胞, 细胞上清液进行小鼠免疫特性研究. 结果表明, 共同感染Vero细胞所得蛋白能诱导小鼠产生特异性体液免疫应答. PEDV重组腺病毒疫苗可经口接种, 使抗原物质对黏膜的免疫刺激作用更接近于病毒的自然感染途径, 有效地刺激黏膜免疫细胞产生分泌型IgA并引起全身性体液免疫应答. 葛俊伟等<sup>[35]</sup>将PEDV纤突蛋白S1基因片段插入干酪乳杆菌分泌型表达载体中, 构建了重组表达载体, 将其电转化干酪乳杆菌, 获得了表达分泌PEDV S1蛋白的重组乳酸菌杆菌. 将该重组干酪乳杆菌经口服接种途径免疫Balb/c小鼠, 结果表明该重组干酪乳杆菌表达系统能刺激动物黏膜免疫应答和系统免疫应答, 在肠道可产生分泌型IgA抗体, 并可检测到高水平血清IgG抗体. Suo等<sup>[36]</sup>(2012)构建了表达全长PEDV S基因和含有主要抗原位点

的S基因氨基酸端片段的DNA疫苗, 这些DNA疫苗可在真核细胞中表达, 同时在实验鼠体中诱导细胞和体液免疫应答, 特别是全长PEDV S基因有更好的免疫应答效果. 这些结果提示真核DNA质粒可作为一种预防PEDV的候选疫苗. 但PEDV抗原或PEDV抗原基因表达的蛋白经口接种时易被体内消化液、pH值、渗透强度、温度等生理因素破坏而失去抗原性. 如果利用高分子聚合物包裹如壳聚糖或壳聚糖季铵盐包裹PEDV重组腺病毒抗原或抗原蛋白, 制成生物降解微球或纳米粒, 使抗原颗粒化, 则可克服体内消化液、pH值、渗透强度、温度等生理因素对抗原的消化破坏作用<sup>[37]</sup>.

## 5 结论

近年来, PED的流行区域和流行强度有不断扩大的趋势, 对哺乳仔猪造成很高的致死率, 给养猪业造成了很大的经济损失. 我们相信随着对PEDV分子生物学技术的进一步完善和发展, 对PEDV结构的研究会越来越深入, 并能建立更为快捷而简便的分子生物学诊断方法, 并能研制出有效而经济的疫苗, 控制PED的发生.

## 6 参考文献

- 刘邓, 冉多良, 袁秀芳, 徐丽华, 牛登元, 张存, 王朝文, 王一成. 猪流行性腹泻病毒CH/ZJ分离株S基因的克隆、原核表达和免疫原性分析. 黑龙江畜牧兽医 2010; 3: 19-22
- 陈如敬, 吴学敏, 车勇良, 王隆柏, 魏宏, 庄向生, 严山, 周伦江. 猪流行性腹泻病毒FJ-11A株的分离与ORF3基因序列分析. 福建农业学报 2011; 26: 947-951
- 刘孝珍, 陈建飞, 时洪艳, 张鑫, 石达, 刘胜旺, 冯力. 2011年猪流行性腹泻病毒的遗传变异分析. 中国预防兽医学报 2012; 34: 180-183
- 徐国栋, 李峰, 张广峰. 国内猪流行性腹泻防治概况. 畜牧与兽医 2011; 43: 88-93
- 张世忠, 江斌. 2011年福建省猪流行性腹泻的流行特点及其防治措施. 福建畜牧兽医 2012; 34: 23-25
- 李龙. 仔猪流行性腹泻的最新流行情况. 养猪 2011; (5): 87-88
- 王凤, 汤德元, 李春燕, 王彬, 张晓杰, 甘振磊, 刘志杰. 猪流行性腹泻病毒基因及其疫苗的研究. 猪业科学 2010; 27: 42-47
- 殷震, 刘景华. 动物病毒学. 北京: 科学出版社, 1997: 688-689
- 宣长和, 马春全, 陈志宝. 猪病学. 北京: 中国农业大学出版社, 2010: 213-217
- Barbara E. Straw, Jeffery J. Zimmerman, Sylvie D'Allaire, David J. Taylor. Diseases of swine. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2006
- 甘孟侯, 杨汉春. 中国猪病学. 北京: 中国农业出版社, 2005: 188-190
- 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所. 动物传染病学. 北京: 中国农业出版社, 2008: 331-333
- 陈敷言. 兽医传染病学. 北京: 中国农业出版社, 2006: 229-231

## ■同行评价

本文就PED的病原学、发病机制、诊断和预防等方面的研究进展进行了较为系统的综述, 为相关研究提供了参考.



- 14 白文斌, 于康震. 动物传染病诊断学. 北京: 中国农业出版社, 2002: 395-401
- 15 李思银, 杨亮宇, 杨玉艾. 猪流行性腹泻的实验室诊断方法. 猪业科学 2010; 27: 54-57
- 16 李晓东. 猪流行性腹泻研究进展. 河北畜牧兽医 2005; 21: 29-30
- 17 Song D, Park B. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes* 2012; 44: 167-175 [PMID: 22270324 DOI: 10.1007/s11262-012-0713-1]
- 18 王继科, 刘长明, 马思奇, 王明, 魏凤祥, 于文涛, 周金法. 猪传染性胃肠炎和猪流行性腹泻病毒的免疫电镜诊断的研究. 中国畜禽传染病 1991; (2): 22-25
- 19 朱维正, 郑瑞峰. 猪流行性腹泻血清学诊断法的研究. 中国畜禽传染病 1990; 11: 16-19
- 20 林志雄, 李树根, 李力复, 陈茹, 童昆周. 猪流行性腹泻微量血清中和试验的建立和应用. 中国兽医科技 1994; 24: 3-6
- 21 崔现兰, 马思奇, 王明, 于文涛, 魏凤祥, 周金法. 应用免疫荧光法诊断猪流行性腹泻的研究. 中国预防兽医学报 1990; (5): 20-26
- 22 林志雄, 黄引贤, 李树根, 李力复, 童昆周. 应用直接免疫荧光法检测猪流行性腹泻病毒的研究. 中国进出口动植物检验 1997; (2): 32-34
- 23 朱维正, 王新平, 常建兵. 应用ELISA(双抗体夹心法)检测猪流行性腹泻病猪粪便中的病毒抗原. 兽医大学学报 1988; (2): 14-18
- 24 修金生, 周伦江, 陈如敬, 王隆柏, 陈小权. 猪流行性腹泻病毒SYBR I 实时荧光定量RT-PCR检测方法的建立. 中国兽医科学 2012; 42: 160-165
- 25 Ishikawa K, Sekiguchi H, Ogino T, Suzuki S. Direct and rapid detection of porcine epidemic diarrhoea virus by RT-PCR. *J Virol Methods* 1997; 69: 191-195 [PMID: 9504764 DOI: 10.1016/S0166-0934(97)00157-2]
- 26 Jung K, Kang BK, Lee CS, Song DS. Impact of porcine group A rotavirus co-infection on porcine epidemic diarrhoea virus pathogenicity in piglets. *Research in Veterinary Science* 2008; 84: 502-506 [PMID: 17727905 DOI: 10.1016/j.rvsc.2007.07.004]
- 27 Sozzi E, Luppi A, Lelli D, Martin AM, Canelli E, Brocchi E, Lavazza A, Cordioli P. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and RT-PCR for the detection of porcine epidemic diarrhoea virus. *Res Vet Sci* 2010; 88: 166-168 [PMID: 19501378 DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.05.009]
- 28 张海丰, 李叔伟. 猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻二联灭活疫苗的生产应用. 用药指南 2011; (5): 62
- 29 Song DS, Oh JS, Kang BK, Yang JS, Moon HJ, Yoo HS, Jang YS, Park BK. Oral efficacy of Vero cell attenuated porcine epidemic diarrhoea virus DR13 strain. *Res Vet Sci* 2007; 82: 134-140 [PMID: 16730762 DOI: 10.1016/j.rvsc.2006.03.007]
- 30 李树根, 周仲芳, 李力复, 林志雄, 童昆周, 罗长保, 颜思通, 陈茹. 猪流行性腹泻和猪传染性胃肠炎弱毒二联疫苗研究. 中国兽医杂志 2000; 26: 5-8
- 31 郭春和, 黄毓茂, 项林盛, 唐丽云, 甘建平, 郭强, 焦茂兴. 猪流行性腹泻病毒结构蛋白及疫苗的研究进展. 畜牧与兽医 2011; 43: 83-87
- 32 陈建飞, 冯力, 时洪艳, 崔尚金. 猪流行性腹泻疫苗的研究. 猪业科学 2010; 27: 50-51
- 33 Bae JL, Lee JG, Kang TJ, Jang HS, Jang YS, Yang MS. Induction of antigen-specific systemic and mucosal immune responses by feeding animals transgenic plants expressing the antigen. *Vaccine* 2003; 21: 4052-4058 [PMID: 12922142 DOI: 10.1016/S0264-410X(03)00360-8]
- 34 焦茂兴, 吴锋, 刘德辉, 黄毓茂. 猪流行性腹泻病毒重组腺病毒疫苗的构建及小鼠免疫试验. 中国畜牧兽医 2012; 39: 11-16
- 35 葛俊伟, 姜艳平, 汪淼, 乔薪媛, 徐义刚, 唐丽杰, 李一. 猪流行性腹泻病毒S1蛋白在干酪乳杆菌中的分泌表达及免疫原性分析. 中国预防兽医学报 2009; 31: 256-257
- 36 Suo S, Ren Y, Li G, Zarlenga D, Bu RE, Su D, Li X, Li P, Meng F, Wang C, Ren X. Immune responses induced by DNA vaccines bearing Spike gene of PEDV combined with porcine IL-18. *Virus Res* 2012; 167: 259-266 [PMID: 22643071 DOI: 10.1016/j.virusres.2012.05.007]
- 37 Zhao K, Shi X, Zhao Y, Wei H, Sun Q, Huang T, Zhang X, Wang Y. Preparation and immunological effectiveness of a swine influenza DNA vaccine encapsulated in chitosan nanoparticles. *Vaccine* 2011; 29: 8549-8556 [PMID: 21945253 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.09.029]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 猪流行性腹泻的诊断与预防

王靓靓, 李训良, 李鹏冲, 任晓峰

王靓靓, 李训良, 李鹏冲, 任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医学系 黑龙江省哈尔滨市 150030  
国家自然科学基金资助项目, No. 31201911; No. 31200122  
黑龙江省教育厅新世纪优秀人才资金资助项目, No. 1155-NCET-005  
黑龙江省高校科技创新团队项目, No. 2011TD001  
黑龙江省普通高等学校长江学者后备支持计划  
王靓靓, 硕士, 主要从事预防兽医学方面的研究。  
作者贡献分布: 此课题的设计与研究指导由任晓峰完成; 论文撰写由王靓靓, 李训良及李鹏冲完成; 审核和修改由任晓峰完成。  
通讯作者: 任晓峰, 教授, 博士生导师, 黑龙江省“龙江学者”奖励计划特聘教授, 150030, 黑龙江省哈尔滨市香坊区木材街59号, 东北农业大学动物医学学院预防兽医学系。 rxfemail@yahoo.com.cn  
电话: 0451-55190385  
收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30  
接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Diagnosis and prevention of porcine epidemic diarrhea

Jing-Jing Wang, Xun-Liang Li, Peng-Chong Li, Xiao-Feng Ren

Jing-Jing Wang, Xun-Liang Li, Peng-Chong Li, Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 31201911, 31200122; Program for New Century Excellent Talents in Heilongjiang Provincial University No. 1155-NCET-005; Research Team Program on Scientific and Technological Innovation in Heilongjiang Provincial University No. 2011TD001; and Sponsored by Chang Jiang Scholar Candidates Programme for Provincial Universities in Heilongjiang  
Correspondence to: Xiao-Feng Ren, Professor, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China. rxfemail@yahoo.com.cn; renxf@neau.edu.cn  
Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30  
Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Porcine epidemic diarrhea (PED) is a severe viral infectious disease caused by porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), which often causes serious diarrhea, vomiting, dehydration, and high mortality in suckling piglets. This paper briefly summarizes the epidemiological and genetic characteristics, clinical symptoms, laboratory diagnosis and vaccine prevention of PED, with an aim to provide reference for the prevention and control of this disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Porcine epidemic diarrhea; Porcine epidemic diarrhea virus

Wang JJ, Li XL, Li PC, Ren XF. Diagnosis and prevention of porcine epidemic diarrhea. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 33-38

## 摘要

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的一种严重的病毒性传染病。该病的特征是可以导致哺乳仔猪发生严重的腹泻、呕吐、脱水,并且致死率极高。本文在简述PEDV的流行病学、基因组特性和临床症状的基础上,对实验室诊断和疫苗防治等方面进行综述,为猪流行性腹泻病的防控提供参考。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 猪流行性腹泻; 猪流行性腹泻病毒

王靓靓, 李训良, 李鹏冲, 任晓峰. 猪流行性腹泻的诊断与预防. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 33-38  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/33.asp>

## 0 引言

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)在1971年在英国首次被报道,之后在日本、德国、比利时等地爆发。在1976年,中国首次报道了该病。在之后的20年间,该病已经在我国的20多个省份爆发,给农民及养猪业造成了巨大的损失。在欧洲,猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的腹泻主要集中在架子猪、育肥猪及青年种猪。在我国,各年龄的猪都极易感染PEDV的猪群<sup>[1]</sup>。在寒冷季节,猪的病毒性腹泻主要由猪流行性腹泻病毒引起,保育与育肥猪的群的感染率较高于哺乳仔猪和母猪<sup>[2]</sup>。

## 1 基因型

PEDV基因组是单股正链RNA,与其他的冠

## ■背景资料

本文在简述猪流行性腹泻病毒(PEDV)的流行病学、基因组特性和临床症状的基础上,主要对实验室诊断和疫苗防治等方面进行综述,为猪流行性腹泻病的防控提供参考。

## ■同行评议者

王俊平, 教授, 山西省人民医院消化科

## ■ 研发前沿

随着猪流行性腹泻在我国的发生,越来越多的研究者开始重视这种猪腹泻病。本文主要从诊断和免疫预防等方面进行综述,为预防该病提供了更多的理论依据。

病毒具有相似性。PEDV基因组5'端有一个帽子结构(cap), 3'端有一个Poly(A)尾。现在已经测定了PEDV CV777株完整的基因组序列,大小为28 033 bp<sup>[3]</sup>。目前除了人冠状病毒229E毒株(HCoV-229E)外,已知的其他冠状病毒成员都有Kozak序列,但是序列有所差异<sup>[4]</sup>。基因组序列包括6个ORF,从5'→3'依次为编码复制酶多聚蛋白lab、纤突蛋白、ORF3蛋白、小膜蛋白、膜糖蛋白和核衣壳蛋白的基因。在我国有不同于CV777疫苗株的新基因型的PEDV在流行,而他是否是CV777疫苗株的变异株,还需要进一步的实验验证<sup>[5]</sup>。

## 2 临床症状

猪流行性腹泻的临床症状一般表现为严重的水样腹泻,并伴有呕吐现象,全身脱水明显,粪便稀且呈黄色或灰黄色。病猪精神萎靡,眼窝下陷,食欲减退或废绝,病猪在腹泻3-4 d后,会因严重脱水而死亡。PED的临床症状与猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis of swine, TGE)较为相似。两者相比,PED的传播速度较慢,持续时间相对较长,腹泻程度也相对较轻<sup>[6]</sup>。

## 3 实验室诊断

PED在临床症状上与TGE极其相似,而通过临床症状很难鉴别出这两种病,有时还会与猪轮状病毒共同感染。所以,通常用实验室诊断技术来检验是否是PEDV引起的腹泻。常用的实验室诊断技术有微量血清中和试验、免疫电镜法(immuno electron microscopy, IEM)、免疫荧光法(fluorescent antibody technique, FAT)、酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、反转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-PCR, RT-PCR)等。

**3.1 微量血清中和试验** 1994年,林志雄等<sup>[7]</sup>建立了PED微量中和试验,该方法用已适应于传代细胞生长的猪流行性腹泻病毒PEDV-G1株,用PK-15作指示细胞,与被检血清进行微量中和,测定待检血清中的特异性抗体,判定时间为48 h。该方法检测结果准确、可靠,具有较高的敏感性,可用于大规模的流行病学调查。

**3.2 免疫电镜法** 1991年,王继科等<sup>[8]</sup>把抗原和抗体分别经10 000×g离心,对抗原-抗体复合物又经12 000×g离心、最后在电镜下直接观察到典型的病毒粒子形成的免疫复合物,建立了具有三次筛选作用的改进直接IEM法,该方法具有简

便、直观、快速和定性正确等优点,可作为鉴别诊断PEDV和TGEV的手段之一。1999年,王继科等<sup>[9]</sup>运用EM和IEM法对PEDV和TGEV进行了观察,EM结果表明两者在形态上存在有细微差异:PEDV为多形性,粒子大小变化范围较大,纤突短小而密集,核芯呈多形性;TGEV为圆形,或椭圆形,粒子大小较均一,纤突大而稀疏,核芯为环形。IEM结果PEDV与TGEV无免疫交叉反应。可应用EM和IEM对PEDV和TGEV做实验室诊断。

**3.3 免疫荧光** 1990年,崔现兰等<sup>[10]</sup>用直接FAT对PEDV人工感染仔猪的检出阳性率为91.4%,电镜观察阳性率为67.4%,可以得出免疫荧光比电镜观察更为可靠的结论;用间接免疫荧光法(IFAT)的检出率为89%,并用IFAT检查PED阳性的广东等省农场52头份血清进行TGE中和试验,首次证明在我国也存在PED和TGE的混合感染。1997年,林志雄等<sup>[11]</sup>用适应于Vero、PK-15等传代细胞株生长繁殖的PEDV-G1株建立直接FAT。同时,应用哈尔滨兽研所的荧光抗体方法比较。证明该方法具有较高的准确性和特异性。但该方法的检测样本均为病死猪的肠黏膜深层压片,所以该方法不能用于发病初期的检测,在临床诊断中具有一定的局限性。

**3.4 酶联免疫吸附试验** ELISA可以直接从腹泻的猪体粪便中检测出病毒,当病猪出现了腹泻症状时,可立即检测,做到早诊断,早治疗。此法应用广泛,较为可靠。1995年,孙智锋等<sup>[12]</sup>应用纯化PEDV抗原和酶标葡萄球菌A蛋白(PPA)建立了PPA-ELISA,选定的PEDV包被浓度为1:20,样品稀释度为1:80,通过对免疫猪血清PEDV抗体的动态测定及临床自然感染猪血清抗体水平的检测表明,该法敏感、特异、简便、快速,尤适于基层猪场大批血清样品抗体水平的普查与检测。1997年,陈茹等<sup>[13]</sup>用分离纯化的PEDV抗原,建立了用于检测PEDV抗体的斑点酶联免疫吸附试验(Dot-ELISA),并对比了该方法和琼脂扩散试验的检测情况,结果表明, Dot-ELISA更敏感,且该法重复性较好。2000年,邹勇等<sup>[14]</sup>用PEDV细胞培养物中提纯的抗原和组织毒免疫获得的高免血清建立了间接ELISA检测PEDV抗体水平。选定的包被抗原浓度为1:20 000,酶标羊抗猪IgG浓度选用1:250为测定抗PEDV IgG抗体的最适工作浓度。田间检测结果与临床发病和预期结果一致。2002年,邹勇等<sup>[15]</sup>建立的PED、TGE和RV的ELISA抗体检测方法完全可以达到实验所需的要求,应用田间试验检测未用疫苗



免疫的猪场, PEDV抗体的阳性率几乎达100%, 部分猪场PEDV和TGEV呈混合感染. 而RV抗体水平阳性率普遍很高, 这说明轮状病毒的感染成为我国的常见疾病. 2005年, Rodák等<sup>[16]</sup>通过制备PEDV单克隆抗体膜蛋白M和检测PEDV, 来比较3种阻断ELISA. 结果显示CB-ELISA具有高灵敏度和高特异性. 检查38个猪群获得的80个猪粪腹泻样本, 在6个(16%)猪群的15(19%)个腹泻样本中检测出PEDV的存在. 2011年, 张利勃等<sup>[17]</sup>参考已知的胶体金免疫层析法(gold immunochromatography assay, GICA)工作原理基础之上, 将葡萄球菌蛋白A(staphylococcal protein A, SPA)进胶体金标记作为指示介质, 将基因工程表达PEDV M蛋白抗原和自制的抗SPA多抗血清包被硝酸纤维素膜(nitrocellulose filter membrane, NCM)分别作为检测线和质控线, 由此制成一种检测PEDV血清抗体的快速诊断试纸. 其特异性、敏感性试验与ELISA进行比较. 结果表明该GICA与参考检测方法 ELISA具有相近的灵敏度, 其符合率达96%. 说明该GICA检测技术的建立为检测PEDV抗体提供了一种快速简便的方法. 2011年, Ren等<sup>[18]</sup>利用抗PEDV-M抗体建立了一种检测PEDV的间接ELISA. 该方法使用纯化重组的M蛋白免疫家兔产生该抗体, 并用IFA分析表明抗PEDV-M抗体与PEDV感染细胞发生反应. 该方法具有高特异性与敏感性, 为利用ELISA检测PEDV提供了重要参考.

**3.5 反转录-聚合酶链式反应** 随着分子生物学的不断发展, 关于PEDV的检测方法越来越受到广大研究学者的重视. RT-PCR技术也成为了检测PEDV的最有效的技术手段之一. 国内外的研究人员已经在这方面进行了深入研究.

2003年, 吴凌等<sup>[19]</sup>利用RT-PCR扩增出854 bp的PEDV M基因的全长片段, 以其为模板, 通过巢式反转录PCR(RT-nested PCR)扩增到412 bp的M基因的部分片段. 2010年, Ben Salem等<sup>[20]</sup>建立了检测猪肠道病毒的多重巢式PCR, 可以检测到PEDV的RNA浓度为27.2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 证明了巢式PCR的敏感快速. 2010年, 刘邓等<sup>[21]</sup>设计了一对特异性引物和探针, 扩增长度为186 bp的片段. 以克隆N基因的质粒作为阳性标准品, 建立了一种快速检测猪流行腹泻病毒含量的TaqMan荧光定量RT-PCR方法.

由于PED属于病毒性腹泻病, 而病毒性腹泻病是由猪流行性腹泻、传染性胃肠炎和猪轮状病毒引起的, 所以通过临床症状很难区分这3种

病毒. 多重RT-PCR就很好地解决了这个问题.

2009年, 田小艳等<sup>[22]</sup>针对猪轮状病毒的VP6基因309 bp、TGEV的N基因612 bp和PEDV的N基因492 bp设计并合成了扩增引物, 建立了多重RT-PCR的检测方法. 2010年, 张坤等<sup>[23]</sup>也建立了能同时检测PEDV(M基因663 bp)、TGEV(N基因528 bp)和猪A轮状病毒(VP7基因333 bp)的多重RT-PCR的检测方法. 2011年, 郑新添等<sup>[24]</sup>建立了多重RT-PCR检测方法, 该方法针对猪轮状病毒的VP7基因412 bp、TGEV的M基因252 bp和PEDV的N基因540 bp.

**3.6 RT-LAMP技术** RT-LAMP技术是基于RT的环介导等温扩增, 该技术可在等温条件下进行链置换核酸扩增. RT-LAMP的检测是在LAMP扩增DNA的基础上, 加入了反转录酶而实现扩增检测RNA, 反转录和扩增一步完成, 省去了传统RT-PCR要先进行的反转录步骤. 2011年, Ren等<sup>[25]</sup>建立了一种RT-LAMP, 该方法一方面能从临床病料中检测PEDV或TGEV, 又能对TGEV、PRV、PRRSV及猪的伪狂犬病毒等进行鉴别诊断, 同时具有比RT-PCR技术及ELISA更高的敏感性. 同时Li等<sup>[26]</sup>也建立了能对TGEV进行鉴别诊断的高敏感RT-LAMP, 为有效检测猪病毒性腹泻提供了重要参考.

## 4 防治

### 4.1 免疫接种

**4.1.1 灭活疫苗:** 1993年, 王明等<sup>[27]</sup>用PEDV毒株研制氢氧化铝灭活疫苗. 接种途径为后海穴位. 以0.1 mL/头主动免疫接种3日龄仔猪, 保护率为77.28%; 以0.5 mL/头主动免疫接种3-22日龄仔猪, 保护率为85%; 以3 mL/头被动免疫接种妊娠母猪, 其所产3日龄仔猪的保护率为97.06%. 接种疫苗后14 d开始产生免疫力. 免疫期可达6 mo. 疫苗在室温保存226 d仍保持较好的免疫原性.

**4.1.2 弱毒疫苗:** 有研究表明<sup>[6]</sup>, PED的发病率和死亡率的高低与母猪是否进行疫苗免疫有关. 1999年, Kweon等<sup>[28]</sup>利用分离到的野毒株KPEDV-9适应Vero细胞, 并连续传代至93代, 同时进行了主动免疫、被动免疫试验和安全性试验, 证实了KPEDV-9可作为弱毒苗使用.

**4.1.3 转基因植物疫苗:** 2005年, Kang等<sup>[29]</sup>在无尼古丁的烟草中表达合成了PEDV(K-COE)中和表位基因, 外源抗原的表达量占全部可溶性植物蛋白的2.1%, 大约是天然的5倍, 为可食性转基因植物疫苗的研究奠定了基础.

### ■ 相关报道

Suo和Ren等的研究指出pIL-18基因作为PEDV S抗原基因分子佐剂具有免疫增强的作用. 为进一步研究pIL-18生物活性提供了数据, 同时为新型免疫增强型抗PEDV疫苗研究提供了理论基础. 此类疫苗制备简单, 可同时组合其他免疫佐剂, 因此也是一种值得期待和深入研究的疫苗.

### ■创新盘点

以往的文献大部分只是单一的讲述PED的流行特点或是某一种的诊断方法等。本文引用近十年的文献,在总结PED的流行病学和临床症状的同时,也将该病的诊断方法和预防措施做了一个系统的总结,能让读者更加了解到近些年国内外学者研究PED的动向。

4.1.4 乳酸杆菌疫苗: 2009年,胡桂学等<sup>[30]</sup>将已经构建完成的含有PEDV纤突蛋白COE基因的重组菌pNZ8149-COE-NZ3900大量培养后,用1 ng/mL乳链菌肽诱导,分别口服免疫断奶仔猪和妊娠母猪,用MTT法和间接ELISA法检测淋巴细胞转化情况和仔猪血清IgG、肠黏膜和妊娠母猪初乳中PEDV SIgA抗体水平。结果表明,口服重组乳酸杆菌仔猪与对照组的淋巴细胞增殖试验刺激指数差异显著、血清中IgG和SIgA均较对照组明显增加,口服重组乳酸杆菌妊娠母猪乳汁中SIgA较对照组显著升高。由于乳酸杆菌本身具有一定的免疫调节作用,因此此类疫苗在安全性和功效性方面有一定优势。

4.1.5 亚单位疫苗: 2012年,焦茂兴等<sup>[31]</sup>通过RT-PCR和重组PCR技术扩增出PEDV疫苗株sM、M、S基因,构建重组腺病毒穿梭质粒。穿梭质粒与BJ5183细菌同源重组构建同源重组腺病毒质粒,同源重组腺病毒质粒经Pac I酶切后转染AD-293细胞,获得3个含有目的基因的重组腺病毒。将3个具有感染能力的复制缺陷性重组腺病毒共同感染Vero细胞,细胞上清液进行小鼠免疫特性研究。结果表明,共同感染Vero细胞所得蛋白能诱导小鼠产生特异性体液免疫应答。

4.1.6 二联疫苗: PEDV和TGEV同属冠状病毒,在临床上的表现也相似,因此,研究制备二联疫苗是可行的。二联疫苗主要适用于妊娠母猪的被动免疫和不同日龄猪的主动免疫。1999年,佟有恩等<sup>[32]</sup>用PED和TGE克隆化弱毒株以1:1配成PED、TGE二联弱毒疫苗,毒价为 $10^{7.0-7.5}$  TCID<sub>50</sub>/0.3 mL,主动免疫和被动免疫的保护率为97.7%和98.0%。弱毒株毒力稳定,复合制苗标准。免疫7 mo,疫苗保存期一年。疫苗接种猪对同圈饲养的非免疫猪有低效价(16-32倍)的水平感染。6个猪场的田间试验保护率为95%-98%,对紧急预防接种的防治效果更明显。2000年,李树根等<sup>[33]</sup>用PED弱毒疫苗株PEDV-G1P83和TGE弱毒疫苗株TGEV-AG1制成PED和TGE弱毒二联疫苗,并进行了保存期试验、安全效力、免疫期试验和区域试验。结果表明,试验疫苗在-20℃保存4 mo,经4 mo保存的疫苗免疫效力未见下降。4℃保存48 h对疫苗病毒的毒价没有明显影响。用该弱毒二联疫苗能够安全地对妊娠母猪和哺乳仔猪进行免疫,免疫后能有效地保护初生仔猪、断奶猪和肥育猪抵抗TGEV和PEDV强毒的攻击。该弱毒二联疫苗在区域试验中能显著降低猪病毒性腹泻的发病

率和死亡率,取得良好的效果。2002年,还红华等<sup>[34]</sup>进行了PED和TGE二联油乳剂灭活疫苗的研究,并进行了免疫试验,结果表明被动免疫保护率高达98.9%,较主动免疫效果更为明显,因此,在实际生产中可以采取以被动免疫的方式为主的预防措施。2011年,孟凡丹等<sup>[35]</sup>构建了同时编码TGEV S1和PEDV S1(pIRES-T1-PI)以及TGEV S1和PEDV S(pIRES-T1-P2)两个二联核酸疫苗。用脂质体法转染到BHK-21细胞中,利用间接免疫荧光试验(IFA)检测出两个重组质粒编码的三种蛋白均能在真核表达系统中表达。利用6-8周龄的昆明鼠进行免疫特性研究。结果表明:二联核酸疫苗明显增加了T淋巴细胞的增殖能力和CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的数量,并能够诱导机体产生较高水平的干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )。免疫后42 d pIRES-T1-P2组能够产生明显的特异性CTL活性。在免疫后35 d均能够刺激机体产生较高的抗体水平,并诱导机体产生特异性中和抗体。2012年,Suo等<sup>[36]</sup>利用淋巴细胞增殖试验、ELISA等方法,检测了T淋巴细胞增殖功能,外周血中抗PEDV特异性抗体水平以及IFN- $\gamma$ 、白介素4(interleukin-4, IL-4)的表达量等免疫指标,成功研制出pVAX1-PEDV S1和pVAX1-pIL-18联合疫苗,同时证明了pIL-18基因作为PEDV S抗原基因分子佐剂具有免疫增强的作用。为进一步研究pIL-18生物活性提供了数据,同时为新型免疫增强型抗PEDV疫苗研究提供了理论基础。此类疫苗制备简单,可同时组合其他免疫佐剂,因此也是一种值得期待和深入研究的疫苗。

4.1.7 三联疫苗: 2000年,牛小迎等<sup>[37]</sup>研制的黄芪佐剂的猪病毒性腹泻三联疫苗,置干燥阴凉处可保存1年,疫苗有效保护期4 mo,实验室免疫仔猪183头,主动免疫保护率92.7%,被动免疫保护率89%。田间免疫仔猪2 744头,免疫保护率90%。主动免疫与被动免疫在统计学上无显著性差异,生产中可根据实际情况选用不同免疫方法。2005年,邹勇等<sup>[38]</sup>制备了PEDV、TGEV和RV的三联灭活疫苗。实验室免疫结果表明,妊娠母猪和育肥猪免疫后15 d达到较高的免疫水平,免疫有效期超过6 mo,妊娠母猪所产仔猪可获得高水平的被动免疫保护。试验场应用结果表明,母猪保护率达98%,仔猪被动免疫保护率达93%。

4.2 药物治疗 2004年,陈无瑕等<sup>[39]</sup>利用中药方剂石乌散进行治疗,临床效果显著。对PED进行进一步研究,人工复制出病例,又用“石乌散”进



行治疗, 效果令人满意. 实践证明, “石乌散”对猪流行性腹泻的治愈率达98.9%, 预防效果达100%. 2009年, Pyo等<sup>[40]</sup>开发了一种用scFv来防止PEDV感染的预防性药物. 在大肠杆菌表达系统中, 表达了用来验证抗PEDV的鼠单克隆抗体中的scFv. 在病毒中和试验中证实PEDV中和纯化重组scFv活性后, scFv在大肠杆菌细胞表面表达. 大肠杆菌表达scFv中和PEDV形成了 $5 \times 10^6$  CFU, 和野生型大肠杆菌相比病灶减少了94%. 这个结果表明大肠杆菌在细胞表面表达的scFv保留了母源抗体的功效从而阻止PEDV在体外感染靶细胞. 这个体外分析结果提出了重组大肠杆菌细胞表达scFv作为一种新型的抗PEDV感染的预防药的思路.

4.3 综合防治 加强猪舍的饲养管理, 做好清洁卫生和消毒, 保持猪舍的干爽, 及时清理粪便. 由于PED大多在寒冷季节发病, 所以在冬季要特别注意提高饲养管理, 加强饲料中的能量供应, 提高猪的抵抗能力, 猪舍要保证恒温, 加强光照. 在发生猪流行性腹泻疾病后, 猪的抵抗力会下降, 从而可能会继发其他疾病, 使病情变得严重, 所以猪群发生腹泻等症时, 应当提高警惕, 做好鉴别诊断工作, 并做好隔离预防. 猪场要定期对猪进行检查, 定期预防接种, 接种的最佳时期是每年的8-9 mo, 猪场应及时采购疫苗实施集中免疫<sup>[41]</sup>.

## 5 结论

近年来, PEDV的研究已经取得了一定的进展, 特别是在PEDV的实验室诊断和疫苗研制方面, 通过实验室诊断方法, 及时发现PEDV的感染, 做到早发现, 早治疗, 并通过疫苗的预防接种, 可以大大减少PEDV对猪业市场的危害. 由于国内混合感染情况常有发生, 因此在三联疫苗的研究上还应进一步深入. 相信在不久的将来能够对猪腹泻行疾病该病将有更深入的了解, 并为预防此类疾病提供更坚实的基础.

## 6 参考文献

- 甘振磊, 汤德元, 李春燕, 王彬, 张晓杰, 王凤, 刘志杰. 猪流行性腹泻流行特点及流行现状的研究. 猪业科学 2010; 27: 24-28
- 张坤. 猪病毒性腹泻多重RT-PCR诊断方法的建立和应用及猪轮状病的分离. 华中农业大学, 2010
- Kocherhans R, Bridgen A, Ackermann M, Tobler K. Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence. *Virus Genes* 2001; 23: 137-144 [PMID: 11724265 DOI: 10.1023/A:1011831902219]
- Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 287:

- 1-30 [PMID: 15609507 DOI: 10.1007/3-540-26765-4\_1]
- 陈建飞, 王承宝, 时洪艳, 陈小金, 张志榜, 冯力. 猪流行性腹泻病毒的分子流行病学研究. 中国畜牧兽医学会畜牧兽医生物技术学分会暨中国免疫学会兽医免疫分会第八次学术研讨会论文集 2010: 203-206
- 林志武. 猪流行性腹泻的流行特点及其防治措施. 福建畜牧兽医 2011; 33: 14-15
- 林志雄, 李树根, 李力复, 陈茹, 童昆周. 猪流行性腹泻微量血清中和试验的建立和应用. 中国兽医科技 1994; 24: 3-6
- 王继科, 刘长明, 马思奇, 王明, 魏凤祥, 于文涛, 周金法. 猪传染性胃肠炎和猪流行性腹泻病毒的免疫电镜诊断的研究. 中国畜禽传染病 1991; (2): 22-25
- 王继科, 马思奇, 王明, 刘长明, 魏凤祥, 于文涛, 周金法. 猪流行性腹泻与猪传染性胃肠炎病毒的电镜和免疫电镜观察. 中国预防兽医学报 1999; 21: 191-194
- 崔现兰, 马思奇, 王明等, 于文涛, 魏凤祥, 周金法. 应用免疫荧光法诊断猪流行性腹泻的研究. 中国畜禽传染病 1990; (5): 19-24
- 林志雄, 黄引贤, 李树根, 李力复, 童昆周. 应用直接免疫荧光法检测猪流行性腹泻病毒的研究. 中国进出口动植物检 1997; (2): 32-34
- 孙智锋, 钱永清, 唐永兰, 许大新. 猪流行性腹泻抗体PPA-ELISA检测方法的建立及其应用. 上海畜牧兽医通讯 1995; (5): 28-29
- 陈茹, 罗琼, 李树根, 黄侠芳. 间接法Dot-ELISA检测猪流行性腹泻抗体的研究. 中国兽医杂志 1997; 23: 10-13
- 邹勇, 唐永兰, 苏万国, 许大新, 陈培龙, 钱永清. 间接ELISA检测猪流行性腹泻病毒的抗体水平. 上海畜牧兽医通讯 2000; (1): 18-19
- 邹勇, 唐永兰, 苏万国, 何锡忠. ELISA鉴别检测猪流行性腹泻病毒、猪传染性胃肠炎病毒和轮状病毒抗体水平的研究. 上海畜牧兽医通讯 2002; (6): 12-13
- Rodák L, Valíček L, Smíd B, Nevoráňková Z. An ELISA optimized for porcine epidemic diarrhoea virus detection in faeces. *Vet Microbiol* 2005; 105: 9-17 [PMID: 15607079 DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.09.020]
- 张利勃, 周铁忠, 王坤, 高慎阳. 猪流行性腹泻胶体金抗体检测技术的建立及其应用. 中国农学通报 2011; 27: 374-377
- Ren X, Suo S, Jang YS. Development of a porcine epidemic diarrhea virus M protein-based ELISA for virus detection. *Biotechnol Lett* 2011; 33: 215-220 [PMID: 20882317 DOI: 10.1007/s10529-010-0420-8]
- 吴凌, 李一经, 田志军, 刘贵元. 应用RT-nested PCR检测猪流行性腹泻病毒的研究. 中国兽医科技 2003; 33: 27-29
- Ben Salem AN, Chupin Sergei A, Bjadovskaya Olga P, Andreeva Olga G, Mahjoub A, Prokhvatilova Larissa B. Multiplex nested RT-PCR for the detection of porcine enteric viruses. *J Virol Methods* 2010; 165: 283-293 [PMID: 20170679 DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.02.010]
- 刘邓, 袁秀芳, 冉多良, 徐丽华, 牛登元, 王朝文, 王一成. TaqMan荧光定量PCR检测猪流行性腹泻病毒方法的建立与初步应用. 中国动物传染病学报 2010; 18: 28-33
- 田小艳, 孙华, 邓雨修, 苏润环, 王东东, 宋延华. 3种致猪腹泻病毒的多重RT-PCR检测. 动物医学进展 2009; 30: 54-57
- 张坤, 何启盖. 猪流行性腹泻病毒、猪传染性胃肠炎病毒和猪A群轮状病毒多重RT-PCR检测方法的建立及临床应用. 畜牧兽医学报 2010; 41: 1001-1005
- 郑新添, 杨小燕, 戴爱玲, 李晓华, 陈星星. 猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒三重PCR检测方法的建立. 龙岩学院学报 2011; 29: 55-58
- Ren X, Li P. Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid

## ■同行评价

本文从诊断与防控两个方面进行总结为实际生产应用提供参考.



- detection of porcine epidemic diarrhea virus. *Virus Genes* 2011; 42: 229-235 [PMID: 21286798 DOI: 10.1007/s11262-011-0570-3]
- 26 Li P, Ren X. Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of transmissible gastroenteritis virus. *Curr Microbiol* 2011; 62: 1074-1080 [PMID: 21127872 DOI: 10.1007/s00284-010-9825-9]
  - 27 王明, 马思奇, 周金法, 于文涛, 魏凤祥, 崔现兰, 冯力, 佟有恩, 黄绍棠, 刘长明. 猪流行性腹泻灭活疫苗的研究. *中国畜禽传染病* 1993; 5: 17-19
  - 28 Kweon CH, Kwon BJ, Lee JG, Kwon GO, Kang YB. Derivation of attenuated porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) as vaccine candidate. *Vaccine* 1999; 17: 2546-2553 [PMID: 10418901 DOI: 10.1016/S0264-410X(99)00059-6]
  - 29 Kang TJ, Seo JE, Kim DH, Kim TG, Jang YS, Yang MS. Cloning and sequence analysis of the Korean strain of spike gene of porcine epidemic diarrhea virus and expression of its neutralizing epitope in plants. *Protein Expr Purif* 2005; 41: 378-383 [PMID: 15866725 DOI: 10.1016/j.pep.2005.02.018]
  - 30 胡桂学, 刁鹏祥, 陈中秋, 牛伟. PEDV COE基因重组乳酸菌仔猪和妊娠母猪免疫研究. 第十三次学术研讨会会议论文集 2009: 815-818
  - 31 焦茂兴, 吴峰, 刘德辉, 黄毓茂. 猪流行性腹泻病毒重组腺病毒疫苗的构建及小鼠免疫试验. *中国畜牧兽医* 2012; 39: 11-15
  - 32 佟有恩, 冯力, 李伟杰, 朱远茂, 王明, 马思奇. 猪传染性胃肠炎与猪流行性腹泻二联弱毒疫苗的研究. *中国预防兽医学报* 1999; 21: 406-410
  - 33 李树根, 周仲芳, 李力复, 林志雄, 童昆周, 罗长保, 颜思通, 陈茹. 猪流行性腹泻和猪传染性胃肠炎弱毒二联疫苗研究. *中国兽医杂志* 2000; 26: 5-8
  - 34 还红华, 何孔旺, 倪艳秀, 林继煌, 华国浩, 梁晓辉. 猪流行性腹泻与猪传染性胃肠炎二联油乳剂灭活疫苗的田间免疫试验. *中国兽医杂志* 2002; 38: 29-30
  - 35 孟凡丹. 猪传染性胃肠炎和流行性腹泻二联核酸疫苗免疫效力研究. 东北农业大学, 2011
  - 36 Suo S, Ren Y, Li G, Zarlenga D, Bu RE, Su D, Li X, Li P, Meng F, Wang C, Ren X. Immune responses induced by DNA vaccines bearing Spike gene of PEDV combined with porcine IL-18. *Virus Res* 2012; 167: 259-266 [PMID: 22643071 DOI: 10.1016/j.virusres.2012.05.007]
  - 37 牛小迎, 叶成玉, 张君, 任晓凤, 韩国华. 猪病毒性腹泻三联疫苗的免疫研究. *青海畜牧兽医杂志* 2000; 30: 7-8
  - 38 邹勇, 许宝华, 钱永清, 唐永兰, 苏万国, 何锡忠, 周芝萍. 猪流行性腹泻、猪传染性胃肠炎和猪轮状病毒三联苗免疫试验. *江西农业大学学报* 2005; 27: 107-109
  - 39 陈无瑕, 马雪云, 侯宗良, 徐毅, 张仰民. 中草药制剂防治猪流行性腹泻病研究. 国家科技成果 2004
  - 40 Pyo HM, Kim IJ, Kim SH, Kim HS, Cho SD, Cho IS, Hyun BH. Escherichia coli expressing single-chain Fv on the cell surface as a potential prophylactic of porcine epidemic diarrhea virus. *Vaccine* 2009; 27: 2030-2036 [PMID: 19428826 DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.01.130]
  - 41 洪云华. 猪流行性腹泻流行规律及防治对策. *安徽农业通报* 2011; 17: 140-141

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

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

# 猪传染性胃肠炎病毒致病机制的研究进展

殷相平, 任晓峰, 柳纪省

殷相平, 柳纪省, 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室 农业部草食动物疫病重点开放实验室 甘肃省兰州市 730046

任晓峰, 东北农业大学兽医学院预防兽医学系 黑龙江省哈尔滨市 150030

殷相平, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事预防兽医学的研究。

家畜疫病病原生物学国家重点实验室开放基金课题, No. SKLVEB2012KFKT007

作者贡献分布: 本文主要由殷相平撰写; 任晓峰负责修改与校对; 柳纪省设计文章框架和文章思路。

通讯作者: 柳纪省, 研究员, 博士生导师, 730046, 中国农业科学院兰州兽医研究所, 家畜疫病病原生物学国家重点实验室, 农业部草食动物疫病重点开放实验室。

liujixing@hotmail.com

电话: 0931-8342682 传真: 0931-8340977

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Progress in understanding pathogenic mechanisms of porcine transmissible gastroenteritis virus

Xiang-Ping Yin, Xiao-Feng Ren, Ji-Xing Liu

Xiang-Ping Yin, Ji-Xing Liu, State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences; Key Laboratory of Grazing Animal Diseases of Ministry of Agriculture, Lanzhou 730046, Gansu Province, China

Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Supported by: Open Funding of State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, No. SKLVEB2012KFKT007

Correspondence to: Ji-Xing Liu, State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences; Key Laboratory of Grazing Animal Diseases of Ministry of Agriculture, Lanzhou 730046, Gansu Province, China. liujixing@hotmail.com

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Porcine transmissible gastroenteritis virus (TGEV) is an animal coronavirus that causes severe gastroenteritis in young TGEV-seronegative pigs. This review will focus on recent advances in research of the genomic structure, major structural proteins and their function, virus propagation and replication, virus receptors, genetics and pathogenic mechanisms of TGEV.

These data will be helpful in understanding the molecular biological characteristics and genetic variation of TGEV and have important theoretical significance for the development of new vaccines and antiviral drugs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Porcine transmissible gastroenteritis; Pathogenic mechanisms

Yin XP, Ren XF, Liu JX. Progress in understanding pathogenic mechanisms of porcine transmissible gastroenteritis virus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 39-43

## 摘要

猪传染性胃肠炎病毒(porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV)是引起仔猪严重腹泻的一种动物冠状病毒。本文就TGEV的基因组结构、主要结构蛋白及功能、病毒繁殖与复制、病毒受体、病毒变异以及病毒致病机制等方面的国内外研究进展和现状进行综述。这些资料有助于理解TGEV的分子生物学特性、遗传与变异规律,对新型疫苗的研发及抗病毒药物的筛选具有重要的理论价值。

© 2013版权归Baishideng所有。

**关键词:** 猪传染性胃肠炎病毒; 致病机制

殷相平, 任晓峰, 柳纪省. 猪传染性胃肠炎病毒致病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 39-43

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/39.asp>

## 0 引言

猪传染性胃肠炎(porcine transmissible gastroenteritis, TGE)是由猪传染性胃肠炎病毒(porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV)感染引起的仔猪严重腹泻、呕吐和脱水为主要特征的高度接触性传染病。该病最早于1946年在美国报道,我国从20世纪60年代就有该病的报道,目前该病已在世界多个国家发生,给养猪业造成严重的经济损失<sup>[1]</sup>。本文就近年来TGEV基因组结构、主要结构蛋白及功能、病毒繁殖与复

## ■背景资料

猪传染性胃肠炎(TGE)是由猪传染性胃肠炎病毒(TGEV)感染引起的以仔猪严重腹泻、呕吐和脱水为主要特征的高度接触性传染病。该病最早于1946年在美国报道,我国从20世纪60年代就有该病的报道,目前该病已在世界多个国家发生,给养猪业造成严重的经济损失。

## ■同行评议者

吴军, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院生物工程研究所

## ■ 研发前沿

冠状病毒是感染人类和动物的一类重要病原, TGEV等动物冠状病毒的感染和流行对我国养猪业的持续健康发展构成了巨大威胁。

制、病毒受体、病毒变异以及病毒致病机制等方面的研究进展综述如下。

## 1 病毒基因组结构

TGEV属于不分节段的单股正链RNA病毒, 其基因全长约为28.5 kb, 是已知RNA病毒中基因组最大的病毒。其基因组的5'端有甲基化的帽子结构, 3'端有PolyA尾, 直接有mRNA的功能, 病毒RNA具有感染性。TGEV基因组由7个开放阅读框(ORF1-ORF7)组成, ORF1位于基因组5'端, 长约20 kb, 几乎占整个基因组的2/3, 编码病毒的复制-转录酶。余下的3'端长约8.3 kb, 约占基因组的1/3, 主要编码病毒的结构蛋白和非结构蛋白, 其编码顺序是5'-S-3a-3b-E-M-N-7-3'。除了基因3有两个ORF(ORF3a和ORF3b)外, 其余的基因都只有一个ORF。在病毒复制过程中TGEV能产生7-8个亚基因组mRNA, 每个mRNA都含有3'同末端的套式结构。第2个、第4个、第5个和第6个亚基因组mRNA分别编码纤突(S)蛋白、小膜(E)蛋白、膜(M)蛋白和核衣壳(N)蛋白<sup>[2]</sup>。而ORF3a和ORF3b和7分别编码非结构蛋白。TGEV各个基因之间被重复的转录调整序列隔开, 这些调整序列都有一个保守的核心序列(core sequence, CS)5'-CUAAAC-3'。调整序列对于基因的转录有一定的影响, 是引导序列-聚合酶复合体转录亚基因组mRNA的起始信号。基因组中最大的非编码区位于3'端N端上游不含PolyA尾延伸区的280个核苷酸, 这一现象类似于分节段的RNA病毒<sup>[3]</sup>。

## 2 病毒主要结构蛋白及功能

S蛋白, 又称为E2蛋白, 是一种纤突蛋白, 位于病毒的最外面, 由1 447-1 449个氨基酸残基编码, 分子量约200 kDa。S蛋白氨基端是TGEV识别靶细胞、诱导产生中和抗体和决定病毒组织嗜性的密切相关区。其中219残基区与病毒粒子对肠道的组织嗜性至关重要。不同毒株氨基端变异较大。S蛋白的4个主要抗原位点(A、B、C、D)也存在于氨基端区域。A位点主要诱导中和抗体的产生, 可分成Aa、Ab、Ac 3个亚位点, 核心分别存在于538、591和543等3个残基处, A位点在S蛋白中保守<sup>[4]</sup>。B存在于97-144残基区, C位点存在于49-52残基区, D位点存在于382-385残基区, B、C、D 3位点均不保守。A、B两位点是依赖于S蛋白的糖基化作用和正确折叠构型产生的, 而C、D两位点的这种依赖性则很小<sup>[5]</sup>。S蛋白羧基端构成纤突的柄及跨膜区, 高度保守。在

TGEV S蛋白的N端区域存在一血凝活性区, 用唾液酸酶处理TGEV可激发血凝活性, 但此区域在TGEV的呼吸道变异株猪呼吸道冠状病毒(porcine despiratory corouavi rus, PRCV)的S蛋白中缺失, 因此检测血凝活性的存在与否是一种区分PRCV和TGEV的方法<sup>[6]</sup>。

M蛋白, 又称为E1蛋白, 是基质蛋白, 约为262个氨基酸, 分子量28-31 kDa。S蛋白与M蛋白相联形成病毒外膜, M蛋白的羧基端暴露在病毒粒子的表面, 是病毒的免疫显性区, 针对此区域的抗体可以中和TGEV和介导TGEV感染的细胞发生补体溶解反应。M蛋白氨基端6-22残基区存在一干扰素基因决定簇, 可在体内外诱导 $\alpha$ -干扰素的产生<sup>[7]</sup>。

N蛋白, 又称核蛋白, 位于病毒粒子内部, 由382个氨基酸组成, 分子量47 kDa。N蛋白是一种磷酸化蛋白, 与病毒基因组的RNA相结合, 呈螺旋旋式结构。N蛋白有2个主要抗原位点, 分别位于其N端和C端。N蛋白含有蛋白水解位点, 通过蛋白水解作用和去磷酸化作用, 对病毒粒子的装配起重要影响<sup>[8]</sup>。

sM蛋白, 又称膜结合蛋白, 是一种较小的膜结合蛋白, 分子质量约为7.9 kDa, 根据其核酸序列推断, sM蛋白由78个氨基酸组成, 每个病毒粒子中含有的拷贝数仅20-30个, 其结构和功能尚待进一步深入研究。

## 3 病毒的复制与繁殖

TGEV的繁殖周期起始于病毒粒子外膜的S蛋白与敏感细胞的受体相结合, 通过内吞作用和细胞融合进入细胞进行复制。病毒的复制完全在细胞浆内进行, 当TGEV颗粒进入细胞后, 病毒基因组RNA的5'端(ORF1)首先翻译出早期依赖于RNA的RNA多聚酶, 他使病毒基因组转录成全长的互补链, 此负链RNA通过两个不同的晚期RNA多聚酶转录成正链RNA和一套约6个亚基因组mRNAs。这些亚基因组mRNAs的5'端均有帽子结构, 3'端都有多聚腺嘌呤尾, 即所谓3'同末端套式结构。在5'端都含有同一先导序列, 长度约72个核苷酸。先导RNA先独立合成, 然后从负链RNA模板上解离出来, 再重新结合于不同mRNA起始位点处的模板上, 作为转录的引物。在每个基因之间有一个内部重复序列UCU-AAAC他与转录酶和细胞因子相互作用而“剪切”先导序列成为每个ORF起始点。当结构蛋白和基因组RNA复制完成后, 在宿主细胞的内



质网中装配出新的病毒颗粒, 并通过高尔基体分泌至细胞外. 其中TGEV的S蛋白在转译的同时被糖基化, 而M蛋白是在进入高尔基体内后被糖基化的, 这两种糖蛋白均插入病毒的囊膜中, S蛋白位于囊膜内的部分与核衣壳相连接, 囊膜外的部分可插入宿主细胞膜, 起病毒颗粒吸附宿主细胞的作用<sup>[9,10]</sup>.

#### 4 病毒受体

TGEV的细胞受体是猪氨基肽酶(pAPN), 病毒与pAPN受体结合位点位于TGEV病毒S蛋白的522-744氨基酸之间<sup>[11]</sup>. Ren等<sup>[12]</sup>通过表达不同pAPN片段, 通过ELISA和免疫荧光以及病毒感染抑制实验证明pAPN的3个主要区域36aa-223aa、349aa-591aa和592-963aa是3个主要的与抗pAPN抗体结合的区域, 同时这些位点也能有效阻断TGEV感染细胞的能力. 推测pAPN的主要抗体结合区可能与其与TGEV结合区域相关. 实验证明原核表达的pAPN制备的多克隆抗体能有效阻断TGEV与pAPN的结合, 并可用于通过免疫组织化学的方法定位pAPN在小肠中的定位<sup>[13]</sup>. 这些证据强调了pAPN作为TGEV的一种细胞受体在TGEV感染中扮演重要角色. 冠状病毒有几个成员如牛冠状病毒等能与唾液酸相互作用, 与细胞表面的唾液酸酶(也就是所谓的神经氨酸酶)结合是病毒起始感染的基本条件. 唾液酸是决定TGEV血凝素活性的主要受体, 在培养的细胞中感染TGEV可以不需要唾液酸, 缺失了唾液酸结合活性的TGEV突变株可以利用pAPN受体在培养细胞中生长良好, 但是突变株病毒与亲本病毒在吸附细胞表面方面具有显著性差异. 用神经氨酸酶预处理细胞再感染病毒可导致病毒与细胞表面结合能力下降6倍, 检测发现, 用神经氨酸酶处理细胞表面蛋白后, 使结合膜相关唾液酸蛋白被破坏. 虽然TGEV感染体外培养的细胞不依赖其唾液酸活性作为感染的基本条件, 但是TGEV感染胃肠道的组织嗜性必须要和唾液酸活性结合, 病毒与唾液酸的相互作用可能有助于病毒通过覆盖在小肠上皮细胞的唾液酸比较丰富的黏液层. TGEV S蛋白序列的改变可降低病毒的致病性或使其失去毒性. 即, 若TGEV的S蛋白结构改变后失去了结合唾液酸的能力, 则TGEV就不再感染大量分泌有唾液酸的胃肠组织. TGEV具有特异性的血凝素活性, 能被特异性抗血清所抑制, 研究表明S蛋白上存在唾液酸的血凝素<sup>[14,15]</sup>. 另外, 在病毒感染

方面, Ren等<sup>[16]</sup>研究发现, 胆固醇对TGEV感染细胞具有重要意义, 试验表明, 用甲基-环糊精处理细胞后, 细胞膜上的胆固醇缺失, 可显著地降低TGEV感染效率. 另外在病毒外膜缺失胆固醇同样也会降低病毒的感染性. 这是一个很有趣的发现, 因为冠状病毒在胆固醇含量低的高尔基前体出芽, 因此必须有外源胆固醇的条件下病毒才可以恢复感染性, 这表明TGEV成功感染需要在病毒外膜和细胞膜上有胆固醇. 另外, Ren等<sup>[17]</sup>利用噬菌体展示技术鉴定了几个能与pAPN特异性结合多肽分子, 这些多肽能竞争性抑制TGEV与pAPN结合, 该研究结果为抗TGEV感染提供了新思路.

#### 5 病毒感染的免疫

先天性免疫反应是机体抵抗病毒感染的第一道屏障, 病毒为了生存已经演化出不同的策略逃避这种反应. 研究表明冠状病毒的几个非结构蛋白在逃避先天性免疫反应方面具有重要作用. 通过反向遗传操作技术缺失基因7的TGEV毒株, 与亲本病毒进行比较发现, 缺失基因7的TGEV毒株在感染细胞时由于增加细胞RNA的降解和eIF2a的磷酸化, 因此能增强细胞凋亡, 并导致蛋白翻译关闭. 蛋白7有一段保守的序列可介导与磷酸化蛋白催化亚基结合, 是已经鉴定的关键的细胞抗病毒反应的调节蛋白. 用重组的缺失基因7的毒株和野生型毒株感染新生仔猪, 发现缺失基因7的病毒生长速度和病理变化比野生型毒株快, 结果表明基因7能抵抗宿主细胞抗病毒反应<sup>[18]</sup>.

猪传染性胃肠炎病毒特异性中和抗体的产生依赖于病毒结构蛋白之间的合作配合, Antón等<sup>[19]</sup>用亲和层析纯化的S蛋白、M蛋白和N蛋白免疫仔猪表明, 将S蛋白和N蛋白联合免疫或将S蛋白和M蛋白联合免疫均能获得高滴度的中和抗体, 而将M蛋白和N蛋白联合免疫产生的中和性抗体较低, 但是将3种蛋白单独免疫不能产生中和性抗体. 该研究结果表明, 在诱导高滴度TGEV特异性抗体时必须要有两种蛋白的联合刺激, 目前S蛋白和N蛋白联合免疫产生的中和抗体水平最高.

#### 6 病毒变异

PRCV是TGEV的变异株, 主要感染呼吸道组织, 首次分离于比利时的猪呼吸道组织, 感染该病毒的猪能产生TGEV的抗体<sup>[20]</sup>. 序列比较显示该

#### ■ 相关报道

Krempl等通过突变S蛋白与血凝素活性相关的一个氨基酸或在S蛋白的145到155氨基酸残基处缺失4个氨基酸均可导致病毒毒力的显著降低, 甚至失去血凝素活性, 这表明TGEV的唾液酸结合活性对病毒感染具有重要作用.

## ■同行评价

本文全面阐述了TGEV在分子生物学方面取得的研究进展,对新型疫苗的研发具有一定的借鉴意义。

病毒与TGEV的同源性达96%,两种病毒的主要区别是呼吸道冠状病毒存在3个基因的缺失。在PRCV的S基因的5'端有大的片段缺失,主要位于621-681核苷酸之间,不同的毒株缺失的位置不同,由于缺失可能导致S基因1-2个抗原位点的丢失,根据这些丢失的抗原位点可以通过阻断ELISA区分仔猪感染的是TGEV或PRCV<sup>[21]</sup>。欧洲株和美洲株的PRCV在S基因和ORF3a基因的缺失位置上略有不同,欧洲株PRCV缺失S基因的672个核苷酸(224个氨基酸),美洲株PRCV缺失S基因的681个核苷酸(227个氨基酸)。在基因3a和3b有较小的缺失,对PRCV降低在肠道的复制能力起重要作用。许多TGEV的突变起源于病毒的点突变或重组。S基因145-155氨基酸的点突变可能导致唾液酸结合活性是丧失,从而影响病毒的组织嗜性和病毒的毒力。研究表明TGEV S蛋白N端氨基酸的改变对病毒感染胃肠道的嗜性非常重要。TGEV和PRCV均利用pAPN受体感染宿主细胞,与TGEV病毒比较,PRCV缺失正好是S蛋白具有的血凝素活性唾液酸结合位点,因此PRCV不能在肠道有效复制<sup>[22]</sup>。由于欧洲PRCV的流行,相当于TGEV天然的弱毒疫苗,因此被感染的动物产生大量可抵抗TGEV的抗体,使欧洲TGEV的流行趋于下降趋势,目前我国尚未报道PRCV的流行。

## 7 病毒致病机制

猪传染性胃肠炎病毒是一个典型的感染胃肠道的冠状病毒,但也可以在呼吸道组织中复制。该病毒能耐受胃液中低pH环境,感染覆盖在空肠和回肠绒毛上的柱状上皮细胞。当上皮细胞感染后,导致细胞脱落以及绒毛萎缩和随后的腹泻。TGEV引起胃肠炎的程度取决于被感染动物的年龄。尽管所有年龄的猪均可易感该病,但在仔猪最为严重。2周龄的仔猪感染TGEV后20 h出现呕吐,然后出现连续数天的腹泻,经常导致脱水甚至死亡。年龄较大的动物通常从胃肠炎中恢复过来,但病后出现生长迟缓。不同组织器官对TGEV的易感性取决于感染动物的年龄、环境、病毒剂量和病毒的毒力等几个因素。病毒对胃肠道的致病性取决于S蛋白,S蛋白序列的改变可降低病毒的致病性或使病毒失去毒性。TGEV的唾液酸结合活性位于S蛋白,而PRCV则缺少这段S基因,因此没有唾液酸结合活性。TGEV用神经氨酸酶处理以后血凝素活性显著提升,同时用神经氨酸酶处理正常的细胞,然

后感染TGEV这样也可以提升其血凝素活性。Krempl等通过突变S蛋白与血凝素活性相关的一个氨基酸或在S蛋白的145到155氨基酸残基处缺失4个氨基酸均可导致病毒毒力的显著降低,甚至失去血凝素活性,这表明TGEV的唾液酸结合活性对病毒感染具有重要作用<sup>[23,24]</sup>。

## 8 结论

冠状病毒是感染人类和动物的一类重要病原,TGEV等动物冠状病毒的感染和流行对我国养猪业的持续健康发展构成巨大威胁。目前,动物冠状病毒及其与宿主天然免疫反应的关系还不十分清楚,人类和动物冠状病毒种类较多,病毒复制周期及其影响因素比较复杂,病毒编码结构蛋白和非结构蛋白的功能及其相互作用比较复杂,这就可能决定了动物冠状病毒与宿主抗病毒天然免疫反应及其机制的复杂性。因此对TGEV复制与繁殖、病毒受体、感染与免疫、病毒变异以及致病机制等方面的研究,有助于理解冠状病毒的分子生物学特性、遗传与变异规律,对新型疫苗的研发及抗病毒药物的筛选有重要的理论价值。

## 9 参考文献

- 1 殷震,刘景华. 动物病毒学. 第2版. 北京: 科学出版社, 1997: 681-688
- 2 Penzes Z, Gonzalez JM, Calvo E, Izeta A, Smerdou C, Méndez A, Sanchez CM, Sola I, Almazan F, Enjuanes L. Complete genome sequence of transmissible gastroenteritis coronavirus PUR46-MAD clone and evolution of the purdue virus cluster. *Virus Genes* 2001; 23: 105-118 [PMID: 11556396 DOI: 10.1023/A:1011147832586]
- 3 Alonso S, Izeta A, Sola I, Enjuanes L. Transcription regulatory sequences and mRNA expression levels in the coronavirus transmissible gastroenteritis virus. *J Virol* 2002; 76: 1293-1308 [PMID: 11773405 DOI: 10.1128/JVI.76.3.1293-1308.2002]
- 4 Gebauer F, Posthumus WP, Correa I, Suñé C, Smerdou C, Sánchez CM, Lenstra JA, Melen RH, Enjuanes L. Residues involved in the antigenic sites of transmissible gastroenteritis coronavirus S glycoprotein. *Virology* 1991; 183: 225-238 [PMID: 1711257 DOI: 10.1016/0042-6822(91)90135-X]
- 5 Delmas B, Rasschaert D, Godet M, Gelfi J, Laude H. Four major antigenic sites of the coronavirus transmissible gastroenteritis virus are located on the amino-terminal half of spike glycoprotein S. *J Gen Virol* 1990; 71: 1313-1323 [PMID: 1693663 DOI: 10.1099/0022-1317-71-6-1313]
- 6 Schwegmann-Wessels C, Herrler G. Sialic acids as receptor determinants for coronaviruses. *Glycoconj J* 2006; 23: 51-58 [PMID: 16575522 DOI: 10.1007/s10719-006-5437-9]
- 7 Escors D, Izeta A, Capiscol C, Enjuanes L. Transmissible gastroenteritis coronavirus packaging

- signal is located at the 5' end of the virus genome. *J Virol* 2003; 77: 7890-7902 [PMID: 12829829 DOI: 10.1128/JVI.77.14.7890-7902.2003]
- 8 Risco C, Muntión M, Enjuanes L, Carrascosa JL. Two types of virus-related particles are found during transmissible gastroenteritis virus morphogenesis. *J Virol* 1998; 72: 4022-4031 [PMID: 9557690]
- 9 Tooze J, Tooze S, Warren G. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac-cells: determination of the first site of budding of progeny virions. *Eur J Cell Biol* 1984; 33: 281-293 [PMID: 6325194]
- 10 Wesley RD, Cheung AK, Michael DD, Woods RD. Nucleotide sequence of coronavirus TGEV genomic RNA: evidence for 3 mRNA species between the peplomer and matrix protein genes. *Virus Res* 1989; 13: 87-100 [PMID: 2549745 DOI: 10.1016/0168-1702(89)90008-7]
- 11 Delmas B, Gelfi J, L'Haridon R, Vogel LK, Sjöström H, Norén O, Laude H. Aminopeptidase N is a major receptor for the entero-pathogenic coronavirus TGEV. *Nature* 1992; 357: 417-420 [PMID: 1350661 DOI: 10.1038/357417a0]
- 12 Ren X, Li G, Liu B. Binding characterization of determinants in porcine aminopeptidase N, the cellular receptor for transmissible gastroenteritis virus. *J Biotechnol* 2010; 150: 202-206 [PMID: 20643168 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2010.07.019]
- 13 Liu B, Li G, Sui X, Yin J, Wang H, Ren X. Expression and functional analysis of porcine aminopeptidase N produced in prokaryotic expression system. *J Biotechnol* 2009; 141: 91-96 [PMID: 19428736 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.02.005]
- 14 Herrler G, Rott R, Klenk HD, Müller HP, Shukla AK, Schauer R. The receptor-destroying enzyme of influenza C virus is neuraminidase-O-acetyltransferase. *EMBO J* 1985; 4: 1503-1506 [PMID: 2411539]
- 15 Schwegmann-Wessels C, Zimmer G, Laude H, Enjuanes L, Herrler G. Binding of transmissible gastroenteritis coronavirus to cell surface sialoglycoproteins. *J Virol* 2002; 76: 6037-6043 [PMID: 12021336 DOI: 10.1128/JVI.76.12.6037-6043.2002]
- 16 Ren X, Glende J, Yin J, Schwegmann-Wessels C, Herrler G. Importance of cholesterol for infection of cells by transmissible gastroenteritis virus. *Virus Res* 2008; 137: 220-224 [PMID: 18727942 DOI: 10.1016/j.virusres.2008.07.023]
- 17 Ren X, Liu B, Yin J, Zhang H, Li G. Phage displayed peptides recognizing porcine aminopeptidase N inhibit transmissible gastroenteritis coronavirus infection in vitro. *Virology* 2011; 410: 299-306 [PMID: 21176936 DOI: 10.1016/j.virol.2010.11.014]
- 18 Cruz JL, Sola I, Becares M, Alberca B, Plana J, Enjuanes L, Zúñiga S. Coronavirus gene 7 counteracts host defenses and modulates virus virulence. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002090 [PMID: 21695242 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002090]
- 19 Antón IM, González S, Bullido MJ, Corsín M, Risco C, Langeveld JP, Enjuanes L. Cooperation between transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) structural proteins in the in vitro induction of virus-specific antibodies. *Virus Res* 1996; 46: 111-124 [PMID: 9029784 DOI: 10.1016/S0168-1702(96)01390-1]
- 20 Pensaert M, Callebaut P, Vergote J. Isolation of a porcine respiratory, non-enteric coronavirus related to transmissible gastroenteritis. *Vet Q* 1986; 8: 257-261 [PMID: 3018993 DOI: 10.1080/01652176.1986.9694050]
- 21 Laude H, Van Reeth K, Pensaert M. Porcine respiratory coronavirus: molecular features and virus-host interactions. *Vet Res* 1993; 24: 125-150 [PMID: 8393722]
- 22 Vaughn EM, Halbur PG, Paul PS. Sequence comparison of porcine respiratory coronavirus isolates reveals heterogeneity in the S, 3, and 3-1 genes. *J Virol* 1995; 69: 3176-3184 [PMID: 7707547]
- 23 Bernard S, Laude H. Site-specific alteration of transmissible gastroenteritis virus spike protein results in markedly reduced pathogenicity. *J Gen Virol* 1995; 76: 2235-2241 [PMID: 7561760 DOI: 10.1099/0022-1317-76-9-2235]
- 24 Krempel C, Schultze B, Laude H, Herrler G. Point mutations in the S protein connect the sialic acid binding activity with the enteropathogenicity of transmissible gastroenteritis coronavirus. *J Virol* 1997; 71: 3285-3287 [PMID: 9060696]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)



# 猪流行性腹泻病毒蛋白结构与功能的初探

茅翔, 任晓峰

## ■背景资料

猪流行性腹泻病毒是导致猪流行性腹泻的主要病原体, 猪流行性腹泻在我国依然较为常见, 对养猪业的健康发展造成很大的威胁. 因此有必要继续大力加强对该病毒的研究. 进一步了解猪流行性腹泻病毒各个蛋白的生物学功能, 对寻找有效的药物或生物干预制剂, 有着重要意义.

茅翔, 南京农业大学动物医学院 江苏省南京市 210095  
任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030  
茅翔, 教授, 博士生导师, 主要从事流行性乙型脑炎, 猪繁殖与呼吸综合征病毒及猪流行性腹泻病毒与宿主细胞相互作用的研究.  
作者贡献分布: 本综述由茅翔完成; 任晓峰负责审校.  
通讯作者: 茅翔, 教授, 210095, 江苏省南京市卫岗1号, 南京农业大学动物医学院. xmao@njau.edu.cn  
收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30  
接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Functions of proteins of porcine epidemic diarrhea virus

Xiang Mao, Xiao-Feng Ren

Xiang Mao, College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China

Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Xiang Mao, Professor, College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, 1 Weigang, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China. xmao@njau.edu.cn

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Porcine epidemic diarrhea (PED) is caused by porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), which belongs to the order Nidovirales in the family Coronaviridae. Since PED was first discovered in Europe in 1987, it has become a severe infectious disease in Asian countries (including China, Korea, Japan, Philippines and Thailand) and has caused great economic losses in swine industry. Although bivalent vaccine for PEDV and transmissible gastroenteritis virus (TGEV, another porcine coronavirus) can decrease the incidence of both diseases, PED is still increasing annually in China. Unfortunately, there have been few studies on viral proteins and pathogenesis of PEDV. This review aims to provide some functional insights on PEDV viral proteins based on the available information from coronaviruse studies.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Porcine epidemic diarrhea virus; Non-structural protein; Structural protein

Mao X, Ren XF. Functions of proteins of porcine epidemic diarrhea virus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 44-53

## 摘要

猪流行性腹泻是猪流行性腹泻病毒引起的猪肠道传染性疾病. 该病毒属于尼多病毒目, 冠状病毒属. 虽然猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)首次在欧洲发生, 但是目前已经成为包括中国、韩国、日本、菲律宾以及泰国等亚洲国家猪产业中严重的传染性疾病, 造成了严重的经济损失. 目前猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)和猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)二联灭活苗及弱毒苗的应用大大降低了两种病毒病的发生率, 但是我国目前PED的流行仍呈逐年上升趋势. 目前对PEDV的致病机制了解较少, 本综述旨在借助其他冠状病毒病毒蛋白结构和功能的研究成果, 对PEDV编码的病毒蛋白进行初步分析, 以期为进一步深入研究PEDV提供一些新的思路.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 猪流行性腹泻病毒; 非结构蛋白; 结构蛋白

茅翔, 任晓峰. 猪流行性腹泻病毒蛋白结构与功能的初探. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 44-53

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/44.asp>

## 0 引言

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)引起的猪肠道传染性疾病. 目前其在临床上与猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)和猪轮状病毒(porcine rotavirus, PRV)腹泻共存混合感染, 给该病的防控和研究带来极大的不利. 猪流行性腹泻仅发生在猪上, 各种年龄的猪都能感染. 本病多发于寒

## ■同行评议者

陈敬贤, 教授, 安徽医科大学微生物学教研室

冷季节. 春秋季节也有小规模流行发生. 哺乳仔猪、架子猪和育肥猪的发病率高达100%, 尤以对哺乳仔猪的危害最为严重. 成年母猪发病率为70%-90%. 虽然PED首次在欧洲发生, 但是目前已经成为包括中国、韩国、日本、菲律宾以及泰国等亚洲国家猪产业中严重的传染性疾病, 造成了巨大的经济损失. TGEV和PEDV二联灭活苗及弱毒苗的应用虽然大大降低了两种病毒病的发生率, 但是我国目前猪流行性腹泻的发病率仍呈逐年上升趋势. 爆发该病时无特效抗病毒药物可以使用.

PEDV基因组为单股正链RNA, 具有感染性. 全长为27 000-33 000个核苷酸. 属于I类冠状病毒. 目前已经测定了PEDV-CV777、PEDV-CH/S、PEDV-CH/FJND-3/2011和PEDV-DR13及其弱毒株的全基因组序列<sup>[1-4]</sup>. PEDV基因组包括5'和3'非翻译区, 3'有多聚腺嘌呤核苷酸序列. 基因组编码4个结构蛋白(S蛋白、囊膜蛋白E、膜蛋白M和核衣壳蛋白N)以及15个非结构蛋白1-15(nonstructural protein, nsp)和ORF3. 排列顺序为5'-nsp1-15-S-ORF3-E-M-N-3'. 在15个非结构蛋白中nsp11-nsp15分别编码5个与病毒基因组复制有关的酶. 这些酶与一些病毒非结构蛋白和宿主蛋白相互作用形成复制复合体负责病毒基因组复制.

目前对于PEDV的研究多数还是集中在流行性病学调查、不同毒株M蛋白、S蛋白以及N蛋白序列变化以及进化分析、PEDV的检测方法和PEDV入胞机制等的研究. 而对于PEDV的致病机制, 病毒编码的结构和非结构蛋白的结构功能的研究目前报道很少. 这对于研究防控PEDV的方法极其不利. PEDV与同类的TGEV、人冠状病毒NL63(human coronavirus NL63, HCoV-NL63)和人冠状病毒299E(human coronavirus 299E, HCoV-299E)等病毒的序列同源性较高, 与其他类冠状病毒在部分病毒蛋白序列上也有一定同源性. 对于这些病毒的致病机制和病毒蛋白的结构功能已有一些研究报道. 本综述旨在综合分析已有的一些冠状病毒研究进展, 为进一步研究PEDV的致病机制等提供一些思路.

## 1 非结构蛋白

1.1 nsp1 目前没有关于PEDV编码的非结构蛋白1(non-structural protein 1, nsp1)的生物学功能研究的报道. PEDV编码的nsp1长度为110个氨基酸, 与同类的I型冠状病毒的nsp1的长度大致相

同, 在氨基酸序列上与蝙蝠冠状病毒(bat coronavirus, BtCoV)、HCoV-NL63和HCoV-229E的同源性较高. 严重急性呼吸道综合征病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)的nsp1的NMR结构已有报道. 在其13-128位区域内与I类冠状病毒nsp1在用于维持蛋白结构的重要疏水氨基酸上保守性较强. 因此推测这两类病毒nsp1在结构上可能较接近<sup>[5]</sup>.

SARS-CoV的nsp1可以抑制宿主基因表达, 主要是通过结合在宿主40S核糖体上来阻止宿主蛋白的翻译, 并诱导宿主mRNA的降解. 病毒基因组的5'-末端引导序列可以保护病毒mRNA免受nsp1介导的RNA降解<sup>[6]</sup>.

TGEV的nsp1在功能上与SARS-CoV的nsp1类似, 可以有效地抑制宿主蛋白的合成. 与SARS-CoV的nsp1的作用机制不同的是TGEV的nsp1并不结合到40S核糖体或促进宿主蛋白mRNA降解. 他可以抑制HeLa细胞提取物中的蛋白翻译, 但是并不能抑制兔网状细胞裂解物中的蛋白翻译. 因此推测某些宿主蛋白可能参与TGEV的nsp1对宿主蛋白翻译的抑制过程<sup>[7]</sup>.

研究还表明属于I类冠状病毒的HCoV-NL63和HCoV-229E的nsp1可以结合到宿主细胞核糖体40S亚基上, 且不抑制IRF-3的激活. 宿主蛋白的转录和翻译都受nsp1的抑制, 而对翻译的抑制更强烈. HCoV-NL63和HCoV-229E均属于低致病性冠状病毒. 但是他们的nsp1抑制宿主蛋白翻译的效果要比SARS-CoV的nsp1的作用更强烈, 推测这些nsp1更可能作为病毒的毒力因子促进病毒的增殖, 而不是主要的致病因子<sup>[5]</sup>. TGEV的感染可以激活宿主的先天免疫并诱导I型干扰素的产生<sup>[8,9]</sup>, 而SARS-CoV和小鼠肝炎病毒(murine hepatitis virus, MHV)只能诱导微弱和迟缓的先天免疫反应<sup>[10-12]</sup>. HCoV-229E的nsp1可以稳定地刺激干扰素转录因子的激活, 被感染细胞可以产生大量的IFN- $\beta$ <sup>[5]</sup>. 由于PEDV、TGEV、HCoV-NL63和HCoV-229E同属I类冠状病毒, 因此PEDV的nsp1对于宿主细胞先天免疫反应和宿主蛋白翻译等的影响是否与这些病毒类似还有待进一步研究.

1.2 nsp2 PEDV的nsp2编码785个氨基酸. 氨基酸序列与同类冠状病毒的同源性较高, 包括BtCoV和猫冠状病毒(feline coronavirus, FCoV)等. 而其他类冠状病毒同源性较差, 大小和序列变化较大. 与PEDV同类的冠状病毒的nsp2的功能目前没有报道. SARS-CoV的nsp2与包括nsp8在内

## ■ 相关报道

目前对于PEDV发病机制和病毒编码蛋白的功能的研究仍然欠缺.

### ■创新盘点

本文通过对近年来冠状病毒的一些研究结果进行综述,全面地归纳了猪流行性腹泻病毒各个蛋白可能的结构特点和功能,对PEDV的研究具有很好的参考价值。

的7个病毒蛋白有相互作用,其自身也会形成二聚或多聚物<sup>[13]</sup>。MHV和SARS-CoV的nsp2并不是病毒在细胞上生长所必需,缺失nsp2会造成病毒生长和RNA合成减弱,但病毒蛋白的翻译不受影响,因此nsp2可能在病毒总体RNA合成上具有重要作用,同时还可能在病毒和宿主细胞相互作用或病毒致病机制中起作用<sup>[14]</sup>。外源表达的nsp2并不像在感染病毒时那样定位于特定的膜结构上,但是感染缺失nsp2的MHV后反式表达nsp2, nsp2仍会募集至复制复合体上。虽然nsp2并不是形成复制复合体所必需的蛋白,但是在复制过程中, nsp2仍会与复制复合体中的nsp4、nsp8和dsRNA共定位<sup>[15]</sup>。

SARS-CoV病毒的nsp2和宿主细胞的PHB1和PHB2相互作用。这两个蛋白是进化上较为保守的蛋白。他们与细胞周期进程、细胞迁移、分化和凋亡等有关。因此nsp2可能在病毒感染过程中起到调节宿主细胞生理环境的作用<sup>[16]</sup>。

由于PEDV的nsp2与SARS-CoV和MHV的nsp2序列差别较大,其nsp2的功能是否与这两个病毒的nsp2有相似之处还有待进一步研究。通过酵母双杂交以及其他研究蛋白质间相互作用的方法寻找与nsp2相互作用的宿主蛋白对进一步研究nsp2生物学功能具有重要意义。

**1.3 nsp3** nsp3是PEDV编码的最长的病毒蛋白(1 621个氨基酸)。SARS-CoV的nsp3预测有3个疏水结构域,实验证明有一个疏水结构域不在脂双层中<sup>[17]</sup>。nsp3上还有一些在其他冠状病毒中都存在的结构域。其中一个ADP-核糖-1'-单磷酸酶(ADP-ribose-1'-monophosphatase, ADRP)结构域,负责催化ADP-核糖-1'-单磷酸为ADP-核糖。目前只在少数病毒中发现该结构域的存在,包括风疹病毒、甲病毒、戊肝病毒等。目前SARS-CoV、HCoV-N163、HCoV-229E和FCoV的ADRP结构域的结构已有报道<sup>[18-21]</sup>。TGEV的ADRP的活性也有报道<sup>[22]</sup>。SARS病毒的反向遗传的研究表明ADRP酶活中心的突变对于病毒复制没有很明显的影。缺失该结构域的SARS-CoV和HCoV-299E与野生型病毒相比对IFN- $\alpha$ 的敏感性增加,因此ADRP可能与病毒的免疫逃逸机制有关<sup>[23]</sup>。

PEDV的nsp3上还包含两个木瓜酶样蛋白酶结构域(papain-like protease, PLP)。可能主要负责nsp1/nsp2和nsp2/nsp3之间的裂解。该结构域与TGEV和SARS-CoV病毒的nsp3上木瓜酶样蛋白酶的同源性为30%左右。TGEV的PLP1结构已

经得到解析<sup>[24]</sup>。结构整体上与SARS-CoV的PLP2类似,结构上有一个锌结合区。对HCoV-299E的PLP1的研究表明锌结合区域是水解nsp1/nsp2所必需<sup>[25,26]</sup>。另外TGEV的PLP1还具有去泛素酶的特性<sup>[24]</sup>。这对于病毒拮抗宿主细胞的先天和后天免疫反应和促进病毒入胞和释放具有重要意义。MHV的PLP2也具有去泛素的作用,可以抑制I型干扰素的产生<sup>[27]</sup>。

**1.4 nsp4** nsp4是一个跨膜蛋白。猫冠状病毒和小鼠肝炎病毒的nsp4的C-末端部分的晶体结构已有报道<sup>[28,29]</sup>。PEDV与猫冠状病毒的nsp4在该区域的同源性有85%。与MHV的有59%同源性。推测这段区域可能会与某些宿主蛋白相互作用。另外nsp4包括4个疏水的结构域,实验证明均处于脂双层中<sup>[17]</sup>。MHV的nsp4会影响病毒复制所需的双膜囊泡(double-membrane vesicles, DMVs)的正常形成,在DMV的组装和稳定性上起重要作用<sup>[30]</sup>。单独表达的MHV的nsp4定位于ER。而感染病毒时, nsp4位于复制复合体上。MHV的nsp4可以与nsp3和nsp6相互作用,共表达nsp4和nsp3会分别影响这两个蛋白的分布<sup>[31]</sup>。

**1.5 nsp5** nsp5编码3C样蛋白酶(3C-like proteinase, 3CLpro),是病毒成熟所必需的蛋白酶。目前有HCoV-229E、HCoV-HKU1、TGEV、SARS-CoV等相关蛋白酶结构和酶/抑制剂复合物结构的相关报道<sup>[32-35]</sup>。PEDV的nsp5与HCoV-299E的nsp5的同源性高达83%,与TGEV和SARS-CoV的nsp5同源性分别为78%和63%。nsp5是抗病毒抑制剂研究的主要热点。对nsp5和他与肽抑制剂复合物的晶体结构的研究可以为进一步设计和优化抑制剂奠定基础。对所有类型的冠状病毒3CLpro的水解肽段的氨基酸偏好性研究可以为设计针对3CLpro的广谱的抑制剂提供理论基础<sup>[36]</sup>。

**1.6 nsp6** nsp6为膜蛋白,理论预测含有7个疏水结构域。但是SARS-CoV编码的nsp6的第6个疏水结构域并不在脂双层中<sup>[17]</sup>。鸡传染性支气管炎病毒(infectious bronchitis virus, IBV)的nsp6可以诱导宿主细胞自噬体的形成,促进病毒复制<sup>[37]</sup>。PEDV的nsp6的功能仍有待进一步研究。

**1.7 nsp7和nsp8** 对冠状病毒nsp7和nsp8的研究多数集中在一起。目前已经有SARS-CoV和猫冠状病毒的nsp7/nsp8复合物晶体结构的报道。SARS-CoV的nsp7/nsp8复合物晶体结构显示他们形成8:8的结构<sup>[38]</sup>。带有天然N末端氨基酸的SARS-CoV病毒的nsp8与nsp7相互作用可以增强病毒编码的RNA依赖的RNA聚合酶(RNA-dependent



RNA polymerase, RdRp)的活力, 并且具有引物延伸能力, 但是总活性仍然低于病毒的RdRp的活性. 经典RdRp的基序A和C在nsp8上不存在. nsp8存在两个DNA依赖的RNA引物合成酶(primease)的保守基序D/ExD/E. 实验表明仅前一个保守基序是酶活所必需的<sup>[39]</sup>.

猫冠状病毒nsp7/nsp8复合物结构与SARS-CoV的不同, 呈现2:1的异源3聚体形式. 两个nsp7之间的结构也有所差异. nsp8可以合成6个核苷酸长度的寡聚核苷酸. N端带有GPLG的nsp8 RNA聚合酶活性明显增加. 与nsp7相互作用后, RNA聚合酶的活性进一步增加, 能够合成67个核苷酸. 未经切割的nsp7-10病毒多聚蛋白仍然具有合成6个核苷酸长度的寡聚核苷酸. 因此nsp7和nsp8形成的复合物并不是nsp8的聚合酶活性所必需. 聚合酶反应需要Mg<sup>2+</sup>的参与<sup>[40]</sup>.

PEDV的nsp7和nsp8与猫冠状病毒这两个蛋白间的同源性均为81%, 推测PEDV的nsp7/nsp8的结构可能与猫冠状病毒的更接近.

1.8 nsp9 PEDV的nsp9与HCoV-229E的nsp9的同源性为83%. nsp9在复制复合体中结合单链RNA. HCoV-229E的nsp9形成通过二硫键相连的二聚体<sup>[41]</sup>, 这与SARS-CoV的nsp9的结构不同<sup>[42]</sup>. 突变能够形成二硫键的Cys69为Ala得到的结构与SARS的nsp9的类似, 在结构上呈棒状. 野生型的HCoV-229E的nsp9对寡聚核酸有较强亲和力, 而Cys69Ala或Cys69Ser的突变体只能微弱的结合较长的多聚核苷酸. SARS的nsp9相应位置的突变并不影响核酸的结合<sup>[41]</sup>.

SARS-CoV的nsp9是通过两个平行的 $\alpha$ -螺旋之间的100GXXXG104基序发生相互作用. G100E、G104E和G104V的突变会破坏nsp9的二聚作用, 但是突变体仍然能够结合单链RNA, 只是结合能力有所下降. 因此nsp9的二聚作用并不是结合核酸所必需. 将G100E和G104E通过反向遗传的方式引入病毒, 突变病毒不能存活. 而G104V的突变病毒可以通过回复突变恢复感染能力. nsp9的二聚体形成虽然不是RNA结合所必需的, 但是对于病毒复制至关重要<sup>[43]</sup>.

PEDV的nsp9上仅含有一个半胱氨酸, 这与SARS-CoV和HCoV-229E有所不同.

1.9 nsp10 nsp10是病毒编码的S-腺苷甲硫氨酸依赖型核苷-2-O'-甲基转移酶的辅助蛋白. 只有这两个蛋白形成复合物时核苷-2-O'-甲基转移酶才有活力. 单独存在的nsp10形成12聚体结构. nsp10是锌结合蛋白, 每个单体蛋白中存在两

个锌指结构. 和锌螯合的氨基酸在I、II和III型的冠状病毒中均保守<sup>[44]</sup>. SARS-CoV的nsp10可以与单链RNA、双链RNA或DNA结合, 所结合的核苷酸序列没有特异性<sup>[45]</sup>. SARS-CoV的nsp10可以和复制复合体中的很多蛋白相互作用, 参与复制复合体的形成<sup>[46]</sup>.

MHV的nsp10体外可以和tRNA、单链RNA、双链和单链DNA结合<sup>[47]</sup>. 研究发现nsp10对MHV的基因组和亚基因组RNA合成至关重要, 同时nsp10也在病毒多聚蛋白的加工过程中起作用<sup>[48]</sup>.

## 2 与病毒基因组复制相关的非结构蛋白

2.1 RNA依赖的RNA聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp, nsp11) 非结构蛋白nsp11编码病毒的RNA依赖的RNA聚合酶. RdRp负责病毒基因组的合成. 目前还没有关于PEDV的RdRp的研究报道. TGEV的RdRp可以和nsp2、nsp3和nsp8一起掺入病毒粒子<sup>[49]</sup>. 对SARS-CoV的RdRp的研究表明该酶活性依赖引物, 其功能的行使需要nsp8引物合成酶的参与. SARS-CoV的RdRp结合dsRNA和ssRNA的能力接近<sup>[50]</sup>. 该酶缺乏合成起始能力, 可能与其较为开放的结构和缺少能自发启动合成的保守的启动环区(priming loop)有关<sup>[51]</sup>. 理论预测在SARS-CoV编码的RdRp的400-900位氨基酸区域中含有一个G基序, 这是所有引物依赖的RdRp的标志<sup>[50]</sup>. 研究发现Zn<sup>2+</sup>能够抑制SARS-CoV的RdRp体外活性, RdRp的延伸能力受到抑制, 同时模板结合能力也减弱<sup>[52]</sup>. PEDV的RdRp的功能有待进一步研究.

2.2 解旋酶(helicase, nsp12) 非结构蛋白nsp12为核酸解旋酶/核苷酸三磷酸酶, 属于解旋酶超级家族I. 可以有效地解开RNA和DNA双螺旋. 该酶有多聚的特性<sup>[53]</sup>. 其N端具有锌结合能力, C端为解旋酶区域. 马动脉炎病毒的解旋酶上锌结合区域的突变会导致病毒RNA不能合成, 因此该区域对于解旋酶酶活调节具有重要作用<sup>[54]</sup>.

SARS-CoV的解旋酶解旋的方向是5'-3', 并具有持续解旋能力促进双链RNA和双链DNA的有效分离. 所有天然的核苷酸和脱氧核苷酸都可以作为核苷酸三磷酸酶(NTPase)的底物. 其水解ATP、dATP和GTP的能力较其他核苷酸更有效<sup>[55]</sup>. HCoV-N229E的nsp13除了具有SARS-CoV解旋酶的类似特性外, 还具有RNA 5'-三磷酸酶活力, 可能与病毒RNA加帽有关<sup>[56]</sup>.

2.3 核糖核酸外切酶(exoribonuclease, nsp13)

### ■应用要点

通过对PEDV各个蛋白的结构和功能进行归纳, 为进一步研究病毒的发病机制以及寻找有效的药物或疫苗的研制提供了一定参考.

## ■同行评价

本综述选题新颖,对猪流行性腹泻病毒的研究有重要意义,故有一定的学术价值。

PEDV的核糖核酸外切酶含有595个氨基酸. 序列上包括核糖核酸外切酶基序 I (DE)、基序 II (D)和基序 III(D), 这个基序最早发现在宿主细胞的DEDD核酸外切酶超级家族中存在, 这些家族的一些酶具有纠错能力. 冠状病毒编码的核糖核酸外切酶在病毒复制过程中可能起着纠错的功能, 以应付庞大的病毒基因组复制过程中可能出现的突变. SARS-CoV的核糖核酸外切酶具有3'-5'外切酶特性. 酶的C端结构域具有鸟嘌呤-N7-甲基转移酶的功能<sup>[57,58]</sup>. 突变HCoV-229E的核糖核酸外切酶保守基序上的氨基酸会影响病毒基因组和亚基因组RNA合成<sup>[58]</sup>. 将MHV或SARS-CoV的核糖核酸外切酶上的基序 I 或 III 的保守氨基酸突变为丙氨酸后得到的病毒具有中等程度的复制缺陷, 表明酶活性不是病毒复制所必需. 对病毒序列分析后却发现病毒基因组的突变率均有所上升<sup>[59,60]</sup>. 这些都表明该酶在维持冠状病毒基因组复制的保真性上具有重要作用. 暗示着他可以作为新型的弱毒疫苗开发和抗病毒治疗方法的研究方向<sup>[61]</sup>.

2.4 尿苷酸特异性核糖核酸内切酶(Uridylate-specific endoribonuclease, nsp14) 该酶为尼多病毒目病毒所特有<sup>[62]</sup>. PEDV的尿苷酸特异性核糖核酸内切酶与SARS的nsp15有60%同源性. SARS-CoV的nsp15的晶体结构已经解析. nsp15只有形成6聚体才具有相应的酶活<sup>[63]</sup>. 他主要切割3'尿苷酸, 并形成2'-3'环状磷酸酯末端. 其活性依赖 $Mn^{2+}$ 的存在<sup>[64,65]</sup>. 酶活力的丧失会导致HCoV-229E不能增殖<sup>[62]</sup>.

SARS-CoV的nsp15可以抑制宿主细胞MAVS诱导的细胞凋亡, 从而在病毒的免疫逃逸上起作用<sup>[66]</sup>. 猪繁殖与呼吸综合征病毒的nsp11具有尿苷酸特异性核糖核酸内切酶活性, 该蛋白可以在细胞上抑制IFN- $\beta$ 的产生<sup>[67]</sup>. PEDV的核糖核酸内切酶是否与病毒的免疫逃逸有关有待验证.

2.5 S-腺苷甲硫氨酸依赖型核苷-2'-O'-甲基转移酶[S-adenosylmethionine-dependent-(nucleoside-2'-O)-methyltransferase, nsp15] PEDV的S-腺苷甲硫氨酸依赖型核苷-2'-O'-甲基转移酶与SARS-CoV编码的nsp16的同源性为75%. SARS-CoV的nsp10/nsp16的晶体结构已经报道. 冠状病毒的核苷-2'-O'-甲基转移酶只有在和nsp10结合的条件下才具有活性. SARS-CoV的nsp16只能甲基化m7GpppA-RNA, 而不能甲基化m7GpppG-RNA. nsp10是甲基转移酶结合

m7GpppA-RNA和S-腺苷甲硫氨酸(SAM)所必需的蛋白. nsp10可以稳定SAM结合部位并扩大甲基转移酶上RNA结合区域<sup>[68,69]</sup>. 推测PEDV的核苷-2'-O'-甲基转移酶也只在和nsp10相互作用时才具有活力.

## 3 结构蛋白和ORF3

3.1 S蛋白(spike protein) PEDV的S蛋白由1 383个氨基酸组成, 是识别宿主细胞上的入胞受体、促进病毒与细胞膜融合蛋白. S蛋白基因在三类冠状病毒中高度保守. S蛋白表面有PEDV重要的抗原决定簇, 有良好的免疫原性, 在机体抗原免疫反应中起重要作用. 该蛋白可以作为疫苗和抗病毒药物开发的靶点. 冠状病毒S蛋白为 I 型膜蛋白. N端S1区域形成3聚体的结构, S2区域结构为螺旋状, 形成柄状结构嵌入病毒囊膜中<sup>[70]</sup>. S1区域可识别宿主细胞上的受体, 而S2区域与病毒和细胞融合有关, 包括七肽重复序列结构域HR1和HR2. S1结合受体后引发S2构象变化, 导致融合肽插入细胞膜中. HR1和HR2相互作用形成6螺旋束的融合核心, 促使病毒的囊膜靠近细胞膜从而引起融合<sup>[71]</sup>. 目前有不少抗病毒的肽的研究是利用S2上的HR1和HR2相互作用的肽段来抑制病毒入胞<sup>[72]</sup>. 另外能够阻止S蛋白和受体结合的肽也可以作为有效的抗病毒药物<sup>[73]</sup>.

TGEV的S1的N端包括4个抗原位点(C、B、D和A), 与宿主受体识别有关. 包含C和B位点的S1的N端大部分与肠道细胞嗜性有关. 位于S1的C端的A位点与呼吸和肠道细胞嗜性有关, 且可以识别入胞受体氨肽酶N(aminopeptidase N, APN)<sup>[74]</sup>. PEDV的受体也是APN. 对PEDV受体结合位点的研究发现, PEDV与APN结合的部位可能在25-88位氨基酸上<sup>[75]</sup>. 有研究发现PEDV的S蛋白C末端的GPRLQPY序列可以诱导中和抗体产生<sup>[76]</sup>. 针对S蛋白上抗原表位的研究对于开发新型疫苗至关重要.

3.2 ORF3蛋白 ORF3是病毒编码的一个辅助蛋白. 预测其含有4个跨膜区并形成同源四聚体. 在非洲爪蟾卵母细胞模型上证实PEDV的ORF3具有离子通道特性, 第4个跨膜区上的酪氨酸对钾离子通道活性起关键作用. ORF3的基因沉默可以降低病毒在Vero细胞上的滴度<sup>[77]</sup>. 有些PEDV毒株的ORF3上存在碱基缺失, 因此可以用来作为区分PEDV的一些毒株的标志<sup>[78]</sup>.

3.3 M蛋白 PEDV的M蛋白无信号肽, 预测含有3个跨膜区. M蛋白在TGEV病毒粒子的囊膜中存

在两种拓扑模式<sup>[79]</sup>. PEDV和TGEV的M蛋白在跨膜区上保守性相对较高. M蛋白的拓扑结构在两个病毒间是否有类似需要进一步研究.

M蛋白可以和自身、S蛋白和N蛋白相互作用. M蛋白的C端第三跨膜区后有个保守结构域. MHV上的这个结构域可以调节M蛋白自身的相互作用, 在病毒囊膜形成中具有重要作用, 而N蛋白的存在也可以稳定病毒组装过程中M蛋白之间形成复合物<sup>[80]</sup>.

**3.4 E蛋白** E蛋白为膜蛋白, 和TGEV的E蛋白的同源性为31%. SARS-CoV的E蛋白体外具有离子通道性质<sup>[81]</sup>. SARS-CoV的E蛋白在单独表达或病毒感染时主要位于内质网-高尔基体中间层(ER-Golgi intermediate compartment, ERGIC). 没有证据表明E蛋白存在于细胞膜上<sup>[82]</sup>. 鸡传染性支气管炎病毒的E蛋白可以影响蛋白的分泌途径, 对病毒释放具有重要作用<sup>[83]</sup>. TGEV的E蛋白对病毒粒子的分泌也有重要作用<sup>[84]</sup>.

**3.5 N蛋白** N蛋白与病毒复制有关, 并且与病毒的复制-转录复合体在一起. N蛋白包含两个RNA结合结构域, 分别为N端结构域和C端结构域. 两个结构域之间有一段富含丝氨酸和精氨酸的柔性区域. 目前SARS-CoV、IBV和MHV的两个RNA结合区域的晶体结构已经得到解析. 虽然结构总体上类似, 但是表面静电势有所差别, 这与他们各自结合RNA的特性相关. C端结构域有多聚的趋势<sup>[85-87]</sup>.

MHV的N端结构域可以结合病毒基因组上的转录调节序列, 这是一段保守的6个碱基的序列, 对病毒亚基因组的合成起着重要作用. N端结构域具有RNA解链能力, 为不连续的转录提供条件<sup>[88]</sup>. 最近的研究表明MHV的N蛋白可以与病毒的nsp3的N端相互作用, 作用位点多集中于N蛋白的丝氨酸-精氨酸富集区域. 这种相互作用可能与基因组RNA在病毒感染早期定位于复制复合体有关<sup>[89]</sup>. MHV的N蛋白动态地与复制-转录复合体作用. N蛋白通过C端结构域与复制-转录复合体作用, 并进而与其他N蛋白相互作用. N蛋白间相互作用是其募集至复制-转录复合体所必需. N蛋白包裹病毒基因组RNA形成螺旋状核衣壳掺入出芽的病毒粒子<sup>[90]</sup>. TGEV的N蛋白作为RNA伴侣可以有效地促进模板切换来协助病毒RNA有效转录<sup>[91,92]</sup>.

研究发现1,8-桉树脑(1,8-cineole)可以通过干扰IBV的N蛋白与RNA的结合来抑制病毒, 提示我们通过干扰N蛋白与RNA结合来控制病毒

感染的可能性<sup>[93]</sup>.

## 4 结论

目前对PEDV编码的蛋白研究较少, 还有很多可以拓展的研究空间. 鉴于其与其他冠状病毒的一些相似之处, 可以借鉴其他病毒的研究方法. 通过蛋白质相互作用筛选的方法发现各病毒蛋白间的相互作用以及病毒蛋白与宿主细胞蛋白间的相互作用、病毒复制复合体蛋白组成分析及病毒蛋白对免疫系统的影响等都是PEDV研究的重要环节. 对病毒成熟相关的蛋白酶3CL-pro和复制相关酶的结构和功能研究可以为设计小分子病毒抑制剂提供靶点. 这些研究的结果都将大大促进对PEDV致病机制的研究, 并为研发新型的防控PED的手段提供思路.

## 5 参考文献

- 1 Kocherhans R, Bridgen A, Ackermann M, Tobler K. Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence. *Virus Genes* 2001; 23: 137-144 [PMID: 11724265 DOI: 10.1023/A:1011831902219]
- 2 Chen J, Wang C, Shi H, Qiu HJ, Liu S, Shi D, Zhang X, Feng L. Complete genome sequence of a Chinese virulent porcine epidemic diarrhoea virus strain. *J Virol* 2011; 85: 11538-11539 [PMID: 21980030 DOI: 10.1128/JVI.06024-11]
- 3 Chen J, Liu X, Shi D, Shi H, Zhang X, Feng L. Complete genome sequence of a porcine epidemic diarrhoea virus variant. *J Virol* 2012; 86: 3408 [PMID: 22354946 DOI: 10.1128/JVI.07150-11]
- 4 Park SJ, Kim HK, Song DS, An DJ, Park BK. Complete genome sequences of a Korean virulent porcine epidemic diarrhoea virus and its attenuated counterpart. *J Virol* 2012; 86: 5964 [PMID: 22532530 DOI: 10.1128/JVI.00557-12]
- 5 Wang Y, Shi H, Rigolet P, Wu N, Zhu L, Xi XG, Vabret A, Wang X, Wang T. Nsp1 proteins of group I and SARS coronaviruses share structural and functional similarities. *Infect Genet Evol* 2010; 10: 919-924 [PMID: 20609418 DOI: 10.1016/j.meegid.2010.05.014]
- 6 Huang C, Lokugamage KG, Rozovics JM, Narayanan K, Semler BL, Makino S. SARS coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: viral mRNAs are resistant to nsp1-induced RNA cleavage. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002433 [PMID: 22174690 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002433]
- 7 Huang C, Lokugamage KG, Rozovics JM, Narayanan K, Semler BL, Makino S. Alphacoronavirus transmissible gastroenteritis virus nsp1 protein suppresses protein translation in mammalian cells and in cell-free HeLa cell extracts but not in rabbit reticulocyte lysate. *J Virol* 2011; 85: 638-643 [PMID: 21047955 DOI: 10.1128/JVI.01806-10]
- 8 Charley B, Laude H. Induction of alpha interferon by transmissible gastroenteritis coronavirus: role of transmembrane glycoprotein E1. *J Virol* 1988; 62: 8-11 [PMID: 2824858]
- 9 Charley B, Lavanant L. Characterization of blood



- mononuclear cells producing IFN alpha following induction by coronavirus-infected cells (porcine transmissible gastroenteritis virus). *Res Immunol* 1990; 141: 141-151 [PMID: 2167506 DOI: 10.1016/0923-2494(90)90133-J]
- 10 Spiegel M, Pichlmair A, Martínez-Sobrido L, Cros J, García-Sastre A, Haller O, Weber F. Inhibition of Beta interferon induction by severe acute respiratory syndrome coronavirus suggests a two-step model for activation of interferon regulatory factor 3. *J Virol* 2005; 79: 2079-2086 [PMID: 15681410 DOI: 10.1128/JVI.79.4.2079-2086.2005]
  - 11 Spiegel M, Weber F. Inhibition of cytokine gene expression and induction of chemokine genes in non-lymphatic cells infected with SARS coronavirus. *Virol J* 2006; 3: 17 [PMID: 16571117 DOI: 10.1186/1743-422X-3-17]
  - 12 Roth-Cross JK, Martínez-Sobrido L, Scott EP, García-Sastre A, Weiss SR. Inhibition of the alpha/beta interferon response by mouse hepatitis virus at multiple levels. *J Virol* 2007; 81: 7189-7199 [PMID: 17459917 DOI: 10.1128/JVI.00013-07]
  - 13 von Brunn A, Teepe C, Simpson JC, Pepperkok R, Friedel CC, Zimmer R, Roberts R, Baric R, Haas J. Analysis of intraviral protein-protein interactions of the SARS coronavirus ORFeome. *PLoS One* 2007; 2: e459 [PMID: 17520018 DOI: 10.1371/journal.pone.0000459]
  - 14 Graham RL, Sims AC, Brockway SM, Baric RS, Denison MR. The nsp2 replicase proteins of murine hepatitis virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus are dispensable for viral replication. *J Virol* 2005; 79: 13399-13411 [PMID: 16227261 DOI: 10.1128/JVI.79.21.13399-13411.2005]
  - 15 Hagemeijer MC, Verheije MH, Ulasli M, Shaltiel IA, de Vries LA, Reggiori F, Rottier PJ, de Haan CA. Dynamics of coronavirus replication-transcription complexes. *J Virol* 2010; 84: 2134-2149 [PMID: 20007278 DOI: 10.1128/JVI.01716-09]
  - 16 Cornillez-Ty CT, Liao L, Yates JR, Kuhn P, Buchmeier MJ. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein 2 interacts with a host protein complex involved in mitochondrial biogenesis and intracellular signaling. *J Virol* 2009; 83: 10314-10318 [PMID: 19640993 DOI: 10.1128/JVI.00842-09]
  - 17 Oostra M, Hagemeijer MC, van Gent M, Bekker CP, te Lintelo EG, Rottier PJ, de Haan CA. Topology and membrane anchoring of the coronavirus replication complex: not all hydrophobic domains of nsp3 and nsp6 are membrane spanning. *J Virol* 2008; 82: 12392-12405 [PMID: 18842706 DOI: 10.1128/JVI.01219-08]
  - 18 Egloff MP, Malet H, Putics A, Heinonen M, Dutartre H, Frangeul A, Gruez A, Campanacci V, Cambillau C, Ziebuhr J, Ahola T, Canard B. Structural and functional basis for ADP-ribose and poly(ADP-ribose) binding by viral macro domains. *J Virol* 2006; 80: 8493-8502 [PMID: 16912299 DOI: 10.1128/JVI.00713-06]
  - 19 Xu Y, Cong L, Chen C, Wei L, Zhao Q, Xu X, Ma Y, Bartlam M, Rao Z. Crystal structures of two coronavirus ADP-ribose-1"-monophosphatases and their complexes with ADP-Ribose: a systematic structural analysis of the viral ADRP domain. *J Virol* 2009; 83: 1083-1092 [PMID: 18987156 DOI: 10.1128/JVI.01862-08]
  - 20 Piotrowski Y, Hansen G, Boomaars-van der Zanden AL, Snijder EJ, Gorbalenya AE, Hilgenfeld R. Crystal structures of the X-domains of a Group-1 and a Group-3 coronavirus reveal that ADP-ribose-binding may not be a conserved property. *Protein Sci* 2009; 18: 6-16 [PMID: 19177346]
  - 21 Wojdyla JA, Manolaridis I, Snijder EJ, Gorbalenya AE, Coutard B, Piotrowski Y, Hilgenfeld R, Tucker PA. Structure of the X (ADRP) domain of nsp3 from feline coronavirus. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2009; 65: 1292-1300 [PMID: 19966415 DOI: 10.1107/S0907444909040074]
  - 22 Putics A, Gorbalenya AE, Ziebuhr J. Identification of protease and ADP-ribose 1"-monophosphatase activities associated with transmissible gastroenteritis virus non-structural protein 3. *J Gen Virol* 2006; 87: 651-656 [PMID: 16476987]
  - 23 Kuri T, Eriksson KK, Putics A, Züst R, Snijder EJ, Davidson AD, Siddell SG, Thiel V, Ziebuhr J, Weber F. The ADP-ribose-1"-monophosphatase domains of severe acute respiratory syndrome coronavirus and human coronavirus 229E mediate resistance to antiviral interferon responses. *J Gen Virol* 2011; 92: 1899-1905 [PMID: 21525212]
  - 24 Wojdyla JA, Manolaridis I, van Kasteren PB, Kikkert M, Snijder EJ, Gorbalenya AE, Tucker PA. Papain-like protease 1 from transmissible gastroenteritis virus: crystal structure and enzymatic activity toward viral and cellular substrates. *J Virol* 2010; 84: 10063-10073 [PMID: 20668092 DOI: 10.1128/JVI.00898-10]
  - 25 Herold J, Gorbalenya AE, Thiel V, Schelle B, Siddell SG. Proteolytic processing at the amino terminus of human coronavirus 229E gene 1-encoded polyproteins: identification of a papain-like proteinase and its substrate. *J Virol* 1998; 72: 910-918 [PMID: 9444982]
  - 26 Herold J, Siddell SG, Gorbalenya AE. A human RNA viral cysteine proteinase that depends upon a unique Zn<sup>2+</sup>-binding finger connecting the two domains of a papain-like fold. *J Biol Chem* 1999; 274: 14918-14925 [PMID: 10329692 DOI: 10.1074/jbc.274.21.14918]
  - 27 Zheng D, Chen G, Guo B, Cheng G, Tang H. PLP2, a potent deubiquitinase from murine hepatitis virus, strongly inhibits cellular type I interferon production. *Cell Res* 2008; 18: 1105-1113 [PMID: 18957937]
  - 28 Manolaridis I, Wojdyla JA, Panjikar S, Snijder EJ, Gorbalenya AE, Berglund H, Nordlund P, Coutard B, Tucker PA. Structure of the C-terminal domain of nsp4 from feline coronavirus. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2009; 65: 839-846 [PMID: 19622868 DOI: 10.1107/S0907444909018253]
  - 29 Xu X, Lou Z, Ma Y, Chen X, Yang Z, Tong X, Zhao Q, Xu Y, Deng H, Bartlam M, Rao Z. Crystal structure of the C-terminal cytoplasmic domain of non-structural protein 4 from mouse hepatitis virus A59. *PLoS One* 2009; 4: e6217 [PMID: 19593433 DOI: 10.1371/journal.pone.0006217]
  - 30 Gadlage MJ, Sparks JS, Beachboard DC, Cox RG, Doyle JD, Stobart CC, Denison MR. Murine hepatitis virus nonstructural protein 4 regulates virus-induced membrane modifications and replication complex function. *J Virol* 2010; 84: 280-290 [PMID: 19846526 DOI: 10.1128/JVI.01772-09]
  - 31 Hagemeijer MC, Ulasli M, Vonk AM, Reggiori F, Rottier PJ, de Haan CA. Mobility and interactions of coronavirus nonstructural protein 4. *J Virol* 2011; 85: 4572-4577 [PMID: 21345958 DOI: 10.1128/

- JVI.00042-11]
- 32 Lee CC, Kuo CJ, Ko TP, Hsu MF, Tsui YC, Chang SC, Yang S, Chen SJ, Chen HC, Hsu MC, Shih SR, Liang PH, Wang AH. Structural basis of inhibition specificities of 3C and 3C-like proteases by zinc-coordinating and peptidomimetic compounds. *J Biol Chem* 2009; 284: 7646-7655 [PMID: 19144641 DOI: 10.1074/jbc.M807947200]
  - 33 Zhao Q, Li S, Xue F, Zou Y, Chen C, Bartlam M, Rao Z. Structure of the main protease from a global infectious human coronavirus, HCoV-HKU1. *J Virol* 2008; 82: 8647-8655 [PMID: 18562531 DOI: 10.1128/JVI.00298-08]
  - 34 Anand K, Ziebuhr J, Wadhwani P, Mesters JR, Hilgenfeld R. Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs. *Science* 2003; 300: 1763-1767 [PMID: 12746549 DOI: 10.1126/science.1085658]
  - 35 Yang H, Xie W, Xue X, Yang K, Ma J, Liang W, Zhao Q, Zhou Z, Pei D, Ziebuhr J, Hilgenfeld R, Yuen KY, Wong L, Gao G, Chen S, Chen Z, Ma D, Bartlam M, Rao Z. Design of wide-spectrum inhibitors targeting coronavirus main proteases. *PLoS Biol* 2005; 3: e324 [PMID: 16128623 DOI: 10.1371/journal.pbio.0030324]
  - 36 Chuck CP, Chow HF, Wan DC, Wong KB. Profiling of substrate specificities of 3C-like proteases from group 1, 2a, 2b, and 3 coronaviruses. *PLoS One* 2011; 6: e27228 [PMID: 22073294 DOI: 10.1371/journal.pone.0027228]
  - 37 Cottam EM, Maier HJ, Manifava M, Vaux LC, Chandra-Schoenfelder P, Gerner W, Britton P, Ktistakis NT, Wileman T. Coronavirus nsp6 proteins generate autophagosomes from the endoplasmic reticulum via an omegasome intermediate. *Autophagy* 2011; 7: 1335-1347 [PMID: 21799305 DOI: 10.4161/autophagy.7.11.16642]
  - 38 Zhai Y, Sun F, Li X, Pang H, Xu X, Bartlam M, Rao Z. Insights into SARS-CoV transcription and replication from the structure of the nsp7-nsp8 hexadecamer. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12: 980-986 [PMID: 16228002]
  - 39 te Velthuis AJ, van den Worm SH, Snijder EJ. The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 1737-1747 [PMID: 22039154 DOI: 10.1093/nar/gkr893]
  - 40 Xiao Y, Ma Q, Restle T, Shang W, Svergun DI, Ponnusamy R, Sczakiel G, Hilgenfeld R. Nonstructural proteins 7 and 8 of feline coronavirus form a 2:1 heterotrimer that exhibits primer-independent RNA polymerase activity. *J Virol* 2012; 86: 4444-4454 [PMID: 22318142 DOI: 10.1128/JVI.06635-11]
  - 41 Ponnusamy R, Moll R, Weimar T, Mesters JR, Hilgenfeld R. Variable oligomerization modes in coronavirus non-structural protein 9. *J Mol Biol* 2008; 383: 1081-1096 [PMID: 18694760 DOI: 10.1016/j.jmb.2008.07.071]
  - 42 Sutton G, Fry E, Carter L, Sainsbury S, Walter T, Nettleship J, Berrow N, Owens R, Gilbert R, Davidson A, Siddell S, Poon LL, Diprose J, Alderton D, Walsh M, Grimes JM, Stuart DI. The nsp9 replicase protein of SARS-coronavirus, structure and functional insights. *Structure* 2004; 12: 341-353 [PMID: 14962394]
  - 43 Miknis ZJ, Donaldson EF, Umland TC, Rimmer RA, Baric RS, Schultz LW. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp9 dimerization is essential for efficient viral growth. *J Virol* 2009; 83: 3007-3018 [PMID: 19153232 DOI: 10.1128/JVI.01505-08]
  - 44 Su D, Lou Z, Sun F, Zhai Y, Yang H, Zhang R, Joachimiak A, Zhang XC, Bartlam M, Rao Z. Dodecamer structure of severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10. *J Virol* 2006; 80: 7902-7908 [PMID: 16873247 DOI: 10.1128/JVI.00483-06]
  - 45 Joseph JS, Saikatendu KS, Subramanian V, Neuman BW, Brooun A, Griffith M, Moy K, Yadav MK, Velasquez J, Buchmeier MJ, Stevens RC, Kuhn P. Crystal structure of nonstructural protein 10 from the severe acute respiratory syndrome coronavirus reveals a novel fold with two zinc-binding motifs. *J Virol* 2006; 80: 7894-7901 [PMID: 16873246 DOI: 10.1128/JVI.00467-06]
  - 46 Pan J, Peng X, Gao Y, Li Z, Lu X, Chen Y, Ishaq M, Liu D, Dediego ML, Enjuanes L, Guo D. Genome-wide analysis of protein-protein interactions and involvement of viral proteins in SARS-CoV replication. *PLoS One* 2008; 3: e3299 [PMID: 18827877 DOI: 10.1371/journal.pone.0003299]
  - 47 Matthes N, Mesters JR, Coutard B, Canard B, Snijder EJ, Moll R, Hilgenfeld R. The non-structural protein Nsp10 of mouse hepatitis virus binds zinc ions and nucleic acids. *FEBS Lett* 2006; 580: 4143-4149 [PMID: 16828088 DOI: 10.1016/j.febslet.2006.06.061]
  - 48 Donaldson EF, Sims AC, Graham RL, Denison MR, Baric RS. Murine hepatitis virus replicase protein nsp10 is a critical regulator of viral RNA synthesis. *J Virol* 2007; 81: 6356-6368 [PMID: 17392363 DOI: 10.1128/JVI.02805-06]
  - 49 Nogales A, Márquez-Jurado S, Galán C, Enjuanes L, Almazán F. Transmissible gastroenteritis coronavirus RNA-dependent RNA polymerase and nonstructural proteins 2, 3, and 8 are incorporated into viral particles. *J Virol* 2012; 86: 1261-1266 [PMID: 22090122 DOI: 10.1128/JVI.06428-11]
  - 50 te Velthuis AJ, Arnold JJ, Cameron CE, van den Worm SH, Snijder EJ. The RNA polymerase activity of SARS-coronavirus nsp12 is primer dependent. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: 203-214 [PMID: 19875418 DOI: 10.1093/nar/gkp904]
  - 51 Hong Z, Cameron CE, Walker MP, Castro C, Yao N, Lau JY, Zhong W. A novel mechanism to ensure terminal initiation by hepatitis C virus NS5B polymerase. *Virology* 2001; 285: 6-11 [PMID: 11414800 DOI: 10.1006/viro.2001.0948]
  - 52 te Velthuis AJ, van den Worm SH, Sims AC, Baric RS, Snijder EJ, van Hemert MJ. Zn(2+) inhibits coronavirus and arterivirus RNA polymerase activity in vitro and zinc ionophores block the replication of these viruses in cell culture. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1001176 [PMID: 21079686 DOI: 10.1371/journal.ppat.1001176]
  - 53 Lee NR, Kwon HM, Park K, Oh S, Jeong YJ, Kim DE. Cooperative translocation enhances the unwinding of duplex DNA by SARS coronavirus helicase nsP13. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: 7626-7636 [PMID: 20671029 DOI: 10.1093/nar/gkq647]
  - 54 Seybert A, Posthuma CC, van Dinten LC, Snijder EJ, Gorbalenya AE, Ziebuhr J. A complex zinc finger controls the enzymatic activities of nidovirus helicases. *J Virol* 2005; 79: 696-704 [PMID: 15613297 DOI: 10.1128/JVI.79.2.696-704.2005]
  - 55 Ivanov KA, Thiel V, Dobbe JC, van der Meer Y, Snijder EJ, Ziebuhr J. Multiple enzymatic activities

- associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus helicase. *J Virol* 2004; 78: 5619-5632 [PMID: 15140959 DOI: 10.1128/JVI.78.11.5619-5632.2004]
- 56 Ivanov KA, Ziebuhr J. Human coronavirus 229E nonstructural protein 13: characterization of duplex-unwinding, nucleoside triphosphatase, and RNA 5'-triphosphatase activities. *J Virol* 2004; 78: 7833-7838 [PMID: 15220459 DOI: 10.1128/JVI.78.14.7833-7838.2004]
  - 57 Minskaia E, Hertzog T, Gorbalenya AE, Campanacci V, Cambillau C, Canard B, Ziebuhr J. Discovery of an RNA virus 3'-& gt; 5' exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 5108-5113 [PMID: 16549795 DOI: 10.1073/pnas.0508200103]
  - 58 Chen Y, Cai H, Pan J, Xiang N, Tien P, Ahola T, Guo D. Functional screen reveals SARS coronavirus nonstructural protein nsp14 as a novel cap N7 methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 3484-3489 [PMID: 19208801 DOI: 10.1073/pnas.0808790106]
  - 59 Eckerle LD, Becker MM, Halpin RA, Li K, Venter E, Lu X, Scherbakova S, Graham RL, Baric RS, Stockwell TB, Spiro DJ, Denison MR. Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000896 [PMID: 20463816 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000896]
  - 60 Eckerle LD, Lu X, Sperry SM, Choi L, Denison MR. High fidelity of murine hepatitis virus replication is decreased in nsp14 exoribonuclease mutants. *J Virol* 2007; 81: 12135-12144 [PMID: 17804504 DOI: 10.1128/JVI.01296-07]
  - 61 Denison MR, Graham RL, Donaldson EF, Eckerle LD, Baric RS. Coronaviruses: an RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity. *RNA Biol* 2011; 8: 270-279 [PMID: 21593585 DOI: 10.4161/rna.8.2.15013]
  - 62 Ivanov KA, Hertzog T, Rozanov M, Bayer S, Thiel V, Gorbalenya AE, Ziebuhr J. Major genetic marker of nidoviruses encodes a replicative endoribonuclease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 12694-12699 [PMID: 15304651 DOI: 10.1073/pnas.0403127101]
  - 63 Joseph JS, Saikatendu KS, Subramanian V, Neuman BW, Buchmeier MJ, Stevens RC, Kuhn P. Crystal structure of a monomeric form of severe acute respiratory syndrome coronavirus endonuclease nsp15 suggests a role for hexamerization as an allosteric switch. *J Virol* 2007; 81: 6700-6708 [PMID: 17409150 DOI: 10.1128/JVI.02817-06]
  - 64 Bhardwaj K, Sun J, Holzenburg A, Guarino LA, Kao CC. RNA recognition and cleavage by the SARS coronavirus endoribonuclease. *J Mol Biol* 2006; 361: 243-256 [PMID: 16828802 DOI: 10.1016/j.jmb.2006.06.021]
  - 65 Bhardwaj K, Guarino L, Kao CC. The severe acute respiratory syndrome coronavirus Nsp15 protein is an endoribonuclease that prefers manganese as a cofactor. *J Virol* 2004; 78: 12218-12224 [PMID: 15507608 DOI: 10.1128/JVI.78.22.12218-12224.2004]
  - 66 Lei Y, Moore CB, Liesman RM, O'Connor BP, Bergstralh DT, Chen ZJ, Pickles RJ, Ting JP. MAVS-mediated apoptosis and its inhibition by viral proteins. *PLoS One* 2009; 4: e5466 [PMID: 19404494 DOI: 10.1371/journal.pone.0005466]
  - 67 Shi X, Wang L, Li X, Zhang G, Guo J, Zhao D, Chai S, Deng R. Endoribonuclease activities of porcine reproductive and respiratory syndrome virus nsp11 was essential for nsp11 to inhibit IFN- $\beta$  induction. *Mol Immunol* 2011; 48: 1568-1572 [PMID: 21481939 DOI: 10.1016/j.molimm.2011.03.004]
  - 68 Decroly E, Debarnot C, Ferron F, Bouvet M, Coutard B, Imbert I, Gluais L, Papageorgiou N, Sharff A, Bricogne G, Ortiz-Lombardia M, Lescar J, Canard B. Crystal structure and functional analysis of the SARS-coronavirus RNA cap 2'-O-methyltransferase nsp10/nsp16 complex. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002059 [PMID: 21637813 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002059]
  - 69 Chen Y, Su C, Ke M, Jin X, Xu L, Zhang Z, Wu A, Sun Y, Yang Z, Tien P, Ahola T, Liang Y, Liu X, Guo D. Biochemical and structural insights into the mechanisms of SARS coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002294 [PMID: 22022266 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002294]
  - 70 Beniac DR, Andonov A, Grudeski E, Booth TF. Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13: 751-752 [PMID: 16845391 DOI: 10.1038/nsmb1123]
  - 71 Supekar VM, Bruckmann C, Ingallinella P, Bianchi E, Pessi A, Carfi A. Structure of a proteolytically resistant core from the severe acute respiratory syndrome coronavirus S2 fusion protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 17958-17963 [PMID: 15604146 DOI: 10.1073/pnas.0406128102]
  - 72 Liu S, Xiao G, Chen Y, He Y, Niu J, Escalante CR, Xiong H, Farmer J, Debnath AK, Tien P, Jiang S. Interaction between heptad repeat 1 and 2 regions in spike protein of SARS-associated coronavirus: implications for virus fusogenic mechanism and identification of fusion inhibitors. *Lancet* 2004; 363: 938-947 [PMID: 15043961 DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15788-7]
  - 73 Struck AW, Axmann M, Pfefferle S, Drosten C, Meyer B. A hexapeptide of the receptor-binding domain of SARS corona virus spike protein blocks viral entry into host cells via the human receptor ACE2. *Antiviral Res* 2012; 94: 288-296 [PMID: 22265858 DOI: 10.1016/j.antiviral.2011.12.012]
  - 74 Reguera J, Ordoño D, Santiago C, Enjuanes L, Casasnovas JM. Antigenic modules in the N-terminal S1 region of the transmissible gastroenteritis virus spike protein. *J Gen Virol* 2011; 92: 1117-1126 [PMID: 21228126 DOI: 10.1099/vir.0.027607-0]
  - 75 Lee DK, Cha SY, Lee C. The N-terminal Region of the Porcine Epidemic Diarrhea Virus Spike Protein is Important for the Receptor Binding. *Korean J Microbiol Biotechnol* 2011; 39: 140-145
  - 76 Cruz DJ, Kim CJ, Shin HJ. The GPRLQPY motif located at the carboxy-terminal of the spike protein induces antibodies that neutralize Porcine epidemic diarrhea virus. *Virus Res* 2008; 132: 192-196 [PMID: 18067984 DOI: 10.1016/j.virusres.2007.10.015]
  - 77 Wang K, Lu W, Chen J, Xie S, Shi H, Hsu H, Yu W, Xu K, Bian C, Fischer WB, Schwarz W, Feng L, Sun B. PEDV ORF3 encodes an ion channel protein and regulates virus production. *FEBS Lett* 2012; 586: 384-391 [PMID: 22245155 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.01.005]
  - 78 Chen J, Wang C, Shi H, Qiu H, Liu S, Chen X, Zhang Z, Feng L. Molecular epidemiology of porcine epidemic diarrhea virus in China. *Arch Virol* 2010; 155: 1471-1476 [PMID: 20544234 DOI: 10.1007/s00705-010-0720-2]



- 79 Escors D, Camafeita E, Ortego J, Laude H, Enjuanes L. Organization of two transmissible gastroenteritis coronavirus membrane protein topologies within the virion and core. *J Virol* 2001; 75: 12228-12240 [PMID: 11711614 DOI: 10.1128/JVI.75.24.12228-12240.2001]
- 80 Arndt AL, Larson BJ, Hogue BG. A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly. *J Virol* 2010; 84: 11418-11428 [PMID: 20719948 DOI: 10.1128/JVI.01131-10]
- 81 Pervushin K, Tan E, Parthasarathy K, Lin X, Jiang FL, Yu D, Vararattanavech A, Soong TW, Liu DX, Torres J. Structure and inhibition of the SARS coronavirus envelope protein ion channel. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000511 [PMID: 19593379 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000511]
- 82 Nieto-Torres JL, Dediego ML, Alvarez E, Jiménez-Guardado JM, Regla-Nava JA, Llorente M, Kremer L, Shuo S, Enjuanes L. Subcellular location and topology of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein. *Virology* 2011; 415: 69-82 [PMID: 21524776 DOI: 10.1016/j.virol.2011.03.029]
- 83 Ruch TR, Machamer CE. The hydrophobic domain of infectious bronchitis virus E protein alters the host secretory pathway and is important for release of infectious virus. *J Virol* 2011; 85: 675-685 [PMID: 21047962 DOI: 10.1128/JVI.01570-10]
- 84 Ortego J, Ceriani JE, Patiño C, Plana J, Enjuanes L. Absence of E protein arrests transmissible gastroenteritis coronavirus maturation in the secretory pathway. *Virology* 2007; 368: 296-308 [PMID: 17692883 DOI: 10.1016/j.virol.2007.05.032]
- 85 Huang Q, Yu L, Petros AM, Gunasekera A, Liu Z, Xu N, Hajduk P, Mack J, Fesik SW, Olejniczak ET. Structure of the N-terminal RNA-binding domain of the SARS CoV nucleocapsid protein. *Biochemistry* 2004; 43: 6059-6063 [PMID: 15147189 DOI: 10.1021/bi036155b]
- 86 Fan H, Ooi A, Tan YW, Wang S, Fang S, Liu DX, Lescar J. The nucleocapsid protein of coronavirus infectious bronchitis virus: crystal structure of its N-terminal domain and multimerization properties. *Structure* 2005; 13: 1859-1868 [PMID: 16338414 DOI: 10.1016/j.str.2005.08.021]
- 87 Ma Y, Tong X, Xu X, Li X, Lou Z, Rao Z. Structures of the N- and C-terminal domains of MHV-A59 nucleocapsid protein corroborate a conserved RNA-protein binding mechanism in coronavirus. *Protein Cell* 2010; 1: 688-697 [PMID: 21203940 DOI: 10.1007/s13238-010-0079-x]
- 88 Grossoehme NE, Li L, Keane SC, Liu P, Dann CE, Leibowitz JL, Giedroc DP. Coronavirus N protein N-terminal domain (NTD) specifically binds the transcriptional regulatory sequence (TRS) and melts TRS-cTRS RNA duplexes. *J Mol Biol* 2009; 394: 544-557 [PMID: 19782089 DOI: 10.1016/j.jmb.2009.09.040]
- 89 Hurst KR, Ye R, Goebel SJ, Jayaraman P, Masters PS. An interaction between the nucleocapsid protein and a component of the replicase-transcriptase complex is crucial for the infectivity of coronavirus genomic RNA. *J Virol* 2010; 84: 10276-10288 [PMID: 20660183 DOI: 10.1128/JVI.01287-10]
- 90 Verheije MH, Hagemeijer MC, Ulasli M, Reggiori F, Rottier PJ, Masters PS, de Haan CA. The coronavirus nucleocapsid protein is dynamically associated with the replication-transcription complexes. *J Virol* 2010; 84: 11575-11579 [PMID: 20739524 DOI: 10.1128/JVI.00569-10]
- 91 Zúñiga S, Cruz JL, Sola I, Mateos-Gómez PA, Palacio L, Enjuanes L. Coronavirus nucleocapsid protein facilitates template switching and is required for efficient transcription. *J Virol* 2010; 84: 2169-2175 [PMID: 19955314 DOI: 10.1128/JVI.02011-09]
- 92 Zúñiga S, Sola I, Moreno JL, Sabella P, Plana-Durán J, Enjuanes L. Coronavirus nucleocapsid protein is an RNA chaperone. *Virology* 2007; 357: 215-227 [PMID: 16979208 DOI: 10.1016/j.virol.2006.07.046]
- 93 Yang Z, Wu N, Fu Y, Yang G, Wang W, Zu Y, Efferth T. Anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of 1,8-cineole: effect on nucleocapsid (N) protein. *J Biomol Struct Dyn* 2010; 28: 323-330 [PMID: 20919748 DOI: 10.1080/07391102.2010.10507362]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

# 猪流行性腹泻病毒的基因结构及其诊断技术

范京惠, 左玉柱, 任晓峰

## ■背景资料

猪流行性腹泻目前前在亚洲地区尤其是韩国、日本和中国的流行较为严重, 给养猪业带来严重的经济损失。由于PED临床诊断困难, 建立实验室诊断技术, 对该病的确诊具有重要意义。

范京惠, 左玉柱, 河北农业大学动物医学院 河北省保定市 071001

任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030

范京惠, 副教授, 主要从事兽医微生物学教学、科研及社会服务工作。

国家自然科学基金资助项目, No. 31272593

河北省高等学校科学研究计划, No. 2011180

作者贡献分布: 本文综述由范京惠完成; 左玉柱与任晓峰审核。

通讯作者: 左玉柱, 副教授, 071001, 河北省保定市灵雨寺街289号, 河北农业大学动物医学院。zuoyuzhu@163.com

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Progress in research of genetic characteristics of porcine epidemic diarrhea virus and diagnostic methods for porcine epidemic diarrhea

Jing-Hui Fan, Yu-Zhu Zuo, Xiao-Feng Ren

Jing-Hui Fan, Yu-Zhu Zuo, College of Veterinary Medicine, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei Province, China

Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 31272593; Scientific Research of the Higher Institutions of Hebei Province, No. 2011180

Correspondence to: Yu-Zhu Zuo, Associate Professor, College of Veterinary Medicine, Agricultural University of Hebei, 289 Lingyusi Street, Baoding 071001, Hebei Province, 2011180, China. zuoyuzhu@163.com

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Porcine epidemic diarrhea (PED), caused by PED virus (PEDV), is a devastating contagious viral swine disease that is characterized by acute enteritis and lethal watery diarrhea. In Asia (such as Korea, Japan, and China), PEDV causes a very high mortality in suckling piglets. Some affected farms lost 100% of newborn piglets. PED can hardly be distinguished from transmissible gastroenteritis clinically and histopathologically. Identification of the causal agent is a basic prerequisite both for introduction of immunoprophylactic measures and for evaluation of prevention measures. Therefore, rapid

differential diagnosis of PED and TGE is important. The purpose of the current review is to describe the molecular and genetic characteristics of PEDV, and discuss the diagnosis methods for PED.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Porcine epidemic diarrhea; Genetic structure; Diagnostic methods

Fan JH, Zuo YZ, Ren XF. Progress in research of genetic characteristics of porcine epidemic diarrhea virus and diagnostic methods for porcine epidemic diarrhea. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 54-59

## 摘要

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(PED virus, PEDV)引起的猪的一种高度接触性肠道传染病, 以呕吐、水样腹泻和脱水为特征, 在亚洲地区尤其是我国养猪场的感染非常严重。猪流行性腹泻的流行病学特征、临床症状以及病理变化与猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis of swine, TGE)非常相似, 确诊需要借助实验室检测。近年来, 随着分子生物学技术的发展和人们对PEDV基因结构及功能认识的深入, PED的诊断技术也取得了很大进展。本文主要对PEDV的基因结构、功能以及诊断技术方面取得的新进展进行综述, 以期为PEDV基因的深入研究以及建立特异、快速、简便的诊断方法提供新的思路。

© 2013版权归Baishideng所有。

**关键词:** 猪流行性腹泻病毒; 基因结构; 诊断方法

范京惠, 左玉柱, 任晓峰. 猪流行性腹泻病毒的基因结构及其诊断技术. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 54-59

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/54.asp>

## 0 引言

猪流行性腹泻(porcine epidemic diarrhea, PED)是由猪流行性腹泻病毒(PED virus, PEDV)引起的以腹泻、呕吐、脱水和对哺乳仔猪高致死率

## ■同行评议者

任浩, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

为主要特征的一种高度接触性肠道传染病。本病多发于冬春季节, 不同年龄和不同品系的猪对其均易感, 但以哺乳仔猪发病和死亡最为严重。PED于1971年首次爆发于英格兰的架子猪和育肥猪群<sup>[1]</sup>。1978年由Debouck等<sup>[2]</sup>从患病猪的病料中分离出该病的病原, 命名为CV777株, 并证实其对哺乳仔猪和育肥猪均有致病性。而后, 匈牙利、西德、加拿大、韩国、日本等国相继报道有本病的发生<sup>[3,4]</sup>, 至今在北美和南美还未能证明PEDV的存在。近年来, 该病主要流行于亚洲国家如韩国、中国和日本等国。欧洲各国虽然仍有PED的发生, 但在哺乳仔猪的流行日渐减少, 主要集中在架子猪、育肥猪和青年种猪, 死亡率很低。而在亚洲, 则发生了可感染所有日龄且哺乳仔猪高死亡率的PED, 危害较为严重<sup>[3,4]</sup>。1994年对韩国7个省屠宰场的469份血清进行血清学检测发现, PEDV的抗体平均阳性率为45%, 表明PEDV在韩国一些地区呈地方性流行<sup>[5]</sup>。1993-09/1994-06, 在日本流行的PED, 导致的哺乳仔猪死亡率为30%-80%<sup>[6,7]</sup>。2007-2008年泰国发生的PED, 则导致近100%的感染仔猪死亡。我国于1980年首次分离到PEDV, 其后许多地区均报道有该病的发生。杨群等<sup>[8]</sup>对来自10省市的158份临床猪粪样的检测结果表明, 我国很多猪场普遍存在PEDV, 其感染率达53.2%<sup>[8]</sup>。于晓龙<sup>[9]</sup>对113份疑似PEDV的病料进行检测, 结果38份样本表现为PEDV阳性, 阳性率为33.6%。Li等<sup>[10]</sup>对华南6个省48个猪场的127份样本检测, PEDV的阳性率为43.0%。而2011年在河北省流行的仔猪腹泻中, PEDV的阳性率为62.2%, 部分猪场感染PEDV的哺乳仔猪死亡率高达100%<sup>[11]</sup>。近年来, 该病的流行区域有逐渐扩大的趋势, 而且在PEDV疫苗免疫的猪群亦不断发生<sup>[11,12]</sup>, 给养猪业造成了严重的经济损失。对PED进行确诊以及监测是防控该病的重要环节, 由于PED与猪传染性胃肠炎(transmissible gastroenteritis of swine, TGE)在流行病学、临床症状、病理变化以及病毒形态等方面非常相似, 临床鉴别诊断困难, 故确诊需要结合试验室诊断方法。本文就目前PEDV的分子生物学特点及实验室诊断方法方面进行综述。

## 1 PEDV基因组结构及功能

PEDV属于冠状病毒科、冠状病毒属, 病毒基因组为不分节段的单股正链RNA, 具有感染性, 整个基因组为28 033 nt<sup>[13]</sup>。5'端有一个帽子

结构(cap), 3'端有一个poly(A)尾。5'端的非翻译区长296 bp, 包含一个65-98 nt的前导序列、1个以AUG为起始密码子、并拥有Kozak序列(GUUCAUGC)。3'端非翻译区长334 nt, 含有由8个碱基(GGAAGAGC)组成的保守序列, 起始于poly(A)上游的73 nt处。其余的基因组包括至少7个开放阅读框(ORFs), 分别编码4种结构蛋白(纤突蛋白S、小膜蛋白E、膜糖蛋白M和核衣壳蛋白N)和3种非结构蛋白(复制酶多聚蛋白Pol(1a/1b)和ORF3蛋白), 在基因组上的排列顺序为: 5'-Pol(1a/1b)-S-ORF3-E-M-N-3', 每相邻两基因之间存在有间隔序列<sup>[13]</sup>。复制酶多聚蛋白基因占全基因组的2/3, 包括2个开放阅读框ORF1a和ORF1b, 二者之间有46 nt的重叠序列, 重叠处有滑动序列(UUUAAC)和假结结构, 能使核糖体进行移码阅读, 从而保证Pol基因的正确翻译。位于E基因与S基因之间的ORF3, 编码一个未知功能且具有多态性的产物, 不同的冠状病毒, 其大小和序列不同<sup>[14,15]</sup>。

**1.1 S基因及S蛋白功能特性** S蛋白由1 383个氨基酸组成, 是位于病毒粒子表面的纤突糖蛋白, 含有27-29个潜在的糖基化位点, 同其他冠状病毒相似, 从N端到C端分成3个结构域, 即大的外部结构域、转膜结构域和短的羧基末端细胞质结构域。由于缺乏蛋白水解位点, PEDV不能像其他冠状病毒一样被切割成S1和S2亚基, 但是根据其他冠状病毒S蛋白保守的基序, 也可以将PEDV S蛋白划分为S1(第1-789位氨基酸)和S2(第790-1 383位氨基酸)2个结构域<sup>[16]</sup>。S1区位于蛋白的表面, 能与宿主细胞上的受体结合, 介导抗体尤其是中和抗体的产生, 而位于病毒内部的S2区则介导病毒与宿主细胞的融合, 很少介导产生特异性抗体。S蛋白羧基末端细胞质结构域主要是由疏水氨基酸组成的疏水区, 对整个S蛋白起固定作用。外部结构域有介导机体产生中和抗体的抗原表位和与宿主细胞表面大分子结合的受体结合域, 在病毒粒子识别靶细胞、与细胞表面受体结合并介导病毒进入以及在宿主体内诱导产生中和抗体方面具有重要作用, 是研制PEDV有效疫苗的重要靶抗原<sup>[17]</sup>。Chang等<sup>[18]</sup>根据TGEV S基因的中和表位区序列信息, 初步鉴定了PEDV S基因一个抗原表位区(第499-638位氨基酸); Cruz等<sup>[19]</sup>利用噬菌体随机肽库, 鉴定了PEDV S蛋白的一个模拟表位(第1 368-1 374位氨基酸); Sun等<sup>[20]</sup>利用制备的6株PEDV S蛋白特异性单克隆抗体对构建的PEDV S1基因特异性

## ■研发前沿

国内外学者对于PED诊断的研究, 集中在以基因或蛋白为基础的分子生物学或血清学诊断方法的研究, RT-PCR、RT-LAMP、RFLP、ELISA和免疫层析法等相继出现, 但检测方法的特异性、敏感性和稳定性等方面则有待进一步研究。



## ■创新盘点

本文不仅阐述了PEDV各基因在诊断中的作用,还深入阐述了目前国内外正在研究的以基因或蛋白为基础的诊断方法。

肽库进行淘选,并结合肽扫描技术,最终鉴定2个中和表位(748-755位氨基酸和764-771位氨基酸),为表位疫苗的研制奠定了基础。研究发现,氨基肽酶(aminopeptidase N, APN)是冠状病毒的感染受体,属于I群冠状病毒的猪传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)、人冠状病毒229E、猫冠状病毒等均以各自宿主的氨基肽酶作为细胞感染受体<sup>[21,22]</sup>, PEDV S蛋白第249-529位氨基酸区域则是pAPN细胞受体的一个潜在的结合区域<sup>[23]</sup>。

依据S基因可确定PEDV不同分离株之间的遗传、进化关系等<sup>[24]</sup>。Park等<sup>[25]</sup>比较了45个韩国分离株的S基因上651 bp的基因片段,结果显示核苷酸相似性在88.7%-96.7%之间。另有研究表明,感染PEDV猪的血清中,抗S蛋白的抗体比抗N蛋白的抗体更为持久,可在更长的时间内检测到抗S蛋白的抗体<sup>[26,27]</sup>。而且PEDV的S蛋白与TGEV S蛋白的同源性非常低,二者在血清学上没有交叉反应,为以检测S蛋白抗体为基础的PEDV检测方法的建立提供了依据。

**1.2 ORF3基因及ORF3蛋白功能特性** ORF3基因编码尾部有6个His、具有223或224个氨基酸的非结构蛋白,其功能目前了解较少。已知ORF3至少存在3个可变区,每个可变区都有2-7个核苷酸的缺失。缺失试验证明,ORF3的产物对在体外细胞培养中的病毒复制来说是非必需的,相反,该蛋白的表达,会降低病毒体外培养的适应性。已有研究显示,ORF3与病毒毒力有关。Song等<sup>[15]</sup>通过对野生型和致弱毒株ORF3序列进行比较,发现经过致弱后的毒株均有17个氨基酸的缺失,该缺失可作为病毒适应细胞和弱化的一个重要标志<sup>[14]</sup>。因此,可通过检测ORF3基因的差异,对PEDV进行流行病学研究,同时该缺失也为强弱毒株鉴别诊断方法建立提供了依据。

**1.3 M基因及M蛋白功能特性** M基因全长681 bp,编码由226个氨基酸组成的结构蛋白,该基因高度保守。对M基因的序列比较分析表明, CV777和Br1/87核苷酸序列仅有1个核苷酸的差异。黑龙江地方分离株LJB/03的M基因序列与其他已公布发表的各地方分离株的同源性均在96%以上<sup>[28]</sup>。Chen等<sup>[12]</sup>2006年分离的6株PEDV之间的M基因核苷酸同源性为98.8%-100%,与参考毒株的同源性为97.2%-99.4%, Li等<sup>[10]</sup>对我国华南地区分离的毒株M基因核苷酸进行比较,同源性为96.1%-100%。Fan等<sup>[11]</sup>2011年从河北省分离的7株PEDV之间M基因同源性为99.4%-99.9%,且

与韩国和泰国毒株的关系较近。以上研究表明, M基因高度保守,这为以检测M基因为基础的PEDV检测方法建立奠定了基础。

M基因编码的M蛋白在病毒粒子的组装和出芽过程中具有重要作用,是一种跨膜糖蛋白。在补体存在的条件下,抗M蛋白的单克隆抗体能中和病毒的感染性。另外, M蛋白能介导机体产生 $\alpha$ 干扰素<sup>[29]</sup>,因此M蛋白可以作为PEDV基因工程疫苗的候选抗原。

**1.4 N基因及N蛋白功能特性** PEDV的N基因高度保守, CV777和Br1/87两个分离株N基因序列仅有2个碱基的差异, LJB/03株与其他毒株的同源性也均在95%以上。N蛋白为磷酸化的核衣壳蛋白,在病毒RNA合成过程中发挥重要作用,且N蛋白在PEDV的结构蛋白中所占比例最大,在感染的细胞中能大量表达。猪在感染PEDV的早期,体内就能产生抗N蛋白的高水平抗体<sup>[30]</sup>,所以利用N蛋白来建立PEDV诊断技术具有很好的应用前景。

## 2 PED诊断技术

由于PED的临床症状和病理变化与TGE极为相似,因此PED的确诊需要进行实验室诊断。病毒分离、免疫电镜观察、病毒的中和试验、免疫荧光技术等都已用于PEDV抗原或其抗体的检测,这些方法均能对PED做出准确的诊断,但这些技术操作复杂而且耗时<sup>[31]</sup>。随着分子生物学的发展,PCR和ELISA等技术已应用到PED诊断技术中。

**2.1 PCR技术** Ishikawa等<sup>[32]</sup>根据S基因序列设计了一对可扩增854 bp目的片段的引物,成功地建立了诊断PEDV的RT-PCR法。Kubota等<sup>[33]</sup>和Jung等<sup>[34]</sup>以M基因和N基因为靶基因建立了RT-PCR方法来检测PEDV,在粪便样品中能检测到PEDV的最低含量为100TCID<sub>50</sub>/mL。在韩国已建立了TGEV和PEDV的二联RT-PCR诊断方法,可同时检测出10TCID<sub>50</sub>/mL的TGEV和PEDV<sup>[31]</sup>。Kim等<sup>[35]</sup>还建立了鉴别TGEV和PEDV的多重巢式RT-PCR法,此方法适用于检测福尔马林固定的组织,以原位杂交法作对照,结果显示二者检出率完全一致。Song等<sup>[36]</sup>建立了鉴别诊断PEDV、TGEV和猪轮状病毒的多重反转录PCR(Multi-RT PCR),为鉴别3种病毒性腹泻病原的混合感染提供了技术支持,同时又建立了检测PEDV的实时荧光定量PCR,对仔猪体内PEDV的病毒载量进行了定量。Lee等<sup>[37]</sup>建立

的一步法多重RT-PCR技术,可快速区别检测PEDV. Ben Salem等<sup>[38]</sup>建立的多重巢式RT-PCR法,可检测100 TCID<sub>50</sub>/mL的TGEV、10 TCID<sub>50</sub>/mL的PRV和27.2 mg/mL的PEDV RNA,为猪肠炎病毒检测提供了一种快速、敏感的诊断方法. 以上RT-PCR方法的建立,为PEDV的实验室检测提供了有效的方法,但由于RT-PCR需要使用PCR仪,且需要专业人员进行操作,所以该方法不便于在猪场大面积推广应用.

**2.2 RT-LAMP技术** RT-LAMP是以RT为基础的环介导等温扩增技术,该方法可在等温的条件下进行自动循环的链置换核酸扩增反应. Ren等<sup>[39]</sup>建立的RT-LAMP方法既能从临床病料中检测PEDV,又能区分TGEV、PRV、PRRSV及猪的伪狂犬病毒,比RT-PCR技术及ELISA方法更为敏感.

**2.3 ELISA方法** 酶联免疫吸附试验(ELISA)法既可直接检测抗原,又可检测血清中的抗体,在许多疫病的诊断和检测中广泛应用. 由于PEDV的体外培养较为困难,近年来产生了以蛋白为基础的ELISA. Knuchel等<sup>[27]</sup>以制备的PEDV S蛋白和N蛋白为抗原,建立了检测PEDV抗体的ELISA,并发现S-ELISA更为有效,可在感染后更长时间检测出猪体内PEDV抗体. Oh等用建立的间接ELISA方法对48个猪场的1 024份样品进行检测,结果与中和试验(SN)的符合率为84.2%,且该ELISA方法具有比SN高的敏感性和特异性. Hou等<sup>[40]</sup>在大肠杆菌中表达的重组N蛋白建立的ELISA方法,特异性和敏感性分别为98.7%和98.0%,对884份临床样本进行检测,与SN的符合率为88.3%,为PEDV的抗体检测提供了手段. Rodák等<sup>[26]</sup>利用PEDV M蛋白的单克隆抗体建立了敏感性高、特异性高的竞争阻断ELISA诊断方法. Sozzi等<sup>[41]</sup>用以单克隆抗体为基础建立的双抗体夹心ELISA方法,对采自不同猪场具有肠炎症状的仔猪粪便样本506份进行检测,并与RT-PCR方法进行比较,结果二者具有很高的相关性,为PEDV的流行病学研究提供了一种有效的方法. Ren等<sup>[42]</sup>将在大肠杆菌中表达的M蛋白纯化后免疫健康家兔,制备抗M蛋白的多克隆抗体,免疫荧光检测分析,制备的抗体可从不同肠炎病毒感染的细胞中检测出PEDV,而且用该抗体建立的间接ELISA方法,不与TGEV、AIBV、PRRSV、CSFV及PRV等反应. 尽管以上研究已经建立了PEDV及其抗体的相关ELISA检测方法,但目前国内尚未有商品化的ELISA试剂盒可用,需要在ELISA检测方

法的特异性、敏感性和稳定性等方面进一步研究.

**2.4 免疫层析法** 胶体金免疫层析试验是将免疫胶体金技术与层析分析技术有机结合起来,建立的一种快速免疫学检测技术. 本法简便、快速,可在几分钟内观察结果,已成为目前最主要的快速免疫分析方法之一,在畜禽疾病诊断疫情监测方面亦具有巨大的发展潜力和应用前景. 张利勃等<sup>[43]</sup>将葡萄球菌蛋白A(staphylococcal protein A, SPA)进行胶体金标记后作为指示介质,将基因工程表达的PEDV M蛋白抗原和自制的抗SPA多抗血清包被硝酸纤维素膜,分别作为检测线和质控线,制成了一种检测PEDV血清抗体的快速诊断试纸. 与ELISA方法相比,二者具有相近的灵敏度. 对75份临床样本的检测结果显示,两种方法的符合率为96%,为PEDV的抗体检测提供了一种快速、简便的方法. 免疫胶体金检测试纸条由于在检测过程中不需要特殊的仪器设备,且操作简单,不需要专门的技术人员,因而该方法在猪场,特别是中小规模的猪场有较好的应用前景.

**2.5 RFLP方法** Song等<sup>[15]</sup>通过RFLP(限制性酶切片长度多态性分析)技术分析了PEDV的细胞致弱毒株DR13和地方分离毒株的ORF3,发现适应细胞的DR13毒株ORF3序列在HindIII和XhoII限制性酶切位点处发生了变化,该位点的差异,可用于区分PEDV细胞适应株和野毒株,亦可用于PEDV感染的流行病学研究. Lee等<sup>[37]</sup>通过以RT-PCR为基础的RFLP技术分析了13株韩国分离株和疫苗株J-vac及CV777的N蛋白基因,发现其中11个分离株与疫苗株在AspLE I、Hga I和MspR9 I限制性酶切位点有差异. 对N基因进行RFLP分析有望成为区分疫苗株和野毒株的一种有效方法.

### 3 结论

快速、精确的诊断是有效防控疫病的基础和必要条件,在PED的诊断方面近年来取得了很大的进展,已经有越来越多的技术应用于PED的诊断,其中ELISA和RT-PCR法是目前研究的重点,ELISA法有简便、快速、特异性强等优点,但对于抗原的纯度要求较高;PCR诊断技术灵敏度高、特异性强,但受仪器设备的制约,不适于临床推广. 因此,应对已有的各种方法进行深入研究,使他们更趋完善并方便于临床应用. 另一方面,随着PEDV基因组研究的深入,有关蛋白结

#### ■应用要点

PED的诊断方法有多种,对于不同规模的猪场,可采用符合本场条件的方法对本病进行诊断,有利于PED的防控.

# ■名词解释

限制性酶切片段长度多态性分析(RFLP): 一种区分具有抗原相关性病毒的有效手段, 将抗原性较近的病毒核酸用特定的限制性内切酶进行酶切, 然后对酶切的产物进行分析, 从而达到区分被检病毒核酸的目的。

构和功能不断揭示, 也将为PEDV诊断技术的发展提供强有力的手段。

## 4 参考文献

- Oldham J. Pig Farming. *Health Serv J* 1972; 121: 18 [PMID: 22049626]
- Debouck P, Pensaert M. Experimental infection of pigs with a new porcine enteric coronavirus, CV 777. *Am J Vet Res* 1980; 41: 219-223 [PMID: 6245603]
- Kweon CH, Kwon BJ, Jung TS, Kee YJ, Hur DH, Hwang EK, Rhee JC, An SH. Isolation of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in Korea. *Korean J Vet Res* 1993; 33: 249-254
- Takahashi K, Okada K, Ohshima K. An outbreak of swine diarrhea of a new-type associated with coronavirus-like particles in Japan. *Nihon Juigaku Zasshi* 1983; 45: 829-832 [PMID: 6323804 DOI: 10.1292/jvms1939.45.829]
- Kweon CH, Kwon BJ, Kang YB, An SH. Cell adaptation of KPEDV-9 and serological survey on porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) infection in Korea. *Korean J Vet Res* 1994; 34: 321-326
- Sueyoshi M, Tsuda T, Yamazaki K, Yoshida K, Nakazawa M, Sato K, Minami T, Iwashita K, Watanabe M, Suzuki Y. An immunohistochemical investigation of porcine epidemic diarrhoea. *J Comp Pathol* 1995; 113: 59-67 [PMID: 7490338 DOI: 10.1016/S0021-9975(05)80069-6]
- Puranaveja S, Poolperm P, Lertwatcharasarakul P, Kesdaengsakonwut S, Boonsoongnern A, Urairong K, Kitikoon P, Choojai P, Kedkovid R, Teankum K, Thanawongnuwech R. Chinese-like strain of porcine epidemic diarrhea virus, Thailand. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 1112-1115 [PMID: 19624933 DOI: 10.3201/eid1507.081256]
- 杨群, 何孔旺, 陆承平. 应用多重RT-PCR方法检测158例猪粪样中的两种冠状病毒. *中国预防兽医学报* 2006; 28: 431-435
- 于晓龙. 猪流行性腹泻病毒和猪传染性胃肠炎病毒混合感染的调查. *安徽农学通报* 2007; 13: 156-157
- Li ZL, Zhu L, Ma JY, Zhou QF, Song YH, Sun BL, Chen RA, Xie QM, Bee YZ. Molecular characterization and phylogenetic analysis of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) field strains in south China. *Virus Genes* 2012; 45: 181-185 [PMID: 22528639 DOI: 10.1007/s11262-012-0735-8]
- Fan JH, Zuo YZ, Li JH, Pei LH. Heterogeneity in membrane protein genes of porcine epidemic diarrhea viruses isolated in China. *Virus Genes* 2012; 45: 113-117 [PMID: 22585338 DOI: 10.1007/s11262-012-0755-4]
- Chen JF, Sun DB, Wang CB, Shi HY, Cui XC, Liu SW, Qiu HJ, Feng L. Molecular characterization and phylogenetic analysis of membrane protein genes of porcine epidemic diarrhea virus isolates in China. *Virus Genes* 2008; 36: 355-364 [PMID: 18214664 DOI: 10.1007/s11262-007-0196-7]
- Kocherhans R, Bridgen A, Ackermann M, Tobler K. Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence. *Virus Genes* 2001; 23: 137-144 [PMID: 11724265 DOI: 10.1023/A:1011831902219]
- Park SJ, Moon HJ, Luo Y, Kim HK, Kim EM, Yang JS, Song DS, Kang BK, Lee CS, Park BK. Cloning and further sequence analysis of the ORF3 gene of wild- and attenuated-type porcine epidemic diarrhea viruses. *Virus Genes* 2008; 36: 95-104 [PMID: 17932736 DOI: 10.1007/s11262-007-0164-2]

- Song DS, Yang JS, Oh JS, Han JH, Park BK. Differentiation of a Vero cell adapted porcine epidemic diarrhea virus from Korean field strains by restriction fragment length polymorphism analysis of ORF 3. *Vaccine* 2003; 21: 1833-1842 [PMID: 12706667 DOI: 10.1016/S0264-410X(03)00027-6]
- Sun DB, Feng L, Shi HY, Chen JF, Liu SW, Chen HY, Wang YF. Spike protein region (aa 636789) of porcine epidemic diarrhea virus is essential for induction of neutralizing antibodies. *Acta Virol* 2007; 51: 149-156 [PMID: 18076304]
- Duarte M, Laude H. Sequence of the spike protein of the porcine epidemic diarrhoea virus. *J Gen Virol* 1994; 75: 1195-1200 [PMID: 8176382 DOI: 10.1099/0022-1317-75-5-1195]
- Chang SH, Bae JL, Kang TJ, Kim J, Chung GH, Lim CW, Laude H, Yang MS, Jang YS. Identification of the epitope region capable of inducing neutralizing antibodies against the porcine epidemic diarrhea virus. *Mol Cells* 2002; 14: 295-299 [PMID: 12442904]
- Cruz DJ, Shin HJ. Application of a focus formation assay for detection and titration of porcine epidemic diarrhea virus. *J Virol Methods* 2007; 145: 56-61 [PMID: 17576016 DOI: 10.1016/j.jviromet.2007.05.012]
- Sun D, Feng L, Shi H, Chen J, Cui X, Chen H, Liu S, Tong Y, Wang Y, Tong G. Identification of two novel B cell epitopes on porcine epidemic diarrhea virus spike protein. *Vet Microbiol* 2008; 131: 73-81 [PMID: 18400422 DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.02.022]
- Delmas B, Gelfi J, L'Haridon R, Vogel LK, Sjöström H, Norén O, Laude H. Aminopeptidase N is a major receptor for the entero-pathogenic coronavirus TGEV. *Nature* 1992; 357: 417-420 [PMID: 1350661 DOI: 10.1038/357417a0]
- Li BX, Ge JW, Li YJ. Porcine aminopeptidase N is a functional receptor for the PEDV coronavirus. *Virology* 2007; 365: 166-172 [PMID: 17467767 DOI: 10.1016/j.virol.2007.03.031]
- 孙东波, 陈建飞, 时洪艳, 申识川, 吕茂杰, 范秀萍, 陈洪岩, 冯力. 猪流行性腹泻病毒S蛋白受体结合域的分析. *畜牧兽医学报* 2009; 40: 528-532
- Lee DK, Park CK, Kim SH, Lee C. Heterogeneity in spike protein genes of porcine epidemic diarrhea viruses isolated in Korea. *Virus Res* 2010; 149: 175-182 [PMID: 20132850 DOI: 10.1016/j.virusres.2010.01.015]
- Park SJ, Moon HJ, Yang JS, Lee CS, Song DS, Kang BK, Park BK. Sequence analysis of the partial spike glycoprotein gene of porcine epidemic diarrhea viruses isolated in Korea. *Virus Genes* 2007; 35: 321-332 [PMID: 17436070 DOI: 10.1007/s11262-007-0096-x]
- Rodák L, Valíček L, Smíd B, Nevoránková Z. An ELISA optimized for porcine epidemic diarrhoea virus detection in faeces. *Vet Microbiol* 2005; 105: 9-17 [PMID: 15607079 DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.09.020]
- Knuchel M, Ackermann M, Müller HK, Kihm U. An ELISA for detection of antibodies against porcine epidemic diarrhoea virus (PEDV) based on the specific solubility of the viral surface glycoprotein. *Vet Microbiol* 1992; 32: 117-134 [PMID: 1441196 DOI: 10.1016/0378-1135(92)90100-8]
- Jinghui F, Yijing L. Cloning and sequence analysis of the M gene of porcine epidemic diarrhea virus LJB/03. *Virus Genes* 2005; 30: 69-73 [PMID: 15744564 DOI: 10.1007/s11262-004-4583-z]
- Laude H, Gelfi J, Lavanant L, Charley B. Single amino acid changes in the viral glycoprotein M affect



- induction of alpha interferon by the coronavirus transmissible gastroenteritis virus. *J Virol* 1992; 66: 743-749 [PMID: 1309909]
- 30 Junwei G, Baoxian L, Lijie T, Yijing L. Cloning and sequence analysis of the N gene of porcine epidemic diarrhea virus LJB/03. *Virus Genes* 2006; 33: 215-219 [PMID: 16972037 DOI: 10.1007/s11262-005-0059-z]
  - 31 Kim SY, Song DS, Park BK. Differential detection of transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus by duplex RT-PCR. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 516-520 [PMID: 11724144 DOI: 10.1177/104063870101300611]
  - 32 Ishikawa K, Sekiguchi H, Ogino T, Suzuki S. Direct and rapid detection of porcine epidemic diarrhea virus by RT-PCR. *J Virol Methods* 1997; 69: 191-195 [PMID: 9504764 DOI: 10.1016/S0166-0934(97)00157-2]
  - 33 Kubota S, Sasaki O, Amimoto K, Okada N, Kitazima T, Yasuhara H. Detection of porcine epidemic diarrhea virus using polymerase chain reaction and comparison of the nucleocapsid protein genes among strains of the virus. *J Vet Med Sci* 1999; 61: 827-830 [PMID: 10458108 DOI: 10.1292/jvms.61.827]
  - 34 Jung K, Chae C. RT-PCR-based dot blot hybridization for the detection and differentiation between porcine epidemic diarrhea virus and transmissible gastroenteritis virus in fecal samples using a non-radioactive digoxigenin cDNA probe. *J Virol Methods* 2005; 123: 141-146 [PMID: 15620395]
  - 35 Kim O, Chae C. Comparison of reverse transcription polymerase chain reaction, immunohistochemistry, and in situ hybridization for the detection of porcine epidemic diarrhea virus in pigs. *Can J Vet Res* 2002; 66: 112-116 [PMID: 11989732]
  - 36 Song DS, Kang BK, Oh JS, Ha GW, Yang JS, Moon HJ, Jang YS, Park BK. Multiplex reverse transcription-PCR for rapid differential detection of porcine epidemic diarrhea virus, transmissible gastroenteritis virus, and porcine group A rotavirus. *J Vet Diagn Invest* 2006; 18: 278-281 [PMID: 16789718 DOI: 10.1177/104063870601800309]
  - 37 Lee C, Park CK, Lyoo YS, Lee du S. Genetic differentiation of the nucleocapsid protein of Korean isolates of porcine epidemic diarrhoea virus by RT-PCR based restriction fragment length polymorphism analysis. *Vet J* 2008; 178: 138-140 [PMID: 17728163 DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.07.007]
  - 38 Ben Salem AN, Chupin Sergei A, Bjadovskaya Olga P, Andreeva Olga G, Mahjoub A, Prokhvatilova Larissa B. Multiplex nested RT-PCR for the detection of porcine enteric viruses. *J Virol Methods* 2010; 165: 283-293 [PMID: 20170679 DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.02.010]
  - 39 Ren X, Li P. Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of porcine epidemic diarrhea virus. *Virus Genes* 2011; 42: 229-235 [PMID: 21286798 DOI: 10.1007/s11262-011-0570-3]
  - 40 Hou XL, Yu LY, Liu J. Development and evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant nucleocapsid protein for detection of porcine epidemic diarrhea (PEDV) antibodies. *Vet Microbiol* 2007; 123: 86-92 [PMID: 17368968 DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.02.014]
  - 41 Sozzi E, Luppi A, Lelli D, Martin AM, Canelli E, Brocchi E, Lavazza A, Cordioli P. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and RT-PCR for the detection of porcine epidemic diarrhoea virus. *Res Vet Sci* 2010; 88: 166-168 [PMID: 19501378 DOI: 10.1016/j.rvsc.2009.05.009]
  - 42 Ren X, Suo S, Jang YS. Development of a porcine epidemic diarrhea virus M protein-based ELISA for virus detection. *Biotechnol Lett* 2011; 33: 215-220 [PMID: 20882317 DOI: 10.1007/s10529-010-0420-8]
  - 43 张利勃, 周铁忠, 王坤, 高慎阳. 猪流行性腹泻病毒胶体金抗体检测技术的建立及其应用. *中国农学通报* 2011; 27: 374-377

## ■同行评价

本文对PEDV的基因结构和功能以及各基因在PED诊断中的作用进行了总结和分析, 对PCR和ELISA等方法在PED诊断中的应用进行了阐述, 有助于新型诊断方法的建立和PED的快速诊断, 应用性较强。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 轮状病毒感染机制及防治的研究进展

赵高伟, 任晓峰

## ■背景资料

轮状病毒是导致婴幼儿及幼龄动物腹泻重要的人兽共患病原体之一, 危害极为严重。现如今对其的致病机制研究还不够深入, 还未有针对该病原体的特效治疗药物问世, WHO也将轮状病毒疫苗作为优先开发的疫苗项目之一。开发安全、有效的药物以及轮状病毒疫苗迫在眉睫。

赵高伟, 任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医学系 黑龙江省哈尔滨市 150030

赵高伟, 硕士, 主要从事预防兽医学方向的研究。

教育部新世纪优秀人才基金资助项目, No. NCET-10-0144

教育部科技研究重点基金资助项目, No. 212038

教育部高等学校博士学科点专项科研基金(博导类)资助项目, No. 20122325110019

哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目(优秀学科带头人), No. RC2012XK002003

作者贡献分布: 此课题的设计及研究指导由任晓峰完成; 论文撰写由赵高伟完成; 审核和修改由任晓峰完成。

通讯作者: 任晓峰, 博士, 教授, 博士生导师, 黑龙江省“龙江学者”奖励计划特聘教授, 150030, 黑龙江省哈尔滨市香坊区木材街59号, 东北农业大学动物医学学院预防兽医学系。  
rxfemail@yahoo.com.cn; renxf@neau.edu.cn

电话: 0451-55190385

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-20

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Rotavirus infections: mechanisms, prevention and treatment

Gao-Wei Zhao, Xiao-Feng Ren

Gao-Wei Zhao, Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Supported by: Program for New Century Excellent Talents in University of Ministry of Education of P.R. China, No. NCET-10-0144; the Key Project of Ministry of Education of P.R. China, No. 212038; Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (Ph.D. Student Supervisor Type) of Ministry of Education of P.R. China, No. 20122325110019; Innovation Talent Project (Excellent discipline leader) of the Harbin Science and Technology Bureau, No. RC2012XK002003.

Correspondence to: Xiao-Feng Ren, Professor, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, 59 Mucai Street, Xiangfang District, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China. rxfemail@yahoo.com.cn; renxf@neau.edu.cn

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-20

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Rotavirus is an important gastrointestinal pathogen which can cause severe diarrhea in young animals and infants. Although rotavirus infections are usually latent, large-scale outbreak may occur if environmental factors change or the immune defense of hosts decreases. As rotavirus is a pathogen of zoonotic diseases, studies

on rotavirus infections are of great importance in public health and clinical application. This article provides an overview of the progress in research on viral pathogen, clinical manifestations, as well as drug and vaccine research, with an aim to provide a reference for the prevention and treatment of rotavirus infections.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rotavirus; Pathogen characteristics; Infection mechanisms; Drugs; Vaccination

Zhao GW, Ren XF. Rotavirus infections: mechanisms, prevention and treatment. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(1): 60-65

## 摘要

轮状病毒是引起多种幼龄动物以及婴幼儿腹泻的重要病原体。轮状病毒感染常为隐性, 但环境因素改变或机体免疫力下降则可引起该病的爆发与流行。此外, 轮状病毒也是一种引起人畜共患病的病原体, 对其进行深入研究具有重要的公共卫生学意义。轮状病毒感染机制和防治研究有重要实践价值。本文综述了轮状病毒病原学、临床表现以及药物和疫苗方面的研究进展, 为轮状病毒病防治提供参考。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 轮状病毒; 病原特性; 感染机制; 药物; 疫苗预防

赵高伟, 任晓峰. 轮状病毒感染机制及防治的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 60-65

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/60.asp>

## 0 引言

1969年, Mebus最早从犊牛中发现轮状病毒, 之后澳大利亚科学家(Bishop)在患有严重腹泻婴儿的胃肠道内也发现了同类病毒<sup>[1]</sup>。Thomas Henry Flewett使用电子显微镜观察该类病毒后, 根据其形态特征建议将其命名为轮状病毒<sup>[2]</sup>。轮状病毒是引起幼儿及各种幼龄动物非细菌型腹

## ■同行评议者

王建国, 副教授, 南京医科大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系

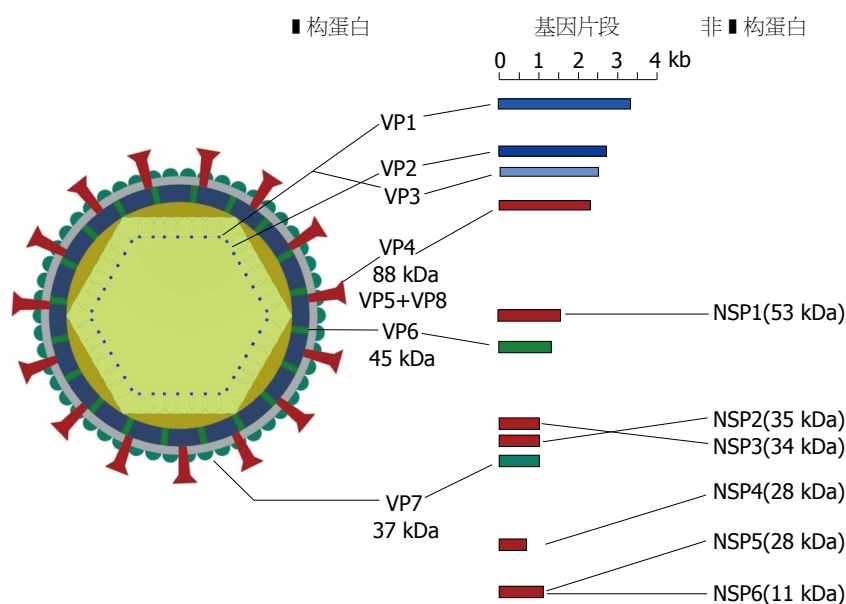


图1 轮状病毒的结构模式图(基因组片段的大小参考人轮状病毒MC345株)

## ■ 研发前沿

微生物制剂作为新型预防轮状病毒感染的药物具有一定的意义。疫苗的预防仍是关键,失去病毒基因组的病毒样粒子(VLP)已经被证明具有良好的免疫原性,作为新型的疫苗有其独特的优势。

泻的主要病原体<sup>[3,4]</sup>。该病毒还可以通过人与人之间的接触传播,感染者的粪便或呕吐物中的病毒颗粒如 $>10^{12}$ 个/g,也会是轮状病毒的主要传染源<sup>[5]</sup>。据调查,在撒哈拉以南的非洲和亚洲地区,超过三分之一的婴幼儿腹泻及胃肠炎疾病是由轮状病毒引起的,每年导致50万到60万婴幼儿死亡<sup>[6,7]</sup>。欧洲和美国预防和治疗该类疾病的直接和间接的医疗费用高达数10亿美元<sup>[8]</sup>。轮状病毒在不同地区感染的普遍性表明,提高的生活卫生水平并不能降低轮状病毒的感染率和发病率<sup>[9]</sup>。另外,尽管有一些药物可缓解轮状病毒感染引起的临床症状,但目前还没有治疗轮状病毒感染的特效药物<sup>[10]</sup>。轮状病毒的血清型与疾病的严重性通常无直接相关性,各种轮状病毒的交叉免疫保护免疫机制还不明确<sup>[11]</sup>。因此加强对轮状病毒感染机制的研究,开发安全有效的疫苗对预防轮状病毒感染显得非常重要。

## 1 轮状病毒的病原学特征和血清型

轮状病毒无囊膜,呈二十面体,直径约为70 nm。电子显微镜观察,轮状病毒是带有短纤突且外缘光滑近似轮状的粒子。该病毒粒子由3层蛋白衣壳组成:外层衣壳(VP7和VP4)、中间层衣壳(VP6)和内层衣壳(VP2)(图1)。通常只有包裹3层衣壳蛋白的粒子才具有传染性<sup>[12]</sup>。病毒基因组被内层衣壳、RNA依赖性RNA聚合酶(VP1)及修饰酶(VP3)包裹,并由11个不连续的dsRNA组成,编码6个结构蛋白(VP1-VP4/VP6/VP7)和6个非结构蛋白(NSP1-NSP6),除第11个节段含有两个开放阅读框并编码NSP5和NSP6外,其他每节段分别编码一种蛋白<sup>[13]</sup>。

在宿主体内,不同株轮状病毒的共感染可能会造成11个基因节段发生重配,产生新型的轮状病毒。

轮状病毒编码的位于中间衣壳的VP6蛋白具有高度保守性,常称之为群抗原或诊断抗原,根据其抗原性的不同可以将轮状病毒分为A-G 7个种群,感染人的轮状病毒大多属于A群,进一步可以将轮状病毒分为2个亚群为23个G(G1-G23)血清型(取决于VP7中和抗原)和31个P(P[1]-P[13])血清型(取决于VP4血凝素抗原)<sup>[14]</sup>。G-P组合血清型由病毒的VP7和VP4共同决定,目前,G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]和G9P[8] 5种血清型的轮状病毒是危害人类健康最为重要的毒株<sup>[15]</sup>,其中G1P[8]和G3P[8]型在我国最为常见。

## 2 轮状病毒感染机制与临床表现

轮状病毒感染性疾病多发于秋冬季节,引起婴幼儿及幼龄动物严重的胃肠炎、腹泻、脱水、电解质紊乱、休克甚至死亡。病理剖检常见肠绒毛变短,胃内有未消化的乳汁等。有报道指出轮状病毒感染小肠上皮细胞后,能够通过胃肠屏障进入血液,进而对其他内脏造成损伤<sup>[16,17]</sup>。轮状病毒的融合素蛋白VP4在肠道胰液的作用下裂解为带氨基末端的VP8和带羧基末端的VP5,这两个片段在病毒入侵宿主细胞的初期起着重要的作用。轮状病毒感染肠道上皮细胞后,所编码的非结构蛋白NSP4糖基化使宿主细胞膜对钙离子的通透性增加,胞内钙离子水平升高,氯离子的分泌增加<sup>[18]</sup>。加之NSP3能够阻止宿主细胞蛋白质的合成,加重肠道内水电解质的失衡,导致分泌性腹泻的发生<sup>[19]</sup>。近来研究结果表明轮状病毒感染的



## ■相关报道

张振等证明了微生态制剂鼠李糖乳杆菌以及嗜酸乳杆菌对感染轮状病毒的乳鼠空肠黏膜上皮细胞有一定的保护作用。Crawford等证明非复制型载体病毒样粒子(VLPs)携带VP2/6(双离子型)或VP2/6/7(三离子型)已经被证实具有免疫原性。

表 1 临床上常用的治疗轮状病毒腹泻的疾病的药物

药物名称	药用成分的性质	作用机理
喜炎平, 炎琥宁	穿心莲提取物	改善局部毛细血管循环, 提高抗原递呈细胞的吞噬能力
消旋卡多曲	脑啡肽抑制剂	保护内源性脑啡肽免受降解, 降低c-AMP在肠黏膜的水平
百贝宁	抗轮状病毒鸡卵黄免疫球蛋白(IgG)	特异性地中和轮状病毒, 激活补体系统
运德素	注射用重组人干扰素 $\alpha$ 1b	诱导宿主细胞产生抗病毒蛋白, 干扰病毒的复制, 增强机体T细胞、B细胞功能, 活化NK细胞、巨噬细胞
枯草杆菌二联活菌颗粒	微生态制剂	维持肠道菌群的平衡, 促进肠道上皮细胞的修复, 提供菌酶抵制病毒入侵, 补充维生素

前几个小时内, 病毒NSP1可通过体内各种调节途径抑制感染细胞的过早凋亡, 有助于逃避抗原递呈细胞的识别, 进而促进病毒增殖<sup>[20]</sup>。Barro等<sup>[21]</sup>的研究表明轮状病毒NSP1能够通过各种途径阻止干扰素的生成, 导致干扰素及相关细胞因子介导的炎症反应受阻, 使宿主抗轮状病毒感染能力下降。轮状病毒各基因所编码的蛋白都与胃肠炎的发生有着一定的相关性, 且在病毒感染的病毒血症期, 人与动物的发病机制几乎相同<sup>[22]</sup>。

### 3 轮状病毒感染的防治

**3.1 抗轮状病毒感染药物研究进展** 尽管目前还没有针对轮状病毒的特效药物, 但在药物抗轮状病毒感染方面的研究还是取得了一定的进展。近来的报道指出, 微生态制剂鼠李糖乳杆菌以及嗜酸乳杆菌对感染轮状病毒的乳鼠空肠黏膜上皮细胞有一定的保护作用, 并且在感染前灌服的保护效果要好于感染后灌服, 这对于预防轮状病毒感染具有一定的意义<sup>[23,24]</sup>。激素活性形式的25-羟基维生素D3能够提高机体内抗体水平并促进抗炎细胞因子的生成, 进而可以提高机体抵抗轮状病毒感染的能力<sup>[25]</sup>。中药治疗轮状病毒感染也有一定的效果。由黄芪、党参所制成参芪扶正注射液在小鼠体内能够抑制轮状病毒的复制<sup>[26]</sup>。马蹄香提取物一方面通过激活CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>细胞, 增加抗体的分泌; 另一方面, 调节CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值, 抑制CD19<sup>+</sup>水平的升高, 调节一些细胞因子的释放, 从而改善机体免疫功能<sup>[27]</sup>。白头翁素通过减少肠道黏膜损伤加速肠道黏膜修复从而减弱轮状病毒致病性<sup>[28]</sup>。但上述药物的应用效果主要来自动物实验, 如其效果和安全性在人体实验中得到验证, 将会对临床用药提供一定的参考。有报道指出感染轮状病毒后幼儿血清内的锌含量会降低, 在常规的治疗基础上补充葡萄糖酸锌可以提高疗效<sup>[29]</sup>。比较而言, 西药的药用成分单一, 抗病毒作用机制明确, 但是对于幼儿的肝功能、肾功能的损害较大; 中药制剂的不良反映较

小, 但是抗病毒的机制较为复杂。微生态制剂作为一种新型预防性药物具有优越性, 但是相关的一些技术指标如定植特性和稳定性等方面还有待进一步的完善。目前临床上部分常用抗轮状病毒腹泻的药物性质及其作用机制见表1。

**3.2 轮状病毒疫苗的研究进展** 预防接种是从根本上控制轮状病毒的传播和流行的有效手段。临床研究发现, 婴幼儿再次感染轮状病毒后表现的临床症状的严重性要远低于初次感染, 并且两次感染轮状病毒后, 几乎不会再发生轮状病毒所引起的腹泻, 这一现象表明重复抗原刺激可诱导长久性的免疫保护<sup>[30,31]</sup>, 证明开发和应用疫苗预防轮状病毒感染是有效和可行的。

**3.2.1 单价及重组弱毒疫苗:** 1984年Vesikari报道利用轮状病毒RIT 4237株制备的首个口服轮状病毒活疫苗对儿童能够起到针对轮状病毒保护作用。但后来证明该疫苗并不能对异型血清型的轮状病毒起到免疫保护的作用, 同时在一些发展中国家应用后, 并没有起到很好的免疫保护效果, 现已停止对该疫苗的进一步研究<sup>[32,33]</sup>。后来由美国国立卫生研究院Kapikian等研制的G3型恒河猴轮状病毒MMV18006疫苗株及美国费城Wister研究所和法国Meneux研究所联合研制的G6型牛轮状病毒WC3疫苗株, 在不同国家和地区免疫保护效果相差很大, 且病毒的排出率也较高, 相应研究也先后终止<sup>[34]</sup>。这些证据表明单价疫苗不能起到有效的免疫保护, 不同血清型轮状病毒间的交叉免疫保护效果较差, 有必要开发能预防多种血清型轮状病毒感染的包括多价重配疫苗在内的新型疫苗。多价重配疫苗是指轮状病毒在自然状态下或人为地使轮状病毒RNA重新组合, 进而使重组的病毒株失去反应原性而保留免疫原性。1998年美国正式批准了一种由人-恒河猴轮状病毒重配的四价疫苗(Rota shield)上市, 虽然该疫苗在各地区的保护率达50%以上, 但是后来流行病学协会发现他能增加部分儿童出现肠套叠的机率, 于是Rota shield上市一年后被停用<sup>[35]</sup>。

目前为大多数国家所认可的轮状病毒疫苗分别是由比利时GlaxoSmithKline公司研制的人源轮状病毒单价疫苗(Rotarix)以及由美国Merck公司研制的人-牛轮状病毒重配活疫苗(Rotateq)。他们已经通过III期临床试验, 并证明了该两种疫苗不会增加儿童肠套叠发生的机率, 对重症腹泻的保护率都达到80%以上<sup>[36-39]</sup>。虽然这两类疫苗现都已经被猪环状病毒(porcine circovirus, PCV)污染, 但由于PCV对人无致病性以及这两类疫苗存在极大的社会效益, 因此这两种疫苗仍在市场上使用<sup>[40-42]</sup>。我国学者研究指出, 部分儿童服用Rotarix后排毒率超过50%, 并且该疫苗没有对免疫缺陷的患者进行安全评估<sup>[43]</sup>。另外由于这两类疫苗价格昂贵, 因此许多发展中国家倾向于利用当地分离的弱毒株开发疫苗<sup>[44]</sup>。这两类疫苗目前还没有在我国获得批准上市。

在国内, 单价羔羊P[12]G10血清型轮状病毒疫苗LLR由兰州生物制品研究所研制成功并于2000年获得中国药品监督管理局正式批准<sup>[45]</sup>。小范围的应用表明该疫苗的保护率可达70%, 并且有良好的安全性。G2型轮状病毒基因重配株LD9已经重组构建完成, 并且该疫苗候选株可以在vero细胞系(vero细胞是WHO推荐的生产人用疫苗细胞系)上获得高表达量以及稳定传代培养, 但是该重组的疫苗候选株还处于实验室研究阶段<sup>[46]</sup>。叶丽萍等<sup>[47]</sup>成功构建了猪A组轮状病毒PW425et-VP4基因工程乳酸菌, 其表达的蛋白具有与猪轮状病毒多克隆抗体的反应原性, 为开放微生态制剂疫苗提供了一定的参考。

**3.2.2 转基因植物口服疫苗:** 实验表明转基因植物生产的疫苗可以诱导机体产生特异性和非特异性的免疫应答<sup>[48]</sup>。Matsumura等<sup>[49]</sup>成功地将A组牛轮状病毒的VP6基因转移到马铃薯中, 并在花椰菜花叶病毒(CaMV)35S启动子控制下, 表达了VP6蛋白, 经浓缩后免疫小鼠可在其体内检测到抗VP6蛋白抗体。Chung等<sup>[50]</sup>将牛轮状病毒INDVP6插入到植物表达载体pLTP357构成重组质粒, 通过三亲杂交的方法将VP6基因导入到悬浮培养的番茄细胞中并成功表达了VP6抗原。Yu等<sup>[51]</sup>用转VP6基因马铃薯组织块饲喂小鼠后发现能够提高小鼠血清中特异性IgG抗体和肠内IgA抗体的滴度。轮状病毒VP6蛋白在植物体内成功得以表达并具有一定的免疫原性, 极大降低了轮状病毒诊断试剂的生产成本, 也为开发口服食用型轮状病毒疫苗开辟了新的思路。费蕾等<sup>[52,53]</sup>也分别利用转基因技术将人源轮状病毒和鼠源的VP7蛋白基因导入到马铃薯内并

成功得以表达。Wu等<sup>[54]</sup>研究发现, 小鼠食用表达VP7蛋白转基因马铃薯后可以在黏膜中检测到高滴度的能够中和轮状病毒的IgA抗体。Kim等<sup>[55]</sup>将鼠源轮状病毒非结构蛋白NSP4基因和霍乱肠毒素基因在马铃薯体内共表达获得了轮状病毒NSP4蛋白和霍乱毒素B亚基蛋白的低聚体, 实验证明他们具有相应的生物活性, 抗原与免疫增强剂在植物体内的共表达为提高黏膜免疫反应提供了可能。21世纪以来, 植物性疫苗引起了人们广泛的关注, 也得到了飞速发展。虽然还存在目的蛋白在植物体内表达量低、表达不稳定、选择可以生食植物作为受体植物以及在胃肠道内被消化等瓶颈问题, 但科学家正在筛选和优化转基因植物目的蛋白的启动子、增强子以及密码子以增加目的蛋白的表达量, 并通过在目的基因中添加一些修饰基因以避免其在发挥免疫作用前被消化。相信不久的将来安全可靠且价格廉价的植物性疫苗会被开发出来, 并在预防轮状病毒感染方面起到重要作用。

**3.2.3 亚单位疫苗:** 1986年Strecker等<sup>[56]</sup>合成了轮状病毒外壳蛋白VP7上的一段氨基酸序列SAAF-YRV并接种小鼠, 发现小鼠获得了一定的免疫保护, 这为开发新型轮状病毒抗原肽疫苗提供了参考。将轮状病毒RF株VP2蛋白基因与猴轮状病毒SA11株VP4、VP6和VP7蛋白基因重组到杆状病毒并同时感染昆虫细胞, 发现昆虫细胞内能够产生VP6/7、VP2/6/7和VP2/4/6 3种自我装配的病毒样粒子; 注射免疫小鼠和家兔后, 均能诱导产生特异中和抗体, 能阻止同血清型病毒的侵袭<sup>[57]</sup>。非复制型载体病毒样粒子(VLPs)携带VP2/6(双离子型)或VP2/6/7(三离子型)已经被证实具有免疫原性<sup>[8]</sup>。有证据表明轮状病毒VP2/6双离子型病毒样粒子已经可以与减毒疫苗联合使用<sup>[58]</sup>。张群等<sup>[59]</sup>将人轮状病毒VP2、VP6、VP4(P8血清型)和VP7(G1血清型)重组到巴斯德毕赤酵母并成功构建了能够表达相应蛋白的轮状病毒3层病毒样粒子(virus-like particles, VLP)并用透射电镜观察到了病毒样粒子。这些结果为开发轮状VLP候选疫苗奠定了基础。另有报道指出给动物肌肉注射轮状病毒灭活苗后动物机体可产生针对通过黏膜途径侵入的轮状病毒免疫保护效应<sup>[60]</sup>, 为开发非口服型轮状病毒疫苗提供了理论依据。

## 4 结论

尽管目前在预防和治疗轮状病毒感染相关疾病方面已经取得了显著进展, 但对轮状病毒的致病机制以及机体免疫保护机制方面的研究还不

## ■创新盘点

本文提出预防轮状病毒时建议对同一地区的人和动物同时免疫, 并且尽量利用当地分离疫苗株制备, 甄别针对不同轮状病毒血清型疫苗, 以提高疫苗免疫保护效果。



## 同行评价

本文搜集了近几年来国内外关于轮状病毒感染机制及防治的研究进展,并加以总结,为读者获取相关资料提供了捷径。

够完善,在一定程度上限制了安全、有效、廉价、易于生产和保存的轮状病毒疫苗的开发。随着科学理论的发展和新技术的出现,植物性疫苗、病毒样粒子以及传统的重组轮状病毒候选疫苗将会被不断地开发与改进。由于轮状病毒在人和动物之间以及动物与动物之间可以相互传播,且不同血清型的轮状病毒同时感染动物时可产生新的重组毒株,因此预防轮状病毒时建议对同一地区的人和动物同时免疫,并且尽量利用当地分离疫苗株制备,甄别针对不同轮状病毒血清型疫苗,以提高疫苗免疫保护效果。

## 参考文献

- Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973; 2: 1281-1283 [PMID: 4127639 DOI: 10.1016/S0140-6736(73)92867-5]
- 陈元鼎, 范耀春, 李传印. 轮状病毒分类与命名. 国际病毒学杂志 2009; 16: 115-120
- De Grazia S, Ramirez S, Giammanco GM, Colomba C, Martella V, Lo Biundo C, Mazzola R, Arista S. Diversity of human rotaviruses detected in Sicily, Italy, over a 5-year period (2001-2005). *Arch Virol* 2007; 152: 833-837 [PMID: 17160368 DOI: 10.1007/s00705-006-0874-0]
- 黄小波, 徐璐, 曹三杰, 文心田. 猪轮状病毒OSU株的培养特性与致病性研究. 中国人兽共患病学报 2012; 28: 120-123
- World Health Organization. Rotavirus vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 2007; 82: 285-295 [PMID: 17691162]
- Parashar UD, Gibson CJ, Bresee JS, Glass RI. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 304-306 [PMID: 16494759 DOI: 10.3201/eid1202.050006]
- Parashar UD, Burton A, Lanata C, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Steele D, Birmingham M, Glass RI. Global mortality associated with rotavirus disease among children in 2004. *J Infect Dis* 2009; 200 Suppl 1: S9-S15 [PMID: 19817620 DOI: 10.1086/605025]
- Desselberger U, Huppertz HI. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. *J Infect Dis* 2011; 203: 188-195 [PMID: 21288818 DOI: 10.1093/infdis/jiq031]
- American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases. Prevention of rotavirus disease: guidelines for use of rotavirus vaccine. *Pediatrics* 2007; 119: 171-182 [PMID: 17200286 DOI: 10.1542/peds.2006-3134]
- 李肖锋, 国泰. 口服轮状病毒减毒活疫苗Rotarix的现状与研究进展. 中国生物制品杂志 2011; 24: 491-493
- 严有望, 李少安. WHO关于轮状病毒疫苗的意见书. 国际生物制品杂志 2010; 6: 321-324
- Estes MK, Kang G, Zeng CQ, Crawford SE, Ciarlet M. Pathogenesis of rotavirus gastroenteritis. *Novartis Found Symp* 2001; 238: 82-96; discussion 96-100 [PMID: 11444037 DOI: 10.1002/0470846534.ch6]
- Nakagomi T, Nakagomi O. A critical review on a globally-licensed, live, orally-administrable, monovalent human rotavirus vaccine: Rotarix. *Expert Opin Biol Ther* 2009; 9: 1073-1086 [PMID: 19591630 DOI: 10.1517/14712590903103787]
- Matthijssens J, Ciarlet M, Heiman E, Arijs I, Delbeke T, McDonald SM, Palombo EA, Iturriza-Gómara M, Maes P, Patton JT, Rahman M, Van Ranst M. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. *J Virol* 2008; 82: 3204-3219 [PMID: 18216098 DOI: 10.1128/JVI.02257-07]
- Dennehy PH. Rotavirus vaccines--an update. *Vaccine* 2007; 25: 3137-3141 [PMID: 17321017 DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.01.102]
- 蔡小明, 周峰. 婴幼儿轮状病毒性肠炎肠外表现临床分析. 临床合理用药 2012; 5: 101
- 韩粉香. 婴幼儿轮状病毒性肠炎临床诊治分析. 河北医药 2011; 33: 234-235
- Díaz Y, Chemello ME, Peña F, Aristimuño OC, Zambrano JL, Rojas H, Bartoli F, Salazar L, Chwetzoff S, Sapin C, Trugnan G, Michelangeli F, Ruiz MC. Expression of nonstructural rotavirus protein NSP4 mimics Ca<sup>2+</sup> homeostasis changes induced by rotavirus infection in cultured cells. *J Virol* 2008; 82: 11331-11343 [PMID: 18787006 DOI: 10.1128/JVI.00577-08]
- Montero H, Arias CF, Lopez S. Rotavirus Nonstructural Protein NSP3 is not required for viral protein synthesis. *J Virol* 2006; 80: 9031-9038 [PMID: 16940515]
- Bagchi P, Dutta D, Chattopadhyay S, Mukherjee A, Halder UC, Sarkar S, Kobayashi N, Komoto S, Taniguchi K, Chawla-Sarkar M. Rotavirus nonstructural protein 1 suppresses virus-induced cellular apoptosis to facilitate viral growth by activating the cell survival pathways during early stages of infection. *J Virol* 2010; 84: 6834-6845 [PMID: 20392855 DOI: 10.1128/JVI.00225-10]
- Barro M, Patton JT. Rotavirus NSP1 inhibits expression of type I interferon by antagonizing the function of interferon regulatory factors IRF3, IRF5, and IRF7. *J Virol* 2007; 81: 4473-4481 [PMID: 17301153 DOI: 10.1128/JVI.02498-06]
- Blutt SE, Matson DO, Crawford SE, Staat MA, Azimi P, Bennett BL, Piedra PA, Conner ME. Rotavirus antigenemia in children is associated with viremia. *PLoS Med* 2007; 4: e121 [PMID: 17439294 DOI: 10.1371/journal.pmed.0040121]
- 张振, 王晓梅, 汤建桥, 高源, 王宝香, 郑义. 鼠李糖杆菌对感染人轮状病毒鼠空肠黏膜上皮细胞的保护作用. 华中科技大学学报 2012; 41: 67-71
- 高源, 张振, 王宝香, 鲍连生, 彭罕鸣. 嗜酸乳杆菌对感染人轮状病毒鼠空肠黏膜的保护作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2963-2969
- 廖波, 张克英, 丁雪梅, 徐志文, 白世平. 饲料添加25-羟基维生素D3对轮状病毒攻毒和未攻毒断奶仔猪血清和肠内容物抗体和细胞因子水平的影响. 动物营养学报 2011; 23: 34-42
- 李文英, 傅万海, 陈国新, 梁剑. 参芪扶正注射液对轮状病毒感染性肠炎小鼠血清IL-2、INF- $\gamma$ 的影响. 海南医学 2010; 21: 29-31
- 张佩红, 陈啸洪, 王燕, 李华俊, 章杭湖. 马蹄香治疗婴幼儿轮状病毒肠炎作用机制的初步探讨. 中国全科医学 2010; 13: 610-612
- 徐倩倩, 马利芹, 张晓利, 王丽叶, 霍晓青, 褚军, 薛晓阳, 陈立功, 秦建华, 董世山. 白头翁素对PRV、E.coli混合感染性腹泻肠道超微结构的影响. 中国农学通报 2010; 26: 13-17
- 谢基灵, 黄小泰. 轮状病毒肠炎患儿血清锌水平及补锌治疗的意义. 儿科药理学杂志 2010; 16: 18-20
- Offit PA, Hoffenberg EJ, Santos N, Gouvea V. Rotavirus-specific humoral and cellular immune response after primary, symptomatic infection. *J Infect Dis* 1993; 167: 1436-1440 [PMID: 8388906 DOI: 10.1093/infdis/167.6.1436]
- Velázquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero L, Morrow AL, Carter-Campbell S, Glass RI, Estes MK, Pickering LK, Ruiz-Palacios GM. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N*



- Engl J Med* 1996; 335: 1022-1028 [PMID: 8793926 DOI: 10.1056/NEJM199610033351404]
- 32 Vesikari T, Isolauri E, D'Hondt E, Delem A, André FE, Zissis G. Protection of infants against rotavirus diarrhoea by RIT 4237 attenuated bovine rotavirus strain vaccine. *Lancet* 1984; 1: 977-981 [PMID: 6143964 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)92323-7]
  - 33 宋玲玲, 王延东, 宋玲玲, 王延东, 王洪梅, 武建明, 刘晓, 高运东, 仲跻峰, 何洪彬. 轮状病毒疫苗的研究进展. *家畜生态学报* 2011; 32: 98-101
  - 34 Perez-Schael I, Garcia D, Gonzalez M, Gonzalez R, Daoud N, Perez M, Cunto W, Kapikian AZ, Flores J. Prospective study of diarrheal diseases in Venezuelan children to evaluate the efficacy of rhesus rotavirus vaccine. *J Med Virol* 1990; 30: 219-229 [PMID: 2160516 DOI: 10.1002/jmv.1890300315]
  - 35 From the Centers for Disease Control and Prevention. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine—United States, 1998-1999. *JAMA* 1999; 282: 520-521 [PMID: 10450702 DOI: 10.1001/jama.282.6.520]
  - 36 Richardson V, Hernandez-Pichardo J, Quintanar-Solares M, Esparza-Aguilar M, Johnson B, Gomez-Altamirano CM, Parashar U, Patel M. Effect of rotavirus vaccination on death from childhood diarrhea in Mexico. *N Engl J Med* 2010; 362: 299-305 [PMID: 20107215 DOI: 10.1056/NEJMoa0905211]
  - 37 Goveia MG, Rodriguez ZM, Dallas MJ, Itzler RF, Boslego JW, Heaton PM, DiNubile MJ. Safety and efficacy of the pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine in healthy premature infants. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 1099-1104 [PMID: 18043445 DOI: 10.1097/INF.0b013e31814521cb]
  - 38 Buttery JP, Lambert SB, Grimwood K, Nissen MD, Field EJ, Macartney KK, Akikusa JD, Kelly JJ, Kirkwood CD. Reduction in rotavirus-associated acute gastroenteritis following introduction of rotavirus vaccine into Australia's National Childhood vaccine schedule. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: S25-S29 [PMID: 21183837 DOI: 10.1097/INF.0b013e3181fefe3eb]
  - 39 Tate JE, Mutuc JD, Panozzo CA, Payne DC, Cortese MM, Cortes JE, Yen C, Esposito DH, Lopman BA, Patel MM, Parashar UD. Sustained decline in rotavirus detections in the United States following the introduction of rotavirus vaccine in 2006. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: S30-S34 [PMID: 21183838 DOI: 10.1097/INF.0b013e3181fefe3eb]
  - 40 McClenahan SD, Krause PR, Uhlenhaut C. Molecular and infectivity studies of porcine circovirus in vaccines. *Vaccine* 2011; 29: 4745-4753 [PMID: 21569811 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.04.087]
  - 41 Victoria JG, Wang C, Jones MS, Jaing C, McLoughlin K, Gardner S, Delwart EL. Viral nucleic acids in live-attenuated vaccines: detection of minority variants and an adventitious virus. *J Virol* 2010; 84: 6033-6040 [PMID: 20375174 DOI: 10.1128/JVI.02690-09]
  - 42 Willoughby RE. Use of Rotarix temporarily suspended, no health risks seen. *AAP News* 2010; 10: 1542
  - 43 鞠月迎. 新型轮状病毒疫苗研究进展. *世界临床药物* 2006; 27: 338-343
  - 44 江保明, 杨晓明, 徐德启. 轮状病毒疫苗的现状和发展动向. *中国生物制品学杂志* 2012; 25: 251-253
  - 45 Fu C, Wang M, Liang J, He T, Wang D, Xu J. Effectiveness of Lanzhou lamb rotavirus vaccine against rotavirus gastroenteritis requiring hospitalization: a matched case-control study. *Vaccine* 2007; 25: 8756-8761 [PMID: 18023510 DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.10.036]
  - 46 寇桂英, 胡广宏, 包红, 王名强, 陈汉泉, 汪洲, 周旭. 轮状病毒基因重配株LD9(G2型)vero细胞适应株的选育及其生物学特性. *中国生物制品学杂志* 2011; 23: 857-860
  - 47 叶丽萍, 王春玲, 王春风. 猪A组轮状病毒PW425et-vp4基因工程乳酸菌的构建及表达. *中国兽医杂志* 2012; 48: 3-6
  - 48 Tacket CO, Mason HS. A review of oral vaccination with transgenic vegetables. *Microbes Infect* 1999; 1: 777-783 [PMID: 10816083 DOI: 10.1016/S1286-4579(99)80080-X]
  - 49 Matsumura T, Itchoda N, Tsunemitsu H. Production of immunogenic VP6 protein of bovine group A rotavirus in transgenic potato plants. *Arch Virol* 2002; 147: 1263-1270 [PMID: 12111435 DOI: 10.1007/s00705-002-0808-4]
  - 50 Chung IS, Kim CH, Kim K Il, Hong S H, Park J H, Kim J K, Kim W Y. Production of recombinant rotavirus VP6 from a suspension culture of transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cells. *Biotechnology Letters* 2000; 22: 251-255 [DOI: 10.1023/A:1005626000329]
  - 51 Yu J, Langridge W. Expression of rotavirus capsid protein VP6 in transgenic potato and its oral immunogenicity in mice. *Transgenic Res* 2003; 12: 163-169 [PMID: 12739884 DOI: 10.1023/A:1022912130286]
  - 52 李晋涛, 吴玉章, 费蕾, 邹丽云, 唐艳, 牟芝蓉, 耿淼. 人源轮状病毒vP7基因的克隆与转基因植物研究. *免疫学杂志* 2003; 19: 11-14
  - 53 费蕾, 李晋涛, 吴玉章. 鼠源轮状病毒vP7基因的表达载体构建及转基因植物的研究. *免疫学杂志* 2003; 19: 93-96
  - 54 Wu YZ, Li JT, Mou ZR, Fei L, Ni B, Geng M, Jia ZC, Zhou W, Zou LY, Tang Y. Oral immunization with rotavirus VP7 expressed in transgenic potatoes induced high titers of mucosal neutralizing IgA. *Virology* 2003; 313: 337-342 [PMID: 12954202 DOI: 10.1016/S0042-6822(03)00280-0]
  - 55 Kim TG, Langridge WH. Assembly of cholera toxin B subunit full-length rotavirus NSP4 fusion protein oligomers in transgenic potato. *Plant Cell Rep* 2003; 21: 884-890 [PMID: 12789506]
  - 56 Streckert HJ, Grunert B, Werchau H. Antibodies specific for the carboxy-terminal region of the major surface glycoprotein of simian rotavirus (SA11) and human rotavirus (Wa). *J Cell Biochem* 1986; 30: 41-49 [PMID: 3007546 DOI: 10.1002/jcb.240300106]
  - 57 Conner ME, Zarley CD, Hu B, Parsons S, Drabinski D, Greiner S, Smith R, Jiang B, Corsaro B, Barniak V, Madore HP, Crawford S, Estes MK. Virus-like particles as a rotavirus subunit vaccine. *J Infect Dis* 1996; 174 Suppl 1: S88-S92 [PMID: 8752296]
  - 58 Crawford SE, Estes MK, Ciarlet M, Barone C, O'Neal CM, Cohen J, Conner ME. Heterotypic protection and induction of a broad heterotypic neutralization response by rotavirus-like particles. *J Virol* 1999; 73: 4813-4822 [PMID: 10233942]
  - 59 张群, 楼觉人. 表达轮状病毒类病毒颗粒的重组毕赤酵母的制备及鉴定. *中国生物制品学杂志* 2011; 7: 818-823
  - 60 Wang Y, Azevedo M, Saif LJ, Gentsch JR, Glass RI, Jiang B. Inactivated rotavirus vaccine induces protective immunity in gnotobiotic piglets. *Vaccine* 2010; 28: 5432-5436 [PMID: 20558244 DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.06.006]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



# 猪细小病毒的致病机制与防控策略

仇 铮, 任晓峰, 崔尚金

## ■背景资料

猪细小病毒病 (PPV) 是由猪细小病毒引起的一种繁殖障碍疾病, 同时与猪渗出性皮炎、断奶仔猪多系统衰弱综合征等疾病有关, 对妊娠母猪与仔猪具有极大的威胁, 给养殖业造成了巨大的经济损失。目前能有效预防猪细小病毒还没有其他方法, 只能通过使用疫苗进行免疫预防。

仇铮, 崔尚金, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所兽医生物技术国家重点实验室/猪传染病研究室 黑龙江省哈尔滨市 150001  
任晓峰, 东北农业大学动物医学学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030

仇铮, 博士, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所助理研究员, 主要从事动物传染病学与免疫学的研究。

崔尚金, 博士, 研究员, 研究生导师, 主要从事动物疫病快速诊断、流行病学、猪细小病毒致病性及基因工程亚单位疫苗的研发。中国农业科学院兽医生物技术国家重点实验室开放课题基金资助项目, No. SKLVBF201103

作者贡献分布: 仇铮与崔尚金撰写文章; 任晓峰负责审校。

通讯作者: 崔尚金, 研究员, 150001, 黑龙江省哈尔滨市南岗区马端街427号, 150001, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所兽医生物技术国家重点实验室/猪传染病研究室。

cuishangjin@hotmail.com

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

## Porcine parvovirus: Pathogenic mechanisms and preventive and control strategies

Zheng Qiu, Xiao-Feng Ren, Shang-Jin Cui

Zheng Qiu, Shang-Jin Cui, Division of Swine Infectious Diseases, State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Harbin Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Xiao-Feng Ren, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Supported by: Open Project of the State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, No. SKLVBF201103

Correspondence to: Shang-Jin Cui, Division of Swine Infectious Diseases, State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Harbin Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. cuishangjin@hotmail.com

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Porcine parvovirus, classified in the genus Parvovirus of the family Parvoviridae, is a major cause of reproductive failure in gilts and skin inflammation and inflammatory diarrhea in piglets. The disease caused by porcine parvovirus varies in clinical manifestations and pathological characteristics. In recent years, mixed infection by PPV and other viruses is common, and PPV is one of pathogens that cause many disease syndromes. In this paper, we review the pathogenic mechanisms of PPV and preventive and control strategies for

the disease caused by PPV.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Porcine parvovirus; Pathogenic mechanisms

Qiu Z, Ren XF, Cui SJ. Porcine parvovirus: Pathogenic mechanisms and preventive and control strategies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 66-70

## 摘要

猪细小病毒(porcine parvovirus, PPV)是细小病毒科细小病毒属的成员, 引起初孕母猪的繁殖障碍、仔猪的皮肤炎症和肠炎性腹泻。这些疾病在临床表现和病理特点上各不相同。近年来, PPV与其他病毒混合感染发生较多, 是导致很多疾病综合征的病原之一。本文主要针对猪细小病毒的病原、致病机制和防控策略做一综述, 以期对动物细小病毒病的防治提供的借鉴。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 猪细小病毒; 致病机制

仇铮, 任晓峰, 崔尚金. 猪细小病毒的致病机制与防控策略. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 66-70

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/66.asp>

## 0 引言

我国是农业大国, 猪是我国畜牧业的传统养殖对象, 猪肉也是我国城乡居民的主要副食品, 然而近年来猪传染病的流行给我国猪肉的质量和数量都造成了威胁, 因而正确的认识和预防猪病是现在养殖业的工作重点之一。猪细小病毒(porcine parvovirus, PPV)导致猪的繁殖障碍疾病、断奶仔猪多系统衰弱综合征和肠炎性腹泻等疾病有关, 对妊娠母猪与仔猪具有极大的威胁, 常给养殖业造成巨大的经济损失。

## 1 病原学

PPV属于细小病毒科细小病毒属<sup>[1,2]</sup>, 呈圆形或六

## ■同行评议者

喻荣彬, 教授, 南京医科大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系

表 1 猪细小病毒的生物型分类

生物型	代表株	生物学特性
弱毒株	NADL-2	可作为弱毒疫苗
强毒株	NADL-8	与母猪繁殖障碍相关
皮炎型	kresse	与皮肤损伤, 皮炎发生相关
肠炎型		与肠道病变和拉稀相关
呼吸道型		与PMWS和PRDC疾病相关

毒力由上至下依次增强。PMWS: 猪断奶后多系统衰竭综合征;  
PRDC: 猪呼吸疾病综合征。

角形, 二十面体对称, 无囊膜, 直径约为22-25 nm, 分子量约为 $1.4 \times 10^6$ 。大部分不同物种来源PPV的细小病毒耐热能力极强, 对脂、酶溶剂及有机溶剂抵抗力强, 耐酸范围大, 病毒感染力在pH值3.0-10.0范围内无明显的改变。PPV具有血凝性, 能凝集人、猴、豚鼠、小鼠和鸡的红细胞, 对豚鼠红细胞血凝效果最好, 因此临床上常利用这一特性检测PPV的存在<sup>[3,4]</sup>。PPV几乎能在所有的猪原代细胞(如猪肾、猪睾丸细胞)和传代猪细胞系(如PK15、ST、IBRS2等细胞)中生长, 甚至能在牛肾原代细胞及人的某些传代细胞中增殖<sup>[5]</sup>。

目前PPV只有一个血清型, 但按照PPV的致病性与组织嗜性可将其分为多个不同的类型(表1), 包括非致病性毒株(KBSH、NADL-2)、对免疫不完全胎儿致病并能导致胎儿死亡的毒株(如NADL-8、IAF-76)、对免疫不完全胎儿致病并能引起皮炎的毒株(高致病性, 如Kresse、IAF-A54)、肠炎型毒株和呼吸道型毒株(参与PRDC)。

## 2 流行病学

PPV感染普遍存在于世界各地的猪群中, 该病暴发季节主要是春季产仔的季节。1966年, Mayr进行猪瘟病毒组织培养时发现了PPV。Cartwright和Huck于1967年首次在英国猪流产胎儿的脏器中分离出猪细小病毒以来, 现已在比利时(1967)、德国(1968)、美国(1972)、日本(1972)、荷兰(1972)、澳大利亚(1973)、芬兰(1979)、法国(1977)和加拿大(1978)等国都有相继的报道<sup>[6]</sup>。在我国猪细小病毒发现较晚, 但是流行情况却相当普遍, 1982年中国首次分离到PPV, 随后相继在上海、四川、广西、黑龙江、天津和湖北等地分离到PPV, 这表明PPV成全国性分布<sup>[7,8]</sup>。随着PPV疫苗的投入使用, 起初疫情得到了很好的控

制, 于90年代中期开始, 猪群的发病率显著下降。但2005年以来, 国内多个省份陆续对PPV阳性感染率进行了调查, 结果显示全国范围内猪群的阳性感染率较高, 有爆发PPV的可能性, 西南地区、华南地区和华北地区的阳性感染率显著高于其他地区。以贵州遵义地区为例, 2006-2009年该地区规模养猪场的PPV阳性感染率分别为4.80%、7.22%、10.38%和14.20%, 呈现逐年递增的趋势。

## 3 致病机制

PPV可在病猪心脏、肺脏、脾脏和性腺中复制, 但其主要靶器官是母猪子宫, 子宫内病毒含量最高可达 $10^{12}$ 拷贝/mL。对仔猪而言, 病毒同样在心脏、肺脏、脾脏和性腺中复制, 以性腺含量最高。由此可见, 病毒对母猪的致病位置主要在繁殖器官, 同时, 也破坏肺脏等呼吸器官和脾脏等免疫器官; 而对小猪的损伤重要在于破坏脾脏和性腺等生理功能, 同时破坏心脏等中枢器官, 从而造成死亡。早期发现由PPV引起的疾病, 主要是初孕母猪的繁殖障碍, 但是随着研究的深入, 发现PPV还能引起仔猪的皮肤炎症和肠炎性腹泻, 而这些疾病在临床表现和病理特点上各不相同。

**3.1 初孕母猪繁殖障碍** Bachmann等<sup>[9]</sup>选取妊娠35、48、55、72、99和105 d SPF母猪进行研究, 通过子宫内直接注射病毒的方式将PPV注射入试验猪一侧子宫角, 对侧子宫角注射无病毒细胞培养液作为对照。结果表明感染母猪不产生任何临床症状, 在感染后的第7-9天产生抗体。妊娠35、48和55 d的母猪体内的胎猪分别在感染病毒后的第5天和第22天死亡。妊娠72、99和105 d的母猪感染PPV后体内的胎猪可以正常分娩存活, 并于子宫内产生滴度很高的抗体。病毒即使扩散到对照组胎猪处也不会引起胎猪的死亡、木乃伊化或者刺激其产生抗体。Mengeling等<sup>[10]</sup>将PPV注射到妊娠34-36 d已免疫疫苗的母猪的胎猪尿囊腔中, 导致胎儿的浸溶和木乃伊化。发现在攻毒1 wk后病毒扩散到胎猪的很多组织, 并且大量复制。随着间隔时间加长, 从组织脏器分离的病毒量逐渐减少, 但是应用免疫荧光技术仍发现有大量的病毒存在于那些脏器, 这可能是脏器中死毒大量残留造成的。由于母猪已获疫苗免疫, 所以对于胎猪尿囊腔直接注射病毒, 既不会导致母猪流产, 也不会有病毒在母猪的组织中复制。PPV在子宫内胎儿之

## ■研发前沿

目前国内PPV只有一个血清型, 本课题组崔尚金研究员按照PPV的致病性与组织嗜性首先对其代表毒株进行了分类。

## ■相关报道

周斌等针对分子诊断新技术与基因工程疫苗防控等方面进行了阐述, 可以与本文的致病机制与免疫预防结合阅读, 对读者有一定指导意义。



#### ■创新盘点

本文对猪细小病毒  
的生物型进行分类,  
对致病机制以及免疫  
预防都有全新的诠释,  
可供读者参考。

间传递、感染的现象也有报道,但是发生的机率非常低。

Wilhelm等<sup>[11]</sup>选用两个野毒株(143a和27a)和两个疫苗株(NADL-2和MSV),共分4组,采用口服和肌肉同时注射的方式对12头妊娠40 d的初孕母猪进行攻毒试验,所有母猪在妊娠100 d时被剖杀,采集胎儿脏器进行荧光定量PCR检测。结果表明,27a组母猪所产胎儿的组织(心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胸腺、十二指肠、空肠、结肠、性腺)中病毒含量最高,最高的组织达 $10^{16}$ 拷贝/ $10^6$ 个细胞。其他3组存在病毒复制的组织很少,有的甚至仅仅肾脏存在病毒复制,病毒含量最高的组织仅为 $10^4$ 拷贝/ $10^6$ 个细胞。这个试验证实了27a这个PPV野毒株是强毒,可以在胎猪体内大量复制,进而加重母猪繁殖失败的严重程度。Song等<sup>[12]</sup>再次选用上述4个毒株对细小病毒的致病性进行研究,选择妊娠期为40 d的初孕母猪进行试验,攻毒采用口服和肌肉同时注射的方式,攻毒后50 d剖杀母猪,观察子宫内的胎儿状况,血液被收集用来检测PPV抗体,组织样本(肺脏和肾脏)用作病毒分离。试验结果证实,除了MSV组产生滴度较低的PPV抗体外,其他组在攻毒后14 d均能产生滴度较高的抗体,并且持续到试验结束。无论从木乃伊胎在窝产子数所占比例,还是病毒分离方面来看,均以27a组最为显著,进一步证实了27a株的强毒力和40 d感染PPV主要产生木乃伊胎的事实。

3.2 仔猪皮炎 Kresse等于1975年发现了PPV的一个新毒株Kresse株,并确定其为皮炎型强毒株<sup>[13]</sup>,并其致病性进行了系统的研究,从患有严重皮肤炎症的猪体分离并培养PPV,选择胎猪肾细胞系和猪睾丸细胞系进行传代。选择细胞毒和脚趾病变组织匀浆为感染物,分别用皮肤敏感部位(拱嘴、唇、舌、蹄上皮肤和脚趾间皮肤)注射或口服和腹腔同时注射的方式,对12只同窝仔猪进行攻毒处理,试验结果证实,PPV作为唯一病原感染时,被感染猪出现了拱嘴、舌和蹄部的皮肤病变,临床表现为厌食、腹泻和结膜炎,证明PPV可以导致皮肤炎症。Lager等<sup>[14]</sup>选择NADL-8和Kresse两株PPV强毒株对未摄初乳仔猪进行接毒处理,并人工造成仔猪的皮肤损伤进行观察。目的是研究PPV在导致仔猪皮肤炎症过程中的作用以及两株PPV之间的毒力差别。试验结果表明,受伤皮肤处确实存在PPV的复制,但是并未发现明显的皮肤炎症和前面所述的渗出性皮炎或者口蹄处严重的溃烂等。

3.3 仔猪肠炎性腹泻 1983年夏季,Dea等<sup>[15]</sup>在加拿大魁北克省猪场发现大批的仔猪出现腹泻症状,大小集中在2-3周龄,仔猪排泄量大,粪便形式为水样或黄痢,持续时间一般为1 wk,仔猪无呕吐现象,并且保持很好的食欲。试验人员应用电镜观察、双向免疫电泳和免疫荧光等技术对腹泻猪的肠道内容物进行分析。结果发现,有大量的直径为18-26 nm的细小病毒样粒子存在,除轮状病毒外,排除了其他病毒和细菌的干扰之后,证明PPV与仔猪腹泻有一定关联,但PPV是否是腹泻产生的原发因素并未阐明。这是有关于由PPV引起的仔猪腹泻的仅有的报道。

综上,尽管PPV有3个临床表现型,而研究者也通过制作动物模型的方法来研究PPV这些疾病的临床发病情况与病毒感染的联系性,但现在我们对PPV的感染机制,包括细胞受体鉴定等方面还缺少支持性的信息,因此在今后的研究中有必要通过建立更为理想的细胞和动物模型,并利用多种生物学手段,如蛋白质谱等鉴定其细胞结合受体,超微病理分析其病毒在靶器官的精细分布深入揭示PPV的致病机制。

#### 4 猪细小病毒病的免疫及预防

PPV感染目前无法进行治疗。为避免该病的发生,只能采取预防措施,主要是加强饲养管理、环境消毒和疫苗免疫。疫苗目前主要分灭活苗和弱毒疫苗,这都应该和流行毒株进行鉴别。

4.1 种群管理 从未发生过PPV病的猪场和地区,应该杜绝引进病猪和带毒猪,对公猪精液进行检查,PPV阴性者方可使用。发病猪场应特别防止小母猪在第1胎受孕时被感染,或把其配种期拖延到9月龄,因为此时母源抗体已消失,自动免疫力已经产生<sup>[16]</sup>。

4.2 疫苗免疫 最早发现和用于临床的PPV毒株是NADL-2弱毒株,NADL-2弱毒株疫苗是由Paul等将PPV强毒株经过50次以上的细胞连续传代致弱获得的<sup>[17]</sup>,并对怀孕的初产母猪进行了免疫保护试验,发现起到了很好的免疫保护效果。同时又发现在对母猪经口鼻接种PPV致弱苗后,致弱PPV不能经胎盘感染胎儿,但当在子宫内接种PPV致弱苗后,致弱苗不仅可感染胎儿甚至导致胎儿死亡,因此PPV致弱苗应限于非怀孕母猪使用。Fujisaki等从死猪胎儿脑中分离到一株猪细小病毒(90HS株),然后在猪肾细胞上经连续低温(30 °C-35 °C)传代54代,获得了弱毒株,命名为HT株。该弱毒株接种猪,后本身没有病毒

血症和其他临床症状, 并且不能传染其他猪, 但却可以维持长时间的PPV抗体. 目前在日本已经商品化的HT/SK弱毒株, 正是在HT株在此基础上的研发, Akihiro等将HT传代至34代时60℃处理1h建立的安全性更好的HT/SK弱毒株. 广西兽医研究所病毒室蒋玉雯等分离到一株自然弱毒株(PPV-N株)<sup>[18]</sup>, 并于2006年应用PPV-N株弱毒疫苗进行区域试验, 试验结果显示, PPV-N株弱毒疫苗能有效抵抗PPV强毒攻击, 在猪场应用取得了明显的经济和社会效益.

有关PPV灭活苗的报道最早开始与1976年, 20世纪80年代, PPV灭活苗在美国、澳大利亚以及法国等国家得到了普遍的应用. 在PPV的灭活疫苗的研制中, 应用的灭活剂有福尔马林<sup>[19]</sup>、旦一丙内酯(p-pL)(Joo等<sup>[20]</sup>1977)、BEI(二乙烯亚胺)(Wrathall等1984, EdwardS, 1986)以及AEI(一乙酞乙烯亚胺)(潘雪珠等<sup>[21]</sup>1986)等. 目前, 应用于PPV灭活苗的制备中经常采用的佐剂是油水乳剂、氢氧化铝. PPV灭活疫苗的研究、开发与应用已经历了30余年, 目前仍是预防猪细小病毒感染的主要手段.

Martínez等<sup>[22]</sup>(1992)将PPV VP2基因成功的克隆到杆状病毒表达系统中, 利用VP2蛋白自我组装的特性, 在体外成功的表达了PPV类病毒粒子(virus-like particles, VLPs), 用其免疫母猪能诱导产生免疫应答. 其免疫效果与商品化的PPV疫苗的相同. Antonis等应用杆状病毒表达载体系统表达出PPV类病毒粒子, 通过优化表达的条件使其表达量达到工业化生产规模, 经试验表明豚鼠和猪在经注射亚微克剂量的PPV-VLPs油佐剂疫苗后即可诱发产生了高滴度的抗体, 试验表明这种重组的亚单位疫苗克服了传统的PPV疫苗中存在的一些缺点. Sedlik等将PPV VP2作为载体将淋巴细胞脉络丛脑炎病毒(LCMV)的118-32位氨基酸的抗原决定簇区与VP2的N端相连, 然后克隆到杆状病毒表达载体PACYM, 在昆虫细胞中转染表达PPVVP2-LCM 蛋白. 并进行了动物试验, 结果显示该重组蛋白不仅可以诱导强烈的CTL反应, 而且在体内持续时间长达9 mo, 并可抵抗致死量的LCMV攻击<sup>[23]</sup>. 随后, 又将上述表达的PPV-VP2-LCMV蛋白与LCMV的CD8<sup>+</sup>T细胞抗原决定簇多肽共价结合于1 $\mu$ m的脂质微球上一起进行了免疫小鼠的比较, 结果发现两种方法都诱导产生了很强的CD8<sup>+</sup>T细胞反应. 但PPV VP2-LCMV携带的抗原量比脂质体微球少100倍时, 仍能诱导比脂质体微球高6倍的CTL反

应, 并且只有PPV VP2-LCMV免疫的小鼠能抵抗致死量的LCMV的攻击<sup>[24]</sup>, 而脂质体微球却不能. Richard等用PPV VP2作为载体与乙肝病毒HBsAg的抗原决定簇区多肽共价结合, 并利用表达的蛋白免疫小鼠诱导, 结果显示产生了很强的针对插入的HBsAg决定簇的T细胞反应, 同时能抵抗乙肝病毒的致死性攻击. 这些结果均说明PPV VP2类病毒粒子, 作为一种抗原的转载体具有很大的潜在价值, 可为多价重组疫苗的研究创造良好条件.

**4.3 免疫程序** 新生仔猪PPV疫苗的免疫接种可以选择在20周龄左右进行, 后备种猪要在配种前20 d以前接种, 经产母猪应在产后15 d进行, 每年接种2次, 连续3年即可; 种公猪每年春秋两季分别进行; 对于曾发生过PPV病的猪, 大多数猪感染后获得免疫力, 体内已产生持续时间长、滴度较高的抗体, 可以获得良好的保护, 这些猪不需再接种<sup>[25]</sup>.

目前常规灭活疫苗和弱毒疫苗在一定程度上减少了PPV感染大规模的爆发, 但由于此类病毒存在免疫效果欠理想和潜在排毒风险高等不足, 运用生物工程技术开发包括病毒药颗粒和基因工程亚单位疫苗结合新型载体及佐剂的研究还应进一步深入, 以尽快开发出更为安全理想的防治PPV的有效疫苗. 同时在其致病机制方面如其引起腹泻原因及与其他病毒混合感染后机体反应也需要深入研究.

## 5 结论

猪细小病毒为引起母猪繁殖障碍的主要病原体之一, 可以引起初产母猪胎猪死产、木乃伊胎、早期胚胎死亡和不育, 给养猪业造成很大损失. 相关调查发现, PPV和猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)、猪圆环病毒2型(porcine circovirus type 2, PCV2)混合感染的现象非常普遍, 仍然是引起繁殖障碍的重要原因. PPV的早期研究主要集中在病原、理化性质与防治方面, 随后在分子水平上明确了病毒基因组的一级结构、转录与翻译图谱, 但实际研究中仍然存在着许多问题: (1)由于缺少前期的基础研究, 现阶段的PPV研究中, 无法深入地探究病毒各个基因和蛋白的功能, 不能明确病毒与宿主、细胞的相互作用机制, 无法从基因角度区分毒株致病力的强弱、改造毒力基因, 因此构建PPV的感染性克隆, 从分子生物学角度探究PPV的相关情

## ■名词解释

杆状病毒表达系统: 杆状病毒只来源于无脊椎动物, 虽然已发现600多种杆状病毒, 但进行分子生物学研究的不到20种. 杆状病毒的基因组为单一闭合环状双链DNA分子, 大小为80-160 kbp, 其基因组可在昆虫细胞核复制和转录. DNA复制后组装在杆状病毒的核衣内, 后者具有较大的柔韧性, 可容纳较大片段的外源DNA插入, 因此是表达大片段DNA的理想载体.

## ■同行评价

本文内容全面, 具有一定的可读性.

况将成为PPV研究的重要内容; (2)病毒的致病机制研究尚停留在理论分析上, 对于为什么引起死胎、畸形胎、木乃伊胎、流产及病弱仔猪, 对母猪有无影响等一系列问题都有待于试验的探索与验证, 有待进一步的研究.

## 6 参考文献

- Siegl G. The parvoviruses. *Virol Monogr* 1976; 15: 1-109 [PMID: 181899]
- Bachmann PA, Hoggan MD, Kurstak E, Melnick JL, Pereira HG, Tattersall P, Vago C. Parvoviridae: second report. *Intervirology* 1979; 11: 248-254 [PMID: 372134 DOI: 10.1159/000149041]
- Zeeuw E J, Leinecker N, Herwig V. Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. *J Gen Virol* 2007; 88: 420-427 [PMID: 17251558 DOI: 10.1099/vir.0.82302-0]
- 胡家芬, 张楚瑜. 湖北猪场猪细小病毒的首次分离与鉴定. *微生物杂志* 1992; 12: 31-34
- 藺文成, 胡峰, 任梅, 崔玉东, 钱爱东, 崔尚金. 猪细小病毒病国内流行状况以及防治策略. *猪业科学* 2010; 27: 90-95
- Kerr JR, Cotmore SF, Bloom ME, Linden RM, Parrish CR. Parvoviruses. London: Edward Arnold Publishers Ltd., 2006: 5-14
- 张代芬, 张东, 马孟根, 陈斌, 王泽洲, 张永宁, 邢坤, 胡诚隆, 罗若兰. 四川省部分种畜(猪)场猪细小病毒血清抗体的检测. *四川畜牧兽医* 2002; 29: 20
- 黄夏, 陈义祥, 何丹. 广西猪细小病毒与PRRSV、CSFV、PCV2、PRV混合感染的检测. *广西畜牧兽医* 2007; 23: 54-56
- Bachmann PA, Sheffy BE, Vauhan JT. Experimental in utero infection of fetal pigs with a porcine parvovirus. *Infect Immun* 1975; 12: 455-460 [PMID: 1165118]
- Mengeling WL, Cutlip RC. Pathogenesis of in utero infection: experimental infection of five-week-old porcine fetuses with porcine parvovirus. *Am J Vet Res* 1975; 36: 1173-1177 [PMID: 1098529]
- Wilhelm S, Zeeuw EJ, Selbitz HJ, Truyen U. Tissue distribution of two field isolates and two vaccine strains of porcine parvovirus in foetal organs after experimental infection of pregnant sows as determined by real-time PCR. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2005; 52: 323-326 [PMID: 16316393 DOI: 10.1111/j.1439-0450.2005.00878.x]
- Song C, Zhu C, Zhang C, Cui S. Detection of porcine parvovirus using a taqman-based real-time pcr with primers and probe designed for the NS1 gene. *Virol J* 2010; 7: 353 [PMID: 21126330 DOI: 10.1186/1743-422X-7-353]
- Luo R, Xiao S, Jiang Y, Jin H, Wang D, Liu M, Chen H, Fang L. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) suppresses interferon-beta production by interfering with the RIG-I signaling pathway. *Mol Immunol* 2008; 45: 2839-2846 [PMID: 18336912 DOI: 10.1016/j.molimm.2008.01.028]
- Lager KM, Mengeling WL. Porcine parvovirus associated with cutaneous lesions in piglets. *J Vet Diagn Invest* 1994; 6: 357-359 [PMID: 7948207 DOI: 10.1177/104063879400600313]
- Dea S, Elazhary MA, Martineau GP, Vaillancourt J. Parvovirus-like particles associated with diarrhea in unweaned piglets. *Can J Comp Med* 1985; 49: 343-345 [PMID: 2412678]
- 戎伟, 梅双双, 杨润德. 猪细小病毒的危害检测与防控. *中国兽医杂志* 2004; 40: 45-47
- Mengeling WL, Pejsak Z, Paul PS. Biological assay of attenuated strain NADL-2 and virulent strain NADL-8 of porcine parvovirus. *Am J Vet Res* 1984; 45: 2403-2407 [PMID: 6098200]
- 蒋玉雯, 黄安国, 冯军. 猪细小病毒N株的生物学和免疫学特征性研究. *畜牧兽医学报* 1992; 23: 73-79
- Fujisaki Y, Murakami Y. Immunity to infection with porcine parvovirus in pigs inoculated with the attenuated HT- strain. *Natl Inst Anim Health Q (Tokyo)* 1982; 22: 36-37 [PMID: 7078661]
- Joo HS, Johnson RH. Serological responses in pigs vaccinated with inactivated porcine parvovirus. *Aust Vet J* 1977; 53: 550-552 [PMID: 565631 DOI: 10.1111/j.1751-0813.1977.tb07945.x]
- 潘雪珠, 栗寿初, 张婉华. 猪细小病毒灭活疫苗的安全性和免疫力. *上海农业学报* 1998; 4: 1-10
- Martínez C, Dalsgaard K, López de Turiso JA, Cortés E, Vela C, Casal JI. Production of porcine parvovirus empty capsids with high immunogenic activity. *Vaccine* 1992; 10: 684-690 [PMID: 1523879 DOI: 10.1016/0264-410X(92)90090-7]
- Sedlik C, Saron M, Sarraseca J, Casal I, Leclerc C. Recombinant parvovirus-like particles as an antigen carrier: a novel nonreplicative exogenous antigen to elicit protective antiviral cytotoxic T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 7503-7508 [PMID: 9207121]
- Sedlik C, Dridi A, Deriaud E, Saron MF, Rueda P, Sarraseca J, Casal JI, Leclerc C. Intranasal delivery of recombinant parvovirus-like particles elicits cytotoxic T-cell and neutralizing antibody responses. *J Virol* 1999; 73: 2739-2744 [PMID: 10074120 DOI: 10.1073/pnas.94.14.7503]
- 卫功树. 浅谈猪细小病毒与母猪繁殖失能. *现代农业科技* 2007; (14): 176

编辑 李军亮 电编 闫晋利





# 纳米氧化物材料在仔猪抗腹泻中的应用

杨青, 任晓峰

杨青, 湖南农业大学动物医学院临床兽医系 湖南省长沙市 410128

任晓峰, 东北农业大学动物医学院预防兽医系 黑龙江省哈尔滨市 150030

杨青, 博士, 教授, 主要从事家畜繁殖障碍机制的研究。

北京化工大学化工资源有效利用国家重点实验室开放课题基金资助项目, No. CRE-2011-C-101

作者贡献分布: 本文主要由杨青负责文章的撰写; 任晓峰负责修改与审校。

通讯作者: 杨青, 教授, 410128, 湖南省长沙市芙蓉区农大路1号, 湖南农业大学动物医学院。qingyanghn@gmail.com  
电话: 0731-84673718

收稿日期: 2012-09-17 修回日期: 2012-12-20

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-08

2013; 21(1): 71-74

## 摘要

仔猪腹泻是猪场常见的一种肠道疾病, 由于其高发病率和死亡率, 严重影响仔猪的健康生长和存活。由于抗生素的使用越来越受到限制, 新型的饲料添加剂或药物越来越受到重视。本文主要综述纳米氧化锌和蒙脱石在抗仔猪腹泻中的应用, 旨在为仔猪健康生长提供参考。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 纳米材料; 腹泻; 仔猪; 氧化锌; 蒙脱石

杨青, 任晓峰. 纳米氧化物材料在仔猪抗腹泻中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 71-74

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/71.asp>

## 0 引言

仔猪腹泻是目前规模化养猪生产中一种较常见多发病, 据调查30 kg以下的仔猪全年平均发病率可达46.5%, 死亡率10.3%, 冬季发病率和死亡率更高<sup>[1]</sup>。仔猪腹泻造成的危害很大, 轻度腹泻会导致仔猪营养不良及生长受阻, 严重时则导致仔猪脱水, 甚至死亡, 有些仔猪即使愈后也往往生长发育不良, 免疫力下降。引起腹泻的原因很复杂, 根据其病因可分为感染性腹泻和非感染性腹泻, 其中感染性腹泻主要由病原微生物或寄生虫所引起, 包括细菌、病毒和寄生虫等, 非感染性腹泻主要因环境变化、断奶等外界刺激以及饲喂管理不当等因素引起。腹泻会引起机体内环境的改变, 造成胃肠道功能紊乱。饲料中添加抗生素是防治畜禽腹泻的重要措施, 但抗生素的长期使用会诱导病原微生物产生耐药性、畜产品及环境中抗生素的残留等问题, 而且会导致消化道中有益菌的增殖, 从而影响肠道微生态平衡失调, 即产生抗生素相关性腹泻。因此, 如何有效地防治仔猪腹泻、寻找安全、高效、无残留的物质来替代抗生素是畜禽营养与免疫学研究的重要方向。

## ■背景资料

仔猪腹泻是猪场常见的一种肠道疾病, 目前没有安全有效的防治方法。纳米材料的兴起使其在很多领域都应用发展迅速, 但其在畜牧业中还应用还处于起始阶段。本文综述了近年来纳米氧化物氧化锌和蒙脱石等在抗仔猪腹泻中的应用, 这对该病的防治有一定的意义。

## ■同行评议者

吴道澄, 教授, 西安交通大学生命学院

## Use of nano-oxide materials as anti-diarrhea agents in piglets

Qing Yang, Xiao-Feng Ren

Qing Yang, Department of Clinical Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan Province, China

Xiao-Feng Ren, Department of Preventive Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang Province, China

Supported by: Beijing University of Chemical Technology State Key Laboratory of Chemical Resource Open Topic Funded, No. CRE-2011-C-101

Correspondence to: Qing Yang, Professor, Department of Clinical Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, 1 Nongda Road, Furong District, Changsha 410128, Hunan Province, China. qingyanghn@gmail.com

Received: 2012-09-17 Revised: 2012-12-20

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Diarrhea is a common intestinal disease with high morbidity and mortality, seriously affecting the growth performance and survival of piglets. Due to the restricted use of antibiotics, new feed additives or drugs have been paid more and more attention. This article reviews the use of nano-zinc oxide and montmorillonite as anti-diarrhea agents in piglets.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Nano-oxide materials; Diarrhea; Piglet; Zinc oxide; Montmorillonite

Yang Q, Ren XF. Use of nano-oxide materials as anti-diarrhea agents in piglets. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

## ■研发前沿

随着人们对食品安全与环境保护意识的不断增强及对抗生素认识的不断深入,畜产品药物残留以及抗生素的耐药性等问题已越来越受到关注。

## 1 纳米氧化锌在仔猪抗腹泻中的研究

**1.1 高锌的抗腹泻作用** 锌是动物生长的必需元素,由于抗生素的使用越来越受到限制,锌盐由于其很好的抗菌抑菌作用,在防止断奶仔猪腹泻中发挥着重要作用。断奶仔猪日粮中添加锌可提高日增重,减少腹泻的发生<sup>[2]</sup>;当添加药理水平的氧化锌(3 000 mg/kg)时,可以有效地控制仔猪腹泻,改善仔猪生产性能<sup>[3-6]</sup>。研究表明锌能保持小肠黏膜的完整性,促进小肠绒毛的发育和营养的吸收,断奶后仔猪饲料中添加氧化锌会使整个小肠黏膜厚度、绒毛高度、绒毛宽度和绒毛高度隐窝深度比值增加,而隐窝深度降低<sup>[7]</sup>;氧化锌还能维持肠道微生物群落和大肠菌落的稳定,增强机体对病原的抵抗力<sup>[8,9]</sup>。日粮中锌的补充能在mRNA和蛋白水平减少干细胞因子(stem cell factor, SCF)的表达,从而导致小肠黏膜巨细胞的减少和组胺的释放,可在一定程度上预防与断奶引起的相关腹泻<sup>[5]</sup>。除了抗菌作用外,高锌还可通过促进消化道增加Ghrelin的合成提高采食量,从而有助于猪的生长<sup>[10]</sup>。

目前,在乳猪料的生产中添加药理水平的氧化锌已成为普遍利用的技术,但高锌日粮不仅带来了锌源的浪费而且还造成环境污染的问题。高锌的拮抗作用会影响其他微量元素的吸收,导致铜、铁吸收的不平衡,影响动物健康。高锌还可以与饲料中的植酸形成螯合盐复合物导致饲料中植酸酶的水解效率下降<sup>[11]</sup>。也有研究认为,当锌摄入量超过体内各种排泄器官的排泄能力,则会破坏机体内恒稳机制。因此,长期使用高锌日粮仔猪就会出现皮肤苍白、被毛粗乱卷曲、贫血等现象<sup>[12]</sup>。此外,无机锌不易被吸收,高锌日粮造成大部分锌随粪便排泄到环境中,造成环境污染,最终也将危害到人类健康<sup>[13,14]</sup>。

### 1.2 纳米氧化锌在仔猪抗腹泻中的应用

**1.2.1 纳米氧化锌的特性:** 纳米科技兴起于20世纪80年代后期,由于纳米材料独特的物理化学特性,在各个领域越来越受到重视。目前在动物生产中的研究和应用还比较少。纳米氧化锌又称超微细氧化锌,由极细晶粒组成的白色超微细粉末,其粒径介于1-100 nm的新型高功能精细无机产品,具有一般氧化锌无法比拟的性能,包括比表面积大、表面能高、表面原子所占比例大以及纳米材料所特有的一些效应等<sup>[15]</sup>。纳米氧化锌由于物理性质的改变,其物理特性表现为无毒性、无味、无刺激、易分解、不变质、热稳定性好、非迁移性、非线性光传导、荧光性、压电性、静电屏蔽、屏蔽紫外线等特性;

由于纳米氧化锌比表面积大,很容易被吸收。另外,纳米氧化锌有极强的化学活性,能与多种有机物发生氧化反应(包括细菌内的有机物),将大部分细菌、病毒杀死,同时还具有特异催化和光催化等化学特性。

**1.2.2 纳米氧化锌的抗腹泻作用:** 马恒东等<sup>[16]</sup>通过翻转肠囊法研究仔猪小肠吸收纳米氧化锌的实验发现:纳米氧化锌的吸收速率显著高于饲料级氧化锌。饲料中添加纳米氧化锌,比一般氧化锌的药效大幅度提高,低剂量纳米氧化锌可替代高锌促生长效果。断奶仔猪日粮中添加375 mg/kg的“晶锌蓓”(含95%的纳米氧化锌)能显著提高仔猪的日增重和降低仔猪的腹泻率,而且在日增重、料肉比以及仔猪腹泻等指标上考察可替代高锌3 000 mg/kg<sup>[17]</sup>。仔猪日粮中添加300 mg/kg的纳米氧化锌可提高仔猪血清中的免疫球蛋白IgM以及肝脏组织中金属硫蛋白(MT)的含量,使仔猪的免疫能力增强<sup>[18]</sup>。添加400 mg/kg纳米氧化锌时,其抗腹泻效果可以达到甚至超过高锌所产生的效果<sup>[19]</sup>。由于纳米氧化锌具有优异的吸附性能和杀菌作用,利用其吸附作用可研发具有特异性吸附的饲料添加剂,降低饲料中有毒、有害物质对动物的危害;利用其杀菌作用,研发对有害菌具有特异性杀灭作用,形成动物肠道健康微生态的保健添加剂;同时也可研发纳米氧化锌免疫佐剂,提高疫苗对畜禽的免疫效果。

## 2 蒙脱石在仔猪抗腹泻中的应用

**2.1 蒙脱石的特性** 蒙脱石是一种天然形成的、可膨胀的硅酸盐矿物质,具有膨胀性、吸附性、触变性、带电和离子交换等特性,其结构为铝氧八面体层与硅氧四面体层交替排列的2:1型层状结构。蒙脱石具有天然纳米级结构,层间距无水时为0.096 nm,充分水化的环境中,吸水后体积增大20-30倍。蒙脱石目前在临床上被广泛用来治疗腹泻和消化道溃疡,是一种新型的矿物药剂。由于蒙脱石具有吸附、固定和阳离子交换等特性在养猪业中的应用也越来越广泛。许多试验表明蒙脱石具有吸附细菌、病毒及其毒素和保护消化道黏膜的作用,可用于饲料脱霉、治疗仔猪腹泻和促进仔猪生长等。

**2.2 蒙脱石抗仔猪腹泻的作用** 与氧化锌作用不同的是,蒙脱石本身无杀菌或抑菌作用,由于其具有层状结构和不均匀性带点从而表现出强的吸附性和阳离子交换能力,可固定和吸附消化道内的霉菌毒素、病毒、病菌及其产生的毒素,主要通过保护和修复肠道黏膜而起到治疗腹泻

的作用<sup>[20]</sup>。经改性和纳米化处理后的蒙脱石, 其抗菌性能明显增强<sup>[21]</sup>。纳米蒙脱石是一种新型的具有抗腹泻和饲料脱霉作用的饲料添加剂。由于纳米蒙脱石比普通蒙脱石具有更大的比表面积和强吸附力, 研究表明纳米蒙脱石对治疗仔猪腹泻的疗效比较显著<sup>[12,22]</sup>, 在生产中可替代抗生素和高锌, 是无抗生素首选添加剂。用纳米蒙脱石对仔猪腹泻有很好的治疗效果, 呈一定的剂量依赖作用<sup>[22-24]</sup>; 在治疗仔猪白痢和早期断奶腹泻综合征发现, 其治疗总有效率高于抗菌药物烟酸诺氟沙星注射液, 当与抗菌药物联用时抗腹泻效果更好, 纳米蒙脱石对非感染仔猪腹泻总有效率达94.1%<sup>[23]</sup>。

由于蒙脱石具有独特的物理和化学特性, 近年来, 蒙脱石还被作为载体来控制药物分子的释放以及基因治疗等。蒙脱石作为载体, 可使药物分布更广泛、有利于药物的溶解、提高稳定性并调整药物的释放方式等<sup>[25-28]</sup>。最近有研究人员合成氧化锌-蒙脱石聚合物(ZnO-MMT), 这种ZnO-MMT可以将氧化锌插入到蒙脱石片层间, 同时还可就将氧化锌吸附到蒙脱石的表面<sup>[29,30]</sup>。断奶仔猪日粮中添加500或750 mg/kg的ZnO-MMT在提高仔猪生长性能、减轻断奶后腹泻, 增强肠黏膜的完整性以及胰腺和小肠内容物中的消化酶, 其效率相当于添加2 000 mg/kg的氧化锌, 这种低浓度的ZnO-MMT喂养断奶仔猪不仅能保证生猪的生长还可以减少环境污染<sup>[31]</sup>。

由于纳米蒙脱石可高效吸附猪、鸡饲料中的黄曲霉毒素, 阻止其通过吸收途径进入体内, 并从粪便中排出体外, 从而降低毒素在动物体组织中的残留, 减轻毒素对动物生长的不良影响<sup>[32-36]</sup>。纳米蒙脱石中还含有硒等微量元素, 可以弥补微量元素的不足, 对畜禽的生长有促进作用。纳米蒙脱石还可方便地应用于猪的垫料中, 大量吸附室内氨等有害气体, 保持环境干燥, 抑制细菌繁殖, 这将有助于防御呼吸道疾病和断奶仔猪腹泻综合征。

### 3 结论

随着人们对食品安全与环境保护意识的不断增强及对抗生素认识的不断深入, 畜产品药物残留以及抗生素的耐药性等问题已越来越受到关注。目前, 寻找安全、高效、无残留的物质来替代抗生素是畜禽养殖的一个重要方向。尽管纳米材料在畜牧业中的研究和应用还处于初级阶段, 但由于其独特的化学和物理性质已显示了其优势。纳米材料特别是一些天然纳米矿物不

仅可以抗腹泻、促进动物生长、剂量小等优势, 更重要的是可减少甚至对环境无污染, 有利于保障人类健康, 因此将会在畜牧业生产中具有非常广泛的应用前景。

### 4 参考文献

- 1 胡德武. 仔猪腹泻病的综合防治. 畜禽业 2012; (1): 50-51
- 2 Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 447S-463S [PMID: 9701160]
- 3 Hahn JD, Baker DH. Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacologic levels of zinc. *J Anim Sci* 1993; 71: 3020-3024 [PMID: 8270523]
- 4 Hill GM, Mahan DC, Carter SD, Cromwell GL, Ewan RC, Harrold RL, Lewis AJ, Miller PS, Shurson GC, Veum TL. Effect of pharmacological concentrations of zinc oxide with or without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance. *J Anim Sci* 2001; 79: 934-941 [PMID: 11325200]
- 5 Ou D, Li D, Cao Y, Li X, Yin J, Qiao S, Wu G. Dietary supplementation with zinc oxide decreases expression of the stem cell factor in the small intestine of weanling pigs. *J Nutr Biochem* 2007; 18: 820-826 [PMID: 17475461 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2006.12.022]
- 6 Molist F, Hermes RG, de Segura AG, Martín-Orúe SM, Gasa J, Manzanilla EG, Pérez JF. Effect and interaction between wheat bran and zinc oxide on productive performance and intestinal health in post-weaning piglets. *Br J Nutr* 2011; 105: 1592-1600 [PMID: 21477404 DOI: 10.1017/S0007114510004575]
- 7 Li X, Yin J, Li D, Chen X, Zang J, Zhou X. Dietary supplementation with zinc oxide increases Igf-I and Igf-I receptor gene expression in the small intestine of weanling piglets. *J Nutr* 2006; 136: 1786-1791 [PMID: 16772438]
- 8 Katouli M, Melin L, Jensen-Waern M, Wallgren P, Möllby R. The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. *J Appl Microbiol* 1999; 87: 564-573 [PMID: 10583685 DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00853.x]
- 9 Owusu-Asiedu A, Nyachoti CM, Marquardt RR. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid, or antibiotic. *J Anim Sci* 2003; 81: 1790-1798 [PMID: 12854816]
- 10 Yin J, Li X, Li D, Yue T, Fang Q, Ni J, Zhou X, Wu G. Dietary supplementation with zinc oxide stimulates ghrelin secretion from the stomach of young pigs. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 783-790 [PMID: 18926680 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2008.07.007]
- 11 Augspurger NR, Spencer JD, Webel DM, Baker DH. Pharmacological zinc levels reduce the phosphorus-releasing efficacy of phytase in young pigs and chickens. *J Anim Sci* 2004; 82: 1732-1739 [PMID: 15217001]
- 12 王修启, 陈宝妮, 戴文滔, 武力, 卓曲, 李世波, 黄周可, 韩秀山, 谌刚. 纳米蒙脱石替代氧化锌对断奶仔猪生产性能的影响. 湖北畜牧兽医 2007; (9): 7-9
- 13 杨定清, 傅绍清. 施用高锌猪粪对土壤环境污染的影响. 四川环境 2000; 19: 30-31
- 14 辜玉红, 童晓莉, 钟正泽. 猪日粮中添加不同剂量铜锌砷对环境污染程度的研究. 当代畜牧 2005; (8): 42-84

### ■应用要点

与氧化锌作用不同的是, 蒙脱石本身无杀菌或抑菌作用, 由于其具有层状结构和不均匀性带点从而表现出强的吸附性和阳离子交换能力, 可固定和吸附消化道内的霉菌毒素、病毒、病菌及其产生的毒素, 主要通过保护和修复肠道黏膜而起到治疗腹泻的作用。



## ■同行评价

本文综述了纳米氧化锌、蒙脱石等在防治仔猪腹泻方面的应用,对利用安全、高效、无残留的物质来替代抗生素有一定意义。

- 15 程晓丽, 霍丽华, 徐英明, 赵辉, 高山, 赵经贵. 氧化锌纳米粉体的制备及其光催化性能研究. 光散射学报 2006; 18: 306-308
- 16 马恒东, 王之盛, 周安国, 任俊玲, 王讯. 翻转肠囊法研究仔猪小肠对纳米氧化锌的吸收. 中国畜牧杂志 2005; 41: 25-26
- 17 王建辉, 廖三赛, 李德雄. 晶锌蓓(纳米氧化锌)对断奶仔猪生产性能的影响. 养殖与饲料 2003; (7): 8-9
- 18 方洛云, 邹晓庭, 蒋林树, 吴国娟. 不同锌源对断奶仔猪免疫和抗氧化作用的影响. 中国兽医学报 2005; 25: 201-203
- 19 喻兵权, 张宏福, 唐湘方, 卢庆萍, 陆伟, 邢方军. 纳米氧化锌对断奶仔猪生长性能及腹泻率的影响. 中国饲料 2008; (1): 18-21
- 20 李旭, 陈阳. 蒙脱石在养猪业中的应用. 养猪 2011; (4): 18-21
- 21 Han YS, Lee SH, Choi KH, Park I. Preparation and characterization of chitosan-clay nanocomposites with antimicrobial activity. *J Phys Chem Solids* 2010; 71: 464-467 [DOI: 10.1016/j.jpcs.2009.12.012]
- 22 王修启, 戴文滔, 陈宝妮, 武力, 卓曲, 黎晓林, 黄周可. 不同水平纳米蒙脱石对断奶仔猪生产性能的影响. 粮食与饲料工业 2008; (1): 36-37
- 23 谢长青, 吕大丰, 谌刚, 黄周可, 韩秀山. 纳米蒙脱石治疗仔猪腹泻的临床效果观察. 吉林畜牧兽医 2006; 27: 7-9, 11
- 24 韩秀山, 应华, 陈法荣, 王国中, 许家亮. 纳米蒙脱石在乳仔猪饲料中替代氧化锌的试验. 河南畜牧兽医 2009; 30: 44
- 25 Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C, Caramella C. Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations. *Appl Clay Sci* 2007; 36: 22-36 [DOI: 10.1016/j.clay.2006.06.015]
- 26 Zheng JP, Luan L, Wang HY, Xi LF, Yao KD. Study on ibuprofen/montmorillonite intercalation composites as drug release system. *Appl Clay Sci* 2007; 36: 297-301 [DOI: 10.1016/j.clay.2007.01.012]
- 27 田智慧, 路新卫, 朱全红, 朱志博, 韦莉萍, 丁婷, 周春琼. 5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释药物的制备及性能. 世界华人消化杂志 2012; 20: 60-63
- 28 Joshi GV, Patel HA, Kevadiya BD, Bajaj HC. Montmorillonite intercalated with vitamin B1 as drug carrier. *Appl Clay Sci* 2009; 45: 248-253 [DOI: 10.1016/j.clay.2009.06.001]
- 29 Fatimah I, Wang SB, Wulandari D. ZnO/montmorillonite for photocatalytic and photochemical degradation of methylene blue. *Appl Clay Sci* 2011; 53: 553-560 [DOI: 10.1016/j.clay.2011.05.001]
- 30 Khaorapapong N, Khumchoo N, Ogawa M. Preparation of zinc oxide-montmorillonite hybrids. *Mater Lett* 2011; 65: 657-660 [DOI: 10.1016/j.matlet.2010.11.052]
- 31 Hu C, Song J, You Z, Luan Z, Li W. Zinc oxide-montmorillonite hybrid influences diarrhea, intestinal mucosal integrity, and digestive enzyme activity in weaned pigs. *Biol Trace Elem Res* 2012; 149: 190-196 [PMID: 22539019 DOI: 10.1007/s12011-012-9422-9]
- 32 齐德生, 刘凡, 于炎湖, 何万领, 涂华荣. 蒙脱石及改性蒙脱石对黄曲霉毒素B1的吸附研究. 畜牧兽医学报 2003; 34: 620-622
- 33 Shi YH, Xu ZR, Feng JL, Xia MS, Hu CH. Effects of modified montmorillonite nanocomposite on growing/finishing pigs during aflatoxicosis. *Asian-Aust J Anim Sci* 2005; 18: 1305-1309
- 34 Shi YH, Xu ZR, Feng JL, Wang CZ. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Anim Feed Sci Tech* 2006; 129: 138-148 [DOI: 10.1016/j.anifeeds.2005.12.006]
- 35 Shi YH, Xu ZR, Wang CZ, Sun Y. Efficacy of two different types of montmorillonite to reduce the toxicity of aflatoxin in pigs. *New Zeal J Agr Res* 2007; 50: 473-478 [DOI: 10.1080/00288230709510315]
- 36 Shi YH, Xu ZR, Sun Y, Wang CZ, Feng JL. Effects of two different types of montmorillonite on growth performance and serum profiles of broiler chicks during aflatoxicosis. *Turk J Vet Anim Sci* 2009; 33: 15-20

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012年12月7日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# 贲门失弛缓症的研究进展

王 爽, 刘冰熔

王爽, 刘冰熔, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150000

作者贡献分布: 本文综述由王爽完成; 刘冰熔审核。

通讯作者: 刘冰熔, 教授, 主任医师, 150000, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。liubingrong@medmail.com.cn

电话: 0451-86605980

收稿日期: 2012-11-19 修回日期: 2012-12-18

接受日期: 2012-12-20 在线出版日期: 2013-01-08

## Recent progress in treatment of achalasia

Shuang Wang, Bing-Rong Liu

Shuang Wang, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China  
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor & Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. liubingrong@medmail.com.cn  
Received: 2012-11-19 Revised: 2012-12-18  
Accepted: 2012-12-20 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Achalasia is a rare primary esophageal motility disorder characterized by impaired relaxation of the lower esophageal sphincter, absent or decreased esophageal peristaltic waves and synchronous contractions. As the exact pathogenesis of the disease remains unclear, treatment options focus on the alleviation of the functional obstruction caused by lower esophageal sphincter and prevention of gastroesophageal reflux disease at the same time. Treatment modalities include pharmacological therapy, interventional therapy, surgical treatment and spinal rotation massage. This article reviews the latest progress in treatment of achalasia, with particular emphasis on the evolution of main treatments which include endoscopic pneumatic dilation, Heller myotomy and per-oral endoscopic myotomy (POEM).

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Achalasia; Treatment; Heller myotomy; Per-oral endoscopic myotomy; Endoscopic pneumatic dilation

Wang S, Liu BR. Recent progress in treatment of achalasia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(1): 75-81

## 摘要

贲门失弛缓症是一种罕见的原发性食管动力障碍性疾病, 以食管下段括约肌的松弛功能受损, 食管蠕动波减少或消失, 食管同步收缩为特征。由于本病的发病机制仍不明确, 现有的治疗方式主要以缓解由食管下段括约肌引起的功能性梗阻为目的, 同时保持降低食管下段括约肌压力与预防发生胃食管返流性疾病之间的平衡。本病的治疗方式包括药物治疗, 介入治疗, 手术治疗和中医整脊疗法。本文就贲门失弛缓症的最新治疗进展作一综述, 重点讨论贲门失弛缓症现有的主要治疗方式包括气囊扩张术, Heller肌切开术及经口内镜下肌切开术(per-oral endoscopic myotomy, POEM)的进展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 贲门失弛缓症; 治疗; Heller肌切开; 经口内镜下肌切开术; 内镜下气囊扩张术

王爽, 刘冰熔. 贲门失弛缓症的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 75-81

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/75.asp>

## 0 引言

贲门失弛缓症(achalasia)是以食管下段括约肌(lower esophageal sphincter, LES)松弛功能受损, 食管蠕动波减少或消失, 食管同步收缩为特征的罕见的原发性食管动力障碍性疾病。其每年患病率约为10/100 000, 发病率约为1/100 000<sup>[1,2]</sup>。本病的发生可能与食管肌间神经丛的自身免疫反应有关, 导致抑制神经元减少而无法拮抗兴奋性胆碱能神经元的作用, 从而引起胃食管连接部(gastroesophageal junction, GEJ)的功能性梗阻<sup>[3]</sup>。临床表现为吞咽困难、食物反流、胸骨后疼痛、体质量减轻、夜间咳嗽和烧心<sup>[4]</sup>。有上诉症状者, 通过钡透、胃镜检查、标准食管

## ■背景资料

贲门失弛缓症是一种罕见的原发性食管动力障碍性疾病, 以食管下段括约肌(LES)松弛功能受损, 食管蠕动波减少或消失, 食管同步收缩为特征。由于其发病机制仍不明确, 现有的治疗方式主要以缓解由LES引起的功能性梗阻为目的。目前主要的治疗方式包括气囊扩张术, 腹腔镜Heller肌切开术和经口内镜下肌切开术(POEM)。

## ■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

## ■ 研发前沿

目前,研究者通过各种途径寻找贲门失弛缓症安全有效的治疗方式,其中以POEM及寻找创伤性最小的Heller肌切开术为研究重点。POEM作为一种新的治疗方式,其长期疗效有待于观察。同时,如何预防治疗过度所致胃食管反流性疾病的发生有待进一步研究。

测压或高分辨率食管测压确诊为贲门失弛缓症<sup>[5-7]</sup>。目前,本病的发病机制仍不明确,所以现有的治疗方式主要以缓解由LES引起的功能性梗阻为目的。同时,治疗应基于以下两者之间的平衡:降低LES压力;预防可发展为Barrett's食管,甚至腺癌的胃食管返流性疾病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的发生<sup>[8]</sup>。治疗方式包括药物治疗、介入治疗、手术治疗和中医整脊疗法。目前,最有效的治疗方式仍存在争议。本文就贲门失弛缓症的最新治疗进展作一综述,重点讨论贲门失弛缓症的主要治疗方式包括气囊扩张术, Heller肌切开术及经口内镜下肌切开术(peroral endoscopic myotomy, POEM)的进展。

## 1 药物治疗

**1.1 口服药物治疗** 目前,贲门失弛缓症的治疗没有特效药,口服药物治疗在贲门失弛缓症的现有治疗方式中疗效最差。常用的药物包括钙通道阻断剂与长效硝酸盐类<sup>[9]</sup>。硝酸盐类通过增加抑制神经递质(neurotransmitter, NO)使LES松弛<sup>[10]</sup>;钙通道阻滞剂通过抑制钙离子内流,从而抑制LES收缩<sup>[11]</sup>。两种药物均能降低LES压力,但是疗效短暂,作用效果有限,不良反应频繁发生(低血压、头痛和外周性水肿等)<sup>[12]</sup>,长期应用可耐药。因此,药物治疗主要为不能耐受有创治疗的患者保留或者作为确定治疗方式前的过渡治疗<sup>[13]</sup>。

**1.2 内镜下肉毒杆菌毒素注射(endoscopic botulinum toxin injection, EBTJ)** 严格地说,向LES注射肉毒杆菌毒素是一种药物治疗<sup>[5]</sup>。A型肉毒杆菌毒素(botulin toxin type A, BTA)被用于治疗贲门失弛缓症,其切割突触前膜的SNAP25分子,阻断乙酰胆碱的释放,从而阻断胆碱能神经支配,降低LES压<sup>[14]</sup>。研究表明单次EBTJ的临床有效期短,治疗后6 mo内有超过50%的患者复发<sup>[15]</sup>,然而对首次治疗有效的患者反复进行EBTJ后,两年内的有效率可达60%-85%<sup>[16]</sup>。与气囊扩张或手术治疗相比,EBTJ治疗缓解率低,复发率高<sup>[17]</sup>。近期研究显示,EBTJ与气囊扩张术结合治疗的有效率较单独气囊扩张术治疗高<sup>[18]</sup>。对EBTJ反应良好的因子包括强力型贲门失弛缓症、老年患者和LES压力不超过正常上限的50%<sup>[5]</sup>。而胸痛,年轻患者和收缩振幅>180 mmHg分别预测了EBTJ治疗的症状缓解期<6 mo<sup>[19]</sup>。研究指出BTA可以向周围肌肉及注射点远端扩散,出现构音困难等神经传导阻滞症状<sup>[20]</sup>,其发生率低。反

复EBTJ可致食管肌层与黏膜层黏连,增加手术治疗中穿孔的风险<sup>[21,22]</sup>。总之,EBTJ治疗安全,操作简单,有效期短,反复治疗致手术困难。目前EBTJ治疗主要为老年患者和有严重并存病的患者保留,亦可作为过渡治疗<sup>[23]</sup>。

## 2 介入治疗

**2.1 内镜下气囊扩张术(endoscopic pneumatic dilation, EPD)** 目前,EPD被认为是治疗贲门失弛缓症最有效的非手术治疗方式<sup>[20]</sup>。其原理是在试图保持黏膜完整的情况下,于胃食管连接部膨胀气囊,使肌纤维破裂,从而降低LES压力<sup>[24]</sup>。研究显示当EPD术后LES压力<10-15 mmHg时,患者的症状将得到长期缓解;而术后LES压力>20 mmHg时,超过45%的患者需要再次治疗<sup>[25]</sup>。EPD最严重的并发症是穿孔,其发生率<1%-3%<sup>[25]</sup>。在多次扩张中,首次扩张的穿孔率最高,特别是强力型贲门失弛缓症的患者<sup>[26]</sup>。这可能与首次加压过快过高致食管壁撕裂,气囊尖端遇阻时滑破变薄的食管下端及患者恶心呕吐时间间接增大的气囊压力有关<sup>[27]</sup>。另外,>65岁的患者在EPD中易穿孔<sup>[28]</sup>。当平均术后LES压力为9.66 mmHg时,患者会出现暂时的GERD的症状,其中胸痛是最常见的。EPD其他的并发症较少见,包括黏膜撕裂致胃肠道出血、食管壁血肿和误吸等<sup>[29]</sup>。EPD术后5年有效率为75%-90%<sup>[25]</sup>,单次EPD术后10年有效率为40%-60%<sup>[30]</sup>,研究显示反复进行EPD,可使其长期有效率≥90%<sup>[25]</sup>。同时,EPD术后的复发率与手术时患者的年龄相关,随着年龄的增加,复发率增高。在10-20岁的患者中,术后有90%需要再次治疗,而在>50岁的患者中不到30%的患者需要再次治疗<sup>[25]</sup>。EPD的优点包括门诊操作、疼痛轻微、术后第2天可正常工作,无反流或有轻微反流症状,可以在任何年龄甚至怀孕期间进行,手术费用较低<sup>[31]</sup>。目前,EPD是安全有效的治疗贲门失弛缓症的主要方式之一。

**2.2 暂时性自扩金属支架治疗(temporary self-expanding metallic stents therapy, TSMST)** TSMST是贲门失弛缓症的选择性治疗<sup>[32]</sup>。原理是在3-7 d内,金属支架在LES处缓慢展开,其释放的均匀压力使LES的肌组织较完全的断裂,以致LES压力下降<sup>[33]</sup>。与EPD相比,金属支架的扩张强度更为分散与持久,使LES的肌纤维更为均匀有效的撕裂,且术后疤痕较小,因此金属支架扩张可以得到较好的临床疗效及较低的复发率<sup>[33]</sup>。TSMST的主要并发症包括支架移位、穿孔、



出血及轻微的胸痛, 其发生率分别为6.0%、7.0%、6.0%及42.9%<sup>[33,34]</sup>。研究显示与直径为30 mm的气囊和直径分别为20 mm或25 mm的自扩金属支架相比, 应用直径为30 mm的自扩金属支架行TSMST后10年以上的临床缓解率较高为83.3%<sup>[35,36]</sup>。由于进行TSMST的患者较少, 研究者需要进行大量的临床对比研究, 以确定其有效性。

### 3 手术治疗

#### 3.1 Heller肌切术

3.1.1 腹腔镜Heller肌切术(laparoscopic Heller myotomy, LHM): 1913年, Heller首先提出应用食管肌切术治疗贲门失弛缓症。经过几十年的发展, Heller肌切术由开胸或开腹途径, 发展为微创胸腔镜或腹腔镜途径。由于单纯Heller肌切术术后反流的发生率高, 为减少反流, 现附加抗反流操作。目前, 腹腔镜Heller肌切术附加部分前壁胃底折叠术(dor anterior fundoplication)成为贲门失弛缓症的标准治疗方式<sup>[8,37]</sup>。LHM适合人群广, 其中超过60岁且能耐受手术的患者<sup>[38]</sup>及反复行EPD或反复行EBTJ治疗失败的患者, 在进行LHM后, 症状也可得到持久的缓解<sup>[39]</sup>。其简要经过为切断膈食管韧带, 暴露食管前壁, 水平方向切开食管纵形肌纤维约1 cm, 注意保留前壁迷走神经, 然后以Hook刀提起环形肌, 在不接触黏膜时切开环形肌。环形肌切开长度在贲门食管侧约为5-7 cm, 贲门胃侧约2 cm。在完成环形肌切开并检查没有黏膜穿孔后行胃底折叠术<sup>[40]</sup>。LHM在胃镜的引导下完成, 当肌切开段越过齿状线, 胃镜常规压力注气即可打开GEJ及胃镜容易通过贲门时, 进一步的肌切开将是多余的。因此, LHM没有过度肌切开风险<sup>[41]</sup>。根据Dor胃底折叠术, 将胃壁缝至肌切开的边缘, 保持肌切开处开放, 从而预防肌切开处组织的修复<sup>[42]</sup>。LHM使超过90%的患者得到症状的改善<sup>[43]</sup>。5年后, 仍有超过80%的患者没有吞咽困难的状况<sup>[44]</sup>, 10年后, 只有约三分之一的患者需要再次治疗<sup>[45]</sup>。LHM破坏了膈食管韧带, 改变了His角, 这两方面均可导致术后GERD的发生<sup>[46]</sup>。即使附加Dor胃底折叠术, 术后GERD的发生率仍为10%-30%<sup>[47]</sup>。长期GERD可发展为食管狭窄, Barrett's食管, 甚至腺癌<sup>[8]</sup>。在行Heller肌切术的12 721位患者的对比分析中, 3.04%的患者发展为食管癌<sup>[48]</sup>。因此, LHM附加Dor胃底折叠术后GERD的发生仍是急需解决的问题。LHM其他的并发症包括出

血、穿孔、神经损伤及发热, 其发生率均<2%, 且大多数并发症可在术中处理<sup>[49]</sup>。虽然LHM附加Dor胃底折叠术损伤较大, 住院时间较长, 但在多数患者中可取得良好的长期疗效<sup>[37,45]</sup>。目前, LHM附加Dor胃底折叠术被认为是贲门失弛缓症的一线治疗<sup>[50]</sup>。

3.1.2 经内镜下Heller肌切术附加内镜下胃底折叠术(peroral endoscopic Heller myotomy plus endoscopic fundoplication, PEHMEF): 2010年, Perretta等<sup>[51]</sup>对活体猪进行内镜下Heller肌切术, 通过胃镜建立食管黏膜下隧道, 切开食管肌层, 四周后行内镜下胃底折叠术。术后LES压力下降50%, 食管狭窄处直径增宽, 食管顺应性得到改善。内镜下胃底折叠术是GERD的治疗方式之一, 通过聚集部分胃贲门, 建立His角, 在聚集的皱褶处进行全层缝合, 延长胃食管瓣, 恢复GEJ的抗反流功能<sup>[52]</sup>。Wittelman等<sup>[53]</sup>研究显示, 内镜下胃底折叠术, 没有明显改善食管的酸暴露, 手术3年后仍有较多患者需要药物或手术治疗。因此, PEHMEF需要进一步的临床研究以确定其临床疗效。

3.1.3 机器人辅助的腹腔镜肌切术(robotically assisted laparoscopic Heller myotomy, RALHM): 近期, 机器人远距外科进一步改善了LHM<sup>[54]</sup>。应用机器人后, LHM的许多限制得到改善, 如三维视角的利用度, 活动度的增加, 避免了支点效应等<sup>[55]</sup>。2005年研究显示RALHM与LHM有相同的有效性, 但是RALHM可以明显降低术中穿孔的发生<sup>[54]</sup>。然而, 在电灼牵引刀(Hook刀)应用于LHM后, 两者的安全性无明显差异<sup>[40]</sup>。近期研究显示RALHM术中并发症的发生率较LHM低, 但没有显著意义, 同时两者的平均手术时间没有明显差异<sup>[55]</sup>。由于RALHM手术费用高<sup>[56]</sup>, 其应用受到限制。

3.1.4 经颈Heller肌切术(transcervical heller myotomy, THM): 2010年, Spaun等<sup>[57]</sup>在十头活猪与两具人的尸体上应用可曲式内镜进行了THM。首先在胸骨上切迹开口, 于食管周围行气囊扩张建立组织通道, 再向膈食管连接处进行食管前壁或后壁的肌切开。THM在一个小且连续的组织通道中进行操作, 避开了血管和神经, 且术后通道快速消失。与LHM相比, THM损伤较小, 保留食管下段括约肌的支撑结构, 可能减少抗反流手术的需要。但与经食道途径相比, THM有较多损伤。目前THM处于原型研究阶段。

3.2 经内镜下环形肌切术(per-oral endoscop-

#### ■相关报道

许多国内外文献对贲门失弛缓症现有的主要治疗方式做了详细报道与对比研究, 分别从不同角度讲述各种治疗方式的优缺点。随着内镜医师技术的纯熟, POEM的研究文献逐渐增多, 并出现了有关POEM与腹腔镜Heller肌切术的对比报道。

## ■创新盘点

本文总结了贲门失弛缓症的最新治疗进展,包括国内外现处于研究阶段的各种新的治疗方法。本文重点讨论了气囊扩张术、腹腔镜Heller肌切开术与POEM治疗,并且对比了各种治疗方式的疗效、安全性、并发症以及适用人群等。

ic myotomy, POEM) 近期, POEM作为贲门失弛缓症的内镜手术治疗,以其创伤性最小的特点在世界范围内得到应用<sup>[58-60]</sup>。Rieder等<sup>[61]</sup>对比了LHM前后与POEM前后GEJ的膨胀性,结果显示进行全层肌切开的患者术后LES更加松弛,指出LES的部分支持可能来自纵形肌层。而POEM的基本目的在于切开食管内环形肌层及GEJ的套索纤维,保留完整的纵形肌层<sup>[60]</sup>。患者取仰卧位,在食管前壁2点钟方向进行环形肌切开术,避免对8点钟方向的His角的损伤,His角可能是抗反流的天然屏障<sup>[62]</sup>。因此POEM可以减少术后因LES松弛或His角的损伤所导致的GERD的发生。POEM的简要经过: 首先,在距离GEJ约14 cm处,切开食管表面黏膜,形成一个纵形约2 cm的黏膜开口。然后,应用类似于内镜下黏膜下层剥离术(endoscopic sub-mucosal dissection, ESD)技术建立黏膜下层隧道,通过GEJ,到达近端胃约3 cm处。黏膜下层隧道的宽度约为食管周长的一半。在黏膜开口远端约3 cm处,即大约在GEJ上方10 cm处开始进行食管环形肌束的切开,至GEJ远端约2 cm处完成环形肌层的切开,最后应用止血夹关闭黏膜开口<sup>[63]</sup>。POEM适用于耐受手术的大多数贲门失弛缓症的患者,包括反复EPD失败、LHM失败或者POEM手术失败的患者<sup>[58]</sup>, 儿科患者<sup>[64]</sup>以及S1型贲门失弛缓症(食管显著扩张和扭曲, CT层面鉴别有一个腔)的患者等<sup>[62]</sup>。对于S2型贲门失弛缓症(食管腔严重弯曲, CT层面鉴别有两个腔)的患者,简单行肌层切开不会减轻症状,进一步矫正食管弯曲是必要的<sup>[65]</sup>。POEM术中及术后的主要并发症包括皮下气肿和纵膈气肿,其发生率高,但不需附加手术,适当延长禁食时间即可<sup>[58]</sup>。POEM其他并发症包括气胸,迟发出血,胸腔积液,肺部炎症或肺叶不张及膈下积气,均可通过传统治疗解决,无需手术<sup>[66]</sup>。在Inoue等<sup>[62]</sup>, von Renteln等<sup>[60]</sup>和Zhou等<sup>[67]</sup>进行的POEM治疗中,没有严重的并发症发生,且短期疗效显著。POEM以内镜顺利通过GEJ以及退镜时GEJ的显著打开做为完整肌切开的指征,因此,其主要优势是可以控制术中肌切开的长度至完整的肌切开<sup>[58]</sup>。POEM的主要优点包括手术操作时间短,可短至39 min<sup>[68]</sup>;可以控制肌切开的长度和方向<sup>[58]</sup>。外科手术肌切开的最大长度为8 cm<sup>[69]</sup>,所以POEM更适用于需要延长肌切开长度的强力型贲门失弛缓症的患者。随访发现POEM术后有20%的患者出现GERD的症状,应用质子泵抑制剂反应良好<sup>[58]</sup>。综上所述,POEM作为

一种新的治疗方式,短期术后疗效显著,适用人群广,损伤小,术后恢复时间少,死亡率较LHM低<sup>[66]</sup>,并且可能减少医源性GERD的发生。由于POEM对术者ESD技术水平要求高,目前在世界范围内开展较少。但随着内镜医师技术的纯熟,POEM可能成为治疗贲门失弛缓症的金标准<sup>[62]</sup>。

## 4 中医整脊疗法

高月等<sup>[70]</sup>在10例诊断为贲门失弛缓症的患者X片中发现,颈胸交界部位出现侧弯,并伴有小关节紊乱,主要在C6-T6之间,尤以T2、T3、T4错位明显。故采用整脊法进行错位矫正,扩大椎间孔,解除或改善对交感神经的牵张或压迫,使植物神经达到新的平衡,从而缓解贲门括约肌的痉挛失弛缓状态。

## 5 结论

贲门失弛缓症的治疗包括药物治疗,介入治疗,手术治疗及中医整脊疗法。药物治疗疗效短暂,频发副作用,目前主要应用于老年患者及不能耐受手术有严重并存病的患者。TSMST、PEHMEF、RALHM、THM及中医整脊疗法的临床有效性有待于进一步研究。目前较主要的治疗方式为EPD、LHM和POEM手术。EPD的优点包括门诊操作,损伤最小,最小疼痛,第2天可恢复工作,GERD发生率低,且在任何年龄甚至怀孕期间也可以进行<sup>[31]</sup>。但是EPD最严重的并发症是穿孔,发生率<1%-3%<sup>[25]</sup>。虽然LHM穿孔率较EPD高<sup>[71]</sup>,但大部分穿孔在术中得以发现并解决。与EPD相比,LHM附加Dor胃底折叠术损伤较大,术后恢复时间较长,术后GERD发生率较高,为10%-30%,但其术后症状缓解时间较长,是目前治疗贲门失弛缓症的金标准<sup>[47]</sup>。POEM作为一种新的治疗方式,短期术后疗效显著。与LHM相比,POEM适用人群较广,损伤较小,术后恢复时间较短,死亡率较低,无严重并发症,术后GERD发生率较低。POEM还可以避免EPD术中不可预知及不可控制的穿孔的发生<sup>[62]</sup>。然而由于POEM技术非常新颖,其远期疗效仍然未知,需要长期的观察及对比研究才能确定其在治疗贲门失弛缓症中的地位。但是可以预测,POEM有望成为治疗贲门失弛缓症的金标准。

## 6 参考文献

- 1 Omura N, Kashiwagi H, Yano F, Tsuboi K, Yanaga K. Reoperations for esophageal achalasia. *Surg Today* 2012; 42: 1078-1081 [PMID: 22790707 DOI:

- 10.1007/s00595-012-0204-y.]
- 2 Abu Gazala M, Khalaila A, Shussman N, Abu Gaza-la S, Elazary R, Amar D, Kushnir D, Ponomernco O, Zamir G, Rivkind AI, Mintz Y. Transesophageal endoscopic myotomy for achalasia: recognizing potential pitfalls before clinical application. *Surg Endosc* 2012; 26: 681-687 [PMID: 21993936]
- 3 Gockel HR, Schumacher J, Gockel I, Lang H, Haaf T, Nöthen MM. Achalasia: will genetic studies provide insights? *Hum Genet* 2010; 128: 353-364 [PMID: 20700745 DOI: 10.1007/s00439-010-0874-8.]
- 4 Vaezi MF, Richter JE. Diagnosis and management of achalasia. American College of Gastroenterology Practice Parameter Committee. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3406-3412 [PMID: 10606295 DOI: 10.1016/S0002-9270(99)00698-X.]
- 5 Eckardt AJ, Eckardt VF. Treatment and surveillance strategies in achalasia: an update. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 311-319 [PMID: 21522116 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.68.]
- 6 Gutschow CA, Töx U, Leers J, Schäfer H, Prenzel KL, Hölscher AH. Botox, dilation, or myotomy? Clinical outcome of interventional and surgical therapies for achalasia. *Langenbecks Arch Surg* 2010; 395: 1093-1099 [PMID: 20845045 DOI: 10.1007/s00423-010-0711-5.]
- 7 Pandolfino JE, Roman S. High-resolution manometry: an atlas of esophageal motility disorders and findings of GERD using esophageal pressure topography. *Thorac Surg Clin* 2011; 21: 465-475 [PMID: 22040629 DOI: 10.1016/j.thorsurg.2011.08.007.]
- 8 Bello B, Herbella FA, Patti MG. Evolution of the minimally invasive treatment of esophageal achalasia. *World J Surg* 2011; 35: 1442-1446 [PMID: 21400015 DOI: 10.1007/s00268-011-1027-5.]
- 9 Hoogerwerf WA, Pasricha PJ. Pharmacologic therapy in treating achalasia. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2001; 11: 311-324, vii [PMID: 11319064]
- 10 Lake JM, Wong RK. Review article: the management of achalasia - a comparison of different treatment modalities. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 909-918 [PMID: 16948803 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03079.x.]
- 11 Bortolotti M. Medical therapy of achalasia: A benefit reserved for few. *Digestion* 1999; 60: 11-16 [PMID: 9892793 DOI: 10.1159/00007583.]
- 12 Annese V, Bassotti G. Non-surgical treatment of esophageal achalasia. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5763-5766 [PMID: 17007039]
- 13 Adler DG, Romero Y. Primary esophageal motility disorders. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 195-200 [PMID: 11213308 DOI: 10.1016/S0025-6196(11)63127-3.]
- 14 Dressler D, Adib Saberi F. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Eur Neurol* 2005; 53: 3-9 [PMID: 15650306]
- 15 Zaninotto G, Annese V, Costantini M, Del Genio A, Costantino M, Epifani M, Gatto G, D'onofrio V, Benini L, Contini S, Molena D, Battaglia G, Tardio B, Andriulli A, Ancona E. Randomized controlled trial of botulinum toxin versus laparoscopic heller myotomy for esophageal achalasia. *Ann Surg* 2004; 239: 364-370 [PMID: 15075653 DOI: 10.1097/01.sla.0000114217.52941.c5.]
- 16 Annese V, Bassotti G, Coccia G, Dinelli M, D'Onofrio V, Gatto G, Leandro G, Repici A, Testoni PA, Andriulli A. A multicentre randomised study of intrasphincteric botulinum toxin in patients with oesophageal achalasia. GISMA Achalasia Study Group. *Gut* 2000; 46: 597-600 [PMID: 10764700 DOI: 10.1136/gut.46.5.597.]
- 17 Wang L, Li YM, Li L. Meta-analysis of randomized and controlled treatment trials for achalasia. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2303-2311 [PMID: 19107596 DOI: 10.1007/s10620-008-0637-8.]
- 18 Bakhshipour A, Rabbani R, Shirani S, Soleimani HA, Mikaeli J. Comparison of pneumatic dilation with pneumatic dilation plus botulinum toxin for treatment of achalasia. *Acta Med Iran* 2010; 48: 107-110
- 19 Porter RF, Gyawali CP. Botulinum toxin injection in dysphagia syndromes with preserved esophageal peristalsis and incomplete lower esophageal sphincter relaxation. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 139-144, e27-e28 [PMID: 20939855 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01604.x.]
- 20 Galassi G, Orlandi C, Valzania F, Albertini G, Barbieri A. Botulin toxin type A (BTA) for esophageal achalasia: a double-edged sword. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 1079-1080 [PMID: 21052699]
- 21 Torquati A, Richards WO, Holzman MD, Sharp KW. Laparoscopic myotomy for achalasia: predictors of successful outcome after 200 cases. *Ann Surg* 2006; 243: 587-591; discussion 591-593 [PMID: 16632992 DOI: 10.1097/01.sla.0000216782.10502.47.]
- 22 Vela MF, Richter JE, Wachsberger D, Connor J, Rice TW. Complexities of managing achalasia at a tertiary referral center: use of pneumatic dilatation, Heller myotomy, and botulinum toxin injection. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1029-1036 [PMID: 15180721]
- 23 Fovos A, Jarral O, Patel V, Podas T, Spalding D, Zacharakis E. Does Heller's myotomy provide superior clinical outcome in comparison to botulinum toxin injection for treatment of achalasia?: Best evidence topic (BET). *Int J Surg* 2012; 10: 120-123 [PMID: 22327009 DOI: 10.1016/j.jisu.2012.01.008.]
- 24 Eckardt VF, Gockel I, Bernhard G. Pneumatic dilation for achalasia: late results of a prospective follow up investigation. *Gut* 2004; 53: 629-633 [PMID: 15082578 DOI: 10.1136/gut.2003.029298.]
- 25 Hulselmans M, Vanuytsel T, Degreef T, Sifrim D, Coosemans W, Lerut T, Tack J. Long-term outcome of pneumatic dilation in the treatment of achalasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 30-35 [PMID: 19782766 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.09.020.]
- 26 Lopushinsky SR, Urbach DR. Pneumatic dilatation and surgical myotomy for achalasia. *JAMA* 2006; 296: 2227-2233 [PMID: 17090769 DOI: 10.1001/jama.296.18.2227.]
- 27 杨艳, 于皆平, 李欢, 曹俊, 于红刚. 内镜下气囊扩张治疗贲门失弛缓症81例. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1024-1026
- 28 Vanuytsel T, Lerut T, Coosemans W, Vanbeeckvoort D, Blondeau K, Boeckstaens G, Tack J. Conservative management of esophageal perforations during pneumatic dilation for idiopathic esophageal achalasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 142-149 [PMID: 22064041 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.10.032.]
- 29 Tuset JA, Luján M, Huguet JM, Canelles P, Medina E. Endoscopic pneumatic balloon dilation in primary achalasia: predictive factors, complications, and long-term follow-up. *Dis Esophagus* 2009; 22: 74-79 [PMID: 19021691 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008.00874.x.]
- 30 Chan KC, Wong SK, Lee DW, Mui WL, Chan AC,

## 应用要点

本文较详细的讲述并对比了各种治疗方式的疗效、安全性、并发症以及适用人群等,能够较好的指导医师根据患者病情选择最佳治疗方式,具有重要的临床指导意义。



# ■名词解释

强有力型贲门失弛缓症:有相对高的食管收缩幅度,食管扩张最小,且在X线片上有显著的第三收缩波,临床表现有胸痛感。

- Ng EK, Wu JC, Sung JJ, Chung SC. Short-term and long-term results of endoscopic balloon dilatation for achalasia: 12 years' experience. *Endoscopy* 2004; 36: 690-694 [PMID: 15280973 DOI: 10.1055/s-2004-825659.]
- 31 Richter JE, Boeckxstaens GE. Management of achalasia: surgery or pneumatic dilation. *Gut* 2011; 60: 869-876 [PMID: 21303915 DOI: 10.1136/gut.2010.212423.]
- 32 Cheng YS, Ma F, Li YD, Chen NW, Chen WX, Zhao JG, Wu CG. Temporary self-expanding metallic stents for achalasia: a prospective study with a long-term follow-up. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5111-5117 [PMID: 20976849 DOI: 10.3748/wjg.v16.i40.5111.]
- 33 Zhu YQ, Cheng YS, Tang GY, Li MH, Zhao JG, Li F. Comparison of temporary stent insertion with pneumatic dilation of the same diameter in the treatment of achalasia patients: a retrospective study. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 499-505 [PMID: 20074159 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06107.x.]
- 34 Schoppmann SF, Langer FB, Prager G, Zacherl J. Outcome and complications of long-term self-expanding esophageal stenting. *Dis Esophagus* 2012 Mar 12. [Epub ahead of print] [PMID: 22409454 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2012.01337.x.]
- 35 Li YD, Tang GY, Cheng YS, Chen NW, Chen WX, Zhao JG. 13-year follow-up of a prospective comparison of the long-term clinical efficacy of temporary self-expanding metallic stents and pneumatic dilatation for the treatment of achalasia in 120 patients. *AJR Am J Roentgenol* 2010; 195: 1429-1437 [PMID: 21098206]
- 36 朱悦琦, 程英升, 李明华, 赵俊功, 李烽. 暂时性贲门支架置入与球囊扩张治疗贲门失弛缓症患者的比较研究. 介入放射学杂志 2011; 20: 700-705
- 37 Kaman L, Iqbal J, Kochhar R, Sinha S. Laparoscopic Heller Myotomy for Achalasia Cardia-Initial Experience in a Teaching Institute. *Indian J Surg* 2012 July 31 [DOI: 10.1007/s12262-012-0708-0.]
- 38 Roll GR, Ma S, Gasper WJ, Patti M, Way LW, Carter J. Excellent outcomes of laparoscopic esophagomyotomy for achalasia in patients older than 60 years of age. *Surg Endosc* 2010; 24: 2562-2566 [PMID: 20361213 DOI: 10.1007/s00464-010-1003-4.]
- 39 Finley CJ, Kondra J, Clifton J, Yee J, Finley R. Factors associated with postoperative symptoms after laparoscopic Heller myotomy. *Ann Thorac Surg* 2010; 89: 392-396 [PMID: 20103306 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2009.10.046.]
- 40 Roller JE, de la Fuente SG, DeMaria EJ, Pryor AD. Laparoscopic Heller myotomy using hook electrocautery: a safe, simple, and inexpensive alternative. *Surg Endosc* 2009; 23: 602-605 [PMID: 18622538]
- 41 Ross S, Villadolid D, Al-Saadi S, Boyle R, Cowgill SM, Rosemurgy A. After laparoscopic Heller myotomy, do emergency department visits or readmissions predict poor long-term outcomes? *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 2125-2132 [PMID: 18854961 DOI: 10.1007/s11605-008-0707-4.]
- 42 Porziella V, Cesario A, Granone P. Dor fundoplication after myotomy for achalasia: useful, unnecessary, or harmful? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132: 216-217; author reply 217 [PMID: 16798361 DOI: 10.1016/j.jtcvs.2006.02.031.]
- 43 Rosemurgy AS, Morton CA, Rosas M, Albrink M, Ross SB. A single institution's experience with more than 500 laparoscopic Heller myotomies for achalasia. *J Am Coll Surg* 2010; 210: 637-645, 645-647 [PMID: 20421021 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.01.035.]
- 44 Bessell JR, Lally CJ, Schlothe A, Jamieson GG, Devitt PG, Watson DI. Laparoscopic cardiomyotomy for achalasia: long-term outcomes. *ANZ J Surg* 2006; 76: 558-562 [PMID: 16813618 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2006.03784.x.]
- 45 Richter JE. Recent research on pneumatic dilatation versus laparoscopic heller myotomy for achalasia treatment. *Gastroenterol Hepatol* (N Y) 2012; 8: 330-332 [PMID: 22933866]
- 46 Campos GM, Vittinghoff E, Rabl C, Takata M, Gadenstätter M, Lin F, Ciovica R. Endoscopic and surgical treatments for achalasia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2009; 249: 45-57 [PMID: 19106675 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31818e43ab.]
- 47 Tsiaoussis J, Pechlivanides G, Gouvas N, Athanasakis E, Zervakis N, Manitides A, Xynos E. Patterns of esophageal acid exposure after laparoscopic Heller's myotomy and Dor's fundoplication for esophageal achalasia. *Surg Endosc* 2008; 22: 1493-1499 [PMID: 18095027 DOI: 10.1007/s00464-007-9681-2.]
- 48 Biswanath P, GoudaThomas Nelson. Sunil Bhojru. Revisional Surgery after Heller Myotomy for Treatment of Achalasia: A Comparative Analysis Focusing on Operative Approach. *Indian J Surg* 2012; 74: 309-313 [DOI: 10.1007/s12262-011-0402-7]
- 49 Zaninotto G, Costantini M, Rizzetto C, Zanatta L, Guirrola E, Portale G, Nicoletti L, Cavallin F, Battaglia G, Ruol A, Ancona E. Four hundred laparoscopic myotomies for esophageal achalasia: a single centre experience. *Ann Surg* 2008; 248: 986-993 [PMID: 19092343 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181907bdd.]
- 50 Pontone S, Urcioli P, Pontone P, Custureri F. Dor against toupet fundoplication after heller myotomy. Laparoscopic technical improvements and endoscopic support. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 2119-2120 [PMID: 21720927 DOI: 10.1007/s11605-011-1603-x.]
- 51 Perretta S, Dallemagne B, Allemann P, Marescaux J. Multimedia manuscript. Heller myotomy and intraluminal fundoplication: a NOTES technique. *Surg Endosc* 2010; 24: 2903 [PMID: 20428893]
- 52 Repici A, Fumagalli U, Malesci A, Barbera R, Gambaro C, Rosati R. Endoluminal fundoplication (ELF) for GERD using EsophyX: a 12-month follow-up in a single-center experience. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1-6 [PMID: 19902310]
- 53 Witteman BP, Strijkers R, de Vries E, Toemen L, Conchillo JM, Hameeteman W, Dagnelie PC, Koek GH, Bouvy ND. Transoral incisionless fundoplication for treatment of gastroesophageal reflux disease in clinical practice. *Surg Endosc* 2012; 26: 3307-3315 [PMID: 22648098 DOI: 10.1007/s00464-012-2324-2.]
- 54 Melvin WS, Dundon JM, Talamini M, Horgan S. Computer-enhanced robotic telesurgery minimizes esophageal perforation during Heller myotomy. *Surgery* 2005; 138: 553-558; discussion 553-558; [PMID: 16269282 DOI: 10.1016/j.surg.2005.07.025.]
- 55 Sánchez A, Rodríguez O, Nakhal E, Davila H, Valero R, Sánchez R, Pena R, Visconti M F. Robotic-assisted Heller myotomy versus laparoscopic Heller myotomy for the treatment of esophageal achalasia: a case-control study. *Journal of Robotic Surgery* 2012; 6: 213-216 [DOI: 10.1007/s11701-011-0294-3]
- 56 Shaligram A, Unniravi J, Simorov A, Kothari VM, Oleynikov D. How does the robot affect outcomes?

- A retrospective review of open, laparoscopic, and robotic Heller myotomy for achalasia. *Surg Endosc* 2012; 26: 1047-1050 [PMID: 22038167 DOI: 10.1007/s00464-011-1994-5.]
- 57 Spaun GO, Dunst CM, Arnold BN, Martinec DV, Cassera MA, Swanström LL. Transcervical heller myotomy using flexible endoscopy. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1902-1909 [PMID: 20721635 DOI: 10.1007/s11605-010-1290-z.]
  - 58 Eleftheriadis N, Inoue H, Ikeda H, Onimaru M, Yoshida A, Hosoya T, Maselli R, Kudo SE. Training in peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Ther Clin Risk Manag* 2012; 8: 329-342 [PMID: 22888256 DOI: 10.2147/TCRM.S32666.]
  - 59 Inoue H, Kudo SE. [Per-oral endoscopic myotomy (POEM) for 43 consecutive cases of esophageal achalasia]. *Nihon Rinsho* 2010; 68: 1749-1752 [PMID: 20845759]
  - 60 von Renteln D, Inoue H, Minami H, Werner YB, Pace A, Kersten JF, Much CC, Schachschal G, Mann O, Keller J, Fuchs KH, Rösch T. Peroral endoscopic myotomy for the treatment of achalasia: a prospective single center study. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 411-417 [PMID: 22068665 DOI: 10.1038/ajg.2011.388.]
  - 61 Rieder E, Swanström LL, Perretta S, Lenglinger J, Riegler M, Dunst CM. Intraoperative assessment of esophagogastric junction distensibility during peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal motility disorders. *Surg Endosc* 2012 Sep 6. [Epub ahead of print] [PMID: 22955896 DOI: 10.1007/s00464-012-2484-0.]
  - 62 Inoue H, Minami H, Kobayashi Y, Sato Y, Kaga M, Suzuki M, Satodate H, Odaka N, Itoh H, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Endoscopy* 2010; 42: 265-271 [PMID: 20354937 DOI: 10.1055/s-0029-1244080.]
  - 63 Ponsky JL, Marks JM, Pauli EM. How i do it: peroral endoscopic myotomy (POEM). *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 1251-1255 [PMID: 22450949]
  - 64 Maselli R, Inoue H, Misawa M, Ikeda H, Hosoya T, Onimaru M, Yoshida A, Eleftheriadis N, Suzuki K, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) in a 3-year-old girl with severe growth retardation, achalasia, and Down syndrome. *Endoscopy* 2012; 44 Suppl 2 UCTN: E285-E287 [PMID: 22933258 DOI: 10.1055/s-0032-1309924.]
  - 65 Inoue H, Tianle KM, Ikeda H, Hosoya T, Onimaru M, Yoshida A, Minami H, Kudo SE. Peroral endoscopic myotomy for esophageal achalasia: technique, indication, and outcomes. *Thorac Surg Clin* 2011; 21: 519-525 [PMID: 22040634 DOI: 10.1016/j.thorsurg.2011.08.005.]
  - 66 Ren Z, Zhong Y, Zhou P, Xu M, Cai M, Li L, Shi Q, Yao L. Perioperative management and treatment for complications during and after peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia (EA) (data from 119 cases). *Surg Endosc* 2012; 26: 3267-3272 [PMID: 22609984 DOI: 10.1007/s00464-012-2336-y.]
  - 67 Zhou PH, Cai MY, Yao LQ, Zhong YS, Ren Z, Xu MD, Chen WF, Qin XY. [Peroral endoscopic myotomy for esophageal achalasia: report of 42 cases]. *Zhonghua Weichang Waikie Zazhi* 2011; 14: 705-708 [PMID: 21948538]
  - 68 Zhou PH, Cai MY, Yao LQ, Zhong YS, Ren Z, Xu MD, Qin XY. Peroral Endoscopic Myotomy for Esophageal Achalasia by HybridKnife: A Case Report. *Case Rep Gastrointest Med* 2012; 2012: 325479 [PMID: 22900214 DOI: 10.1155/2012/325479.]
  - 69 Woltman TA, Pellegrini CA, Oelschlager BK. Achalasia. *Surg Clin North Am* 2005; 85: 483-493 [PMID: 15927645]
  - 70 高月, 高明. 整脊疗法治疗贲门失弛缓症10例. 按摩与导引 2007; 2: 14-15
  - 71 Weber CE, Davis CS, Kramer HJ, Gibbs JT, Robles L, Fisichella PM. Medium and long-term outcomes after pneumatic dilation or laparoscopic Heller myotomy for achalasia: a meta-analysis. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 289-296 [PMID: 22874676]

## 同行评价

本文较全面的综述了贲门失弛缓症的最新治疗进展, 指出了各种治疗方式的优缺点, 引用文献较新, 对临床工作有一定参考价值。

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

# 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的应用进展

陈 琴, 王晓锋, 李华山

## ■背景资料

肛管直肠周围脓肿又称肛周脓肿, 以往大多采用分期手术, 但分期手术患者痛苦较大, 因后遗肛瘘, 经久不愈, 多次住院增加患者经济负担。随着挂线疗法的临床运用, 在提高根治率的同时, 较好地保护了肛门功能, 日益受到临床医师的喜爱。

陈琴, 王晓锋, 李华山, 中国中医科学院广安门医院肛肠科北京市 100053

陈琴, 硕士, 主要从事肛肠疾病的防治与研究工作。

作者贡献分布: 本文选题设计及审校由李华山完成; 文献资料搜集由陈琴与王晓锋共同完成; 写作由陈琴完成。

通讯作者: 李华山, 主任医师, 100053, 北京市西城区北线阁街5号, 中国中医科学院广安门医院肛肠科。lihuashan@263.net

电话: 010-88001025 传真: 010-63014195

收稿日期: 2012-10-11 修回日期: 2012-11-15

接受日期: 2012-12-20 在线出版日期: 2013-01-08

## Progress in the use of thread-drawing therapy of perianorectal abscess

Qin Chen, Xiao-Feng Wang, Hua-Shan Li

Qin Chen, Xiao-Feng Wang, Hua-Shan Li, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China  
Correspondence to: Hua-Shan Li, Chief Physician, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiang Street, Xicheng District, Beijing 100053, China. lihuashan@263.net  
Received: 2012-10-11 Revised: 2012-11-15  
Accepted: 2012-12-20 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Perianorectal abscess is a frequently encountered clinical condition. The main treatment is surgery. A staged procedure, consisting of simple incision/drainage and second-stage surgery when fistula-in-ano is formed, is often used in the past. Staged surgery has obvious disadvantages because patients have to undergo two operations and have a heavy economic burden. Thread-drawing therapy has been introduced in China since 1950s. The mechanisms behind therapeutic effects of thread-drawing therapy include chronic cutting action, foreign body stimulation, drainage, and marking. There are three types of thread-drawing therapy available: cutting thread-drawing therapy, loose thread-drawing drainage, and thread-drawing therapy combined with other therapies. The key points of the application of thread-drawing therapy include: accurate identification and management of internal opening (infected anal gland), understanding of the indications of cutting thread-drawing

therapy and loose thread-drawing drainage, and the tightness of the thread. Compared to staged surgery, thread-drawing therapy can greatly reduce the occurrence of anal fistula and protect anal function.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Perianorectal abscess; Thread-drawing therapy; Research progress

Chen Q, Wang XF, Li HS. Progress in the use of thread-drawing therapy of perianorectal abscess. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 82-86

## 摘要

肛管直肠周围脓肿为临床常见多发病, 其治疗主要以手术为主, 以往大多采用分期手术, 即一期先切开引流, 待形成肛瘘后再行二期手术, 这种术式明显的缺点在于患者需承受两次手术之苦, 经济负担也较重。20世纪50年代起, 国内开始倡导肛管直肠周围脓肿的根治术式, 引入了挂线疗法, 其作用机理为: (1)慢性勒割作用; (2)异物刺激作用; (3)引流作用; (4)标志作用。挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿归纳起来可以分为挂实线、挂虚线及挂线配合其他疗法。应用挂线疗法的关键要点为: 正确寻找和处理内口(感染的肛腺); 掌握挂实线和挂虚线的应用指征; 注意紧线的问题。至今, 该疗法在临床运用已30余年, 与传统的单纯切开引流术相比, 不仅大大减少了后遗肛瘘的发生, 还极大程度地保护了肛门功能。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肛管直肠周围脓肿; 挂线疗法; 应用进展

陈琴, 王晓锋, 李华山. 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的应用进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 82-86  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/82.asp>

## 0 引言

挂线疗法是中医外治法中传统的治疗方法之一, 最初是用于肛瘘的治疗, 为保留肛门括约肌功能而设。将挂线疗法用于肛管直肠周围脓肿的

## ■同行评议者

王正康, 教授, 中日友好医院普外科



治疗, 同样较好地保护了肛门功能, 并减少了后遗症的发生, 提高了根治率。目前, 临床医师普遍采用这一疗法, 积累了丰富的临床经验。现将近30年来挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的应用情况及进展综述如下。

### 1 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的起源

肛管直肠周围脓肿的传统手术方式为分期手术, 即一期切开引流, 待炎症消退, 形成肛瘘时再行二期根治手术。此种术式最大的弊端为患者痛苦大, 增加二次住院的经济负担。其复发和形成肛瘘的比率为42%-65%<sup>[1]</sup>。为减少脓肿复发和肛瘘的发生, 国内曹吉勋<sup>[2]</sup>于20世纪50年代开始对肛管直肠周围脓肿的一期根治术进行了研究。此后, 临床学者积极探索, 引入了挂线疗法。辽宁中医药大学附属肛肠医院于20世纪70年代开展切开挂线术治疗肛管直肠周围脓肿以来, 共诊治肛管直肠周围脓肿患者6 000余例, 随访3 000余例, 其近期治愈率达99.7%, 远期治愈率达96.9%, 后遗症仅为3.1%。

### 2 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的理论基础及适应症

肛肠感染学说是目前肛管直肠周围脓肿公认的发病学说。从病理学来讲, 其发病过程可分为4个阶段: (1)肛窦炎; (2)肛门直肠周围炎; (3)肛门直肠周围脓肿; (4)肛瘘。因此, 肛管直肠周围脓肿和肛瘘实际上是同一种疾病的两个不同发展阶段。采用挂线治疗肛瘘, 实际上即通过紧线或弹性收缩, 以线代刀, 在被挂组织局部产生压迫性缺血坏死而缓慢分离, 同时由于线或橡皮筋的异物刺激作用, 在局部产生炎症反应引起纤维化而形成纤维结缔组织。胡伯虎等<sup>[3]</sup>于1983年通过动物实验研究将挂线疗法的作用机理归纳为以下4个方面: (1)慢性勒割作用; (2)异物刺激作用; (3)引流作用; (4)标志作用。至今, 临床学者对挂线疗法4个方面的作用机制研究得更为清楚。张琳等<sup>[4]</sup>认为, 人体组织对损伤的修复几乎同步发生, 是矛盾统一体; 当致损因子强度大、持续时间长时, 以损伤为主要表现; 当致损因子强度减弱或消除时, 则以修复为主要表现。根据创伤修复的现代概念可知<sup>[5]</sup>, 挂线的创伤或异物刺激机体所形成的纤维结缔组织是由胶原和少量间质组成。胶原的合成以第1-2周最快, 第3-4周沉积, 并且随着时间推移, 胶原的交联作用增强, 创口抗张强度也提高。也就是说要使自控

肌层断端形成足量的纤维结缔组织, 使之得到有效的固定, 至少需要2 wk时间。

因此, 可以说采用挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿是挂线治疗肛瘘作用的延伸, 其要点就在于利用线的引流作用, 将感染源(内口)彻底清除, 以所挂之线缓慢切割肛管直肠环, 使肛周不至于缺损较大, 所以准确寻找和正确处理内口, 彻底清除感染的原发病灶, 保证引流通畅, 是治愈肛周脓肿预防后遗症的关键<sup>[6]</sup>。有部分复杂性脓肿在急性炎症期, 因内口暂时闭合, 寻找较困难。若强行寻找, 很可能形成假道, 此种情况不可强行挂线。挂线疗法主要适用于肛提肌以上的脓肿。临床运用时, 需严格把握适应症。

### 3 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的具体运用

挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿具体可以分为挂实线、挂虚线及挂线配合其他疗法, 现分述如下。

**3.1 挂实线** 挂实线(实挂)的典型术式是低位切开、高位挂线法, 实际上即为切开挂线术<sup>[7]</sup>。20世纪90年代以前, 我国主要运用的是紧线挂线法(实挂)<sup>[8]</sup>。国外将实挂称为“cutting seton”。该术式主要强调挂线疗法的慢性切割和异物刺激作用, 与单纯切开引流术相比, 有效地保护了肛门功能, 避免了完全性肛门失禁的发生。目前, 临床医师普遍采用切开挂线术, 报道的治愈率一般在95%以上, 其复发率较单纯切开引流术大大减少。郑芳<sup>[9]</sup>采用切开挂线术治疗128例高位马蹄形肛管直肠周围脓肿, 治愈率达95.3%, 经1年门诊复查或电话随访122例无复发, 无畸形、缺损及肛门失禁, 肛门功能正常。王鑫等<sup>[10]</sup>报道采用切开挂线术治疗高位直肠周围脓肿316例, 全部治愈, 肛门无明显瘢痕形成, 其中94例患者经5 mo-3年的随访, 未出现脓肿复发和肛瘘形成。吕飞跃等<sup>[11]</sup>采用一期切开引流加挂线术治疗肛管直肠周围脓肿308例, 一次性临床治愈303例(占98.4%), 术后随访5年, 仅有5例(占1.6%, 其中肛管周围脓肿3例, 坐骨直肠窝脓肿2例)复发。其他临床报道<sup>[12-14]</sup>也都取得了较好的治疗效果。

随着临床研究的逐步深入, 部分学者发现切开挂线术还是存在一定的不足, 如: 有学者<sup>[15]</sup>认为传统的高位橡皮筋挂线虽可避免完全性肛门失禁, 但毕竟会将肛肠环勒断, 而造成部分缺损, 影响其括约功能, 术后大部分患者排气及控制排便功能下降, 出现稀便不易控制的轻度肛门失禁现象。黄乃健<sup>[16]</sup>将切割挂线的不足总结为:

#### ■研究前沿

采用挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿, 解决了直接切开而导致肛门失禁的问题。挂线方式有挂实线、挂虚线及挂线配合其他疗法。但挂线疗法的适应症、禁忌证与操作要点等尚需进一步规范。

#### ■相关报道

王鑫等报道采用切开挂线术治疗高位直肠周围脓肿316例, 全部治愈, 肛门无明显瘢痕形成, 其中94例患者经5 mo-3年的随访, 未出现脓肿复发和肛瘘形成。

### ■创新盘点

本文对挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿进行了详细阐述,肯定了挂线疗法的优势,指出挂线疗法仍然存在一些不足,今后需进一步规范挂线疗法的操作要点。

(1)组织结扎在橡皮筋内,疼痛较重,往往持续24 h或更久;(2)应用药线虽然疼痛较轻,但往往需要紧线或切除残余的纤维结缔组织,从而增加患者痛苦;(3)有异物感;(4)分泌物多,不易清洁;(5)创面愈合时间长;(6)挂线处可遗留明显凹陷。针对切开挂线术存在的不足,部分学者尝试作了一些改进,如:吴泽炎<sup>[17]</sup>报道运用切开清创引流挂线术,即先行切开引流术,1-2 wk后再行清创挂线术,与切开挂线术相比,避免了急性炎症期炎性组织受到挂线持续创伤刺激而引起的术后疼痛剧烈;以及脓腔宽大,挂线部位难以准确判定,盲目挂线可能引起疗效不佳等方面的问题。蒋进广等<sup>[18]</sup>在切开挂线引流术的基础上进行改良,要点为:“八”形结扎切除内口两侧的黏膜组织,扩大切除隐性感染灶,挂线没有挂在脓腔最高位。陈玉根<sup>[19]</sup>提出一种浅挂线法,即挂至内口与脓腔顶端连线的中上1/3或中1/2交界处,暂不紧线,术后7-14 d,脓腔缩小、分泌物减少时紧线,这样操作难度降低亦不影响疗效。此外,还有切开双挂线引流术<sup>[20,21]</sup>、隧道式切开引流挂线术<sup>[22]</sup>、旷置引流挂线术<sup>[23]</sup>等,都作了不同程度的改进,取得满意的临床效果。

3.2 挂虚线 挂虚线(虚挂法),又称浮挂法,是指将挂线松弛地挂在脓腔的内口之间。国外亦称“seton drainage”。虚挂法与实挂法的区别就在于,挂线但不紧线,主要强调线的引流作用。虚挂法主要优点为<sup>[24]</sup>:(1)去除了实挂橡皮筋反复紧线的繁琐;(2)减轻反复紧线导致的巨大疼痛;(3)充分保护肛门部肌肉,减少术后并发症,保护肛门功能。国内钱海华<sup>[25]</sup>首先提出“虚挂线引流”这一概念。目前,国内大多数临床医师将保护肛门功能作为首要考虑的目标,倾向于采用虚挂疗法。经临床验证,实挂与虚挂2种方法的治愈率和复发率无明显差异,但就肛门功能完整性而言,虚挂线明显优于实挂线,即虚挂能更好地保护肛门括约肌功能。国外也主要强调挂线的引流与标志作用,而不轻易使用切割挂线法。Ritchie等<sup>[26]</sup>在查阅了大量文献后,综合分析得出用切割挂线法治疗肛瘘,大便失禁率平均在12%,其中稀便失禁率仅次于气体失禁率。Faucheron等<sup>[27]</sup>认为引流挂线法几乎不会引起大便失禁,其功能主要在于引流,而非切割肛门括约肌。Held等<sup>[28]</sup>指出挂线可以促进伤口引流和防止伤口假性愈合。国外采用引流挂线法大多用于继发于肛周克罗恩病或获得性免疫缺陷综合征的肛管直肠周围脓肿。如Makowiec等<sup>[29]</sup>通过

一项前瞻性的随访研究得出:采用挂线和导管引流治疗由克罗恩病引起的肛管直肠周围脓肿是安全而高效的。Pritchard等<sup>[30]</sup>用8年时间回顾了38例因克罗恩病引起的肛管直肠周围脓肿患者的治疗资料,认为采用长期导管引流能大大提高整体治疗效果。

国内伍静等<sup>[31]</sup>将保留括约肌虚挂线法(治疗组)和切开挂线引流法(对照组)进行对比研究,得出保留括约肌虚挂线法在术后疼痛、切口愈合时间和保护肛门功能等方面明显优于切开挂线引流法。临床上,根据肛管直肠周围脓肿的复杂程度不同,虚挂的方式也各不相同。金振美<sup>[32]</sup>将65例高位蹄铁型肛周脓肿患者分为3组进行对比研究,其中治疗组为浮挂引流药线组(30例),对照组分别为浮挂引流线组(20例)和不挂浮线组(15例),治疗组主要在丝线上掺入自制的具清热收湿、祛腐生肌的药物牛黄散(由牛黄、珍珠、麝香、黄连、乳香、没药、冰片、煅龙骨、煅牡蛎、石决明、轻粉、熊胆等药物组成)。浮挂引流线组采用挂线但不掺入牛黄散,而不挂浮线组则在主切口与侧切口之间不放引流线。结果浮挂引流药线组在术后创面疼痛程度、分泌物程度、创面愈合时间方面均优于其他2组。史仁杰<sup>[33]</sup>采用多切口虚挂引流术治疗均为涉及2个以上间隙,深部在外括约肌以上的多间隙高位脓肿32例。该术式治疗要点为:对于内口以上的脓腔,以单股或双股橡皮筋纵向松弛挂在脓腔顶端与内口间。其余脓腔,如脓腔较大,则在肛外每隔2-3 cm作一长约1.5-3.0 cm切口切开脓腔壁,每相邻2个切口间横向松弛穿挂双股橡皮筋以引流。结果一次性治愈31例,无肛门失禁等后遗症发生。史氏强调为了确保对高位脓肿采用虚挂线法获得成功,最好选择急性肛管直肠周围脓肿脓液稠厚、脓腔壁薄、内口部硬结适中、身体健壮者。李洪林等<sup>[34]</sup>采用切开挂浮线(标志线)预期根治术治疗87例均为肛管直肠环以上的脓肿患者,结果无1例形成肛瘘,无大便失禁等后遗症。作者指出该术式能明显减轻术后及换药时的疼痛,术后愈合瘢痕明显缩小,对肛门形态改变不大。此外,还有放射状多切口挂浮线引流法<sup>[35]</sup>、对口切旷加拖线疗法<sup>[36]</sup>、高位虚挂线加低位对口引流法<sup>[37]</sup>。

临床上,还有强调突出保留括约肌的挂线术式。如徐子鹏等<sup>[38]</sup>于1990年提出内挂线法,即改变传统的从肛门外挂线,而采用从直肠壁内挂线。这种挂线的优点在于对肛门外括约肌不作

### ■应用要点

根据肛管直肠周围脓肿复杂程度的不同,灵活选用挂线方式,如实挂,或虚挂,或实挂与虚挂相结合,并根据实际情况,配合其他疗法。



切开,而是在脓腔顶部对着肠壁薄弱处人工凿一个口,将脓液引入肠壁内进行引流。与外挂线相比,其明显的优点即保持了肛周形态的完整。赵世华<sup>[39]</sup>、张艳等<sup>[40]</sup>及王金凤<sup>[41]</sup>都有相关报道,皆取得一定的临床效果。

**3.3 挂线合并其他疗法** 吴菊平<sup>[42]</sup>报道用线管引流加切开挂线术治疗11例复杂的蹄铁型肛周脓肿,全部一次性治愈,随访2年,无一例复发。吴氏指出,蹄铁型肛周脓肿因呈弯形,一侧或两侧同发,针对弯形脓腔,采用保留皮桥,线管引流,保持了肛门基本形态。蒋守龙等<sup>[43]</sup>、葛琪等<sup>[44]</sup>都有相关报道。挂线用的材料一般为橡皮筋,但很难满足所有类型脓腔的引流条件。为了加强引流,临床上出现了各种形式的引流材料,诸如T管<sup>[45]</sup>、梅花头导尿管<sup>[46]</sup>、血浆管<sup>[47]</sup>、半胶管<sup>[48]</sup>(由无菌乳胶管剖开制成)、硅胶管<sup>[49]</sup>、黄升药条<sup>[50]</sup>等。赵怀鑫<sup>[51]</sup>采用一期切开挂线加术后微波治疗,结果术后患者疼痛轻,炎症水肿消退快,创口愈合好。因微波能改善肛周局部微循环,促进组织细胞生长,促进创面愈合<sup>[52]</sup>。

还有采用挂线配合中药坐浴<sup>[53-55]</sup>,挂线配合内服排脓生肌中药<sup>[56]</sup>,都取得了较好的疗效。

## 4 挂线疗法治疗肛管直肠周围脓肿的关键要点

**4.1 正确寻找内口和处理内口** 直肠后间隙及骨盆直肠间隙脓肿一般脓液形成较多,脓腔较大,薄弱点很难确定,此时对应的内口穿出应在脓腔的最薄弱处。马蹄形脓肿其形成原因不同,内口的部位亦不同。骨盆直肠间隙脓肿通过直肠后间隙扩散对侧形成的马蹄形肛周脓肿,其内口的穿出一一般与最先形成的脓肿的部位有关。同时还要注意有可能有多个内口的情况,不能遗漏。应注意的是高位脓肿的内口仍然在齿线处,高位内口并不存在,所以仍应选择最低位寻找内口<sup>[57]</sup>。

**4.2 挂实线和挂虚线的应用指征** 实挂与虚挂比较而言,实挂主要用于对内口进行处理,虚挂主要用于引流脓腔。具体运用时,还要根据病程、脓肿的范围、脓腔大小等方面而定。史仁杰<sup>[58]</sup>总结为:对所挂组织多者挂线宜紧,所挂组织少者挂线宜松;肛直环厚者挂线宜紧,肛直环薄者所挂组织宜松。脓腔深大者挂线宜松,脓腔狭小者挂线宜紧;脓腔炎性浸润较重者,橡皮筋宜松,可推迟紧线时间。

**4.3 关于紧线的问题** 王晓宏等<sup>[59]</sup>认为肛管直肠周围脓肿在急性炎症期,肛周组织脆弱,早期紧

线,宜造成组织过快切开,感染的创面不能随线修复,应等充分引流,组织炎症消退后再行紧线。潘良富<sup>[60]</sup>主张除黏膜下和高位肌间脓肿在术中作一次紧线外,对高位挂线不作一次紧扎。丁义江<sup>[61]</sup>认为肛管直肠周围脓肿术后紧线不宜参照肛瘘中紧线的长度。肛瘘多在局部组织处于非炎症期手术,瘻道挂线处有较多的纤维化组织,而肛管直肠周围脓肿处在急性炎症期,组织水肿脆弱,因此初期只能轻度紧线,以后每次紧线的长度宜在0.2-0.4 cm(橡皮筋的自然长度),后期可稍延长。对肛周较大创面,宜先引流挂线,待创面肉芽生长填充较多后再作紧线,以减少肛管损伤。

## 5 结论

目前挂线疗法已成为治疗肛管直肠周围脓肿的一种成熟疗法。临床医师根据脓肿复杂程度的不同,已能灵活运用挂实线、挂虚线,实挂、虚挂相结合,以及挂线配合其他疗法,进行不同程度的创新,将后遗肛瘘的发生率大大减少,提高了根治率,保护了肛门功能,取得了较大进展。但必须指出的是:挂线疗法的相关要点,尚需进一步规范,以更科学地挂线,便于广大临床医师掌握,更好地发挥挂线疗法的作用。

## 6 参考文献

- 1 吴阶平,裘法祖.黄家驷外科学.第6版.北京:人民卫生出版社,1996:1169
- 2 杨向东,安辉,曹哲剑,汪丽娜,彭国琴,张琦,顾尽辉.曹吉勋教授一期手术根治肛管直肠周围脓肿的经验.中华中医药学会第十二次大肠肛门病学术会议 2006:171-173
- 3 胡伯虎,史兆歧,周济民.犬肛门括约肌切开与挂线对直肠肛门管静止压的影响及组织病理学观察.中医杂志 1983;24:48
- 4 张琳,朱镇宇.定向挂线在高位肛瘘治疗中的临床效果.中华现代外科学杂志 2006;3:1801-1803
- 5 曾莉.挂线疗法的治疗机理.江苏中医药 2006;27:4-5
- 6 徐廷翰.挂线多切口引流法治疗肛周脓肿41例.四川中医 1987;8:38-39
- 7 李春雨,聂敏,田振国,杨明,崔丽.一次性切开挂线法治疗高位肛管直肠周围脓肿110例报告.辽宁医学杂志 2001;15:76-77
- 8 史仁杰.肛瘘挂线疗法的焦点问题.中国中医肛肠教育研讨会暨第十二届中日大肠肛门病学术交流 2008:377-380
- 9 郑芳.一次性切开挂线放射状多切口引流治疗高位马蹄形肛管直肠周围脓肿128例.结直肠肛门外科 2012;18:122-123
- 10 王鑫,曹艳玲,吕亚西.切开加挂线一次性治愈高位直肠周围脓肿316例.时珍国医国药 2007;18:946
- 11 吕飞跃,宁国礼,高占军,王利群.一期切开引流加挂线术治疗肛管直肠周围脓肿308例.第四军医大学吉林军医学院学报 2002;24:33-34
- 12 陈邑岐,钱剑秋.一次性切开挂线对口引流治疗高位肛周脓肿体会.现代中西医结合杂志 2006;15:

## ■名词解释

挂线疗法:在肛管直肠周围脓肿外作一切口,通过套在探针上的丝线将橡皮筋从外口引入,并从内口穿出,然后将橡皮筋两端适当拉紧,并用丝线结扎,剪去多余的橡皮筋。



## ■同行评价

本文介绍挂线技术在肛周脓肿治疗中的应用,对临床有一定的指导意义。

- 207-208
- 13 吴至久,唐学贵.一次切开挂线对口引流治疗高位肛周脓肿43例临床分析.结直肠肛门外科 2007; 13: 315
- 14 郑金坚,谭红.切开对口引流挂线术治疗高位肛周脓肿.广西中医学院学报 2007; 10: 39-40
- 15 钱海华.朱秉宜教授运用挂线疗法治疗高位肛瘘经验.南京中医药大学学报 2009; 25: 387-391
- 16 黄乃健.中国肛肠病学.第1版.济南:山东科学技术出版社.1996: 756
- 17 吴泽炎.切开引流清创挂线术治疗高位肛周脓肿30例报告.福建医药杂志 2002; 24: 117
- 18 蒋进广,王猛,陈娟,陈玉根.改良 I 期切开挂线引流术治疗高位肛周脓肿24例疗效观察.结直肠肛门外科 2012; 18: 194-195
- 19 陈玉根,孙桂东,李国年,史仁杰,黄继成,谷云飞,朱秉宜.浅挂线法治疗高位肛周脓肿的临床研究.辽宁中医杂志 2007; 34: 591-592
- 20 何德才,向锋,赵自星.切开双挂线引流术治疗高位后蹄铁型肛周脓肿多中心对照研究.四川中医 2007; 25: 76-78
- 21 许方方.切开双挂线对口引流术治疗蹄铁型肛周脓肿36例临床分析.安徽医学 2008; 29: 128-129
- 22 黄国学,王茂林.隧道式切开引流挂线治疗环状肛周脓肿25例.福建医药杂志 2011; 33: 103-104
- 23 王廷杰,李振宇,李莉,张云鹏.一期旷置引流挂线术治疗复杂性肛周脓肿临床观察.中国现代医生 2008; 46: 131-132
- 24 钱海华,于丽杰.高位虚挂引流法在高位肛瘘手术中的应用体会.吉林中医药 2004; 24: 35-36
- 25 钱海华.论实挂与虚挂.江苏中医药 2006; 27: 8
- 26 Ritchie RD, Sackier JM, Hodde JP. Incontinence rates after cutting seton treatment for anal fistula. *Colorectal Dis* 2009; 11: 564-571 [PMID: 19175623]
- 27 Faucheron JL, Saint-Marc O, Guibert L, Parc R. Long-term seton drainage for high anal fistulas in Crohn's disease—a sphincter-saving operation? *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 208-211 [PMID: 8620789]
- 28 Held D, Khubchandani I, Sheets J, Stasik J, Rosen L, Riether R. Management of anorectal horseshoe abscess and fistula. *Dis Colon Rectum* 1986; 29: 793-797 [PMID: 3792160]
- 29 Makowiec F, Jehle EC, Becker HD, Starlinger M. Perianal abscess in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 443-450 [PMID: 9106694]
- 30 Pritchard TJ, Schoetz DJ, Roberts PL, Murray JJ, Collier JA, Veidenheimer MC. Perirectal abscess in Crohn's disease. Drainage and outcome. *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 933-937 [PMID: 2226080]
- 31 伍静,刘洪,杨春梅,何洪波.保留括约肌虚挂线法治疗高位肛周脓肿.华西医学 2012; 27: 723-726
- 32 金振美.浮挂引流药线对高位蹄铁型肛周脓肿的作用.中国中西医结合外科杂志 2008; 14: 473-474
- 33 史仁杰.多切口虚挂引流术治疗多间隙高位肛周脓肿32例.河北中医 2008; 30: 136-137
- 34 李洪林,岳伯华,戴运刚.切开挂浮线与其根治术治疗高位肛周脓肿87例疗效观察.中国实用医药 2007; 2: 68-69
- 35 刘金城.放射状多切口挂浮线引流术一次性根治蹄铁形肛周脓肿的临床研究.长春中医药大学学报 2010; 26: 235-236
- 36 应光耀,林晖,孙健,熊国华,何春梅.对口切扩加拖线治疗高位后蹄铁型肛周脓肿临床疗效观察.世界中西医结合杂志 2012; 7: 487-489
- 37 张波,陈浩.高位虚挂线加低位对口引流法治疗深部肛周脓肿24例.江苏医药 2011; 37: 852-853
- 38 徐子鹏,王跃,王艳.直肠内壁挂线术的治疗机理.中国肛肠病杂志 1990; 10: 12-13
- 39 赵世华.直肠内壁挂线术治疗高位肛管直肠周围脓肿27例.湖南中医药导报 2003; 9: 32-33
- 40 张艳,李海峰.肛门直肠内壁挂线治疗肛周脓肿50例.中国社区医师 2004; 6: 25
- 41 王金凤.直肠内壁挂线术治疗直肠周围脓肿.新医学导刊 2008; 7: 65
- 42 吴菊平.线管引流加切开挂线术治疗蹄铁型肛周脓肿.医药世界 2006; 11: 80
- 43 蒋守龙,曹俊,徐介预.挂线加腔内置管引流治疗高位肛周脓肿疗效观察.现代中西医结合杂志 2008; 17: 1858-1859
- 44 葛琪,韦平.一次性切开挂线置管引流法治疗高位肛周脓肿体会.中国医药指南 2008; 6: 341-342
- 45 陈朝晖,陈宏斌,吴印书,严国锋,郑发娟,饶鹏.T管引流加内口扩创挂线术治疗高位多间隙肛周脓肿30例.中国中西医结合外科杂志 2009; 15: 33-35
- 46 于海鹰,丛中利,罗玲,杨松旭.切开挂线配合留置梅花头尿管引流术治疗高位肛周脓肿50例临床观察.中国肛肠病杂志 2009; 29: 25-27
- 47 江少臣,喻敬东.脓肿切开引流挂线术及脓肿切开血浆管引流术治疗肛周脓肿88例体会.临床外科杂志 2007; 15: 501
- 48 王传思,谢贻祥.半胶管引流 I 期根治多间隙肛周脓肿的临床研究.结直肠肛门外科 2011; 17: 328-330
- 49 高宝良,陈子胜,周秀扣,陈宝华.内口切开挂线引流治疗直肠后间隙脓肿10例.中国中西医结合外科杂志 2002; 8: 118
- 50 李秀萍.中西医结合切开挂线与单纯切开挂线治疗肛周脓肿60例的对照观察.浙江创伤外科 2011; 16: 183-184
- 51 赵怀鑫.一期切开挂线加微波治疗高位肛周脓肿68例疗效分析.中国全科医学 2010; 13: 2394-2395
- 52 刘忠华.微波照射对肛周脓肿术后创面愈合的疗效观察.华夏医学 2008; 21: 797-798
- 53 张玉镇.切开挂线术加中药坐浴治疗肛周脓肿65例.河南中医 2004; 24: 48
- 54 陈洪林,施耀辉,封以生,唐英,盛薇,项亚军.虚挂线保留肛门括约肌配合中药坐浴治疗高位肛周脓肿17例.河北中医 2009; 31: 1788
- 55 范丽颖.一次性切开挂线术并中药熏洗治疗肛周脓肿68例.实用中医内科杂志 2011; 25: 63-64
- 56 谢川箭.切开引流(挂线)术配合排脓生肌中药根治高位肛周脓肿疗效研究.中国社区医师(医学专业) 2012; 14: 178-179
- 57 郭景武,金振美,郭莉莉,刘翠红.保留皮桥一次根治术治疗多间隙肛周脓肿266例.中国中西医结合外科杂志 2006; 12: 589
- 58 史仁杰.肛管直肠周围脓肿切开挂线术中的若干细节问题.首届国际中西医结合大肠肛门病学术论坛暨第十二届全国中西医结合大肠肛门病学术会议 2007: 363-367
- 59 王晓宏,李柏年.高位肛瘘挂线疗法的若干问题.中国(南京)肛肠外科国际论坛 2006: 155-156
- 60 潘良富,谷云飞.一次性根治肛周高位脓肿218例.中国肛肠病杂志 2000; 20: 10-11
- 61 丁义江.丁氏肛肠病学.北京:人民卫生出版社.2006: 268

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 龙血素对肝星状细胞的影响

李玉莲, 宋正己, 范红, 彭伟, 高建梅, 沈涛

李玉莲, 宋正己, 范红, 彭伟, 云南省第一人民医院, 昆明理工大学附属昆华医院消化内科 云南省昆明市 650032  
高建梅, 沈涛, 云南省第一人民医院, 昆明理工大学附属昆华医院基础医学研究所, 云南省昆明市 650032  
李玉莲, 主要从事消化内科的相关研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 30960454/C180108  
云南省科技计划应用基础计划基金资助项目, No. 2008ZC084M  
作者贡献分布: 课题由范红, 宋正己, 彭伟及李玉莲共同设计, 研究过程由宋正己与李玉莲操作完成实验测试及分析工具由高建梅与沈涛提供, 数据分析有范红, 宋正己及李玉莲共同完成。  
通讯作者: 范红, 教授, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 云南省第一人民医院消化科, ynfanhong@163.com  
收稿日期: 2012-11-14 修回日期: 2012-12-28  
接受日期: 2012-12-28 在线出版日期: 2013-01-08

## Influence of treatment with loureirin on rat hepatic stellate cells *in vitro*

Yu-Lian Li, Zheng-Ji Song, Hong Fang, Wei Peng, Jian-Mei Gao, Tao Shen

Yu-Lian Li, Zheng-Ji Song, Hong Fang, Wei Peng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, Kunming 650032, Yunnan Province, China  
Jian-Mei Gao, Tao Shen, Institute of Basic Medicine, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, Kunming 650032, Yunnan Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960454/C180108; and the Science and Technology Application Project of Yunnan Province, No. 2008ZC084M  
Correspondence to: Hong Fang, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, Kunming 650032, Yunnan Province, China. ynfanhong@163.com  
Received: 2012-11-14 Revised: 2012-12-28  
Accepted: 2012-12-28 Published online: 2013-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of treatment with loureirin A/B on rat hepatic stellate cells (HSCs) *in vitro*.

**METHODS:** HSC-T6 cells were cultured in 96-well plates for 24 h and then incubated with different concentrations of loureirin A/B for 48 h. MTT assay was used to assess the proliferation of HSCs. The contents of hyaluronic acid, laminin and collagen type IV in culture supernatants were measured by radioimmunoassay. The

mRNA expression of blood vessel endothelium (VEGF 165) and histoplasma tissue inhibitory factor (HIF-1) was detected by real-time fluorescence quantitative PCR.

**RESULTS:** The half maximal inhibitory concentrations ( $IC_{50}$ ) of loureirin A/B were 0.3 and 0.1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  respectively. Treatment with loureirin A/B significantly inhibited HSC proliferation, the secretion of hyaluronic acid, laminin and collagen type IV ( $31.1 \pm 4.32$  vs  $43.05 \pm 4.96$ ,  $441.28 \pm 25.38$  vs  $302.98 \pm 29.59$ ,  $17.96 \pm 3.00$  vs  $25.23 \pm 4.96$ , all  $P < 0.05$ ), and the mRNA expression of VEGF<sub>165</sub> and HIF-1. The effects of loureirin B were stronger than those of loureirin A.

**CONCLUSION:** Treatment with loureirin A/B could significantly inhibit the proliferation of HSCs, the secretion of hyaluronic acid, laminin and collagen type IV, and the mRNA expression of VEGF<sub>165</sub> mRNA and HIF-1 mRNA, and the effects of loureirin B were stronger than those of loureirin A.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatic stellate cells; Extracellular matrix; Loureirin; VEGF<sub>165</sub>; HIF-1

Li YL, Song ZJ, Fang H, Peng W, Gao JM, Shen T. Influence of treatment with loureirin on rat hepatic stellate cells *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 87-92

## 摘要

**目的:** 观察龙血素A/B对肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)增殖及各种物质表达的影响。

**方法:** 将HSC分为3组: 空白对照组、细胞对照组、药物干预组。用MTT法观察龙血素A/B对HSC-T6增殖的影响, 并检测细胞上清中透明质酸酶(hyaluronidase, HA)、层粘连蛋白(hyaluronidase, LN)、IV型胶原(collagen type IV, IV-C)的含量。采用Real time-PCR检测HSC经龙血素A/B处理前后血管内皮生长因子(blood vessel endothelium, VEGF<sub>165</sub>)和低氧

## ■背景资料

龙血素B是龙血竭黄酮的主要成分, 主要分布于血流量大的脏器, 如肝脏、肾脏等。多种黄酮类化合物被证实具有明显的防治肝纤维化的作用。龙血竭能有效地减轻肺纤维化大鼠肺组织的纤维化程度, 龙血素B还能对硫代乙酰胺诱导的大鼠肝纤维化有一定的预防和治疗作用。

## ■同行评议者

管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验医学教研室

## ■研究前沿

近年研究发现,肝星状细胞(HSC)活化同时伴有的内皮细胞活化和新生血管形成是进展性肝纤维化间质重建中最突出的病理特征,在肝纤维化病理生理中起重要作用。也有研究表明龙血竭对硫代乙酰胺诱导的肝纤维化有一定的预防和治疗作用。

诱导因子(histoplasma tissue inhibitory factor, HIF-1)mRNA表达的影响。

**结果:** HSC的抑制率均随龙血素A/B的浓度增高而增高,且龙血素A的 $IC_{50}$ 约为 $0.3 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ,龙血素B的 $IC_{50}$ 约为 $0.1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ;与正常对照组相比,药物干预组的HA、LN、IV-C含量降低( $31.10 \pm 4.32$  vs  $43.05 \pm 4.96$ ,  $441.28 \pm 25.38$  vs  $302.98 \pm 29.59$ ,  $17.96 \pm 3.00$  vs  $25.23 \pm 4.96$ , 均  $P < 0.05$ ); VEGF和HIF-1  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值明显降低,且龙血素B组较龙血素A明显。

**结论:** 龙血素A/B均可抑制HSC的增值,龙血素A抑制较龙血素B明显;其还可下调HSC中HA、LN、IV-C及VEGF<sub>165</sub>和HIF-1 mRNA的表达,龙血素B较龙血素A下调效果明显。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 肝星状细胞; 龙血素; 血管内皮生长因子; 低氧诱导因子

李玉莲, 宋正己, 范红, 彭伟, 高建梅, 沈涛. 龙血素对肝星状细胞的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 87-92  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/87.asp>

## 0 引言

肝纤维化是肝组织慢性损伤后反复的愈合修复和间质重塑过程,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化和表型改变是肝纤维化的中心事件,活化HSC增殖、细胞迁移、收缩性增加,并产生过量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)聚集于Disse间隙,引起窦毛细血管内皮窗孔关闭,血窦内压力增加,肝细胞营养障碍<sup>[1]</sup>。近年研究发现, HSC活化同时伴有的内皮细胞(endothelial cell, EC)活化和新生血管形成是进展性肝纤维化间质重建中最突出的病理特征,在肝纤维化病理生理中起重要作用<sup>[2-4]</sup>。前期试验也表明龙血竭对硫代乙酰胺诱导的肝纤维化有一定的预防和治疗作用。本实验在此基础上,通过研究传统中药龙血竭主要成分龙血素A/B对HSC生长、分泌,及其中血管内皮生长因子(blood vessel endothelium, VEGF<sub>165</sub>)和低氧诱导因子(histoplasma tissue inhibitory factor, HIF-1)mRNA表达的影响,初步探讨龙血竭改善纤维化的机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 HSC-T6 细胞系购自中国科学院昆明细

胞库。龙血素A/B中药化学对照品,中国药品生物制品检定所(用甲醇配成 $10 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的原液,  $4^\circ\text{C}$ 储存); DMEM高糖培养液、PBS缓冲液,均购自北京海克隆;新西兰新生牛血清购自美国Gibco公司;青霉素-链霉素溶液、0.25%胰蛋白酶溶液均购自Bioind公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自sigma公司(用前配成0.5%贮存液微孔滤膜( $0.22 \mu\text{m}$ )过滤后,  $-20^\circ\text{C}$ 储存备用); SW-CJ-2F标准型净化工作台(吴江市绿岛净化设备厂);倒置显微镜(Olympus, BX60);美国Thermo Scientific Forma series II水套 $\text{CO}_2$ 培养箱;细胞基因组总RAN提取试剂盒(离心柱型)、Fermentas K1622逆转录试剂盒、 $2\times\text{Taq PCR Mastermix}$ ; SYBR Green II (宝生物)、琼脂糖、DNA分子标准Marker, TBE缓冲液。

### 1.2 方法

1.2.1 MTT法测定龙血素对HSC增殖的影响: (1)细胞的复苏: 细胞自液氮中取出,立即放入 $37^\circ\text{C}$ 水中快速溶化,离心 $1\,000 \text{ r/min}$ ,  $5 \text{ min}$ ,移去上清液后,加入含10%小牛血清的DMEM高糖培养液,移入 $25 \text{ cm}^2$ 培养瓶,放入 $37^\circ\text{C}$ ,  $50 \text{ mL/L CO}_2$ 的培养箱中培养。记录复苏日期,次日换液。当细胞铺满整个培养瓶80%-90%后,0.25%胰蛋白酶消化约 $30 \text{ s}$ ,传代培养; (2)MTT比色法检测HSC的增殖: 复苏后至少传代培养一代,将处于对数生长期的HSC用含10%小牛血清的DMEM高糖培养液配成 $1\times 10^5$ 细胞悬液,接种于96孔板,每孔 $100 \mu\text{L}$ 。将培养的HSC分为3组:空白对照组、细胞对照组、甲醇组(排除甲醇对细胞的影响);药物干预组。各组干预情况见表1。置于 $37^\circ\text{C}$ 、饱和湿度、 $50 \text{ mL/L CO}_2$ 培养箱内培养,24 h后将不同浓度的药物(设 $0.5$ 、 $0.4$ 、 $0.2$ 、 $0.1$ 、 $0.05$ 、 $0.025 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 6个药物终浓度)加入药物干预组培养孔,各浓度均设5个复孔。48 h后每孔加0.5%MTT贮存液 $20 \mu\text{L}$ ,继续孵育4 h后弃上清,每孔加入二甲基亚砷(DMSO) $150 \mu\text{L}$ 溶解细胞内结晶,微型振荡器震荡 $10 \text{ min}$ 后,用全自动酶标仪在 $490 \text{ nm}$ 波长处比色法测定各孔A值,测得的各复孔A值取平均数。抑制率(IE) = (对照孔 $A_{490}$  - 实验孔 $A_{490}$ ) / 对照孔 $A_{490} \times 100\%$ 。观察药物对细胞生长的影响。

1.2.2 Real-time PCR: (1)总RNA提取: 将处于对数生长期的HSC-T6用配成 $2\times 10^5$ 细胞悬液,接种于6孔板,每孔 $2 \text{ mL}$ 。将培养的HSC分为2组:正常对照组、药物干预组。24 h后正常对照组加入培养液,药物干预组加入含龙血素A/B的培养



表 1 各组细胞干预情况

分组	干预情况
空白对照组	100 $\mu$ L 培养基, 24 h 后加入培养基 100 $\mu$ L
细胞组	100 $\mu$ L $1 \times 10^5$ 个/mL 细胞悬液细胞, 24 h 后加入培养基 100 $\mu$ L
甲醛组	100 $\mu$ L $1 \times 10^5$ 个/mL 细胞悬液细胞, 24 h 后加入加含不同浓度(1/25; 1/100; 1/500)甲醛培养基 100 $\mu$ L
药物干预组(龙血素A)	100 $\mu$ L $1 \times 10^5$ 个/mL 细胞悬液细胞, 24 h 后加含不同浓度龙血素A(设0.5、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu$ g/ $\mu$ L, 6个药物终浓度)的培养基 100 $\mu$ L
药物干预组(龙血素B)	100 $\mu$ L $1 \times 10^5$ 个/mL 细胞悬液细胞, 24 h 后加含不同浓度龙血素B的培养基 100 $\mu$ L

表 2 PCR扩增引物系列

目的基因	引物序列	退火温度( $^{\circ}$ C)	产物长度(bp)
内参基(GAPDH)	F: 5'-CTCCCATTCCTCCACCTTTG-3' R: 3'-ATGAGGTCCACCACCCTGTT-5'	59	110
VEGF <sub>165</sub>	F: 5'-CCGCAGACGTGTAATGTTCC-3' R: 3'-GACGGTGACGATGGTGGTGT-5'	62	207
HIF-1	F: 5'-CAGTTACAGGATTCCAGCAGAC-3' R: 3'-TACTTGGGTAGAAGGTGGAGAT-5'	63	152

## ■创新盘点

本实验通过MTT法检测龙血素A/B对肝星状细胞生长的抑制作用,表明:龙血素A/B均可抑制HSC增值及活化,且龙血竭主要成分龙血素B的抑制作用较龙血素A明显,龙血素B对HSC的抑制可能成为临床抗肝纤维化的新途径。

液各200  $\mu$ L, 药物终浓度龙血素A为0.3  $\mu$ g/ $\mu$ L, 龙血素B为0.1  $\mu$ g/ $\mu$ L。各浓度均设5个复孔。细胞培养48 h后, 取上清每孔800, 放免发检测细胞上清中HA、LN、IV-C的含量。剩余上清弃去, PBS洗两遍后, 按细胞基因组RNA提取试剂盒说明提取总RNA, 微量核酸蛋白分析仪测定总RNA浓度和纯度,  $-80^{\circ}$ C保存备用; (2)单链DNA(cDNA)合成: 取1  $\mu$ g总RNA进行逆转录, 反应体系20  $\mu$ L: 其中总RNA 3  $\mu$ L, oligo(dt)18 primer 1、DEPC-treat water 8、5 $\times$ Reaction Buffer 4、Ribolock RNase inhibitor 1、10Mm dNTP Mix 2、RevertAid M-MuLv Reverse transcriptase 1  $\mu$ L。反应条件:  $42^{\circ}$ C 60 min,  $72^{\circ}$ C 5 min; (3)引物特异性检测: 取cDNA进行常规PCR反应。引物用BLAST软件进行在线核实其特异性后由中美泰和生物技术服务有限公司合成(表2)。反应体系20  $\mu$ L: 2 $\times$ Taq PCR Master mix 5  $\mu$ L, 上、下游引物各1  $\mu$ L, 模板DNA 2.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 1  $\mu$ L。阴性对照管中模板cDNA用ddH<sub>2</sub>O 2  $\mu$ L代替。反应条件:  $94^{\circ}$ C 预变性3 min,  $94^{\circ}$ C 变性30 s, 内参基(GAPDH) $59^{\circ}$ C、VEGF<sub>165</sub>  $62^{\circ}$ C、HIF-1  $63^{\circ}$ C退火30 s,  $72^{\circ}$ C延伸30 s, 循环40次,  $72^{\circ}$ C后延伸3 min,  $-4^{\circ}$ C保存。取PCR反应产物5  $\mu$ L与溴酚蓝2  $\mu$ L混匀上样, 在1.5%琼脂糖凝胶中电泳, 电泳在1 $\times$ TBE缓冲液中进行, 电压100 V, 时间45 min, 电泳结束后用凝胶成像分析系统摄像; (4)Real-time PCR: 将逆转录的到的cDNA原液按1、 $1 \times$

$10^{-1}$ 、 $1 \times 10^{-2}$ 、 $1 \times 10^{-3}$ 梯度稀释后, 各取2  $\mu$ L稀释好的cDNA进行RT-PCR反应, 检测发现目的基因的扩增效率和管家基因的扩增效率一致, 可应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行相对定量。采用SYBR<sup>®</sup>Premix Ex Taq<sup>™</sup> II试剂盒, 在罗氏LightCycler<sup>®</sup>480荧光定量系统上进行检测, 反应条件如下: 荧光染料5  $\mu$ L, 上、下游引物各0.75  $\mu$ L, 模板DNA取2.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 1.5  $\mu$ L, 反应体积为10  $\mu$ L。反应条件:  $95^{\circ}$ C 预变性3 min,  $95^{\circ}$ C 变性10 s, 均为 $63^{\circ}$ C退火20 s,  $72^{\circ}$ C延伸30 s, 循环40次,  $72^{\circ}$ C后延伸3 min。反应完毕后根据溶解曲线分析PCR产物的特异性, 并由Light Cycler PCR仪分析定量结果, 以达到阈值的最低循环数(Ct值)计算样本中mRNA拷贝数相对量。每个样本的Ct值由目的基因和管家基因决定, 即 $\Delta Ct(\text{目的基因}) = Ct(\text{目的基因}) - Ct(\text{管家基因})$ ,  $\Delta\Delta Ct(\text{目的基因}) = \Delta Ct(\text{目的基因}) - \Delta Ct(\text{标准值})$ 。样品中目的基因的相对拷贝量为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。记录各组Ct值, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , 计算各组细胞VEGF<sub>165</sub>和HIF-1的mRNA表达水平。

**统计学处理** 数据用mean  $\pm$  SD表示, 采用SPSS17.0统计分析软件的配对 $t$ 检验比较,  $P < 0.05$ 表示差别有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 龙血素A/B对HSC-T6增值的影响** IC<sub>50</sub>在凋亡方面, 是指一定浓度的某种药物诱导细胞凋亡50%, 该浓度称为50%抑制浓度, 即凋亡细胞

### ■应用要点

龙血素A/B均可抑制HSC的增值并降低其细胞上清中纤维化标志物的含量,还可下调HSC中VEGF<sub>165</sub>和HIF-1 mRNA的表达,且龙血素B的效果较龙血素A明显。以上作用可能与龙血竭胶囊抑制肝纤维化过程中微血管的新生并延缓肝纤维化有关。

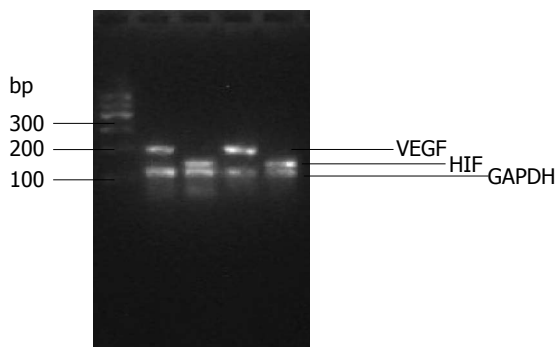


图1 引物特异性检测结果。

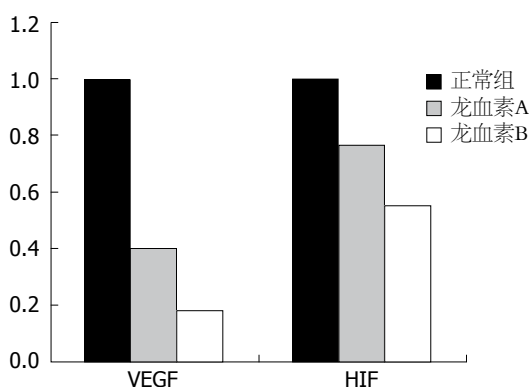


图2 龙血素A/B对肝星状细胞中VEGF及HIF的影响。VEGF: 血管内皮生长因子; HIF: 低氧诱导因子。

与全部细胞数之比等于50%时所对应的浓度,可以用来衡量药物诱导凋亡的能力,即诱导能力越强,该数值越低,也可以反向说明某种细胞对药物的耐受程度。实验表明龙血素A/B均可抑制HSC的增值,排外甲醇对细胞的影响,抑制率均随药物浓度增高而增高,IC<sub>50</sub>龙血素A为0.3 μg/μL,龙血素B为0.1 μg/μL,龙血素B抑制效果较龙血素A明显(表3)。

**2.2 龙血素A/B对HSC-T6细胞上清中HA、LN、IV-C含量的影响** 龙血素A/B处理细胞后可不同程度抑制HSC分泌透明质酸、层粘连蛋白和IV胶原,且龙血素B的抑制效果优于龙血素A(表4)。

**2.3 龙血素A/B对HSC VEGF和HIF-1 mRNA表达的影响** 用1.5%琼脂糖凝胶电泳分析各组常规PCR产物,以Marker为标准。可见常规PCR产物均显示特异性条带,与预期的DNA片段长度相吻合(图1)。药物干预后,通过2<sup>-ΔΔCt</sup>,计算各组HSC VEGF及HIF mRNA表达水平。与正常对照组相比,龙血素A/B均能降低VEGF和HIF-1的2<sup>-ΔΔCt</sup>值,龙血素B的抑制效果较龙血素A明显,具有统计学意义( $P < 0.001$ , 图2)。

表3 甲醇对细胞增殖的影响 ( $n = 5$ , mean  $\pm$  SD)

甲醇比例	A值	抑制率(%)
0	0.572 $\pm$ 0.027	0.0
1/25	0.565 $\pm$ 0.025 <sup>a</sup>	1.2
1/100	0.569 $\pm$ 0.022 <sup>a</sup>	0.5
1/500	0.567 $\pm$ 0.061 <sup>a</sup>	0.8

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 0(正常对照组)。

### 3 讨论

“龙血竭”具有活血、化瘀、止血、补血的功效,被誉为“活血圣药”<sup>[5]</sup>。其主要化学成分和生理活性成分是酚类化合物<sup>[6]</sup>,主要为总黄酮,龙血素A、龙血素B是龙血竭黄酮的主要成分,主要分布于血流量大的脏器,如肝脏、肾脏等<sup>[7]</sup>。多种黄酮类化合物被证实具有明显的防治肝纤维化的作用<sup>[8]</sup>。龙血竭能有效地减轻肺纤维化大鼠肺组织的纤维化程度<sup>[9]</sup>,龙血素B还能对硫代乙酰胺诱导的大鼠肝纤维化有一定的预防和治疗作用<sup>[10]</sup>。龙血素A对局灶性脑缺血再灌注引起的损伤具有一定的保护作用<sup>[11]</sup>。但其具体机制尚不明确。

HSC是肝组织内的窦周细胞,其激活是肝纤维化发生、发展的中心环节和共同通路,他的活化表型或肌成纤维样细胞表型在调控间质血管生成方面起着积极作用<sup>[12]</sup>,而间质血管的改建与肝纤维化进展关系密切。活化的HSC在慢性肝损伤时分泌VEGF、转化生长因子β、血小板衍生生长因子等多种细胞因子,他们能同时促进星状细胞活化和血管生成。抑制HSC的活化或促进其凋亡,及减少其分泌的促微血管新生的细胞因子,能改善肝纤维化的发展。本实验通过MTT法检测龙血素A/B对肝星状细胞生长的抑制作用,表明:龙血素A/B均可抑制HSC增值及活化,且龙血竭主要成分龙血素B的抑制作用较龙血素A明显,龙血素B对HSC的抑制可能成为临床抗肝纤维化的新途径。

HA由间质细胞合成HSC是肝脏间质细胞的一种,约占肝脏间质细胞的1/3,是反映肝损害严重程度、判断有无活动性肝纤维化的定量指标,可较准确地反映肝内已生成的纤维量及肝细胞受损状况。IV-C为构成基底膜主要成份,可反映基底膜胶原更新率,含量增高可较灵敏反映出肝纤过程,是肝纤的早期标志之一。LN为基底膜中特有的非胶原性结构蛋白,可以反映肝

表 4 龙血素对肝星状细胞分泌透明质酸、层黏连蛋白和IV型胶原的影响 ( $\mu\text{g/L}$ )

剂量( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )	分泌透明质酸		层黏连蛋白		IV型胶原	
	龙血素A	龙血素B	龙血素A	龙血素B	龙血素A	龙血素B
0	43.05 $\pm$ 4.96	43.05 $\pm$ 4.96	441.28 $\pm$ 25.38	441.28 $\pm$ 25.38	25.23 $\pm$ 4.96	25.23 $\pm$ 4.96
IC <sub>50</sub>	31.10 $\pm$ 4.32 <sup>a</sup>	28.50 $\pm$ 6.01 <sup>a</sup>	302.98 $\pm$ 29.59 <sup>a</sup>	243.53 $\pm$ 22.30 <sup>a</sup>	17.96 $\pm$ 3.00 <sup>a</sup>	13.28 $\pm$ 5.72 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ ; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 0(正常对照组).

纤维化的进展与严重程度. 血清HA、IV-C、LN联合检测可对肝纤维化程度的判定、肝硬化的早期诊断具有一定的临床意义, 是判断肝纤维化的敏感可靠指标<sup>[13]</sup>. 本实验结果显示: 血竭素A/B均可抑制HSC的增值, 还可不同程度的降低HSC细胞上清中HA、LN、IV-C的含量, 在IC<sub>50</sub>水平抑制效果最明显, 龙血素B的抑制效果优于龙血素A.

肝脏纤维化后, 血管经纤维条索压迫后扭曲, 血运不畅, 出现缺氧情况, 引起肝组织血管新生<sup>[14]</sup>. 缺氧反应基因的调控主要是由HIF-1来实现. 有研究表明HIF-1-VEGF信号通路基因和蛋白表达上调是血管新生的部分机制<sup>[15]</sup>, 在纤维化形成过程中, 肝血窦的Disse间隙内过多ECM沉积, 使肝脏组织缺氧, 诱导HIF-1产生, 进而VEGF表达增加, 诱导新生血管的形成<sup>[16]</sup>, 机制可能为HIF-1启动VEGF的转录, 其次是缺氧时VEGF mRNA的稳定性增加, 最后HIF-1还可以上调VEGF受体Flt-1的转录, 该受体可增强VEGF的生物学效应. 其中HIF-1诱导VEGF转录活性的增强和表达增加在肿瘤血管生成中起重要作用.

在缺氧情况下, 组织细胞可出现变性坏死, 同时自由基产生增加, 从而诱发炎症反应, 这些炎症介质能刺激静止的HSC活化, 活化的HSC以及内皮细胞合成并分泌VEGF, 从而促进血管的生成, 分泌的VEGF又能促进活化的HSC增殖. 肝硬化炎症介质的释放, 细胞因子的作用及缺氧共同促成了微血管的新生. 由于肝纤维化区域的新生血管本身未成熟, 无法改善局部的组织缺氧, 呈现血管新生增加, 肝纤维化未消退反而增加的现象. 病理性血管新生可作为慢性肝脏疾病的潜在治疗靶标. HIF-1是相对较新的促血管生长因子的上游调控因子, 纠正肝脏缺氧状态或降低HIF的表达可以使HSC活化减少, 纤维化延缓; 抑制HSC的活化或促进活化HSC凋亡, 下调VEGF<sub>165</sub>和HIF-1在HSC中的表达可能成

为抗血管新生和抗肝纤维化的有效途径. 本实验采用RT-PCR检测HSC药物处理前后VEGF<sub>165</sub>和HIF-1 mRNA表达的影响, 结果显示药物处理后HSC细胞中VEGF<sub>165</sub>和HIF-1 mRNA的表达明显下调, 且龙血素B较龙血素A下调效果明显, 说明龙血素A/B可能通过抑制HSC的活化或促进活化HSC凋亡, 下调VEGF<sub>165</sub>和HIF-1在HSC中的表达来抑制血管新生和抗肝纤维化.

综上所述, 本研究初步观察了龙血素A/B对HSC生长、VEGF<sub>165</sub>和HIF-1 mRNA表达及HSC上清中纤维化标志物的影响. 结果发现: 龙血素A/B均可抑制HSC的增值并降低其细胞上清中纤维化标志物的含量, 还可下调HSC中VEGF<sub>165</sub>和HIF-1 mRNA的表达, 且龙血素B的效果较龙血素A明显. 以上作用可能与龙血竭胶囊抑制肝纤维化过程中微血管的新生并延缓肝纤维化有关.

#### 4 参考文献

- 1 Bataller R, Brenner D A. Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation* 2005; 115: 208-218 [DOI: 10.1172/JCI200524282]
- 2 Medina J, Arroyo AG, Sánchez-Madrid F, Moreno-Otero R. Angiogenesis in chronic inflammatory liver disease. *Hepatology* 2004; 39: 1185-1195 [PMID: 15122744 DOI: 10.1002/hep.20193]
- 3 Vanheule E, Geerts AM, Van Huisje J, Schelfhout D, Praet M, Van Vlierberghe H, De Vos M, Colle I. An intravital microscopic study of the hepatic microcirculation in cirrhotic mice models: relationship between fibrosis and angiogenesis. *Int J Exp Pathol* 2008; 89: 419-432 [PMID: 19134051 DOI: 10.1111/j.1365-2613.2008.00608.x]
- 4 Fernández M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol* 2009; 50: 604-620 [PMID: 19157625 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.011]
- 5 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 化学工业出版社, 2000: 110
- 6 Zheng QA, Li HZ, Zhang YJ, Yang CR. Dracaenogenins A and B, new spirostanols from the red resin of *Dracaena cochinchinensis*. *Steroids* 2006; 71: 160-164 [PMID: 16271273 DOI: 10.1016/j.steroids.2005.09.007]
- 7 孙晓博, 金描真, 李雪, 金鸽. 龙血竭中龙血素A与龙血素B在大鼠体内的组织分布研究. *广东药学院学报* 2008; 24: 214-216

#### ■同行评价

本文对中药血竭有效成分龙血素抗肝星状细胞的作用加以研究, 研究目标明确, 具有一定的创新性和科学意义.



- 8 闫波, 陈飞虎, 吴繁荣. 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠治疗作用及机制探讨. 中国药理学通报 2008; 24: 1640-1645
- 9 聂莉, 程德云, 朱刚艳. 龙血竭对肺纤维化大鼠肺组织转化生长因子 $\beta 1$  mRNA及 I 型胶原蛋白表达的影响. 河北中医 2010; 32: 1071-1072
- 10 彭伟, 范红, 宋正己. 龙血素B对实验性肝纤维化的干预作用及机制. 中华消化杂志 2010; 30: 129-130
- 11 杨波, 郭建恩, 韩俊婷, 王晓峰, 武冬慧, 赵文杰, 朱铁梁. 龙血素A对大鼠局灶性脑缺血再灌注引起的脑损伤及机制探讨. 中药新药与临床药理 2010; 21: 103-107
- 12 Lee JS, Semela D, Iredale J, Shah VH. Sinusoidal remodeling and angiogenesis: a new function for the liver-specific pericyte? *Hepatology* 2007; 45: 817-825 [PMID: 17326208 DOI: 10.1002/hep.21564]
- 13 刘晓强, 周海中, 吴靖珍. 肝病患者血清HA、PC-III、C-IV、LN测定的临床意义. 实用临床医药杂志 2009; 13: 40-42
- 14 Fong GH. Mechanisms of adaptive angiogenesis to tissue hypoxia. *Angiogenesis* 2008; 11: 121-140 [PMID: 18327686 DOI: 10.1007/s10456-008-9107-3]
- 15 吕靖, 陆雄, 陶艳艳, 赵志敏, 刘成海. 肝纤维化小鼠肝组织血管新生特点及其形成机制. 肝脏 2011; 16: 35-40
- 16 Corpechot C, Barbu V, Wendum D, Kinnman N, Rey C, Poupon R, Housset C, Rosmorduc O. Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1010-1021 [PMID: 11981751 DOI: 10.1053/jhep.2002.32524]

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

# 三种消化道重建术对非肥胖性2型糖尿病患者糖脂代谢的影响

胡东平, 成晓舟, 景武堂, 赖瑞敏, 郭天康

胡东平, 成晓舟, 景武堂, 赖瑞敏, 兰州大学第一临床医学院  
甘肃省兰州市 730000

郭天康, 甘肃省人民医院普外科 甘肃省兰州市 730000

胡东平, 硕士, 主要从事消化系手术治疗糖尿病方面的研究。

作者贡献分布: 本文的主要实验、临床资料整理、数据分析、  
文章起草由胡东平完成; 病例选择、样本取材由胡东平、成晓舟、  
景武堂及赖瑞敏完成; 课题设计、文章修改及审阅由郭天康完成。

通讯作者: 郭天康, 教授, 730000, 甘肃省兰州市城关区东岗西路204号, 甘肃省人民医院普外科。gsguotiankang@sohu.com  
电话: 0931-8281969

收稿日期: 2012-10-12 修回日期: 2012-10-31

接受日期: 2012-12-17 在线出版日期: 2013-01-08

## Impact of 3 kinds of digestive tract reconstruction on carbohydrate and lipid metabolism in non-obese type 2 diabetes mellitus patients

Dong-Ping Hu, Xiao-Zhou Cheng, Wu-Tang Jing, Rui-Ming Lai, Tian-Kang Guo

Dong-Ping Hu, Xiao-Zhou Cheng, Wu-Tang Jing, Rui-Ming Lai, the First Clinical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Tian-Kang Guo, Department of General Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Tian-Kang Guo, Professor, Department of General Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, 204 Donggang West Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. gsguotiankang@sohu.com

Received: 2012-10-12 Revised: 2012-10-31

Accepted: 2012-12-17 Published online: 2013-01-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effect of three digestive tract reconstruction procedures on carbohydrate and lipid metabolism in non-obese patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

**METHODS:** Clinical data for 39 patients who underwent Billroth I anastomosis (10 cases), Billroth II anastomosis (13 cases) or Roux-en-Y anastomosis (13 cases) in the Department of General Surgery, Gansu Provincial People's Hospital from July 2008 to May 2011 were reviewed.

Clinical outcome were assessed and compared between the three groups.

**RESULTS:** All patients recovered without major complications. Compared to preoperative levels, postoperative levels of FPG, GHbA1c, TG, TC and LDL-c decreased by  $2.6 \text{ mmol/L} \pm 0.7 \text{ mmol/L}$ ,  $(2.1 \pm 0.7)\%$ ,  $1.5 \text{ mmol/L} \pm 0.5 \text{ mmol/L}$ ,  $0.8 \text{ mmol/L} \pm 0.3 \text{ mmol/L}$ , and  $1.0 \text{ mmol/L} \pm 0.4 \text{ mmol/L}$ , respectively, while postoperative levels of HDL-c, Fins and FC-p increased by  $0.3 \text{ mmol/L} \pm 0.07 \text{ mmol/L}$ ,  $6.1 \text{ mU/L} \pm 3.2 \text{ mU/L}$  and  $0.28 \text{ nmol/L} \pm 0.06 \text{ nmol/L}$ . Postoperative levels of FPG, GHbA1c, TG and LDL-c in patients undergoing Roux-en-Y anastomosis were much lower than those in other two groups (all  $P < 0.05$ ). Without any drug treatment and special diet, Billroth I anastomosis, Billroth II anastomosis and Roux-en-Y anastomosis improved glycolipid abnormality in 40%, 69.2% and 81.3% of patients, respectively.

**CONCLUSION:** All three digestive tract reconstruction procedures could improve carbohydrate and lipid metabolism in non-obese T2DM patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Digestive system surgical procedures; Type 2 diabetes mellitus; Glucose metabolism disorders; Lipid metabolism disorders.

Hu DP, Cheng XZ, Jing WT, Lai RM, Guo TK. Impact of 3 kinds of digestive tract reconstruction on carbohydrate and lipid metabolism in non-obese type 2 diabetes mellitus patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 93-97

## 摘要

**目的:** 探讨三种消化道重建术对非肥胖性2型糖尿病患者糖脂代谢的影响。

**方法:** 回顾性分析2008-02/2011-05在甘肃省人民医院普外科接受Billroth I术(10)、Billroth

## ■背景资料

糖尿病是严重危害人类健康的慢性代谢性疾病,我国患病人群高达9 240万位居全球之首。目前糖尿病的治疗主要以饮食、运动和药物为主,但是疗效不佳,费用昂贵。近年来临床发现,通过消化道重建术可改善糖尿病患者糖脂代谢异常,而逆转糖尿病的各种并发症并使其治愈,但治疗机制目前尚不明确,有待进一步研究。

## ■同行评议者

于则利,教授,首都医科大学附属北京同仁医院外科

## ■ 相关报道

张新国和王湘辉等报道证实, 消化道重建术可以改善非肥胖性2型糖尿病患者的糖脂代谢异常, 能明显降低糖尿病并发症的发生率, 值得临床研究。

II 术(13)和Roux-en-Y术(16)治疗的39例合并有2型糖尿病患者临床资料, 比较3组手术治疗非肥胖性2型糖尿病的临床结局。

**结果:** 39例患者术后均无严重并发症, 3组术式术前与术后检测指标比较空腹血糖、糖化血红蛋白、总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白下降分别为2.6 mmol/L $\pm$ 0.7 mmol/L、2.1% $\pm$ 0.7%、1.5 mmol/L $\pm$ 0.5 mmol/L、0.8 mmol/L $\pm$ 0.3 mmol/L和1.0 mmol/L $\pm$ 0.4 mmol/L, 高密度脂蛋白、空腹胰岛素和空腹C肽增高分别为0.3 mmol/L $\pm$ 0.07 mmol/L、6.1 mU/L $\pm$ 3.2 mU/L、0.28 nmol/L $\pm$ 0.06 nmol/L。3组术式组内比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。3组术式组间比较, Roux-en-Y术组术后空腹血糖、糖化血红蛋白、甘油三酯和低密度脂蛋白均降至正常, 与其他两组组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。术后在不需要药物和饮食控制的情况下Billroth I 术、Billroth II 术和Roux-en-Y术改善患者糖脂异常的有效率分别为40.0%、69.2%和81.3%。

**结论:** 三种消化道重建术可改善非肥胖性2型糖尿病患者糖脂代谢异常, 机制尚不完全明确。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 消化系统外科手术; 2型糖尿病; 葡萄糖代谢障碍; 脂质代谢障碍

胡东平, 成晓丹, 景武堂, 赖瑞敏, 郭天康. 三种消化道重建术对非肥胖性2型糖尿病患者糖脂代谢的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(1): 93-97

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/93.asp>

## 0 引言

糖尿病是一组严重危害人类健康的慢性代谢性疾病, 目前全世界患病人数达1.5亿, 有研究预计到2030年将增至4.39亿<sup>[1]</sup>, 其中2型糖尿病占据本病群体的95%<sup>[2]</sup>, 且此型通常合并有肥胖和高血脂症, 又称其为“糖脂病”。近年来大量研究资料证明, 在临床应用减肥手术治疗肥胖症的同时, 人们惊奇的发现很多患者的2型糖尿病也被同时治愈或好转<sup>[3,4]</sup>, 这一发现使得人们对糖尿病的治疗有了新的认识。在欧美应用消化道重建术治疗肥胖合并2型糖尿病已经被广泛接受, 由于亚洲与欧美人群的体型差异, 在我国主要以非肥胖性2型糖尿病患者为主。因此, 本研究收集了Billroth I 术、Billroth II 术和Roux-en-Y术治疗合并患有非肥胖性2型糖尿病患者的临

表 1 3组患者术前基本资料 ( $n = 39$ , mean  $\pm$  SD)

	Billroth I	Billroth II	Roux-en-Y
年龄(岁)	45.7 $\pm$ 10.9	47.2 $\pm$ 11.3	50.4 $\pm$ 6.2
n(男/女)	10(6/4)	13(8/5)	16(10/6)
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	27.3 $\pm$ 2.4	23.9 $\pm$ 4.1	25.2 $\pm$ 3.6
糖尿病病史(年)	4.5 $\pm$ 1.2	5.1 $\pm$ 0.9	4.9 $\pm$ 1.3
高血压[n(%)]	4(40)	6(46.2)	8(50.0)
高脂血症[n(%)]	5(50)	6(46.2)	9(56.5)
术前糖尿病治疗			
饮食与运动[n(%)]	3(30)	2(15.4)	3(18.8)
口服降糖药[n(%)]	5(50)	7(53.8)	8(50.0)
胰岛素[n(%)]	2(20)	4(30.8)	5(31.2)

床资料, 对其疗效进行分析, 探讨3组术式在治疗非肥胖性2型糖尿病中的应用价值, 以期对消化道重建术在控制血糖和降低血脂方面提供临床依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我们收集了2008-02/2011-05在甘肃省人民医院收治胃癌、胃肠道间质瘤和消化道溃疡合并2型糖尿病的非肥胖患者39例, 分别按照不同原发病接受Billroth I 术式10例、Billroth II 术式13例及Roux-en-Y术式16例的治疗, 其中女15例, 男24例, 3组术前基本资料比较见表1。该研究获得医院伦理委员会的通过批准, 患者均知情同意。

## 1.2 方法

**1.2.1 入选及排除标准:** 入选标准: (1)符合2006年美国糖尿病协会(ADA)关于2型糖尿病的诊断标准, 空腹血糖 $\geq 126$  g/L(7.0 mmol/L)或糖尿病症状+随机血糖 $> 200$  g/L(11.1 mmol/L); (2)有确切的2型糖尿病病史并在术前仍进行内科治疗; (3)总胆固醇 $> 5.72$  mmol/L, 甘油三酯 $> 1.70$  mmol/L; (4)体质指数 $\leq 30$  kg/m<sup>2</sup>非肥胖者; (5)随访至少12 mo者; (6)所有患者均符合原发病的手术适应症。排除标准: (1)合并严重心、肺、肝、肾功能不全者及伴严重的糖尿病并发症不能耐受手术; (2)病情严重如肿瘤远处转移失去手术机会; (3)体指数 $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>肥胖症; (4)1型糖尿病患者; (5)随访少于12 mo或失访者。

**1.2.2 术前准备:** 详细询问病史, 全面系统检查。术前测定血糖、尿糖、酮体、糖化血红蛋白、电解质及血脂等, 并进行心脏、肝脏和肾脏功能方面检查。病情轻者无需特殊处理, 病情较重需口服降糖药或应用长效胰岛素者, 在术前1 d



表 2 各组患者糖代谢指标变化的比较 ( $n = 39$ , mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	空腹血糖(mmol/L)		糖化血红蛋白(%)		空腹胰岛素(mU/L)		空腹C肽(nmol/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后	术前	术后
Billroth I 组	10	8.9 $\pm$ 1.3	6.8 $\pm$ 0.7 <sup>bd</sup>	8.7 $\pm$ 1.1	7.0 $\pm$ 0.7 <sup>c</sup>	15.3 $\pm$ 4.3	18.2 $\pm$ 5.0	0.46 $\pm$ 0.30	0.69 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>
Billroth II 组	13	8.8 $\pm$ 1.6	6.2 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	8.1 $\pm$ 0.9	6.0 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	13.6 $\pm$ 3.6	19.0 $\pm$ 6.0 <sup>b</sup>	0.60 $\pm$ 0.30	0.83 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
Roux-en-Y组	16	9.1 $\pm$ 1.1	5.8 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	8.7 $\pm$ 1.0	5.8 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	13.0 $\pm$ 3.4	18.2 $\pm$ 5.2 <sup>b</sup>	0.50 $\pm$ 0.34	0.80 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 术前组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs Roux-en-Y组.

表 3 各组患者糖代谢指标变化的比较 ( $n = 39$ , mean  $\pm$  SD, mmol/L)

分组	$n$	甘油三酯		总胆固醇		低密度脂蛋白		高密度脂蛋白	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后	术前	术后
Billroth I 组	10	2.5 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.6 <sup>ac</sup>	5.7 $\pm$ 0.6	5.0 $\pm$ 0.4 <sup>bc</sup>	4.0 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	1.23 $\pm$ 0.50	1.40 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>
Billroth II 组	13	2.4 $\pm$ 0.9	2.4 $\pm$ 0.9	5.9 $\pm$ 0.9	4.6 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	4.0 $\pm$ 0.7	3.0 $\pm$ 0.3 <sup>bd</sup>	1.20 $\pm$ 0.46	1.50 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>
Roux-en-Y组	16	2.6 $\pm$ 0.9	1.2 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	5.9 $\pm$ 1.1	4.5 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	4.1 $\pm$ 0.7	2.7 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	1.30 $\pm$ 0.50	1.80 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 术前组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs Roux-en-Y组.

改用普通胰岛素,使空腹血糖控制在8.9 mmol/L以下,24 h尿糖定量低于10 g.术后根据患者个体差异调整用药,若空腹血糖>7.0 mmol/L时则给予短效胰岛素处理.该研究获得医院伦理委员会的讨论批准,患者均知情同意.

**1.2.3 手术方式:**所有患者均在全麻下行开腹部分胃或全胃切除消化道重建术及相关疾病的根治术.(1)Billroth I 吻合术:远端胃大部分切除后,将残胃与十二指肠吻合;(2)Billroth II 吻合术:切除远端胃后,缝闭十二指肠残端,将残胃与距Treitz韧带远端约20 cm处的上段空肠行端侧吻合;(3)Roux-en-Y吻合术:距Treitz韧带远端约10-15 cm处切断空肠,缝合关闭十二指肠残端,将残胃或食管与远端空肠吻合,在距此吻合45-60 cm处行空肠-空肠端侧吻合.

**1.2.4 检测指标:**分别于术前,术后检测患者空腹血糖、糖化血红蛋白、空腹胰岛素、空腹C肽、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白等疗效指标.

**1.2.5 疗效判断:**参照2010年《中国2型糖尿病防治指南》的控制标准,以空腹血糖、糖化血红蛋白、总胆固醇和甘油三酯为术后治愈和好转的参考指标.(1)治愈标准:在不使用任何降糖降脂药物的情况下,空腹血糖 $\leq$ 6.5%、糖化血红蛋白 $\leq$ 7.0 mmol/L、总胆固醇<4.5 mmol/L和甘油三酯<1.5 mmol/L;(2)好转标准:空腹血糖值较术前降低50%、糖化血红蛋白下降 $\geq$ 1%、总胆固

醇 $\geq$ 4.5 mmol/L和甘油三酯<2.2 mmol/L,或降糖降脂药物使用剂量减少一半;(3)无效标准:空腹血糖值无变化或未降低50%、糖化血红蛋白下降值<1%、总胆固醇 $\geq$ 6.0 mmol/L和甘油三酯 $\geq$ 2.2 mmol/L,与术前相比用药种类或剂量增加.

**1.2.6 随访:**由我院病案室协助我们完成39例病例的随访,随访采用定期复查及电话询问患者或家属,随访间隔6 mo.所有患者均完成随访无失访,随访最短13 mo,最长24 mo.

**统计学处理**采用SPSS18.0统计软件处理数据,结果中定量值以mean $\pm$ SD表示,定性值以例数和百分比表示.3组采用独立样本 $t$ 检验的方法,以 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 术后一般情况**39例患者术后发生吻合口漏1例、肠梗阻1例和切口愈合延期5例,积极治疗后均痊愈,无严重并发症.

**2.2 血糖血脂检测结果的比较**三种消化道重建术对非肥胖性2型糖尿病患者术前、术后血糖血脂生化指标的结果比较见表2和表3.各组术前与术后检测指标比较;空腹血糖、糖化血红蛋白、总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白均明显下降( $P < 0.05$ ,表2),高密度脂蛋白、空腹胰岛素和空腹C肽显著增高( $P < 0.05$ ,表3),3组术式组内比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ).3组术式组间比较,Roux-en-Y术组术后空腹血糖、糖

## ■创新盘点

本研究应用不同消化道重建术对非肥胖性2型糖尿病患者血糖和血脂的疗效进行比较,对糖尿病的手术治疗有指导意义,目前国内尚无类似研究.

## ■应用要点

由于非肥胖性2型糖尿病患者应用手术治疗的适应证仍然存在争议,还处于科学研究阶段。因此,该手术应用于临床实践的治疗还有待进一步研究。

表 4 3组患者术后糖脂代谢情况

分组	n	有效			无效	
		治愈	好转	有效率(%)	无效	无效率(%)
Billroth I	10	1	3	40.0	6	60.0
Billroth II	13	3	6	69.2	4	30.8
Roux-en-Y	16	5	8	81.3	3	18.7

化血红蛋白、甘油三酯和低密度脂蛋白均降至正常,与其他两组组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

2.3 术后糖脂代谢恢复情况 术后12 mo复查患者血糖血脂,在不需任何药物治疗和特殊饮食的情况下, Billroth I 术、Billroth II 术和Roux-en-Y 术改善患者糖脂异常的有效率分别为40.0%、69.2%和81.3%(表4)。

### 3 讨论

随着外科手术治疗2型糖尿病的不断发展和其深入研究,有关消化道重建术治疗2型糖尿病的研究已成为国际热点<sup>[5,6]</sup>。近年来有部分学者,已将手术治疗肥胖性2型糖尿病的成功经验应用于非肥胖性2型糖尿病患者,并取得了显著疗效<sup>[7]</sup>。目前虽然缺乏大样本量随机对照试验,但有研究通过短期随访已经证实,消化道重建术在改善非肥胖性2型糖尿病患者的糖脂异常代谢方面均有显著疗效<sup>[8]</sup>。

为了对比三种消化道重建术式对非肥胖性2型糖尿病的疗效及其可能机理,本研究应用近似于减肥手术的Billroth I 术、Billroth II 术和Roux-en-Y 术为研究手段,系统地对比了术前及术后3组患者空腹血糖、糖化血红蛋白、空腹胰岛素、空腹C肽、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白以及体质量、身体质量指数(body mass index, BMI)和术后降糖药物治疗的变化。在术后2年随访期间,所有患者在没有使用任何降糖降脂药物的情况下, Billroth I 术组、Billroth II 术组和Roux-en-Y 术组术后降糖降脂的有效率分别为40.0%、69.2%和81.3%。患者体质量和BMI与术前相比变化不明显,手术治疗糖尿病使患者血糖血脂改善的作用与体质量和BMI下降的相关性不大,这一研究与张新国等<sup>[9]</sup>和王湘辉等<sup>[10]</sup>在临床上应用胃转流术治疗非肥胖型2型糖尿病结果近似。

术后Billroth II 术组和Roux-en-Y 术组患者的空腹血糖和糖化血红蛋白均恢复到正常水

平,空腹胰岛素和空腹C肽略有升高。本研究揭示上述两种术式旷置十二指肠和近端空肠,一方面使未经消化的食物提早进入低位肠段,预先刺激其肠道黏膜细胞,使得肠道分泌的细胞因子胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor, IGF-1)和胰高血糖素样多肽-1(Glucagon like peptide-1, GLP-1)分泌增多,从而促进糖原合成,抑制胰高血糖素的分泌;此外GLP-1增加了胰岛素前体的合成和胰岛素的基因表达,促进胰岛β细胞的增生与抑制其凋亡<sup>[11,12]</sup>。另一方面食物无法通过十二指肠和近端空肠,使其肠道细胞因子抑胃肽分泌减少,胰岛抵抗被解除<sup>[13]</sup>。在血脂方面甘油三酯、总胆固醇和低密度脂蛋白均有明显降低,高密度脂蛋白增高显著。患者术后血脂改善考虑有以下原因:首先食物提前进入小肠远端,刺激黏膜壁细胞分泌某些肠道激素,这些激素可促进脂肪细胞分解,降低食欲、减少饮食摄入而改善脂质代谢<sup>[14]</sup>;其次消化道重建术改变了食物的生理流向,使得肠道吸收功能受限;最后可能与术后由于机体处于应激状态,消耗了大量脂肪和蛋白质储备有关。Billroth I 术保持了原有上消化道的生理解剖功能,仅属于限制饮食故降糖降脂效果不明显。综上所述,基于前期动物实验和临床研究,我们分析消化道重建术改善糖脂代谢的机理,可能是手术改变了胃、十二指肠及上段空肠原有的正常解剖及其生理功能,使其重建了胃肠道消化和内分泌功能的动态平衡,才使得2型糖尿病患者的糖脂异常获得临床治疗作用<sup>[15]</sup>。

总之,三种消化道重建术可改善非肥胖性2型糖尿病患者的糖脂代谢异常,其中以Billroth II 术和Roux-en-Y 术的近期疗效较为明显,提示我们消化道重建术可能是治疗2型糖尿病的一种有效方法。最后应该提及,由于目前手术治疗非肥胖性2型糖尿病的适应证仍存在争议,还处于科学研究阶段。因此,该手术在临床实践的应用还有待进一步研究。

### 4 参考文献

- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87: 4-14 [PMID: 19896746 DOI: 10.1016/j.diabres.2009.10.007]
- Rubino F. Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis. *Diabetes Care* 2008; 31 Suppl 2: S290-S296 [PMID: 18227499 DOI: 10.2337/dc08-s271]
- Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or

- insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA* 1999; 281: 2005-2012 [PMID: 10359389 DOI: 10.1001/jama.281.21.2005]
- 4 Fried M, Ribaric G, Buchwald JN, Svacina S, Dolezalova K, Scopinaro N. Metabolic surgery for the treatment of type 2 diabetes in patients with BMI <math>\geq 35\text{ kg/m}^2\text{>}</math>: an integrative review of early studies. *Obes Surg* 2010; 20: 776-790 [PMID: 20333558 DOI: 10.1007/s11695-010-0113-3]
- 5 Lee WJ, Chong K, Ser KH, Lee YC, Chen SC, Chen JC, Tsai MH, Chuang LM. Gastric bypass vs sleeve gastrectomy for type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Arch Surg* 2011; 146: 143-148 [PMID: 21339423 DOI: 10.1001/archsurg.2010.326]
- 6 Cummings DE, Overduin J, Foster-Schubert KE. Gastric bypass for obesity: mechanisms of weight loss and diabetes resolution. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2608-2615 [PMID: 15181031 DOI: 10.1210/jc.2004-0433]
- 7 Greenway SE, Greenway FL, Klein S. Effects of obesity surgery on non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Surg* 2002; 137: 1109-1117 [PMID: 12361414 DOI: 10.1001/archsurg.137.10.1109]
- 8 李杭, 张红亚, 梁伟. Roux-en-Y胃肠道重建改善非肥胖性糖尿病胃癌患者的糖脂代谢. *中华普通外科杂志* 2010; 25: 5
- 9 张新国, 杨学军, 徐红. 胃旁路手术治疗 II 型糖尿病的体会. *中华普通外科杂志* 2006; 20: 599-599
- 10 王湘辉, 李涛, 王海忠. Roux-en-Y胃转流术治疗 II 型糖尿病. *西北国防医学杂志* 2006; 27: 2
- 11 Mason EE. Ileal [correction of ilial] transposition and enteroglucagon/GLP-1 in obesity (and diabetic?) surgery. *Obes Surg* 1999; 9: 223-228 [PMID: 10484306 DOI: 10.1381/096089299765553070]
- 12 Suzuki S, Ramos EJ, Goncalves CG, Chen C, Meguid MM. Changes in GI hormones and their effect on gastric emptying and transit times after Roux-en-Y gastric bypass in rat model. *Surgery* 2005; 138: 283-290 [PMID: 16153438 DOI: 10.1016/j.surg.2005.05.013]
- 13 Murphy KG, Bloom SR. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature* 2006; 444: 854-859 [PMID: 17167473 DOI: 10.1038/nature05484]
- 14 Rodieux F, Giusti V, D'Alessio DA, Suter M, Tappy L. Effects of gastric bypass and gastric banding on glucose kinetics and gut hormone release. *Obesity* (Silver Spring) 2008; 16: 298-305 [PMID: 18239636 DOI: 10.1038/oby.2007.83]
- 15 Schwarz A, Büchler M, Usinger K, Rieger H, Glasbrenner B, Friess H, Kunz R, Beger HG. Importance of the duodenal passage and pouch volume after total gastrectomy and reconstruction with the Ulm pouch: prospective randomized clinical study. *World J Surg* 1996; 20: 60-66; discussion 66-67 [PMID: 8588415 DOI: 10.1007/s002689900011]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## ■同行评价

文章题材较新颖, 符合临床实际, 对进一步研究糖尿病的胃肠道手术治疗有一定借鉴价值。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。



# 以消化系症状为首发表现的系统性红斑狼疮1例

陈迪诗, 曾飞, 毛胜勋, 林静, 勒义官

## ■背景资料

SLE临床上多以关节、皮肤、肾脏等组织器官受累为首发表现, 以消化系症状为首发表现较少见, 而因SLE所致的IPO更为少见。

陈迪诗, 曾飞, 毛胜勋, 勒义官, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

林静, 孝昌县第一人民医院内二科 湖北省孝感市 432900

陈迪诗, 在读研究生, 主要从事胃肠道疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由陈迪诗、林静及勒义官收集资料; 陈迪诗撰写; 曾飞与毛胜勋负责校审。

通讯作者: 曾飞, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 江西省南昌大学第二附属医院胃肠外科. zenfei6405@126.com  
收稿日期: 2012-08-01 修回日期: 2012-12-18

接受日期: 2012-12-20 在线出版日期: 2013-01-08

## Systemic lupus erythematosus with gastrointestinal symptoms as the first manifestation: A case report

Di-Shi Chen, Fei Zeng, Sheng-Xun Mao, Jing Lin, Yi-Guan Le

Di-Shi Chen, Fei Zeng, Sheng-Xun Mao, Yi-Guan Le, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Jing Lin, Department of Internal Medicine, the First People's Hospital of Xiaochang, Xiaogan 432900, Hubei Province, China  
Correspondence to: Fei Zeng, Chief Physician, Department of Internal Medicine, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. zenfei6405@126.com

Received: 2012-08-01 Revised: 2012-12-18

Accepted: 2012-12-20 Published online: 2013-01-08

## Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) presenting with gastrointestinal symptoms is rare, and SLE with gastrointestinal symptoms as the first manifestation is an even rarer condition. Here we report a case of SLE with gastrointestinal symptoms as the first manifestation in a 28-years-old woman. She developed abdominal pain, diarrhea, nausea and vomiting about a month ago. An abdominal CT scan demonstrated intestinal obstruction, ascites and marked edematous thickening of the bowel wall, which appeared as "target sign", "double-track sign" and "comb-like sign". Laboratory tests showed that her serum complement levels decreased and that she was positive for anti-nRNP/Sm antibodies, anti-Sm antibodies, anti-SS-A antibody, and anti-nuclear antibodies. Treatment consisting of high dose glucocorticoids and cyclophosphamide led to rapid remission of both digestive tract and

urinary tract symptoms.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Digestive system; Urinary system; Symptom; Systemic lupus erythematosus

Chen DS, Zeng F, Mao SX, Lin J, Le YG. Systemic lupus erythematosus with gastrointestinal symptoms as the first manifestation: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(1): 98-101

## 摘要

系统性红斑狼疮累及消化系的报道较少, 而以消化系症状为首发表现的报道更是少见。现报道以消化系症状为首发表现且病程中出现假性肠梗阻的系统性红斑狼疮1例; 患者, 女, 28岁, 因“腹痛、呕吐、腹泻”1月余入院, 腹部CT检查示肠梗阻、腹水及肠壁明显水肿、增厚并分层强化呈环形的“靶征”、“双轨征”及“梳状征”; 实验室检查IgA、IgG升高, 补体C3、C4下降, 抗nRNP/Sm抗体、抗Sm抗体、抗SS-A抗体、抗核抗体均阳性, 病程中出现泌尿系统受累表现; 经糖皮质激素及环磷酰胺治疗后病情缓解。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 消化系统; 泌尿系统; 症状; 系统性红斑狼疮

陈迪诗, 曾飞, 毛胜勋, 林静, 勒义官. 以消化系症状为首发表现的系统性红斑狼疮1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(1): 98-101  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/98.asp>

## 0 引言

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫介导的, 以免疫性炎症为突出表现的弥漫性结缔组织病。本病易发生于生育年龄女性, 患者体内存在多种自身抗体, 可先后或同时导致多个器官、系统受累, 临床表现复杂多样, 极易误诊。现报道1例我院新近收治的以消化系症状为首发表现, 病程中出现假性肠梗阻(intestinal pseudo-obstruction, IPO), 最后确诊为SLE的产褥期内妇女病例, 以提高临床医师特别是胃肠外科医师对本病的重视, 避免不

## ■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院





图 1 CT平扫示肠管肠壁弥漫性水肿增厚。

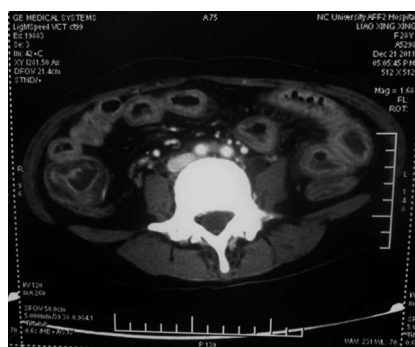


图 2 腹部CTA示肠壁明显水肿、增厚、分层呈明显的靶征。



图 3 腹部CTA示小肠呈双轨征(箭)。



图 4 腹部CTA示肠系膜血管充血呈梳状征(箭)。

## ■相关报道

国内外文献报道当SLE以消化系症状为首表现时,误诊率极高,能否早期诊断,对患者的病情转归起决定性作用。

恰当的手术治疗,减少不良预后的发生。

## 1 病例报告

女, 28岁, 因“腹痛、呕吐、腹泻”1 mo余于2011-12-21入院。患者自诉1 mo前无明显诱因突发下腹阵发性绞痛, 伴恶心呕吐及腹泻, 在外院诊断考虑为急性胃肠炎、急性腹膜炎和急性盆腔炎, 给予对症治疗症状改善不明显, 为求进一步诊治遂入我院消化内科。起病以来患者精神、饮食、睡眠较差、小便正常, 体质量下降达10 kg。既往史: 既往无类似症状发作史, 50 d前曾有剖宫产手术史; 月经史: 无异常; 家族史: 无家族性遗传病史。

入院查体: T 37.0 °C、P 110次/min、R 20次/min、BP 120/0 mmHg, 发育正常, 营养一般, 急性病容, 对答切题, 查体合作。心肺无明显异常, 腹平, 下腹部可见一长约12 cm的手术疤痕。腹肌软, 上腹部及脐周轻压痛, 无反跳痛, 肝脾肋下未及, 墨菲氏征(Murphy征)阴性, 移动性浊音阴性, 肾区无叩痛。肠鸣音活跃(11次/min)。

入院后查血常规示: 白细胞 $9.0 \times 10^9/L$ 、血红蛋白123 g/L, 尿液分析示: 蛋白质(++), 电解质: 钾2.6 mmol/L, 腹部CT示: 全腹部肠壁弥漫性水肿、增厚, 盆腔少量积液(图1)。腹部CTA示: 腹主动脉及其分支未见异常征象, 肠管明显增厚、水肿, 腹腔积液(图2-4)。

入院后拟诊为腹痛待查: 急性胃肠炎、低钾血症。给予纠正电解质平衡、补液、抑酸、生长抑素、抗炎和营养支持等治疗。2011-12-22患者腹痛转移至右下腹且疼痛剧烈, 呕吐、腹泻依旧, 查体: 生命体征平稳, 痛苦面容, 腹平软, 下腹部压痛, 以右下腹为甚, 反跳痛可疑, 移动性浊音阴性, 肠鸣音活跃。考虑患者有转移性右下腹痛, 呕吐及腹泻, 为急性阑尾炎可能性大, 于2011-12-22下午转入胃肠外科。转入胃肠外科后考虑到患者病程长, 体温血象不高及CT检查阑尾未见明显异常, 诊断不明确, 暂不具有手术指征而继续行上述保守治疗。

2011-12-23/29除患者精神稍有好转外, 腹痛呕吐腹泻无明显好转, 期间请妇产科会诊排除了妇科疾病, 并多次复查尿常规、粪便常规及潜血未见异常, 白细胞从入院时 $9.0 \times 10^9/L$ 逐渐降至 $3.5 \times 10^9/L$ , 血红蛋白从123 g/L逐渐降至84 g/L, 血钾从2.6 mmol/L, 逐渐升至5.1 mmol/L。2011-12-30患者腹痛依旧, 腹泻及呕吐次数开始减少, 但开始出现尿频尿急, 可达15次/d以上。2012-01-01患者开始出现腹胀胸闷, 腹泻次数减为3-4次/d。2012-01-02患者腹痛腹胀加重, 出现肛门停止排便排气。查体: 生命体征平稳, 腹膨隆, 腹肌软, 全腹压痛, 反跳痛可疑, 移动性浊音阴性,

## ■创新盘点

本文提出了当出现不明原因的消化系症状, 诊断较为棘手时, 特别是腹部CT增强扫描出现“靶征”、“双管征”及“梳状征”时, 应尽早行免疫学检查, 以排除SLE可能。

### ■名词解释

假性肠梗阻: 临床具有肠梗阻的症状和体征, 但可凭借影像学检查或腹部手术排除机械性肠梗阻因素存在。

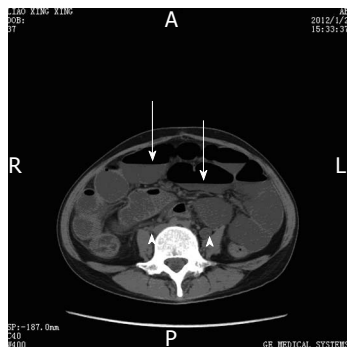


图5 腹部CT平扫。小肠管腔均匀扩张, 扩张的肠管内可见宽大的气液平面(箭), 呈假性肠梗阻表现。箭头示双侧输尿管扩张。

肠鸣音消失。急诊行腹部CT示: 全小肠管腔均匀扩张, 管径最粗处约达3.2 cm, 扩张肠管内见多处气液平, 小肠扩张拟为不全梗阻, 双侧输尿管中上段节段性轻度扩张, 腹盆腔积液(图5)。考虑肠梗阻为腹腔感染或其他全身性疾病所致, 继续给予抗炎和营养支持等治疗, 并行血常规、免疫功能及ANA谱等检查。当日血常规示: 白细胞 $3.56 \times 10^9/L$ , 血红蛋白80 g/L。2012-01-03上午患者腹痛腹胀加重, 难以忍受, 肛门仍未排便排气。查体: 神疲, 痛苦面容, 体温血压呼吸正常, 心率112次/min, 腹明显膨隆, 腹式呼吸减弱, 未见胃肠型, 腹紧, 全腹可触及明显压痛及反跳痛, 肠鸣音消失。考虑患者有出现绞窄性肠梗阻的可能, 给予心电监测、胃肠减压, 同时行相关术前准备, 准备下午行剖腹探查, 然而下午患者出现大量排便排气, 腹痛腹胀明显缓解, 手术取消。2012-01-02/4相关检查回报, 免疫功能6项: IgA 4.56 g/L(0.7-4.0 g/L)、IgG 17.80 g/L(7-16 g/L)、IgM 2.14 g/L(0.4-2.3 g/L)、C3 0.47g/L(0.9-1.8 g/L)、C4 0.08g/L(0.1-0.4g/L)、C反应蛋白正常, ANA谱: 抗nRNP/Sm抗体、抗Sm抗体、抗SS-A抗体、抗核抗体(1:160S)均阳性, 抗dsDNA(2次)、ANCA均阴性, 24 h尿蛋白定量0.642 g(1 500 mL尿液)。再次查体时发现双颧及鼻梁处有较浅的类似于雀斑的暗褐色斑, 追问病史, 患者家属诉患者在当地医院治疗期间该部位曾出现红斑, 持续1 wk后消退。最后根据美国风湿病协会1982年的SLE分类诊断标准及SLE疾病活动指数(SLEDAI)诊断为SLE(活动期), 转肾内科治疗。患者给予糖皮质激素及环磷酰胺冲击治疗1 wk, 腹痛、尿频尿急症状明显好转后, 带药出院。出院后随访3 mo, 患者未再出现消化道及泌尿道症状, 补体C3、C4逐渐接近正常, 24 h微量蛋白定量阴性。

## 2 讨论

SLE除累及皮肤、关节、肾脏外消化系也是常见的累及部位之一, 当累及消化系时临床上除可出现腹痛、呕吐、腹泻等常见症状外, 也可出现

IPO、消化道穿孔及腹水等少见症状, SLE导致胃肠道症状的机制不十分明确, 但一般都认SLE的病程中免疫复合物沉积于胃肠壁的小血管壁导致了急性的血管炎, 进而使靶器官缺血和纤维化<sup>[1]</sup>。Lee等<sup>[2]</sup>在1例伴有腹痛的SLE患者结肠病理切片中发现肠壁小血管壁增厚和血管周围有大量的淋巴细胞浸润, 并认为胃肠道血管炎与狼疮活动有关。当SLE处于活动期时, 除出现胃肠血管炎的症状外还可出现IPO的症状。Kim等<sup>[3]</sup>认为SLE合并IPO为免疫复合物在血管壁的沉积导致内脏平滑肌萎缩和纤维化从而引起功能障碍。也有学者推测为原发性平滑肌病或神经病变, 或是有针对平滑肌的自身抗体, 产生免疫性炎症性的损伤, 引起内脏平滑肌的运动障碍<sup>[4,5]</sup>。Mok等<sup>[4]</sup>报道18例SLE合并肠梗阻的患者中有8例伴有腹水, 推测浆膜炎可导致麻痹性肠梗阻。

SLE并发IPO的同时, 通常合并间质性膀胱炎或肾盂输尿管梗阻, 临床上患者除有胃肠道表现外还有膀胱区不适、尿频、尿急或排尿困难等症状<sup>[6]</sup>。Mok等<sup>[4]</sup>报道了18例合并假性肠梗阻的SLE患者有12例出现双侧肾盂输尿管扩张, 同时有间质性膀胱炎的临床表现, 而尿液细菌培养阴性。本例患者在病程中除出现了呕吐腹泻腹痛及假性肠梗阻等胃肠道症状外也出现了尿频、尿急, 双侧输尿管扩张等泌尿系统症状, 但尿液培养阴性。有学者认为SLE患者出现泌尿系症状与胃肠道症状有着类似的发病机制<sup>[7]</sup>。

临床上SLE多以蝶形红斑、对称性多关节疼痛及肾脏受累为早期表现, 而当以消化系症状为首表现时, 误诊率极高。王斌等<sup>[8]</sup>报道了30例以消化系表现为首发症状SLE患者有15例误诊, 胡亚荣等<sup>[9]</sup>报道了23例以消化系症状为首表现的SLE患者更是全部误诊。胡大伟等<sup>[10]</sup>报道了12例合并假性肠梗阻的SLE患者, 其中2例术前诊断不明, 而行剖腹探查及小肠部分切除术, 最后全部死亡。陈珊宇等<sup>[11]</sup>报道了15例以肠系膜血管炎为首表现的SLE患者, 给予糖皮质激素治疗后, 病情迅速好转, 无1例行外科治疗。杨卫平<sup>[12]</sup>报道了12例以消化系为表现的SLE患者, 其中5例以消化系症状为首发症状, 11例给予糖皮质激素或同时给予环磷酰胺治疗后病情好转出院, 1例误诊为肠梗阻的病例, 在反复发病2 mo后才确诊, 后因极度衰竭及心功能不全死亡。大量的文献资料表明以消化系症状为首表现SLE早期确诊, 不仅可避免不必要的手术治疗, 并且对病情转归产生决定性影响。

CT作为一种常用的检查方法, 对以胃肠道为



突出表现的SLE的早期诊断有一定的特异性. 宋彬等<sup>[13]</sup>报道了因急性腹痛而行腹部CT扫描的23例SLE患者中, 19例出现肠壁肿胀、增厚, 12例出现“靶征”, 16例存在肠管扩张, 21例出现肠系膜肿胀和脂肪密度增高, 4例肠系膜血管呈“梳状征”. 任小军等<sup>[14]</sup>报道了以消化系症状为首表现最后确诊为SLE的8例患者行CT增强扫描, CT表现为8例均有空肠及回肠肠壁水肿、增厚并分层强化, 呈环形的“靶征”或“双轨征”或“梳状征”. 本例患者入院时行腹部CTA检查未见腹主动脉及其分支异常, 但可见壁水肿、增厚并分层强化, 呈环形的“靶征”和“双轨征”及肠系膜血管呈“梳状”改变, 最后确诊为SLE. 个人认为虽然CT增强扫描出现“靶征”、“双晕征”及“梳状征”不能作为确诊SLE的指征, 因为缺血性肠炎、淀粉样变性病、传染性肠炎及血管神经性水肿等也可以引起小血管炎而累及胃肠道出现类似表现<sup>[15]</sup>, 但当CT增强扫描出现的上述征象时, 可作为早期诊断SLE的一个重要线索.

SLE临床表现多样, 本例SLE患者除有腹痛、腹泻、呕吐及CT增强扫描出现的“靶征”、“双轨征”及“梳状征”等特点外, 还具有以下特点: (1)产褥期内发病, 增加了疾病诊断的难度, 也有学者认为妊娠可以诱发SLE, 特别在妊娠早期和产后6 wk<sup>[16]</sup>; (2)症体分离, 患者诉疼痛明显, 虽有压痛, 但几乎无反跳痛及肌紧张; (3)腹痛及压痛部位不固定; (4)血液系统受累, 患者白细胞从入院时 $9.0 \times 10^9/L$ 逐渐降至 $3.5 \times 10^9/L$ , 血红蛋白从123 g/L逐渐降至80 g/L, 短期内出现中度贫血, 考虑为SLE所致, 而非营养不良性贫血; (5)泌尿系统受累, 患者在入院9 d时出现尿频尿急及双侧输尿管扩张, 但无尿痛及尿液细菌培养阴性; (6)浆膜炎, 患者虽无胸膜炎及心包炎但有不能用其他原因解释的腹盆腔积液; (7)IPO, 梗阻发生在低血钾纠正后, 肠鸣音消失. 本病例在入院半月才确诊, 这主要是对患者院外诊治1 mo余的病史及查体时非典型蝶形红斑未引起足够的重视, 早期未行免疫学检查有关, 但更主要的是由于SLE首发症状多样, 多系统损害较晚, 临床上缺乏特异性, 以消化系症状为首表现的SLE更是少见有关. 因此对临床接诊和收治具有消化系表现但原因不明的患者, 尤其是育龄女性时, 需注意有无颊部红斑、关节痛、肾脏受损等

其他系统受累表现, 特别是腹部CT增强扫描出现“靶征”、“双晕征”及“梳状征”时, 应尽早行免疫学检查, 以排除SLE可能.

### 3 参考文献

- 1 Sultan SM, Ioannou Y, Isenberg DA. A review of gastrointestinal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* (Oxford) 1999; 38: 917-932 [PMID: 10534541 DOI: 10.1093/rheumatology/38.10.917]
- 2 Lee JR, Paik CN, Kim JD, Chung WC, Lee KM, Yang JM. Ischemic colitis associated with intestinal vasculitis: histological proof in systemic lupus erythematosus. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3591-3593 [PMID: 18567093 DOI: 10.3748/wjg.14.3591]
- 3 Kim J, Kim N. Intestinal pseudo-obstruction: initial manifestation of systemic lupus erythematosus. *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 423-424 [PMID: 22148114]
- 4 Mok MY, Wong RW, Lau CS. Intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus: an uncommon but important clinical manifestation. *Lupus* 2000; 9: 11-18 [PMID: 10713642 DOI: 10.1177/096120330000900104]
- 5 Hill PA, Dwyer KM, Power DA. Chronic intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus due to intestinal smooth muscle myopathy. *Lupus* 2000; 9: 458-463 [PMID: 10981652]
- 6 Malaviya AN, Sharma A, Agarwal D, Kapoor S, Garg S, Singh S, Rawat R. Acute abdomen in SLE. *Int J Rheum Dis* 2011; 14: 98-104 [PMID: 21303489]
- 7 Park FD, Lee JK, Madduri GD, Ghosh P. Generalized megaviscera of lupus: refractory intestinal pseudo-obstruction, ureterohydronephrosis and megacholecystitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3555-3559 [PMID: 19630114 DOI: 10.3748/wjg.15.3555]
- 8 王斌, 李向培, 汪国生, 厉晓梅. 以消化系统表现为首发症状的系统性红斑狼疮30例临床分析. *中国临床保健杂志* 2009; 12: 37-40
- 9 胡亚荣, 周亚欧, 游运辉, 罗卉, 左晓霞. 以消化系统症状为首表现的系统性红斑狼疮误诊分析. *中国现代医学杂志* 2004; 14: 140-141
- 10 胡大伟, 顾越英, 王元, 鲍春德, 江尧湖, 陈顺乐. 系统性红斑狼疮合并肠假性梗阻12例临床分析. *中华风湿病学杂志* 2004; 8: 227-229
- 11 陈珊宇, 徐建华, 帅宗文, 王芬, 徐胜前, 刘爽. 以肠系膜血管炎为首表现系统性红斑狼疮的诊断. *安徽医药* 2008; 12: 1180-1181
- 12 杨卫平. 系统性红斑狼疮以消化道为主要表现12例临床分析. *中国医师杂志* 2005; 7: 1532-1533
- 13 宋彬, 徐隽, 罗小华, 吴蕊, 程燕, 张瑾. 螺旋CT检查在诊断狼疮性缺血性肠病中的价值. *中国普外基础与临床杂志* 2004; 11: 359-363
- 14 任小军, 章士正, 董旦君, 王丽华. 以消化道症状首发的狼疮性肠炎的多层螺旋CT诊断. *中国医学计算机成像杂志* 2008; 14: 320-324
- 15 Kaneko Y, Hirakata M, Suwa A, Satoh S, Nojima T, Ikeda Y, Mimori T. Systemic lupus erythematosus associated with recurrent lupus enteritis and peritonitis. *Clin Rheumatol* 2004; 23: 351-354 [PMID: 15293099]
- 16 叶任高, 陆再英. 内科学. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 892-897

### ■同行评论

本文以1例患者的临床诊治经验, 结合文献进行了系统的, 较为全面的复习, 对于临床医师, 尤其对消化内科, 胃肠外科医师提高对系统性红斑狼疮的认识, 提高临床诊疗水平大有裨益.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》是由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H.pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能写Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如 $37.6^{\circ}\text{C} \pm 1.2^{\circ}\text{C}$ ,  $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$ ,  $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$ ,  $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$ , WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU=16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm=45×10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。



《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-8538-1892  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

迟宝荣 教授

吉林大学第一医院消化内科

杜奕奇 副教授

中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授

东南大学医学院, 发育与疾病相关基因教育部重点实验室, 东南大学基础医学院, 遗传与发育生物学系

高英堂 研究员

天津市第三中心医院

郝丽萍 副教授

华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何向辉 教授

天津医科大学总医院普通外科

何晓顺 教授

中山大学附属第一医院

黄培林 教授

东南大学肿瘤学

黄颖秋 教授

本溪钢铁(集团)总医院消化内科

金瑞教授

首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李革 副教授

延边大学附属医院

李健丁 教授

山西医科大学第一医院放射科CT室

李升平 教授

中山大学肿瘤医院肝胆科

李永翔 主任医师

安徽医科大学第一附属医院普外科

刘炳亚 研究员

上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘海峰 主任医师

北京市武警总医院消化科

刘杰民 副主任医师

贵州省人民医院消化内镜科

马欣 主任医师

甘肃省人民医院消化科

门秀丽 教授

河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭亮 副主任医师

中山大学附属第三医院感染科

秦春宏 副主任医师

南华大学附属第二医院普外科

任浩 副教授

中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

孙文兵 教授

首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆外科西区

王道荣 主任医师

江苏省苏北人民医院胃肠外科

王正康 教授

中日友好医院普外科

徐列明 教授

上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

许剑民 教授

上海市复旦大学附属中山医院普外科

颜宏利 教授,

中国人民解放军第二军医大学医学遗传学教研室

杨薇 副教授

北京大学肿瘤医院超声科

袁建业 副研究员

上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所



百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>





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

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 1 月 18 日      第 21 卷      第 2 期      (Volume 21 Number 2)**



**2/2013**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授



汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泐副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄国教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赓宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 1 月 18 日 第 21 卷 第 2 期 (总第406期)

## 述 评

- 109 非酒精性脂肪性肝病的研究进展  
李瑜元

## 基础 研究

- 116 C57BL/6小鼠食管鳞状细胞癌早期病变的形态学改变  
杜展, 王超, 张勇, 马继伟, 闫雍容, 王绍祥, 钟雪云
- 122 胞质转导肽-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin体外诱导HBV转基因小鼠髓源性树突状细胞成熟及在T淋巴细胞增殖中的作用  
唐余燕, 余永胜, 卓萌, 臧国庆, 汤正好, 陈小华
- 130 培菲康对高脂饮食诱导脂肪肝病大鼠肠黏膜屏障的保护作用  
张智, 单庆文, 王琳琳, 吕自力, 江玲, 黄永二
- 138 迷走传入神经功能异常在内脏高敏感形成中的作用  
杨焱, 崔秀芳, 王美峰, 李学良, 林琳, 张红杰

## 临 床 研 究

- 145 蛋白组学分析胰腺癌干细胞相关差异蛋白的表达  
江建新, 高珊, 潘耀振, 孙诚谊
- 153 血清 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶与多种代谢异常及其聚集的相关性  
南宗焕, 熊英环, 朴鲜女, 方今女

## 文 献 综 述

- 160 肝硬化腹水形成机制的研究现状  
邵茉莉, 刘冰熔
- 166 无线动力胶囊技术的应用  
李苗苗, 叶必星, 林琳

## 研 究 快 报

- 171 壮药汗衣台体外抗乙型肝炎病毒的疗效  
廖丹, 段雪琳

## 临 床 经 验

- 177 <sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃黏膜病变程度的相关性  
张丽颖, 李振华, 李保双, 蔡毅东, 唐旭东
- 182 IL-28B基因多态性与丙型肝炎易感性的关系  
米寅, 高英堂, 焦晓磊, 杜智
- 188 内镜辅助腹腔镜治疗胃肠道间质瘤20例  
王小冬, 汪宝林, 褚朝顺, 王翔, 赵庆洪, 李昌阳

## 病 例 报 告

- 193 聚乙二醇干扰素联 $\alpha$ -2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎合并血友病2例  
高丽英, 贾建伟, 赵洁
- 195 原发性胆汁性肝硬化合并系统性硬化症1例  
高志远, 何新颖, 徐湘江, 李卫民

附 录	198 《世界华人消化杂志》投稿须知 203 2013年国内国际会议预告
志 谢	204 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	137 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 144 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 152 《世界华人消化杂志》正文要求 159 《世界华人消化杂志》栏目设置 165 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 176 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 181 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 187 《世界华人消化杂志》出版流程 192 《世界华人消化杂志》参考文献要求 197 《世界华人消化杂志》修回稿须知
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 李瑜元, 教授, 510180, 广东省广州市, 广州医学院附属广州市第一人民医院
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 田滢, 翟欢欢; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-01-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No.90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## January 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 2

<b>EDITORIAL</b>	109 Recent progress in research of nonalcoholic fatty liver disease <i>Li YY</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>116 Morphology of early lesions of esophageal squamous cell carcinoma in C57BL/6 mice <i>Du Z, Wang C, Zhang Y, Ma JW, Yan YR, Wang SX, Zhong XY</i></p> <p>122 Cytoplasmic transduction peptide-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin induces HBV transgenic mouse bone marrow-derived dendritic cell maturation and T lymphocyte proliferation <i>in vitro</i> <i>Tang YY, Yu YS, Zhuo M, Zang GQ, Tang ZH, Chen XH</i></p> <p>130 Effect of Bifidobacterium triple viable capsule on intestinal mucosal barrier function in rats with fatty liver induced by a high-fat diet <i>Zhang Z, Shan QW, Wang LL, Lv ZL, Jiang L, Huang YE</i></p> <p>138 Effect of vagal afferent dysfunction on visceral hypersensitivity in rats <i>Yang Y, Cui XF, Wang MF, Li XL, Li L, Zhang HJ</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>145 Quantitative proteomic analysis of differentially expressed proteins in pancreatic cancer stem cells <i>Jiang JX, Gao S, Pan YZ, Sun CY</i></p> <p>153 Relationship between serum levels of gamma-glutamyl transferase and multiple metabolic disorders and their clustering <i>Nan ZH, Xiong YH, Piao XN, Fang JN</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>160 Pathophysiology of ascites formation in liver cirrhosis <i>Shao ML, Liu BR</i></p> <p>166 Rationale for clinical use of wireless motility capsule <i>Li MM, Ye BX, Lin L</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	171 <i>In vitro</i> anti-HBV activity of the Chuang herb Hanyitai <i>Liao D, Duan XL</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>177 Correlation between <sup>13</sup>C-urea breath test value and severity of gastric mucosal lesions <i>Zhang LY, Li ZH, Li BS, Cai YD, Tang XD</i></p> <p>182 Association between an IL-28B gene polymorphism and susceptibility to hepatitis C virus infection <i>Mi Y, Gao YT, Jiao XL, Du Z</i></p> <p>188 Endoscopy-assisted laparoscopic management of gastrointestinal stromal tumors: An analysis of 20 cases <i>Wang XD, Wang BL, Chu CS, Wang X, Zhao QH, Li CY</i></p>
<b>CASE REPORT</b>	<p>193 Treatment of chronic hepatitis C with haemophilia with peginterferon alfa-2a and ribavirin: Report of two cases <i>Gao LY, Jia JW, Zhao J</i></p> <p>195 Primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis: A case report <i>Gao ZY, He XY, Xu XJ, Li WM</i></p>



<b>APPENDIX</b>	198 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 203 Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	204 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Yu-Yuan Li, Professor, Department of Gastroenterology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ying Tian, Huan-Huan Zhai</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** January 18, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 非酒精性脂肪性肝病的研究进展

李瑜元

李瑜元, 广州医学院附属广州市第一人民医院 广东省广州市 510180

李瑜元, 教授, 博士生导师, 主要从事消化病和肝病方面的研究.

作者贡献分布: 本论文由李瑜元单独完成.

通讯作者: 李瑜元, 教授, 510180, 广东省广州市盘福路1号, 广州医学院附属广州市第一人民医院. liyyliyy@tom.com

收稿日期: 2012-09-26 修回日期: 2012-11-12

接受日期: 2012-11-15 在线出版日期: 2013-01-18

## Recent progress in research of nonalcoholic fatty liver disease

Yu-Yuan Li

Yu-Yuan Li, Department of Gastroenterology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China

Correspondence to: Yu-Yuan Li, Professor, Department of Gastroenterology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China. liyyliyy@tom.com

Received: 2012-09-26 Revised: 2012-11-12

Accepted: 2012-11-15 Published online: 2013-01-18

## Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common liver disease with a prevalence of 15%-30% in Western countries and about 15% in China. Nonalcoholic simple fatty liver (SFL) usually has a benign prognosis, whereas nonalcoholic steatohepatitis (NASH) may progress to cirrhosis and even hepatocellular carcinoma. Genetic studies show that a number of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the genes of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), leptin, and adiponectin are associated with susceptibility to NAFLD. Recently, genome-wide association studies (GWASs) reveal a more important relevant SNP (adiponutrin or PNPLA3), which is located on chromosome 22 and regulates phospholipase. Epigenetic studies demonstrate that down-expression of miR-122 is involved in the pathogenesis of NAFLD. Histology remains the gold standard for the diagnosis of NAFLD. In clinical practice, the diagnosis is usually made by imaging techniques (e.g. ultrasonography), as liver biopsy is usually difficult. However, imaging techniques cannot differentiate NASH from NAFL. Modification of lifestyle factors such as diet, exercise, and weight control is important for treatment and should

be encouraged in all patients. Pharmacotherapy with weight reduction agents, insulin sensitizers, statins, or hepatoprotectors is helpful clinically, although their efficacy has not been well proved by evidence-based medicine.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Prevalence; Gene; Diagnosis; Management

Li YY. Recent progress in research of nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(2): 109-115

## 摘要

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率高, 西方国家15%-30%, 我国约15%。单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)病情稳定, 脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)是病情恶化的拐点, 可发展为肝硬化, 甚至肝癌。候选基因研究显示, 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、瘦素、脂联素等基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)与其发病易感性相关。近年全基因组扫描发现, 染色体22上调节磷脂酶基因的SNP(adiponutrin或PNPLA3)更为重要。表观遗传学研究发现miR-122表达下调参与NAFLD发病机制。病理组织学是诊断的金标准, 但实施困难, 影像学检查(特别B超)是临床诊断的主要方法, 但无法鉴别NASH和NAFL。基础治疗包括纠正不良生活方式、控制饮食、运动、减肥等, 是治疗成功的基石。药物是辅助手段, 包括减肥药、胰岛素增敏剂、调脂药、保肝抗炎药物等, 尚没有循证医学验证的特效药物。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 患病率; 基因; 诊断; 治疗

李瑜元. 非酒精性脂肪性肝病的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 109-115

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/109.asp>

## ■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)俗称脂肪肝, 是指以肝实质细胞脂肪变性为病理特征, 而无过量饮酒史, 又排除其他肝病的临床综合征, 其病理类型包括单纯性非酒精性脂肪肝(NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)及NASH相关肝硬化, 后者可发展为肝癌。

## ■同行评议者

张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

## ■ 研发前沿

NAFLD是复杂基因关联性疾病,以往研究挑选与发病机制相关的基因(候选基因研究),由于代谢综合征(MetS)基因研究较为深入,NAFLD常与MetS并存,发病机制均与胰岛素抵抗(IR)相关,故理论上凡是和MetS及IR相关的基因都可能与NAFLD有关。

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率不断上升,引起关注。近年基础和临床研究均取得可喜成果,各国也先后更新指南,规范临床诊疗工作。NAFLD俗称脂肪肝,是指以肝实质细胞脂肪变性为病理特征,而无过量饮酒史,又排除其他肝病的临床综合征,其病理类型包括单纯性非酒精性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)及NASH相关肝硬化,后者可发展为肝癌。NAFL病情稳定,而NASH是发生肝硬化的必经阶段,也是病情恶化的拐点和防治的重点。近年NAFLD患病率逐年增加,呈低龄化发病趋势,已成为全球重要的公共健康问题。在发达国家,NAFLD已成为慢性肝病及血清氨基酸转移酶(下称转氨酶)升高的首要原因,在我国仅次于病毒性肝炎排第2位。随着基础和临床研究新资料的涌现,美国、英国和欧洲肝病学会均修订了诊疗指南<sup>[1-3]</sup>,2010年我国也对旧指南进行更新<sup>[4]</sup>。本文结合近年研究进展和指南内容作述评。

## 1 流行病学

NAFLD在全球广泛分布,患病率因目标人群和诊断方法的不同有很大差异,其确切患病率仍未完全清楚。病理组织学是诊断的金标准,因肝活检难于普及,用于流行病学调查存在困难。在意外死亡,病死尸解和捐肝者的报告中,NAFLD患病率在20%左右,其中NASH约5%<sup>[5,6]</sup>。B超诊断是人群调查的常用方法,设计严格、纳入大样本普通人群的B超调查显示<sup>[5,6]</sup>,欧美等西方发达国家成人患病率多在15%-30%之间,而我国上海和广州两组调查均约15%<sup>[7,8]</sup>。在发达国家,因病毒性肝炎少见,用血清转氨酶升高作为指标的人群调查(如美国NHANES研究)显示的患病率较低(5%-10%),这是仅部分NAFLD患者转氨酶升高所导致。文献也有用CT或磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)调查的报告,样本均较少,获得的患病率较B超稍高。以体检人群为对象的报告很多,差异很大,因其代表性差,结果难以比较。NAFLD人群患病率随年龄增长而增加,中老年后达高峰,然后下降<sup>[5-10]</sup>。我们在广东的调查显示,男性患病率高峰期(50岁)早于女性(60岁),在50岁前男性高于女性,50岁(女性绝经期)后女性高于男性,接受雌激素替代治疗的女性NAFLD发病率显著下降,提示雌激

素是机体免受NAFLD的保护因素<sup>[8]</sup>。发病率调查需前瞻性队列研究,资料有限。日本Hamaguchi等<sup>[11]</sup>采用B超随访3 147例健康人414 d,年发病率10%。意大利Bedogni等<sup>[12]</sup>用B超随访144例健康人8.5年,年发病率为1.9%。日本Suzuki等<sup>[13]</sup>以血清转氨酶作标志物随访健康体检者,年发病率为3.1%。我们用B超随访广东省507例健康人4年,年发病率为9.1%<sup>[14]</sup>。NAFLD发病危险因素包括:高脂肪高热量的膳食结构、多坐少动的生活方式,胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)及其组分病(肥胖、高血压、血脂紊乱和2型糖尿病)等。患MetS人群的NAFLD危险率是正常人的4-11倍, NASH比NAFL更常合并MetS<sup>[11,15,16]</sup>。

NAFLD的自然病程尚未完全清楚,一般认为NAFL是一个良性、可逆性疾病,进展很慢,肝硬化发生率很低,随访10-20年仅0.6%-3.0%发展为肝硬化,而NASH患者则高达15%-25%。在NAFLD漫长的进程中,NASH是发生肝硬化的必经阶段,也是病情恶化的拐点<sup>[1-4]</sup>。NAFLD患者常合并MetS<sup>[11,15-17]</sup>,死亡原因也多为心脑血管疾病,而非肝病。因此如仅仅关注NAFLD向肝硬化和肝癌发展,则低估了NAFLD的危害性。Dam-Larsen等<sup>[18]</sup>随访109例NAFL患者中位数16.7年,仅2例进展为NASH,其中一例进展为肝硬化。Matteoni等<sup>[19]</sup>观察49例NAFL患者18年,仅2例(4%)进展为肝硬化。Teli等<sup>[20]</sup>随访40例NAFL患者中位数11年,没有发现NASH及肝纤维化病例。Adams等<sup>[17]</sup>随访血清转氨酶升高,排除其他相关疾病,诊断为NAFLD的109例11年,无1例发展为肝硬化。我们用B超随访广东省人群117例NAFLD共4年,病情不变者51例(43.6%),加重26例(22.2%),改善40例(34.2%),其中死于心脑血管疾病者10例(2.2%),显著高于对照组的0.2%( $P=0.005$ ),无死于肝相关性疾病的病例<sup>[14]</sup>。

近年全球儿童和青少年肥胖率快速增高,NAFLD患病率也随之明显上升,引起极大关注。美国一项研究显示,2-4岁儿童NAFLD患病率为0.7%,而15-19岁年龄组达17.3%<sup>[21]</sup>。儿童患NAFLD预后较成人差<sup>[22]</sup>。肝穿活检研究显示,儿童NAFLD中NASH比率较高(可达68%)<sup>[21]</sup>。国内相关资料较少,2000年教育部、卫生部等五部委的全国学生调查结果,城市7-12岁学生肥胖率为12%,肥胖儿童脂肪肝检出率达18%,因此估计我国儿童脂肪肝的发病率在2%-4%<sup>[23]</sup>。我们在广东的人群调查显示,7-18岁患病率为5.7%,远



低于西方国家水平<sup>[8]</sup>。

## 2 遗传学和表观遗传学

NAFLD是复杂基因关联性疾病,以往研究挑选与发病机制相关的基因(候选基因研究),由于MetS基因研究较为深入,NAFLD常与MetS并存,发病机制均与IR相关,故理论上凡是和MetS及IR相关的基因都可能与NAFLD有关。这些基因包括(1)与肥胖和IR有关的基因:脂联素、胰岛素受体、过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ (peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ )等;(2)影响脂肪酸代谢的基因:肝脂肪酶、瘦素、脂联素、微粒体甘油三酯转运蛋白、PPAR- $\alpha$ 、细胞色素酶2E1和4A(CYP2E1, CYP4A)等;(3)影响相关细胞因子的基因:肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等;(4)影响NAFLD肝纤维化严重程度的基因:瘦素、脂联素、转化生长因子 $\beta$ 1等。这些基因的SNPs均可能影响NAFLD的发病易感性,其中TNF- $\alpha$ 、PPAR- $\gamma$ 、瘦素、脂联素等基因文献报告较多,由于研究对象和方法不同,各组报告的结果并不完全一致<sup>[24,25]</sup>。我们对其中7个候选基因共9个位点SNPs的研究显示,有些因子和发病易感性正相关(即增加易感性):如TNF- $\alpha$ -238、脂联素-45、瘦素-2548、PPAR-161、PEMT-175;有些因子负相关(即降低易感性):如脂联素-276、肝脂肪酶-514;有些因子不相关:如TNF- $\alpha$ -380、PGC-1 $\alpha$ -48<sup>[26]</sup>。

2008年Romeo等<sup>[27]</sup>首先应用全基因扫描(genome-wide association studies, GWAS)研究NAFLD,他用磁共振波谱(1H-MRS)检查2 111例美国各族人群,比较NAFLD和对照组发现9229个差异SNPs,其中在染色体22上1个和磷脂酶代谢相关基因的SNP,即adiponutrin(亦称PNPLA3, SNP编码rs738409, 本文译为脂酶素)与肝脂肪含量密切相关,在易患NAFLD的白种人显著高于黑人。这结果随后被多个以肝活检为依据的GWAS所证实<sup>[28-34]</sup>。最近有Meta分析纳入16个高质量的临床研究共2 937例,结果显示,携带脂酶素变异型纯合子(GG)者和野生型纯合子(CC)者比较,肝脂肪含量升高73%,肝炎症-坏死评分升高3.24倍,肝纤维化危险性升高3.20倍,血清谷丙转氨酶升高28%,NASH危险性升高3.49倍,然而患重症肝病的危险性并不显著增加<sup>[35]</sup>。然而,并不是所有的研究均能重复这结果,有一组GWAS纳入236例肝活检确诊的NAFLD患者,并未检出

脂酶素的显著影响,却发现另一和胆固醇代谢相关的SNP(FDFT1, 编码rs2645424)和NAFLD组织学评分相关<sup>[36]</sup>。GWAS给基因研究带来希望,但其结果还需进一步验证,因其发现的基因前无记载,缺乏传统病理生理学知识的支持。

表观遗传学(epigenetics)主要包括:短链非编码RNA(如微小RNA亦称microRNAs、miRNAs、miRs)、DNA甲基化作用、组蛋白修饰作用、染色质重塑、遗传印记和泛化作用等,在基因组DNA序列不发生变化的条件下,令基因表达(蛋白)发生改变,导致表型变化,其在肿瘤、心血管病、精神病等领域已有较多报告,而在NAFLD则刚刚起步<sup>[37,38]</sup>。2008年Cheung等<sup>[39]</sup>首先报告15例活检证实的NASH和15例正常人对比结果,有46个差异表达miRs,其中23个上调(如miR-34a和miR-146b),23个下调(如miR-122)。其结果很快被多个临床研究证实,并进一步发现,miR-122是肝脏含量最多的miRs(占全部的70%),在NASH患者表达下调63%,并促进脂肪细胞分化<sup>[40]</sup>。在肝脂肪变的大鼠模型,用反义引物抑制miR-122表达,可显著降低血胆固醇水平,肝脏脂肪酸含量及多种脂肪酸合成酶的mRNA和蛋白表达,并伴随脂肪肝组织学改善<sup>[41,42]</sup>。除miR-122外,尚有文献报告其他miRs和NAFLD发病相关:miR-34a和miR-146b在NASH患者表达上调(99%和80%)<sup>[39]</sup>,miR-335表达随着肝脂肪、甘油三酯、胆固醇含量以及脂肪分化水平而升高<sup>[43]</sup>,miR-181d表达上调伴随肝脏甘油三酯、胆固醇含量减少<sup>[44]</sup>,miR-10b通过PPAR- $\alpha$ 通道调节肝脂肪水平<sup>[45]</sup>。

基因启动子区域CpG岛DNA甲基化可妨碍转录因子与启动子结合,导致该基因转录下降甚至沉默,在肝细胞癌已发现多种基因高甲基化<sup>[46]</sup>,然而在NAFLD领域的研究甚少。最近一组纳入63例肝活检确诊NAFLD患者和11例正常人的对照研究显示,NAFLD组PPAR- $\gamma$ 共激因子1 $\alpha$ (PPARGC1A)和线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)的DNA甲基化显著增高,但甲基化水平与组织学的严重性却不相关<sup>[47]</sup>。在脂肪肝大鼠模型发现表观遗传学的异常,包括基因组重复序列胞嘧啶甲基化丢失、转录物复制水平增高、组蛋白修饰异常和DNA甲基转移酶表达异常等<sup>[48]</sup>。

## 3 诊断

NAFLD的诊断前需除(1)酒精性肝病,即患者无

### ■ 相关报道

Cheung首先报告15例活检证实的NASH和15例正常人对比结果,有46个差异表达miRs,其中23个上调(如miR-34a和miR-146b),23个下调(如miR-122)。其结果很快被多个临床研究证实,并进一步发现,miR-122是肝脏含量最多的miRs(占全部的70%),在NASH患者中表达下调63%,并促进脂肪细胞分化。

## ■应用要点

本文综述NAFLD基础和临床研究的相关文献,报道不同观点以及创新成果,并结合国内外指南,对本领域的热点问题,进行总结和提炼,为读者提供有价值的信息,促进NAFLD临床和科研两方面的知识普及和提高。

饮酒史或饮酒折合乙醇量 $<140\text{ g/wk}$ (女性 $<70\text{ g/wk}$ );(2)病毒性肝炎、药物性肝病、自身免疫性肝病等可导致肝脂肪变性的特定疾病。病理组织学是NAFLD诊断的金标准,特征为肝细胞脂肪变和气球样变、小叶内炎症细胞浸润、窦周纤维化<sup>[1-4]</sup>。推荐用美国国立卫生研究院临床研究网病理工作组指南评估NAFLD严重性,即按肝细胞脂肪变、小叶内炎症和肝细胞气球样变的程度计算NAFLD活动度积分(NAS),肝细胞脂肪变 $>5\%$ 可诊断NAFLD, NAS $>4$ 分则可诊断NASH<sup>[49]</sup>。腹部B超检查无创、价廉,是诊断脂肪肝的首选方法,表现如下:(1)肝脏近场回声弥漫性增强(所谓明亮肝),回声强于肾脏;(2)肝内管道结构显示不清;(3)肝脏远场回声逐渐衰减。具备上述3项中2项者可诊断。B超诊断特异性高(可达97%),敏感性较低(64%),对轻症者(肝脂肪化 $<30\%$ )会漏诊,而对肝脂肪化 $>30\%$ 患者,敏感性接近100%。换句话说B超诊断脂肪肝结果可信,而阴性者不能除外轻症脂肪肝。CT和MRI诊断肝脂肪变的准确性稍强于B超,CT诊断依据为肝脏密度普遍降低,其中肝/脾CT值降低 $<1.0$ 但 $\geq 0.7$ 为轻度, $<0.7$ 但 $\geq 0.5$ 为中度, $<0.5$ 为重度脂肪肝,MRI的原理和准确性和CT接近<sup>[1-4,50]</sup>。新技术如氙CT(xenon CT)、氢质子MRI(1HMRI)、氢质子MR波谱分析(1H-MRS)等可半定量肝内脂肪含量,但这些检查花费大,目前只用于科研,其中1HMRI技术较成熟,有较高准确性。瞬时弹性超声(fibroscan)和瞬时弹性图(transient elastography)通过检测肝脏弹性评估肝纤维化,但对肝脏脂肪变、炎症等的判断无帮助。NASH是病情转变的拐点,也是治疗的重点,但目前所有影像学检查的共同缺点是不能检测肝脏的炎症和坏死,故无法鉴别NAFL和NASH。尽管血转氨酶水平升高、伴有MetS相关组分病和IR抵抗等均提示NASH的可能性,但没有任何一项无创技术真正反映组织学改变<sup>[1-4,50,51]</sup>。在临床工作中实施肝活检困难,为此中国指南为NAFLD制定了工作定义:(1)影像学表现符合弥漫性脂肪肝的诊断标准,且无饮酒史,除外病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性、自身免疫性肝病等可导致脂肪肝的特定疾病;(2)有MetS相关组分病的患者出现不明原因的血转氨酶增高持续半年以上。减肥和改善IR后,异常酶谱和影像学脂肪肝改善甚至恢复正常者,符合其中1项可临床诊断NAFLD<sup>[4]</sup>。目前NASH并无工作定义,对疑诊者建议肝活检确诊。

## 4 治疗

NAFLD治疗的目标是延缓或阻止肝病进展、延缓或阻止MetS及其组分病(特别动脉硬化)的并发症发生,提高患者生活质量和延长寿命。主要方法包括基础治疗和药物治疗,极少数患者需肝移植。临床上需根据患者具体病情制定个体化诊疗方案,大多数患者处于NAFL阶段,病情稳定,基础治疗为主,而NASH患者易向肝硬化进展,还需配合药物治疗。治疗前评估代谢危险因素,特别是MetS及其组分病,常需一并处理<sup>[1-4]</sup>。

基础治疗是治疗成功的基石,适用于所有NAFLD患者。方法是通过健康宣教,纠正不良生活方式和行为,如控制饮食、增加有氧运动、减肥等。临床医师通常只笼统地和患者讲道理,未和患者深入沟通,制定具体的治疗方式和目标,患者不会重视或无所适从,效果当然不满意。NAFLD患者需如同糖尿病患者一样在医师指导下调节生活,针对患者饮食、运动、体质量、腰围以及与生活质量等不同个体情况,设置患者理解和接受的控制饮食方案(总热卡数和食谱等)、制定合理的运动量(包括运动方式和时间等),必要时请营养师和理疗师会诊,共同确定方案。治疗开始后长期随访,加强管理,对方案及时调整,才能保证疗效,这要求医师付出大量精力和时间<sup>[1-4,52]</sup>。

药物治疗是重要的辅助手段,鉴于NAFLD通常和MetS及其相关组分病并存,许多研究显示,NAFLD也是MetS的组分病之一,故治疗NAFLD需同时兼顾防治代谢紊乱,改善IR。药物包括减肥药:西布曲明、奥利司他等;胰岛素增敏剂:二甲双胍、噻唑烷二酮类药物(吡格列酮、罗格列酮等);调脂药:他汀类、贝特类等和保肝抗炎药物,但至今尚没有任何一种得到循证医学证明的特效药物<sup>[1-4,51]</sup>。近年发表的多个Meta分析,纳入以肝穿刺结果为依据的临床随机对照研究,显示减肥可显著改善NASH组织学的各项指标,疗效与体质量下降正相关,体质量下降3%-5%以上就可减轻肝脂肪变,但只有体质量下降高达10%才能改善肝脏炎症和坏死程度,临床有过半数患者无法达减肥目标<sup>[2,53]</sup>。噻唑烷二酮类药物可显著改善NASH的肝细胞脂肪变、小叶内炎症和肝细胞气球样变,而对肝纤维化的疗效仅刚达到显著性,尚需更多研究证实<sup>[54,55]</sup>。二甲双胍对NASH的疗效并不显著<sup>[56]</sup>。他汀类药物对肝组织学的改善作用未被证实<sup>[53,57]</sup>。保肝抗炎药物中的抗氧化剂Vit E在国外报告较

多, 结果不一, 尚没有足够资料支持或否定其疗效<sup>[58]</sup>. 其他护肝新药如己酮可可碱、L-卡尼汀等资料不足, 仅有几个小样本的临床随机对照研究认为有效<sup>[53]</sup>. 其他保肝抗炎药物(护肝药)包括多不饱和脂肪酸(易善复)、水飞蓟素(宾)、甘草酸制剂、双环醇、熊去氧胆酸、S-腺苷蛋氨酸和还原型谷胱甘肽等和中药材等, 许多在国外未上市, 或虽然上市但说明书的适应证不含NAFLD, 其作用机制涉及到抗氧化、甲基化、膜修复、抗炎、改善血脂、解毒等多方面, 在国内使用很广泛. 临床研究显示, 护肝药可改善肝脏影像学 and 血生化(肝功能)指标, 但因欠缺组织学验证的临床随机对照研究, 其地位至今仍有争论. 中国指南推荐, 在保证基础治疗的前提下, 下列情况使用护肝药: (1)肝组织学确诊的NASH; (2)临床、实验室以及影像学资料提示有肝损伤或进展性肝纤维化者, 例如合并血清转氨酶增高、MetS、2型糖尿病的NAFLD患者; (3)伴其他药物诱发的肝损伤, 或基础治疗中出现血清转氨酶增高者; (4)合并嗜肝病毒感染感染或其他肝病者, 推荐疗程6-12 mo以上<sup>[4]</sup>. 综上所述, 噻唑烷二酮类是目前循证医学证据最多的药物, 美国指南推荐可在医师指导下治疗NASH<sup>[1]</sup>, 因药品说明书的适应证并不包括NAFLD, 我国指南只建议用于有IR的NAFLD患者<sup>[4]</sup>. 对二甲双胍和调脂药, 所有指南均只推荐用于有IR或血脂紊乱的NAFLD患者<sup>[1-4]</sup>. 他汀类药物可引起部分患者转氨酶增高, 多为一过性, 如患者无症状, 转氨酶增高在1-3正常上限范围内无需处理, 如>3正常上限则需减量或停药, 如总胆红素增加及凝血酶原时间延长, 提示显著肝功能损伤需立即停药<sup>[57]</sup>. 对接受药物治疗的患者需加强随访, 主管医师至少每月随访1次, 每半年复查体质量、腰围、血压、肝功能、血脂和血糖和上腹部超声检查, 评估疗效和调整方案<sup>[1-4, 51, 53]</sup>.

## 5 结论

NAFLD患病率逐年增高, 引起关注. NAFL病情稳定, NASH是发生肝硬化的必经阶段, 也是肝病恶化的拐点和防治的重点. NAFLD常和MetS并存, 死亡原因也多为心脑血管疾病, 因此需兼顾处理两病. 病理组织学是诊断的金标准, B超是临床诊断的常用方法, 但无法鉴别NASH和NAFL. 控制饮食和增加运动等基础疗法是治疗成功的基石. 药物包括减肥药、胰岛素增敏剂、调脂药、保肝抗炎药物等, 尚没有循证医

学证实的特效药物. 近年基因和表观遗传学研究为靶向诊治带来希望.

## 6 参考文献

- 1 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023 [PMID: 22488764 DOI: 10.1002/hep.25762]
- 2 Newsome PN, Allison ME, Andrews PA, Auzinger G, Day CP, Ferguson JW, Henriksen PA, Hubscher SG, Manley H, McKiernan PJ, Millson C, Mirza D, Neuberger JM, Oben J, Pollard S, Simpson KJ, Thorburn D, Tomlinson JW, Wyatt JS. Guidelines for liver transplantation for patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2012; 61: 484-500 [PMID: 22234978 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300886]
- 3 Ratz V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 2010; 53: 372-384 [PMID: 20494470 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.04.014]
- 4 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 163-170
- 5 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274-285 [PMID: 21623852 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x]
- 6 黄春明, 李瑜元. 非酒精性脂肪肝的流行病学. *现代消化及介入诊疗* 2009; 14: 233-237
- 7 Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Lu YS, Li L, Dai F, Li F, Chen SY. Fatty liver and the metabolic syndrome among Shanghai adults. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1825-1832 [PMID: 16336439 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.08.018]
- 8 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, Chen MH, Hu PJ. Prevalence of fatty liver disease and its risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6419-6424 [PMID: 18081233]
- 9 Milić S, Stimac D. Nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation and treatment. *Dig Dis* 2012; 30: 158-162 [PMID: 22722431 DOI: 10.1159/000336669000336669]
- 10 Shi L, Liu ZW, Li Y, Gong C, Zhang H, Song LJ, Huang CY, Li M. The prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with lifestyle/dietary habits among university faculty and staff in Chengdu. *Biomed Environ Sci* 2012; 25: 383-391 [PMID: 23026517 DOI: 10.3967/0895-3988.2012.04.00250895-3988(12)60069-5]
- 11 Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728 [PMID: 16287793 DOI: 10.1093/ajcp/143.10.722]
- 12 Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Crocè LS, Tiribelli C, Bellentani S. Incidence and natural course of fatty liver in the general population:

## 同行评价

近年NAFLD发病率迅速升高, 受到极大关注. 本文综述NAFLD基础和临床研究文献, 报道不同观点以及创新成果, 并结合国内外指南, 对本领域的热点问题总结提炼, 为读者提供有价值的信息, 促进NAFLD临床和科研两方面知识的普及和提高.



- the Dionysos study. *Hepatology* 2007; 46: 1387-1391 [PMID: 17685472 DOI: 10.1002/hep.21827]
- 13 Suzuki A, Angulo P, Lymp J, St Sauver J, Muto A, Okada T, Lindor K. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology* 2005; 41: 64-71 [PMID: 15690483 DOI: 10.1002/hep.20543]
  - 14 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Huang CM, Cao CY. Natural course of nonalcoholic fatty liver disease in southern China: a prospective cohort study. *J Dig Dis* 2012; 13: 153-160 [PMID: 22356310 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00571.x]
  - 15 Byrne CD. Dorothy Hodgkin Lecture 2012: non-alcoholic fatty liver disease, insulin resistance and ectopic fat: a new problem in diabetes management. *Diabet Med* 2012; 29: 1098-1107 [PMID: 22672330 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2012.03732.x]
  - 16 Page J. Nonalcoholic fatty liver disease: the hepatic metabolic syndrome. *J Am Acad Nurse Pract* 2012; 24: 345-351 [PMID: 22672485 DOI: 10.1111/j.1745-7599.2012.00716.x]
  - 17 Adams LA, Waters OR, Knuiman MW, Elliott RR, Olynyk JK. NAFLD as a risk factor for the development of diabetes and the metabolic syndrome: an eleven-year follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 861-867 [PMID: 19293782 DOI: ajg200967]
  - 18 Dam-Larsen S, Franzmann M, Andersen IB, Christoffersen P, Jensen LB, Sørensen TI, Becker U, Bendtsen F. Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. *Gut* 2004; 53: 750-755 [PMID: 15082596]
  - 19 Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419 [PMID: 10348825 DOI: S0016508599005636]
  - 20 Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology* 1995; 22: 1714-1719 [PMID: 7489979 DOI: S0270913995004289]
  - 21 Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics* 2006; 118: 1388-1393 [PMID: 17015527 DOI: 118/4/1388]
  - 22 Pacifico L, Nobili V, Anania C, Verdecchia P, Chiesa C. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and cardiovascular risk. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3082-3091 [PMID: 21912450 DOI: 10.3748/wjg.v17.i26.3082]
  - 23 展玉涛. 儿童非酒精性脂肪性肝病研究进展. *实用肝脏病杂志* 2006; 9: 101-103
  - 24 Meirhaeghe A, Cottel D, Amouyel P, Dallongeville J. Lack of association between certain candidate gene polymorphisms and the metabolic syndrome. *Mol Genet Metab* 2005; 86: 293-299 [PMID: 15978856 DOI: S1096-7192(05)00167-8]
  - 25 Osterreicher CH, Brenner DA. The genetics of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2007; 6: 83-88 [PMID: 17519829 DOI: 482270]
  - 26 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Yang H, Zhan Q, Huang J, Shi SL, Lai XB, Huang HL. Influence of polygenetic polymorphisms on the susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease of Chinese people. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 772-777 [PMID: 20492333 DOI: JGH6144]
  - 27 Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1461-1465 [PMID: 18820647 DOI: ng.257]
  - 28 Kantartzis K, Peter A, Machicao F, Machann J, Wagner S, Königsrainer I, Königsrainer A, Schick F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene. *Diabetes* 2009; 58: 2616-2623 [PMID: 19651814 DOI: db09-0279]
  - 29 Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, Roos C, Westerbacka J, Hamsten A, Bergholm R, Arkkila P, Arola J, Kiviluoto T, Fisher RM, Ehrenborg E, Orholm-Melander M, Ridderstråle M, Groop L, Yki-Järvinen H. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia* 2009; 52: 1056-1060 [PMID: 19224197 DOI: 10.1007/s00125-009-1285-z]
  - 30 Romeo S, Sentinelli F, Cambuli VM, Incani M, Congiu T, Matta V, Pilia S, Huang-Doran I, Cossu E, Loche S, Baroni MG. The 148M allele of the PNPLA3 gene is associated with indices of liver damage early in life. *J Hepatol* 2010; 53: 335-338 [PMID: 20546964 DOI: S0168-8278(10)00330-2]
  - 31 Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 894-903 [PMID: 20684021 DOI: 10.1002/hep.23759]
  - 32 Santoro N, Kursawe R, D'Adamo E, Dykas DJ, Zhang CK, Bale AE, Cali AM, Narayan D, Shaw MM, Pierpont B, Savoye M, Lartaud D, Eldrich S, Cushman SW, Zhao H, Shulman GI, Caprio S. A common variant in the patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) is associated with fatty liver disease in obese children and adolescents. *Hepatology* 2010; 52: 1281-1290 [PMID: 20803499 DOI: 10.1002/hep.23832]
  - 33 Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res* 2009; 50: 2111-2116 [PMID: 19738004 DOI: 50/10/2111]
  - 34 Valenti L, Alisi A, Galmozzi E, Bartuli A, Del Menico B, Alterio A, Dongiovanni P, Fargion S, Nobili V. I148M patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene variant and severity of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 1274-1280 [PMID: 20648474 DOI: 10.1002/hep.23823]
  - 35 Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 1883-1894 [PMID: 21381068 DOI: 10.1002/hep.24283]
  - 36 Chalasani N, Guo X, Loomba R, Goodarzi MO, Haritunians T, Kwon S, Cui J, Taylor KD, Wilson L, Cummings OW, Chen YD, Rotter JI. Genome-wide association study identifies variants associated with histologic features of nonalcoholic Fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010; 139: 1567-176, 1567-176, [PMID: 20708005 DOI: S0016-5085(10)01166-2]
  - 37 Lakner AM, Bonkovsky HL, Schrum LW. microRNAs: fad or future of liver disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2536-2542 [PMID: 21633658 DOI: 10.3748/wjg.v17.i20.2536]
  - 38 Sookoian S, Pirola CJ. DNA methylation and he-

- patic insulin resistance and steatosis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 350-356 [PMID: 22617561 DOI: 10.1097/MCO.0b013e3283546f9f]
- 39 Cheung O, Puri P, Eicken C, Contos MJ, Mirshahi F, Maher JW, Kellum JM, Min H, Luketic VA, Sanyal AJ. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with altered hepatic MicroRNA expression. *Hepatology* 2008; 48: 1810-1820 [PMID: 19030170 DOI: 10.1002/hep.22569]
  - 40 Chang J, Nicolas E, Marks D, Sander C, Lerro A, Buendia MA, Xu C, Mason WS, Moloshok T, Bort R, Zaret KS, Taylor JM. miR-122, a mammalian liver-specific microRNA, is processed from hcr mRNA and may downregulate the high affinity cationic amino acid transporter CAT-1. *RNA Biol* 2004; 1: 106-113 [PMID: 17179747 DOI: 1066]
  - 41 Esau C, Davis S, Murray SF, Yu XX, Pandey SK, Pear M, Watts L, Booten SL, Graham M, McKay R, Subramaniam A, Propp S, Lollo BA, Freier S, Bennett CF, Bhanot S, Monia BP. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metab* 2006; 3: 87-98 [PMID: 16459310 DOI: S1550-4131(06)00029-5]
  - 42 Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438: 685-689 [PMID: 16258535 DOI: nature04303]
  - 43 Nakanishi N, Nakagawa Y, Tokushige N, Aoki N, Matsuzaka T, Ishii K, Yahagi N, Kobayashi K, Yahotoh S, Takahashi A, Suzuki H, Urayama O, Yamada N, Shimano H. The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 385: 492-496 [PMID: 19460359 DOI: S0006-291X(09)01010-9]
  - 44 Whittaker R, Loy PA, Sisman E, Suyama E, Aza-Blanc P, Ingemannson RS, Price JH, McDonough PM. Identification of MicroRNAs that control lipid droplet formation and growth in hepatocytes via high-content screening. *J Biomol Screen* 2010; 15: 798-805 [PMID: 20639500 DOI: 1087057110374991]
  - 45 Zheng L, Lv GC, Sheng J, Yang YD. Effect of miRNA-10b in regulating cellular steatosis level by targeting PPAR-alpha expression, a novel mechanism for the pathogenesis of NAFLD. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 156-163 [PMID: 19780876 DOI: JGH5949]
  - 46 Nomoto S, Kinoshita T, Kato K, Otani S, Kasuya H, Takeda S, Kanazumi N, Sugimoto H, Nakao A. Hypermethylation of multiple genes as clonal markers in multicentric hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2007; 97: 1260-1265 [PMID: 17968429 DOI: 6604016]
  - 47 Sookoian S, Rosselli MS, Gemma C, Burgueño AL, Fernández Gianotti T, Castaño GO, Pirola CJ. Epigenetic regulation of insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease: impact of liver methylation of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  promoter. *Hepatology* 2010; 52: 1992-2000 [PMID: 20890895 DOI: 10.1002/hep.23927]
  - 48 Pogribny IP, Tryndyak VP, Bagnyukova TV, Melnyk S, Montgomery B, Ross SA, Latendresse JR, Rusyn I, Beland FA. Hepatic epigenetic phenotype predetermines individual susceptibility to hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methyl-deficient diet. *J Hepatol* 2009; 51: 176-186 [PMID: 19450891 DOI: S0168-8278(09)00244-X]
  - 49 Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-1321 [PMID: 15915461 DOI: 10.1002/hep.20701]
  - 50 Arienti V, Aluigi L, Pretolani S, Accogli E, Polimeni L, Domanico A, Violi F. Ultrasonography (US) and non-invasive diagnostic methods for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and early vascular damage. Possible application in a population study on the metabolic syndrome (MS). *Intern Emerg Med* 2012; 7 Suppl 3: S283-S290 [PMID: 23073869 DOI: 10.1007/s11739-012-0824-7]
  - 51 Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 837-858 [PMID: 22446927 DOI: S1542-3565(12)00320-5]
  - 52 Nobili V, Carter-Kent C, Feldstein AE. The role of lifestyle changes in the management of chronic liver disease. *BMC Med* 2011; 9: 70 [PMID: 21645344 DOI: 1741-7015-9-70]
  - 53 Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 79-104 [PMID: 20578268 DOI: 10.1002/hep.23623]
  - 54 Boettcher E, Csako G, Pucino F, Wesley R, Loomba R. Meta-analysis: pioglitazone improves liver histology and fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 66-75 [PMID: 22050199 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04912.x]
  - 55 Mahady SE, Webster AC, Walker S, Sanyal A, George J. The role of thiazolidinediones in non-alcoholic steatohepatitis - a systematic review and meta analysis. *J Hepatol* 2011; 55: 1383-1390 [PMID: 21703200 DOI: S0168-8278(11)00290-X]
  - 56 Rakoski MO, Singal AG, Rogers MA, Conjeevaram H. Meta-analysis: insulin sensitizers for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1211-1221 [PMID: 20955440 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04467.x]
  - 57 Cohen DE, Anania FA, Chalasani N. An assessment of statin safety by hepatologists. *Am J Cardiol* 2006; 97: 77C-81C [PMID: 16581333 DOI: S0002-9149(05)02147-8]
  - 58 Lirussi F, Azzalini L, Orlando S, Orlando R, Angelico F. Antioxidant supplements for non-alcoholic fatty liver disease and/or steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (1): CD004996 [PMID: 17253535 DOI: 10.1002/14651858.CD004996.pub3]

编辑 翟欢欢 电编 闫晋利



# C57BL/6小鼠食管鳞状细胞癌早期病变的形态学改变

杜展, 王超, 张勇, 马继伟, 闫雍容, 王绍祥, 钟雪云

## ■背景资料

通过建立小鼠食管癌模型, 探讨观察早期小鼠食管癌病理形态学改变的方法及肿瘤的发生过程, 对研究食管癌发生早期的分子机制及对肿瘤的预防、阻断起到桥梁作用。

杜展, 王超, 张勇, 马继伟, 闫雍容, 王绍祥, 钟雪云, 暨南大学医学院病理学教研室 广东省广州市 510630

杜展, 在读硕士, 主要从事肿瘤病理的相关研究。

国家高技术研究发展计划(863计划)课题基金资助项目, No. 2012AA02A503

作者贡献分布: 此课题由杜展、王绍祥及钟雪云共同设计; 研究过程由杜展、王超、张勇、马继伟及闫雍容共同操作完成; 数据分析由杜展与王绍祥完成; 本论文初稿写作、修改及定稿由杜展、王绍祥及钟雪云共同完成。

通讯作者: 钟雪云, 教授, 510630, 广东省广州市黄埔大道西601号, 暨南大学医学院病理学教研室. tzxy@jnu.edu.cn  
电话: 020-85228363

收稿日期: 2012-11-30 修回日期: 2012-12-31

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Morphology of early lesions of esophageal squamous cell carcinoma in C57BL/6 mice

Zhan Du, Chao Wang, Yong Zhang, Ji-Wei Ma, Yong-Rong Yan, Shao-Xiang Wang, Xue-Yun Zhong

Zhan Du, Chao Wang, Yong Zhang, Ji-Wei Ma, Yong-Rong Yan, Shao-Xiang Wang, Xue-Yun Zhong, Department of Pathology, Medical College of Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China

Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2012AA02A503

Correspondence to: Xue-Yun Zhong, Professor, Department of Pathology, Medical College of Jinan University, 601 Huangpu Dadao West, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China. tzxy@jnu.edu.cn

Received: 2012-11-30 Revised: 2012-12-31

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To dynamically observe the morphology of early lesions of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in C57BL/6 mice.

**METHODS:** ESCC was induced in C57BL/6 mice by giving drinking water containing 100 µg/mL of 4-nitroquinoline-1-oxide. During the experiment period, the morphology of early lesions of ESCC was observed by esophageal exfoliated cytology, iodine staining, observation with naked eyes, and histological assessment at weeks 12, 16, 20 and 24 after induction of ESCC.

**RESULTS:** Early esophageal lesions could not

be observed by esophageal exfoliated cytology or iodine staining. Esophageal epithelial dysplasia was observed by longitudinally dissecting the esophagus at week 12. In situ carcinoma and invasive cancer were observed at weeks 16, 20, and 24. Inflammation existed during the entire process of the development of ESCC.

**CONCLUSION:** Histopathological techniques, not esophageal exfoliated cytology or iodine staining, are suitable for observing the morphology of early ESCC lesions in C57BL/6 mice.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Esophageal squamous carcinoma; C57BL/6; Animal model; Esophageal balloon cells smears; Iodine staining

Du Z, Wang C, Zhang Y, Ma JW, Yan YR, Wang SX, Zhong XY. Morphology of early lesions of esophageal squamous cell carcinoma in C57BL/6 mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 116-121

## 摘要

**目的:** 了解食管癌发生过程中的炎症改变。

**方法:** 采用100 µg/mL的4NQO通过饮水作用于C57BL/6小鼠, 分别通过食管拉网脱落细胞法、碘染色法及病理组织学观察第12、16、20、24周等时间段的C57BL/6小鼠食管鳞状细胞癌建模病理的改变。

**结果:** 食管拉网脱落细胞法、碘染色法均未观察到小鼠早期食管病变, 在实验第12周, 纵向解剖食管, 通过病理组织学观察到食管上皮不典型增生, 第16、20、24周分别观察到原位癌、浸润性鳞癌的发生, 在整个肿瘤的发生、发展过程中伴随炎症细胞浸润。

**结论:** 食管拉网脱落细胞法、碘染色法不适用于C57BL/6小鼠食管鳞癌建模形态学观察, 只能通过病理组织学才能够在不同的时间段观察到食管癌的发生、发展及其炎症改变过程。

© 2013年版权归Baishideng所有。

## ■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科



**关键词:** 食管鳞状细胞癌; C57BL/6小鼠; 动物模型; 食管拉网脱落细胞涂片; 碘染色

杜展, 王超, 张勇, 马继伟, 闫雍容, 王绍祥, 钟雪云. C57BL/6小鼠食管鳞状细胞癌早期病变的形态学改变. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 116-121

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/116.asp>

## 0 引言

食管癌是最常见的八大恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>, 2008年全球新增病例482 300例, 死亡406 800例<sup>[2,3]</sup>. 由于早期症状不明显, 大多数食管癌患者确诊时已经是中晚期, 失去最佳治疗时机, 预后极差<sup>[4]</sup>. 因此, 食管癌的早期诊断对于改善预后非常必要. 在动物整体水平建立真实模拟人类疾病的动物模型, 对理解疾病发生发展至关重要<sup>[5,6]</sup>. 食管癌的动物模型是研究肿瘤发生的病因、发病机制、药物新靶点发现及药物干预的重要手段<sup>[7-10]</sup>. 已证实多种亚硝胺能诱发大鼠食管癌, 时间需1年以上, 但未能成功诱发小鼠食管癌. 有报道<sup>[11,12]</sup>采用水溶性化合物4-硝基喹啉-1-氧化物(4-nitroquinoline-1-oxide, 4NQO)成功诱导小鼠食管鳞状细胞癌发生, 但未能观察到食管浸润性癌发生前的早期病理改变. 食管拉网脱落细胞涂片在食管癌普查中应用广泛<sup>[13,14]</sup>, 碘染色法结合胃镜检查在食管癌早期诊断中发挥重要作用<sup>[15,16]</sup>. 为此, 我们尝试模拟人食管癌筛查手段, 探讨能够更早期观察到小鼠食管癌病理形态学改变的方法, 同时进一步揭示肿瘤发生过程中的炎症变化情况.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 6周龄♀C57BL/6小鼠60只, 体质量16-20 g(广东省实验动物中心提供, 实验动物质量合格证明号: 0097337), SPF级. 在室温20℃-25℃, 湿度40%-60%, 24 h自然光暗循环条件下以标准固体饲料喂养(广东省实验动物中心提供), 自制微型棉签. 试剂4-硝基喹啉-1-氧化物(4-nitroquinoline-1-oxide, 4NQO)(日本TCI公司CAS: 56-57-5); 丙二醇(propylene glycol)(天津富宇); 2.5%碘溶液(广州齐云).

### 1.2 方法

**1.2.1 溶液配制:** 4NQO溶解于丙二醇配制成5 mg/mL浓度作为储存液, 避光保存于4℃. 喂养小鼠时, 1 mL 4NQO储存液(5 mg/mL)和49 mL灭菌蒸馏水混合配制成100 μg/mL 4NQO水溶液, 置于避光饮水瓶中. 1 mL丙二醇和49 mL灭菌蒸馏

水混合配制成丙二醇水溶液, 每周一换. 对照组: 在暴露期内饮用含相同浓度的丙二醇水溶液.

**1.2.2 食管癌模型建立:** 参考文献[12], 60只小鼠随机分为2组, 处理组50只, 对照组10只. 处理组小鼠在致癌原暴露期内自由饮用100 μg/mL 4NQO水溶液16 wk, 之后改用普通灭菌水喂养. 于第12、16、20周处死小鼠3只, 至第24周全部处死, 对照组小鼠饮用含相同浓度的丙二醇水溶液16 wk, 之后改用普通灭菌水喂养, 于第12、16、20周各处死1只, 至第24周全部处死.

**1.2.3 食管拉网脱落细胞涂片:** 用灌胃器结合自制微型棉签模拟食管拉网方法, 在食管采集脱落细胞进行涂片, 滴加950 mL/L乙醇固定, 进行HE染色后镜下观察.

**1.2.4 碘染色:** 处死小鼠取食管纵向剖开, 2.5%碘溶液滴至全段食管1 min后流水冲洗.

**1.2.5 病理组织学:** 通过肉眼及镜下观察食管的病理改变.

**1.2.6 一般情况:** 每天观察室内温度、湿度变化, 小鼠活动度、对刺激的反应灵敏度, 进食、饮水量及毛色、粪便等情况, 每周记录小鼠的进食、饮水量、体质量.

**1.2.7 脱落细胞涂片观察:** 各时间点采集食管脱落细胞涂片固定, HE染色后镜下观察.

**1.2.8 碘染色观察:** 各时间点处死小鼠后, 分离食管, 从食管起始部位用眼科剪纵向剖开食管, 并用碘溶液对全段食管染色.

**1.2.9 大体观察:** 各时间点处死小鼠后, 完整分离舌、食管、胃、心、肝、脾、肺、肾等脏器, 观察食管全段外观、纵向剖开后管腔内部黏膜以及各脏器的变化.

**1.2.10 组织病理学:** 10%的中性甲醛溶液固定24 h, 常规脱水, 石蜡包埋, 4 μm切片, 采用HE染色, 进行组织病理学观察.

## 2 结果

**2.1 一般情况及体质量** 实验小鼠共60只, 分别于第12、16、20周处死小鼠4只, 5只小鼠实验过程中意外死亡, 余下43只小鼠于第24周全部处死. 实验进行至第12周时, 处理组与对照组在活动度、毛发光泽度、进食、饮水无明显差异. 随着时间延长, 处理组小鼠活动度逐渐弱于对照组, 毛发失去光泽, 呈微黄色(4NQO为黄色), 粪便颜色微黄, 尿液呈深黄色. 12、16、20、24 wk对照组体质量分别为21.0 g±1.2 g、22.1 g±0.8 g、21.3 g±1.7 g、23.3 g±0.9 g; 处理组体质量分别

### ■研究前沿

4NQO诱导的小鼠食管癌模型建模方法简单、诱导过程自然, 能模拟人食管癌发生的动态过程, 已广泛应用于食管癌发生机制及预防的研究中, 开展无创方法对肿瘤模型进行动态追踪并进行早期诊断, 在食管癌研究领域具有广阔前景.

## ■相关报道

Fong等利用4NQO建立小鼠食管癌模型对Zn在肿瘤发生中的作用进行了深入研究,发现充足的Zn摄入在食管癌建模过程对小鼠具有保护作用,阐明了Zn缺乏通过激活S100A8炎症通路,参与小鼠食管癌的发生发展。

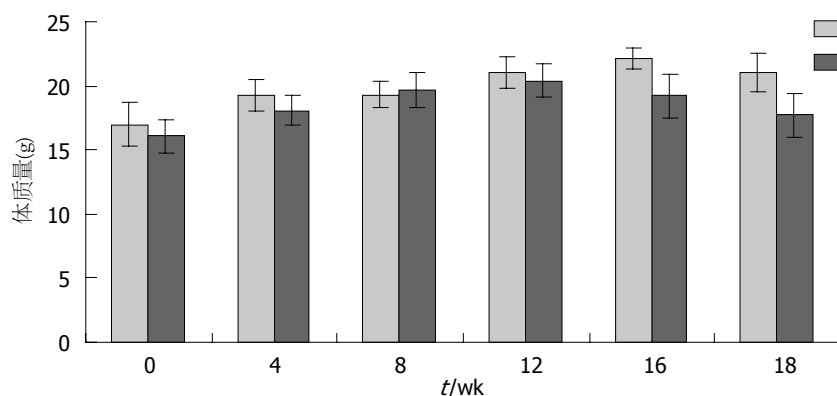


图 1 小鼠体质量的变化。

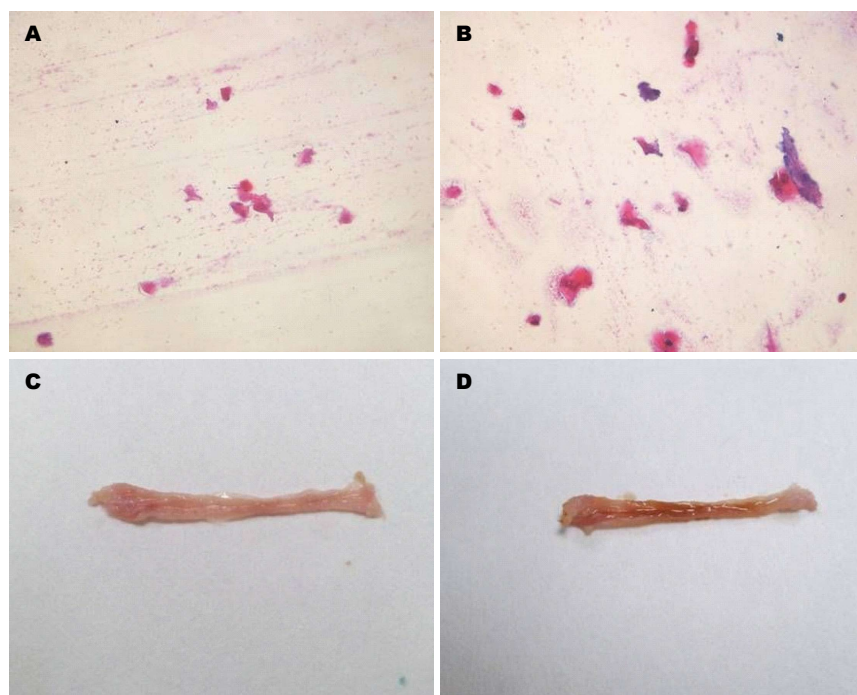


图 2 小鼠食管脱落细胞检查及碘染色。A: 第12周小鼠食管脱落细胞; B: 第24周小鼠食管脱落细胞; C: 碘染色前小鼠食管; D: 碘染色后小鼠食管。

为 $20.3 \pm 1.4$  g;  $19.4 \pm 2.0$  g、 $16.4 \pm 2.6$  g、 $15.2 \pm 1.5$  g(图1)。图中12 wk以前对照组与处理组小鼠体质量均呈增加趋势,12 wk后对照组体质量持续增加,而处理组小鼠体质量在第12周达到峰值,之后体质量下降,第16-20周体质量降幅最大。16 wk后两组小鼠体质量差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

2.2 脱落细胞涂片 镜下各个视野无细胞,见零散分布的均质、红染片状物,考虑为角化物(图2)。

2.3 碘染色 经染色、流水冲洗后,食管正常黏膜及病变部位均染色较深,无明显色差(图2)。

2.4 大体观察 对照组及处理组小鼠食管大体形态(图3)。对照组小鼠食管长2.5-3.0 cm,食管上段管径约0.1 cm,下段稍粗,管径约0.15 cm,黏膜光滑呈半透明状,无充血,皱襞无中断,食管中上部黏膜薄,近贲门处管壁略厚,第12周,处理组小鼠食管无增粗,纵向剖开可见食管下段黏

膜粗糙,少许黏膜皱襞中断,部分区域充血,管腔内无新生物生成;16 wk时,食管增粗,平均直径0.2 cm,黏膜区域性增厚、粗糙,无坏死及出血。20 wk时处理组小鼠食管明显增粗,黏膜弥漫性增厚,管腔内可见1-3个新生物散在分布,直径0.1-0.2 cm。24 wk时,食管下段管径平均0.2-0.3 cm,管壁僵硬、变形,局部可见膨隆,眼科剪不能顺利伸入管腔,管腔内充满一至数个乳头状、菜花状、突向管腔或向管壁浸润生长的灰白色新生物,质硬,触之出血,新生物直径最小0.1 cm,最大者约0.4 cm,部分小鼠管腔完全堵塞,见出血及溃疡形成。

2.5 组织学观察 小鼠食管黏膜被覆鳞状上皮,角化层厚,由浅至深依次为角化层,颗粒细胞层、棘细胞层,基底细胞层,黏膜下有少量淋巴细胞、浆细胞浸润。随着4NQO摄入时间延长,处理组小鼠食管在不同时期经历单纯性上皮增生-



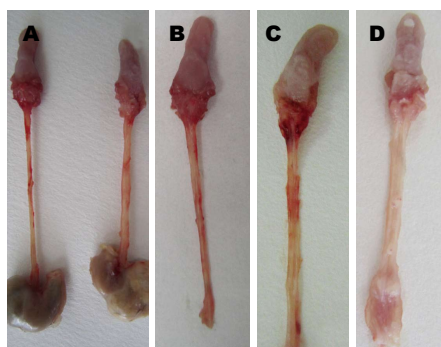


图3 小鼠对照组与处理组食管大体形态. A: 对照组(左)与处理组(右)(第24周, 未剖开); B: 对照组(第24周, 剖开后); C: 处理组(第16周, 剖开后); D: 处理组(第24周, 剖开后).

#### ■创新盘点

本文将人食管癌筛查方法引入动物模型研究中, 对食管进行纵向解剖, 结合病理形态学, 更早期、动态观察到食管癌的发生发展, 并揭示食管癌发生过程中伴随的炎症改变。

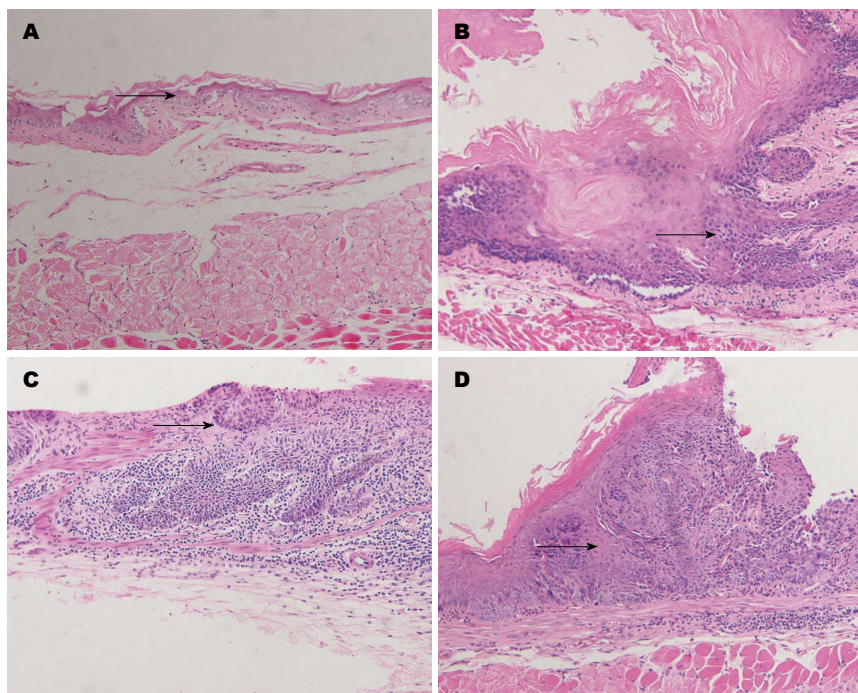


图4 不同时间点小鼠食管组织HE染色( $\times 10$ ). A: 正常食管黏膜; B: 第12周不典型增生; C: 第16周原位癌; D: 第24周浸润性食管鳞状细胞癌。

非典型增生-原位癌-浸润性鳞癌的病理变化(图4). 12 wk时出现单纯性上皮增生, 上皮钉突延长, 表现为棘细胞层及细胞数增多, 细胞无异型性, 基底细胞单层, 排列整齐, 间质淋巴细胞增多. 16 wk时可见异常增生, 棘细胞层肥厚, 细胞大小不一、排列紊乱. 局部区域角化层中断, 基底细胞增生, 排列紊乱, 细胞异型程度加重, 胞核呈多形性, 病理性核分裂增多, 基膜尚完整, 表现为原位癌的病理改变. 间质出现中性粒细胞、浆细胞、淋巴细胞浸润. 实验进行至第24周时食管鳞状细胞癌发生率为100%. 其中3例为原位癌、30例浸润至黏膜下, 3例浸润至肌层. 肿瘤外生性和/或浸润性生长, 形成癌巢, 中心可见角化珠. 细胞重度异型, 层次紊乱, 核染色质增多、粗糙, 出现多种病理性核分裂. 间质血管丰富, 大量炎细胞浸润. 不典型增生和原位癌时期可见淋巴细胞、中性粒细胞浸润, 发展至浸润性癌时炎症细胞浸润以淋巴细胞、浆细胞为主.

2.6 其他脏器观察 对处理组小鼠其他脏器包括: 胃、胰腺、心、肝、脾、肺、肾进行大体及组织学观察, 未发现原发性肿瘤及转移病灶.

### 3 讨论

4NQO是一种水溶性的喹啉衍生物<sup>[17]</sup>, 摄入体内后, 在4NQO还原酶的作用下通过氧化还原反应, 形成近致癌物4-羟氨基喹啉-1-氧化物, 经脯氨酰基化作用代谢为终致癌物4-乙酰氨基喹啉-1-氧化物, 最后与靶器官DNA亲核结构结合, 形成DNA加成物, 使鼠第7号染色体上H-ras1基因第12位密码子发生G→A转换, 致组织发生癌变<sup>[18-21]</sup>. 其中4NQO还原酶起关键作用, 该酶在舌、食管黏膜分布较多<sup>[19]</sup>, 使得4NQO具有对舌、食管的特异靶向性. 早期4NQO多用于口腔癌模型构建中<sup>[22]</sup>, Tang等<sup>[11]</sup>利用4NQO构建了舌癌和食管癌模型, 研究4NQO对CBA和C57BL/6小鼠致癌率的差异; 我国陈慧等<sup>[12]</sup>用类似方法建立舌



### ■应用要点

食管拉网脱落细胞法、碘染色法不适用于小鼠食管鳞癌的早期病变观察。通过纵向解剖食管,病理组织学,更直观、早期地观察到食管癌的发生过程,提出小鼠与人的食管在生理结构上的差别以及实验设计时需注意的问题,为以后的食管癌动物模型研究提供经验和借鉴。

癌及食管癌模型,但未能观察致癌过程中食管管腔内部的大体形态变化。我们尝试无创模拟人食管癌筛查方法,利用食管拉网脱落细胞涂片以及对小鼠离体食管纵向剖开后采用碘染色法,观察早期食管黏膜病变,从病理形态学角度对食管癌的发生过程及伴随的炎症改变进行深入研究。

食管拉网是利用网囊食管细胞采取器获得食管黏膜脱落细胞进行病理细胞学检查的一种简便可靠方法<sup>[23]</sup>,是我国食管癌高发区普查的重要手段<sup>[24]</sup>;内镜下食管黏膜碘染色,有助于发现早期食管癌<sup>[25-28]</sup>,机制为:正常人食管鳞状上皮细胞内及细胞间隙含有大量糖原,糖原遇碘后呈棕色的着色反应。若因肿瘤、炎症等造成食管黏膜细胞内的糖原丧失或减少,呈现不染色或染色不良的区域<sup>[29,30]</sup>,利用此特点可以鉴别轻微的食管黏膜病变。实验中我们拟通过模拟人食管拉网无创方式及剖开食管进行碘染色以发现小鼠早期食管病变,但由于小鼠食管上皮为很厚的角化鳞状上皮这一有别于人食管的特殊结构,导致棉签无法采集到上皮细胞,涂片结果为红染的角化物;此外,我们以自制微型棉签代替网囊食管细胞采取器进行细胞采集,操作难度较大,不利于细胞采集。在后续的研究中,如能开发动物微型内窥镜技术,更直观观察食管病变情况,将对食管癌动物模型研究具有深远意义。碘染色实验同样因为食管角化,无法通过碘的着色区分出正常黏膜和病变部位。提示食管拉网脱落细胞法、碘染色法不适用于观察小鼠食管鳞癌的早期病变过程。

我们在不同时间点处死小鼠,对食管纵向解剖,肉眼及镜下观察肿瘤的动态发生过程。实验中我们观察到第12周时处理组小鼠体质量开始下降,第16-20周降幅最为明显。第12周处死小鼠,纵向解剖食管后肉眼观察到小鼠食管黏膜粗糙、增厚,镜下可见食管上皮已经发生不典型增生,第16周和第20周我们进一步观察到了小鼠食管经历了原位癌-浸润性鳞癌逐步进展的经典上皮肿瘤发生过程,至第24周时小鼠食管出现肉眼可见的肿物,组织学诊断鳞癌发生率为100%,在整个过程中伴随炎症细胞的浸润,随着时间延长,炎症细胞浸润加剧。陈慧等<sup>[12]</sup>仅在第24周时观察到食管早期浸润性鳞癌的发生,而我们提前4 wk观察到食管早期癌前病变的发生,这可能与我们的纵向解剖食管,更直观地观察到食管管腔内部的变化有关。结合小鼠一般情况、体质量、肉眼及组织学变化,该模型在整

体水平生动反应出小鼠体内肿瘤的发展过程,以上结果可能提示第12周之前是4NQO在体内不断诱导DNA发生突变的过程,当突变累积到一定程度时,便启动肿瘤产生,从而真实再现了食管癌发生的动态过程。

正常食管黏膜存在一定数量淋巴细胞、浆细胞等以发挥正常的免疫作用,通过该模型我们发现不典型增生和原位癌时期舌和食管病变区域出现大量炎症细胞浸润,发展至浸润性癌时炎症细胞浸润以淋巴细胞为主,随着病变加重,炎症细胞浸润越明显,提示我们肿瘤发生的同时启动了机体免疫系统。大量研究表明<sup>[31-33]</sup>,炎症是肿瘤发展的重要因素,炎症细胞通过为肿瘤微环境提供多种生物活性分子促进肿瘤进程,因而成为肿瘤发生早期的证据之一。

食管癌动物模型的建立为食管癌治疗提供了重要的研究平台。给药方式的选择对药物的疗效可能会产生不同的后果。值得一提的是,我们在随后的研究中,进行了尾静脉注射给药,但成功率不高,分析其原因,可能因为C57BL/6小鼠尾部角化明显,随着鼠龄延长,角化增厚;且尾静脉行走于尾骨中间。由于其尾巴特殊的生理结构,对幼鼠尚可行尾静脉注射,而成年鼠尾静脉注射比较困难。故进行药物实验时,对需要静脉注射药物的给药方式提出了挑战,需要较高的尾静脉注射技术,这是实验设计必须考虑的问题之一。

总之,利用4NQO构建的C57BL/6小鼠食管鳞状细胞癌疾病动物模型,建模时间短、方法简单、成瘤率高。食管拉网脱落细胞法、碘染色法不适用于食管鳞癌的早期病变观察,病理组织学能更早期观察到食管癌的发生及其炎症改变,从而为以后的动物模型研究提供经验和借鉴。

### 4 参考文献

- 1 郑荣寿, 张思维, 吴良有, 李光琳, 赵平, 赫捷, 陈万青. 中国肿瘤登记地区2008年恶性肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2012; 21: 1-12
- 2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* ; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 3 Wheeler JB, Reed CE. Epidemiology of esophageal cancer. *Surg Clin North Am* 2012; 92: 1077-1087 [PMID: 23026270 DOI: 10.1016/j.suc.2012.07.008]
- 4 Holmes RS, Vaughan TL. Epidemiology and pathogenesis of esophageal cancer. *Semin Radiat Oncol* 2007; 17: 2-9 [PMID: 17185192]
- 5 黄裔腾, 殷秀凯, 钟雪云, 张灏. 食管鳞癌动物模型的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1704-1710
- 6 Opitz OG, Quante M, von Werder A, Heeg S, Blum HE. A mouse model of oral-esophageal carcinogenesis. *Onkologie* 2005; 28: 44-48 [PMID: 15696643]
- 7 Miyamoto S, Yasui Y, Kim M, Sugie S, Murakami

- A, Ishigamori-Suzuki R, Tanaka T. A novel rasH2 mouse carcinogenesis model that is highly susceptible to 4-NQO-induced tongue and esophageal carcinogenesis is useful for preclinical chemoprevention studies. *Carcinogenesis* 2008; 29: 418-426 [PMID: 18174262 DOI: 10.1093/carcin/bgm225]
- 8 Fong LY, Jiang Y, Rawahneh ML, Smalley KJ, Croce CM, Farber JL, Huebner K. Zinc supplementation suppresses 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2011; 32: 554-560 [PMID: 21245412 DOI: 10.1093/carcin/bgr004]
- 9 Wan SG, Taccioli C, Jiang Y, Chen H, Smalley KJ, Huang K, Liu XP, Farber JL, Croce CM, Fong LY. Zinc deficiency activates S100A8 inflammation in the absence of COX-2 and promotes murine oral-esophageal tumor progression. *Int J Cancer* 2011; 129: 331-345 [PMID: 20857495 DOI: 10.1002/ijc.25688]
- 10 Fong LY, Zhang L, Jiang Y, Farber JL. Dietary zinc modulation of COX-2 expression and lingual and esophageal carcinogenesis in rats. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 40-50 [PMID: 15632379]
- 11 Tang XH, Knudsen B, Bemis D, Tickoo S, Gudas LJ. Oral cavity and esophageal carcinogenesis modeled in carcinogen-treated mice. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 301-313 [PMID: 14734483]
- 12 陈慧, 高鑫, 李刚, 王凤鸣, 孙静, 刘柳, 卢斌峰, 张学光. 4NQO诱发C57BL/6小鼠舌癌及食管鳞状细胞癌模型的建立. *苏州大学学报(自然科学版)* 2010; 30: 972-974
- 13 Greenebaum E, Schreiber K, Shu YJ, Koss LG. Use of the esophageal balloon in the diagnosis of carcinomas of the head, neck and upper gastrointestinal tract. *Acta Cytol* 1984; 28: 9-15 [PMID: 6582746]
- 14 杨观瑞. 食管癌筛查和早诊早治研究进展. *中国肿瘤* 2010; 19: 18-23
- 15 张永贞, 王新正, 张铭, 马朝辉, 曹凌, 石樱桃, 许翊. 食管癌高发区内镜碘染色筛查食管癌/贲门癌的5年结果分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 32-34
- 16 Fukuhara T, Hiyama T, Tanaka S, Oka S, Yoshihara M, Arihiro K, Chayama K. Natural course of lugol-voiding lesions in patients with superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Digestion* 2010; 82: 60-65 [PMID: 20203512 DOI: 10.1159/000284371]
- 17 Hawkins BL, Heniford BW, Ackermann DM, Leonberger M, Martinez SA, Hendler FJ. 4NQO carcinogenesis: a mouse model of oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck* 1994; 16: 424-432 [PMID: 7960739]
- 18 Silva RN, Ribeiro DA, Salvadori DM, Marques ME. Placental glutathione S-transferase correlates with cellular proliferation during rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *Exp Toxicol Pathol* 2007; 59: 61-68 [PMID: 17596925]
- 19 Booth DR. A relationship found between intra-oral sites of 4NQO reductase activity and chemical carcinogenesis. *Cell Tissue Kinet* 1990; 23: 331-340 [PMID: 2117996]
- 20 Kanojia D, Vaidya MM. 4-nitroquinoline-1-oxide induced experimental oral carcinogenesis. *Oral Oncol* 2006; 42: 655-667 [PMID: 16448841]
- 21 Makita H, Tanaka T, Fujitsuka H, Tatematsu N, Satoh K, Hara A, Mori H. Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral carcinogenesis by the dietary flavonoids chalcone, 2-hydroxychalcone, and quercetin. *Cancer Res* 1996; 56: 4904-4909 [PMID: 8895742 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605126]
- 21 Makita H, Tanaka T, Fujitsuka H, Tatematsu N, Satoh K, Hara A, Mori H. Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral carcinogenesis by the dietary flavonoids chalcone, 2-hydroxychalcone, and quercetin. *Cancer Res* 1996; 56: 4904-4909 [PMID: 8895742]
- 22 Ohne M, Omori K, Kobayashi A, Sakurada Y, Sekigawa K, Mochizuki A, Takaki T, Tachikawa T, Muramatsu H, Nagai Y, Kojo U. Induction of squamous cell carcinoma in the oral cavity of rats by oral administration of 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) in drinking water. A preliminary report. *Bull Tokyo Dent Coll* 1981; 22: 85-98 [PMID: 6794920]
- 23 Bird-Lieberman EL, Fitzgerald RC. Early diagnosis of oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 1-6 [PMID: 19513070 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605126]
- 24 王凤荣, 张祥宏, 严霞, 王俊灵, 李绍森, 林培中, 路灵敏, 孙旭明, 杨永滨, 李月红. 食管癌高发区居民口腔细胞学状况及其与食管脱落细胞学相关性的研究. *肿瘤研究与临床* 2006; 18: 779-781
- 25 张惠晶, 罗纪, 王轶淳, 汪旭, 孙明军. 碘染色在早期食管癌及癌前病变诊治中的价值. *中国内镜杂志* 2010; 16: 459-461
- 26 McMahon J, Devine JC, McCaul JA, McLellan DR, Farrow A. Use of Lugol's iodine in the resection of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2010; 48: 84-87 [PMID: 20031284 DOI: 10.1016/j.bjoms.2009.05.007]
- 27 Tincani AJ, Brandalise N, Andreollo NA, Lopes LR, Montes CG, Altamari A, Martins AS. [Importance of upper digestive endoscopy using lugol dye solution for the diagnosis of superficial esophageal cancer and dysplasia in patients with head and neck neoplasms]. *Arq Gastroenterol* 2000; 37: 107-113 [PMID: 11144012]
- 28 王士杰, 李宏, 单保恩, 丛庆文, 刘鹿宁. 食管癌组织中的糖原和含糖物质的变化及其临床意义. *癌症* 2002; 21: 790-793
- 29 Ghotli ZA, Serra S, Chetty R. Clear cell (glycogen rich) gastric adenocarcinoma: a distinct tubulopapillary variant with a predilection for the cardia/gastro-oesophageal region. *Pathology* 2007; 39: 466-469 [PMID: 17886094]
- 30 Micev M, Cosic-Micev M. [Pathology and pathobiology of the oesophageal carcinoma]. *Acta Chir Iugosl* 2010; 57: 15-26 [PMID: 20954310]
- 31 Liu L, Wang S, Shan B, Shao L, Sato A, Kawamura K, Li Q, Ma G, Tagawa M. IL-27-mediated activation of natural killer cells and inflammation produced antitumour effects for human oesophageal carcinoma cells. *Scand J Immunol* 2008; 68: 22-29 [PMID: 18482209 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2008.02111.x]
- 32 Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-444 [PMID: 18650914 DOI: 10.1038/nature07205]
- 33 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]

## ■同行评价

本文实验方法较科学, 结果可信, 结论客观, 具有一定指导价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 胞质转导肽-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin体外诱导HBV转基因小鼠髓源性树突状细胞成熟及在T淋巴细胞增殖中的作用

唐余燕, 余永胜, 卓萌, 臧国庆, 汤正好, 陈小华

## ■背景资料

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是严重的公共卫生问题, 全球约20亿人曾感染HBV, 其中3.5-4.0亿人为慢性HBV感染, 全球每年约100万人死于与HBV感染相关的肝病。我国属乙型肝炎高发区, 约1.1亿人为慢性HBV感染。

唐余燕, 余永胜, 卓萌, 臧国庆, 汤正好, 陈小华, 上海交通大学附属第六人民医院感染病科 上海市 200233

唐余燕, 硕士, 主要从事病毒性肝炎发病机制及免疫治疗方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 31000414

作者贡献分布: 此课题由陈小华设计; 研究过程由唐余燕与卓萌完成; 数据分析由汤正好、余永胜及臧国庆完成; 本论文写作由唐余燕与陈小华完成。

通讯作者: 陈小华, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属上海市第六人民医院感染病科。chenxiaohua2000@163.com  
电话: 021-64369181-8673

收稿日期: 2012-11-30 修回日期: 2012-12-26

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Cytoplasmic transduction peptide-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin induces HBV transgenic mouse bone marrow-derived dendritic cell maturation and T lymphocyte proliferation *in vitro*

Yu-Yan Tang, Yong-Sheng Yu, Meng Zhuo, Guo-Qing Zang, Zheng-Hao Tang, Xiao-Hua Chen

Yu-Yan Tang, Yong-Sheng Yu, Meng Zhuo, Guo-Qing Zang, Zheng-Hao Tang, Xiao-Hua Chen, Department of Infectious Diseases, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 31000414

Correspondence to: Xiao-Hua Chen, Department of Infectious Diseases, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, 600 Yishan Road, Shanghai 200233, China. chenxiaohua2000@163.com

Received: 2012-11-30 Revised: 2012-12-26

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of cytoplasmic transduction peptide (CTP)-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin on the maturation of HBV transgenic mouse bone marrow-derived dendritic cells (DCs) and proliferation of T lymphocytes *in vitro*.

**METHODS:** DCs derived from bone marrow of HBV transgenic mice or C57BL/6 mice were cultured with recombinant granulocyte-

macrophage colony-stimulating factor and recombinant interleukin-4 for 5 days. The fusion proteins CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin (10 µg/mL), CTP-HBcAg<sub>18-27</sub> (10 µg/mL), HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin (10 µg/mL) or PRMI 1640 were then added into culture medium to induce DC maturation. DC phenotypes were analyzed by flow cytometry. The level of IL-12p70 in supernatants was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The proliferation of T lymphocytes was assessed using cell counting kit-8, and intracellular cytokines in proliferative T cells were analyzed by flow cytometry.

**RESULTS:** DCs were cultured and identified successfully. DC surface molecules, such as CD80, CD83 and major histocompatibility antigen-I, were up-regulated by treatment with CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin. IL-12p70 level in cells treated with CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin was higher than those in cells treated with CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>, HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin or medium. Treatment with CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin not only significantly induced T lymphocyte proliferation, but also significantly increased the percentages of IFN-γ<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T cells compared to treatment with CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>, HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin or medium. However, the effects of CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin on DC maturation and T lymphocyte proliferation were more significant when DCs and T lymphocyte were derived from C57BL/6 mice.

**CONCLUSION:** Molecular chaperone tapasin-modified intracellular antigen peptide could effectively promote the differentiation and maturation of dendritic cells derived from bone marrow cells of HBV transgenic mice and enhance the ability of DCs to stimulate T lymphocyte proliferation and induce cytotoxic T lymphocytes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Cytoplasmic transduction peptide; HBcAg<sub>18-27</sub>; Tapasin; Dendritic cells; T lymphocytes

Tang YY, Yu YS, Zhuo M, Zang GQ, Tang ZH, Chen XH.

## ■同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心



Cytoplasmic transduction peptide-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin induces HBV transgenic mouse bone marrow-derived dendritic cell maturation and T lymphocyte proliferation *in vitro*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(2): 122-129

## 摘要

**目的:** 观察融合蛋白胞质转导肽(cytoplasmic transduction peptide, CTP)-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin体外诱导HBV转基因小鼠髓源性树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟和对T淋巴细胞增殖的作用。

**方法:** 体外分离、培养HBV转基因小鼠及近交系C57BL/6小鼠髓源性DC, 加入重组粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和白介素(interleukin, IL)-4培养5 d, 再加入实验组10 μg/mL CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin、对照组10 μg/mL CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>、10 μg/mL HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin及空白组RPMI 1640完全培养液。流式细胞术测定DC表面分子CD80、CD83、MHC-1的表达, ELISA法测定DC培养上清液中的IL-12p70的水平, 细胞计数试剂盒(CCK-8)检测T淋巴细胞增殖反应, 流式细胞仪检测增殖的T淋巴细胞内的细胞因子。

**结果:** 体外成功诱导小鼠髓源性DC; CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin能明显上调DC表面分子CD80、CD83、MHC-1的表达; 并且CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组诱导DC分泌的IL-12p70水平及诱导DC增殖T淋巴细胞增殖能力明显高于对照组及空白组[IL-12p70转基因小鼠( $F = 205.85, P = 0.000$ ); C57BL/6小鼠( $F = 406.20, P = 0.000$ )]。流式细胞仪检测实验组融合蛋白诱导的CTL水平也高于对照组[转基因小鼠( $F = 155.45, P = 0.000$ ); C57BL/6小鼠( $F = 392.90, P = 0.000$ )], 同时HBV转基因小鼠DC表面分子及在T淋巴细胞增殖中的作用要比C57BL/6小鼠低。

**结论:** 分子伴侣Tapasin修饰胞内化抗原肽能促进HBV转基因小鼠髓源性DC的分化、成熟, 并能增强DC刺激T淋巴细胞增殖能力及诱导CTL的产生。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 胞质转导肽; HBcAg<sub>18-27</sub>; Tapasin; 树突细胞; T淋巴细胞

唐余燕, 余永胜, 卓萌, 臧国庆, 汤正好, 陈小华. 胞质转导肽-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin体外诱导HBV转基因小鼠髓源性树突状细胞成熟及在T淋巴细胞增殖中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 122-129

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/122.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染的控制、转归及病毒清除, 主要取决于宿主的免疫状态, HBcAg<sub>18-27</sub>是具有免疫优势的人类白细胞抗原(HLA)-A2限制性特异性CTL表位肽, 在HBV感染中能诱发较强的CTL反应<sup>[1-3]</sup>。分子伴侣Tapasin是抗原提呈相关载体蛋白(transporter associated with antigen processing, TAP)的基因产物, 与人类主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-I类分子同为免疫球蛋白超家族成员, Tapasin在形成抗原肽MHC/多肽复合物中有重要作用<sup>[4,5]</sup>。胞质转导肽(cytoplasmic transduction peptide, CTP)能够有效穿透细胞膜, 高效携带外源性抗原进入细胞内部, 实现细胞亚定位<sup>[6-9]</sup>。树突状细胞作为专职抗原递呈细胞是目前发现的激活初始T细胞功能最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)。研究表明机体对HBV的耐受状态并不是因为淋巴细胞功能缺陷, 而是由于抗原提呈细胞功能缺陷, 特别是DCs功能缺陷引起<sup>[10,11]</sup>。本研究利用CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin融合蛋白对体外培养HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠髓源性DCs及其在T淋巴细胞增殖功能的影响进行观察, 探讨分子伴侣Tapasin在诱导免疫激活中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** C57BL/6-HBV ♀ SPF级转基因小鼠, 周龄6-8 wk, 体质量22-26 g, 由中国人民解放军第458医院全军传染病中心提供, ♀ SPF级C57BL/6健康小鼠, 6-8周龄, 22-26 g, 由上海生命科学研究院斯莱克实验动物有限公司提供, 在本院动物实验中心清洁级25℃-27℃条件下饲养。融合蛋白CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin、CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>及HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin由本课题组构建并保存<sup>[12]</sup>。异硫氰酸荧光素(FITC)标志的小鼠单克隆抗体干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)及藻红蛋白(PE)标志的小鼠单克隆抗体CD8α、CD11c、CD80、CD83及MHC-1均购自eBioscience公司; 重组粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子与白介素(interleukin, IL)-4均购自PeproTech公司; IL-12p70 ELISA检测试剂盒为R&D公司产品; 佛波酯、莫能霉素、离子霉素及丝裂霉素C购自Sigma公司; 细胞固定剂和破膜剂购自Invitrogen公司; T细胞尼龙毛柱(Wako公司); 小鼠淋巴细胞分离液(北京康贝源科技有限公司); CCK-8试剂盒(日本同仁化学研究所)。

## ■ 研发前沿

经典MHC-I类分子在内质网内的装配要求有抗原肽配体和β2m的存在, 而这一过程需要伴侣分子(chaperones)如Tapasin、钙网蛋白(calreticulin, CRT)等的参与。Tapasin在形成抗原肽MHC复合物中有重要作用。

## ■相关报道

Thirdborough等利用CTL表位肽来免疫Tapasin<sup>-/-</sup>转基因小鼠和野生型小鼠,结果发现经抗原肽刺激后Tapasin<sup>-/-</sup>生成特异性CD8<sup>+</sup>细胞的能力明显低于野生型小鼠,提示Tapasin在诱导CTL反应中起重要作用. Boulanger等利用Tapasin<sup>-/-</sup>转基因小鼠来研究由痘病毒所致的淋巴细胞性脉络丛脑膜炎,发现Tapasin能促进CTL反应,在病毒免疫作用中是一个有利因素, Tapasin缺乏会造成免疫反应的变化.

## 1.2 方法

1.2.1 髓源性DC的分离和培养: 小鼠拉颈处死后浸入750 mL/L乙醇中5 min左右, 无菌条件下取出股骨及胫骨, PBS反复冲洗骨髓直至发白, 收集细胞悬液低速离心, 弃上清液收集骨髓细胞; RPMI 1640培养液重悬, 细胞计数, 调整细胞密度为 $1 \times 10^6$ /mL, 加至6孔板中, 4 h后去除未贴壁细胞, 加含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液, 并加入rmGM-CSF和rmIL-4, 终浓度分别为20 ng/mL和10 ng/mL; 在37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养. 隔天半量换液, 并补充细胞因子rmGM-CSF和rmIL-4至原浓度. 倒置显微镜下观察细胞形态和数量变化.

1.2.2 DC的诱导及分组: 本实验分4组: (1)实验组CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; (2)对照组CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; (3)对照组HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; (4)空白组为RPMI 1640培养基. 分别向培养至第5天的DC中加入10 μg/mL融合蛋白和RPMI 1640培养液, 同时加入20 ng/mL rmGM-CSF和10 ng/mL rmIL-4, 37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养72 h后, 强力吹打收集DC及培养上清液, -80 °C保存上清液以备检测.

1.2.3 DC表面分子检测: 收集培养到第8天的细胞, 每个标本细胞数约为 $1 \times 10^6$ /mL, 用PBS洗涤两次, 弃上清; 分别加PE标志的CD80、CD83、CD86及MHC-I, 并设置同型对照管, 4 °C避光作用30 min; PBS洗涤后标本用1%多聚甲醛固定30 min, 流式细胞仪检测.

1.2.4 IL-12p70水平检测: 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测, 将标准品和样本各50 μL依次加入孔中, 每孔分别加入50 μL酶联亲和物, 37 °C温育60 min后弃孔内液体, 用稀释的洗涤液反复冲洗5次后加入显色液, 室温下避光反应15 min, 每孔加入终止液50 μL酶标仪在450 nm测定吸光度(A)值. 通过标准曲线计算出IL-12p70水平.

1.2.5 脾淋巴细胞的制备: 处死C57BL/6小鼠, 无菌条件下取出小鼠脾脏, 在200目筛网中边用注射器活塞轻轻研磨, 边用PBS冲洗, 使脾细胞透过筛网到培养皿中得到脾细胞悬液, 将细胞悬液慢慢加到预先预热的淋巴细胞分离液上层离心, 吸取淋巴细胞层, 再用PBS冲洗两遍, RPMI 1640培养液重悬得到混合淋巴细胞悬液.

1.2.6 T淋巴细胞的制备: 用20 mL培养液平衡T淋巴细胞尼龙毛柱, 再加入15 mL含血清的培养基, 随后关闭弹簧夹; 加入上述制备的混合淋巴细胞悬液, 打开弹簧夹, 再加入1 mL培养基, 关

闭弹簧夹; 覆盖锡箔纸, 37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱孵育45-60 min; 用950 mL/L乙醇消毒并打开弹簧夹, 加入20 mL含血清的培养基, 收集细胞悬液约1个柱子的体积.

1.2.7 T淋巴细胞增殖反应: 培养至第8天的DC密度调整至 $1 \times 10^6$ /mL, 加入丝裂霉素, 37 °C水浴30 min作为刺激细胞, T淋巴细胞密度调整至 $1 \times 10^6$ /mL作为效应细胞, 按效应细胞和刺激细胞分别为5:1、10:1、20:1, 每孔加入 $5 \times 10^5$ 效应细胞, 每组设3复孔, 37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱孵育72 h, 每孔加CCK-8试剂10 μL, 4 h后酶标仪450 nm波长条件下检测A值.

1.2.8 T细胞内细胞因子检测: 采用流式细胞仪检测, 将分离得到的T淋巴细胞以RPMI 1640调整至 $1 \times 10^6$ /mL, 25 μg/mL佛波酯、1 μg/mL离子霉素和1.7 μg/mL莫能霉素加入培养液中37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>孵育6 h; PBS洗涤2次后收集细胞, 加入PE-CD8a抗体避光孵育15 min; PBS洗涤2次, 100 μL固定剂作用15 min, PBS洗涤后加入100 μL破膜剂作用5 min, 直接加FITC-IFN-γ抗体, 室温避光孵育30 min; PBS洗涤2次后用500 μLPBS重悬, 流式细胞仪对细胞荧光强度进行检测分析.

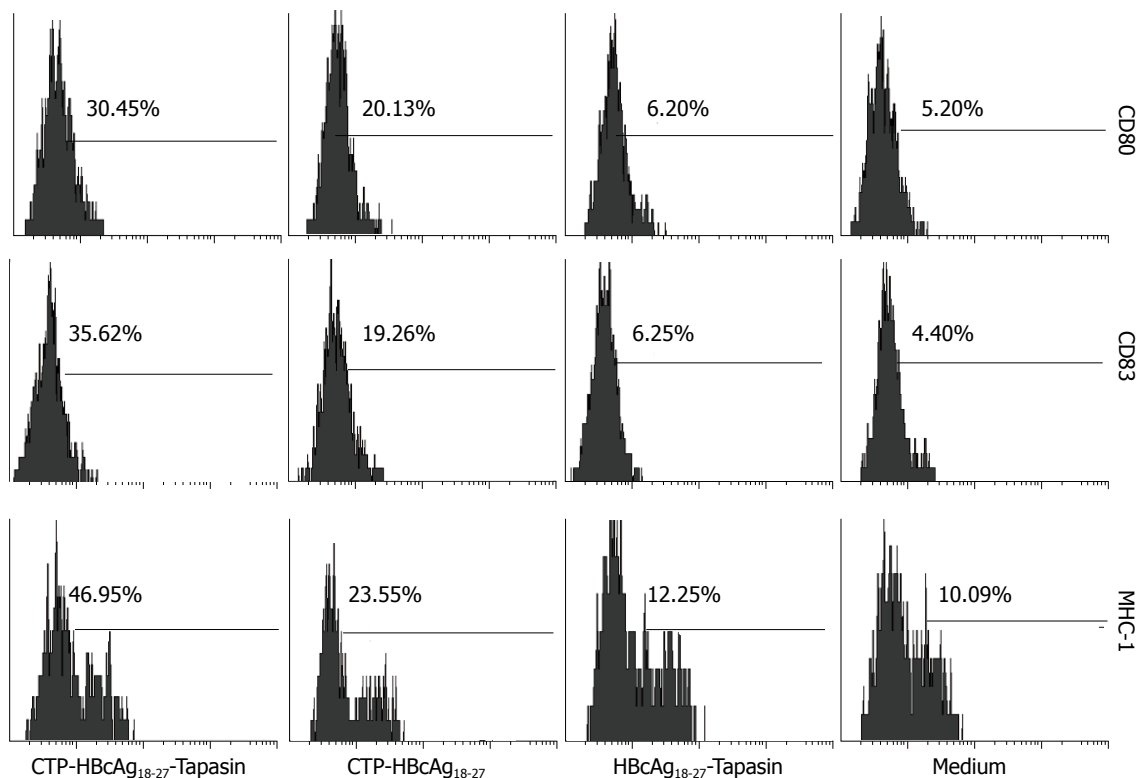
**统计学处理** 采用SPSS16.0软件进行分析, 数据以mean±SD表示, 多个样本均数间的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 组间两两比较采用LSD法,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 DC表型检测 为了解融合蛋白诱导DC后对其表面分子的影响, 采用流式细胞仪分析, 流式细胞仪显示收集的DC表面分子CD11c为70%-80%, HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠, 融合蛋白CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin诱导表面分子CD80、CD83及MHC-I明显高于对照组及空白组(转基因小鼠 $F = 1777.00$ 、 $F = 657.50$ 及 $F = 281.53$ , 均 $P < 0.05$ ; C57BL/6小鼠 $F = 70.07$ 、 $F = 128.15$ 及 $F = 1052.00$ , 均 $P < 0.05$ ) (图1, 2, 表1, 2).

2.2 DC培养上清液中IL-12p70水平检测 了解DC成熟程度还需了解其分泌IL-12p70水平, 采用ELISA法测定, HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠, 实验组CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin培养上清液IL-12p70水平都明显高于对照组及空白组[转基因小鼠( $F = 205.85$ ,  $P = 0.000$ ); C57BL/6小鼠( $F = 406.20$ ,  $P = 0.000$ )] (图3, 4, 表3).

2.3 T淋巴细胞增殖反应检测 在不同效应细胞与刺激细胞比例下, C57BL/6小鼠和HBV转基



**■创新盘点**  
本研究利用CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin融合蛋白对体外培养HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠髓源性DCs及其在T淋巴细胞增殖功能的影响进行观察,探讨分子伴侣Tapasin在诱导免疫激活中的作用,为慢性乙型肝炎患者的免疫治疗提供新的思路。

图1 HBV转基因小鼠树突状细胞表面分子检测。

表1 HBV转基因小鼠树突状细胞表面分子百分比检测 (%)

分组	CD80	CD83	MHC-1
1组	30.35 ± 0.75 <sup>ace</sup>	32.93 ± 1.64 <sup>ace</sup>	45.87 ± 21.03 <sup>ace</sup>
2组	20.35 ± 0.60 <sup>ac</sup>	19.38 ± 0.70 <sup>ac</sup>	23.82 ± 0.29 <sup>ac</sup>
3组	6.14 ± 0.22	6.26 ± 0.60	12.42 ± 0.63
4组	5.12 ± 0.12	4.38 ± 0.82	8.05 ± 3.26

1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。\* $P < 0.05$  vs 空白组; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

因小鼠, 实验组CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin对同种系小鼠T淋巴细胞增殖作用最强(转基因小鼠 $F = 29.96$ 、 $F = 90.25$ 及 $F = 103.07$ , 均 $P < 0.05$ ; C57BL/6小鼠 $F = 11.4$ 、 $F = 10.87$ 及 $F = 15.74$ , 均 $P < 0.05$ ), 且效应细胞与刺激细胞在5:1时增殖作用最强, 分别高于对照组CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>、HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin及空白组(均 $P < 0.05$ )(图5, 6)。

**2.4 T淋巴细胞内细胞因子检测** 为了观察C57BL/6正常小鼠及HBV转基因小鼠的不同组蛋白致敏DC后对CD8 $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 双阳性细胞比例的影响, 采用流式细胞仪对细胞进行CD8 $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 双标检测, 结果刺激后的T淋巴细胞中产生IFN- $\gamma$ 的CTL数量在实验组CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin最高分别高于对照组及空白组[转基因小鼠( $F =$

155.45,  $P = 0.000$ ); C57BL/6小鼠( $F = 392.90$ ,  $P = 0.000$ )](图7, 8, 表4)。

### 3 讨论

HBV慢性感染者中DC抗原提呈能力低下, 表达于DC表面的共刺激分子明显低于正常者, 刺激T淋巴细胞特异性增殖反应能力下降, 能够诱导T淋巴细胞向Th1分化的IL-12、IFN- $\gamma$ 分泌减少, 因而造成细胞免疫反应低下、病毒持续感染<sup>[13-16]</sup>。Kurose等<sup>[10]</sup>用HBV转基因小鼠模型研究HBV感染后机体免疫耐受状态和DC的关系, 发现机体对HBV的耐受状态并不是因为淋巴细胞功能缺陷, 而是由于抗原提呈细胞功能缺陷, 特别是DCs功能缺陷引起。CTP为蛋白转



## ■应用要点

本文证实了分子伴侣Tapasin修饰胞内化抗原肽(HBcAg<sub>18-27</sub>)能明显促进HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠DC表面分子上调,提高IL-12p70的水平,并有效刺激T淋巴细胞增殖及增加特异性CTL的表达的作用,证实Tapasin在免疫激活中的重要作用,为进一步研究该融合蛋白诱导特异性CTL抑制HBV复制的体内研究提供理论依据。

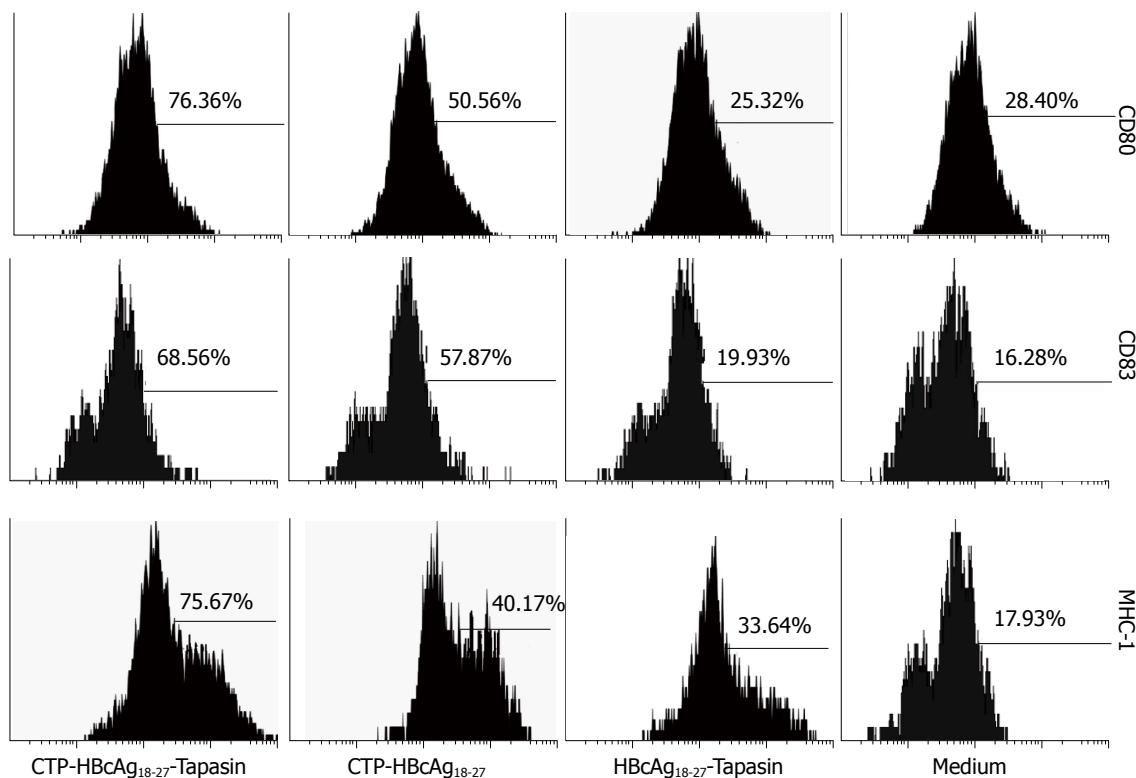


图2 C57BL/6小鼠树突状细胞表面分子检测。

表2 C57BL/6小鼠树突状细胞表面分子百分比检测 (%)

分组	CD80	CD83	MHC-I
1组	76.48 ± 0.58 <sup>a,c</sup>	68.08 ± 0.83 <sup>a,c</sup>	74.56 ± 0.97 <sup>a,c</sup>
2组	49.54 ± 0.88 <sup>a,c</sup>	55.22 ± 2.71 <sup>a,c</sup>	40.02 ± 0.41 <sup>a,c</sup>
3组	25.14 ± 0.17	19.54 ± 0.85	33.48 ± 1.28
4组	22.08 ± 10.41	20.22 ± 6.95	17.79 ± 1.95

1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。\**P* < 0.05 vs 空白组; <sup>a</sup>*P* < 0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

导域PTD(protein transduction domain)的衍生体, 诸多研究证实, PTD及其衍生体能够有效穿透细胞膜, 高效携带外源性抗原进入细胞内部, 实现细胞亚定位, 通过MHC-I类分子途径提呈, 诱导特异性CTL, 从而发挥抗肿瘤、抗病不良反应<sup>[17-19]</sup>。HBcAg<sub>18-27</sub>为具有免疫优势的HLA-A2限制性CTL表位肽, 在90%HLA-A2阳性的急性自限性HBV感染者中能诱发强大的CTL反应<sup>[20-22]</sup>。经典MHC-I类分子在内质网内的装配要求有抗原肽配体和β2m的存在, 而这一过程需要伴侣分子(chaperones)如Tapasin、钙网蛋白(calreticulin, CRT)等的参与。Tapasin在形成抗原肽MHC复合物中有重要作用, 近年来一些研究发现某些肿瘤、病毒、及自身免疫性疾病的发生与Tapasin的表达下降有关<sup>[23-25]</sup>。

前期研究中, 我们已经成功构建CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin融合基因质粒, 融合蛋白表达纯化后证明其具有DC胞膜穿透能力并有效定位于胞质。在此基础上, 为进一步探讨该融合蛋白对DC免疫功能的影响, 我们进行了体外培养HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠髓源性DC, 我们的实验显示, CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin能明显上调细胞表面标志物的水平及提高细胞表面标志物及IL-12p70的水平, 证实其促进DC成熟的能力, 未成熟DC表面的MHC分子及其他分子(CD80、CD83)表达水平低下, DC成熟后细胞表面的MHC分子及其刺激分子的表达明显升高, CD83是DC成熟的标志, 成熟的DC分泌高水平的IL-12, IL-12是促进T细胞活化增殖的重要细胞因子之一, IL-12p70是IL-12的家族成员。并

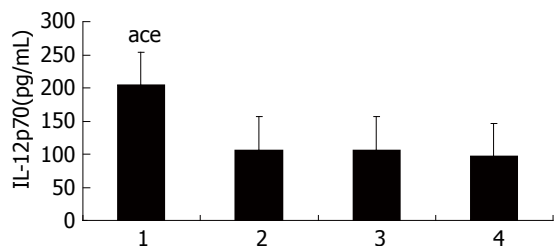


图 3 HBV转基因小鼠树突状细胞上清液中IL-12p70水平的检测。1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

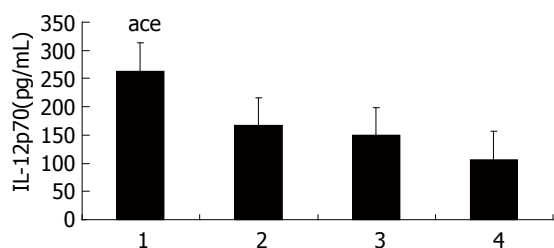


图 4 C57BL/6小鼠树突状细胞上清液中IL-12p70水平的检测。1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

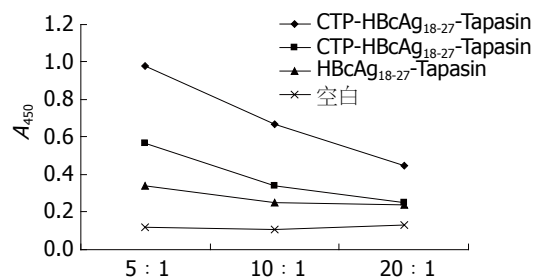


图 5 HBV转基因小鼠不同培养的树突状细胞在效应细胞与刺激细胞不同比例时对T淋巴细胞的增殖作用。

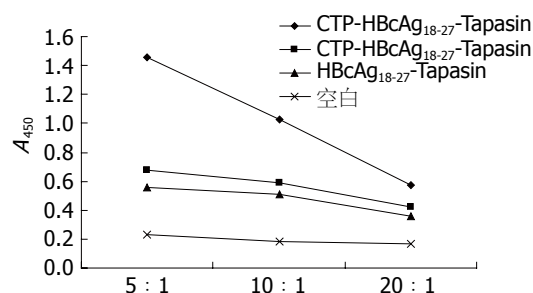


图 6 C57BL/6小鼠不同培养的树突状细胞在效应细胞与刺激细胞不同比例时对T淋巴细胞的增殖作用。

采用尼龙毛柱分离法分离T淋巴细胞, 尼龙毛柱分离法利用了尼龙毛对B淋巴细胞的亲和力, 使T淋巴细胞达到足够的纯度。增殖实验中先将成熟的DC用丝裂霉素C处理, 目的是为了排除DC本身的增殖带来的干扰, 使实验测得的结果

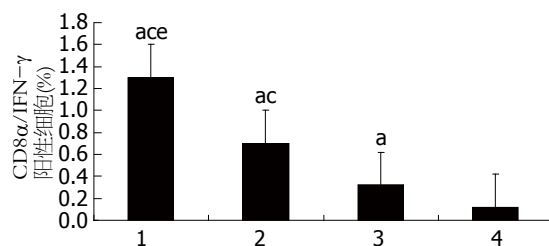


图 7 流式细胞术检测HBV转基因小鼠不同组别CD8α/IFN-γ双阳性细胞数百分比(%). 1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

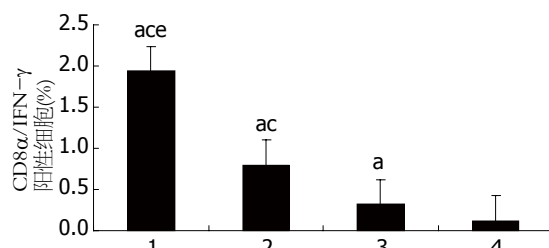


图 8 流式细胞术检测C57BL/6小鼠不同组别CD8α/IFN-γ双阳性细胞数百分比(%). 1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

为小鼠脾淋巴细胞的单向增殖。CCK-8法检测T淋巴细胞增殖能力也证实了CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组高于其他对照组。流式细胞仪对T淋巴细胞进行CD8α和IFN-γ双标检测, CD8α和IFN-γ双阳性的为表达IFN-γ的CTL, 结果显示CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin刺激后的淋巴细胞中产生IFN-γ的CTL数量明显高于对照组, 提示Tapasin有利于MHC-I提呈, 但CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin诱导HBV转基因小鼠DC表面分子成熟及在T淋巴细胞增殖中的作用要比C57BL/6小鼠低, 提示HBV转基因小鼠DC功能可能存在缺陷。本实验以正常小鼠为对照, 通过流式细胞仪检测HBV转基因小鼠树突状细胞表面分子表达明显低于正常小鼠, 这与HBV转基因小鼠DC刺激淋巴细胞增殖能力和诱导CTL低下相一致。Farag等<sup>[26]</sup>利用HBVsvp和LPS来刺激C57BL/6小鼠DC然后免疫转基因小鼠, 结果显示实验组转基因小鼠CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞比空白组高, 并且HBsAg和HBV DNA水平比空白组低。表明DC抗原提呈功能在清除HBV中起着至关重要的作用, Tapasin作为MHC-I类分子与TAP之间的桥梁, 可增强抗原肽与MHC-I类分子的结合能力, 并促进抗原提呈细胞(antigen presenting

#### 同行评价

本研究实验设计合理, 试验方法正确, 结果令人鼓舞, 将会对将来应用于临床提高HBV清除率提供新的思路和途径。

表 3 DC培养上清液中IL-12p70水平检测 (pg/mL)

分组	HBV转基因小鼠	C57BL/6小鼠
1组	203.89 ± 7.19 <sup>abc</sup>	263.25 ± 6.90 <sup>abc</sup>
2组	106.59 ± 3.82	166.63 ± 7.23
3组	106.53 ± 3.19	149.23 ± 4.91
4组	96.76 ± 8.50	106.55 ± 2.35

1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

表 4 流式细胞术检测不同组别CD8α/IFN-γ双阳性细胞数百分比 (%)

分组	HBV转基因小鼠	C57BL/6小鼠
1组	1.33 ± 0.11 <sup>abc</sup>	1.84 ± 0.09 <sup>abc</sup>
2组	0.73 ± 0.05 <sup>bc</sup>	0.75 ± 0.06 <sup>bc</sup>
3组	0.32 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.09 <sup>a</sup>
4组	0.11 ± 0.24	0.12 ± 0.01

1: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 2: CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>; 3: HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin; 4: 空白组。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>组。

cells, APCs)表面MHC/多肽复合物的表达<sup>[27-29]</sup>。近来有研究人员利用Tapasin结合表位肽来增强特异性CTL反应以抑制病毒复制及肿瘤细胞生长。Thirdborough等<sup>[30]</sup>利用CTL表位肽来免疫Tapasin<sup>-/-</sup>转基因小鼠和野生型小鼠, 结果发现经抗原肽刺激后Tapasin<sup>-/-</sup>生成特异性CD8<sup>+</sup>细胞的能力明显低于野生型小鼠, 提示Tapasin在诱导CTL反应中起重要作用。Boulanger等<sup>[31]</sup>利用Tapasin<sup>-/-</sup>转基因小鼠来研究由痘病毒所致的淋巴细胞性脉络丛脑膜炎, 发现Tapasin能促进CTL反应, 在病毒免疫作用中是一个有利因素, Tapasin缺乏会造成免疫反应的变化。我们的实验结果与上述实验一致, 分子伴侣Tapasin能明显增强抗原肽刺激DCs成熟并诱导特异性CTLs的能力。

本实验证实了分子伴侣Tapasin修饰胞内化抗原肽(HBcAg<sub>18-27</sub>)能明显促进HBV转基因小鼠及C57BL/6小鼠DC表面分子上调, 提高IL-12p70的水平, 并有效刺激T淋巴细胞增殖及增加特异性CTL的表达, 证实Tapasin在免疫激活中的重要作用。基于以上结果, 为进一步研究该融合蛋白诱导特异性CTL抑制HBV复制的体内研究提供理论依据。

#### 4 参考文献

- Shi TD, Wu YZ, Jia ZC, Zou LY, Zhou W. Therapeutic polypeptides based on HBV core 18-27 epitope can induce CD8<sup>+</sup> CTL-mediated cytotoxicity in HLA-A2<sup>+</sup> human PBMCs. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1902-1906 [PMID: 15222033]
- Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology* 2006; 44: 521-526 [PMID: 16941687]
- Phillips S, Chokshi S, Riva A, Evans A, Williams R, Naoumov NV. CD8(+) T cell control of hepatitis B virus replication: direct comparison between cytolytic and noncytolytic functions. *J Immunol* 2010; 184: 287-295 [PMID: 19949099 DOI: 10.4049/jimmunol.0902761]
- Howarth M, Williams A, Tolstrup AB, Elliott T. Tapasin enhances MHC class I peptide presentation according to peptide half-life. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 11737-11742 [PMID: 15286279]
- Sadegh-Nasseri S, Chen M, Narayan K, Bouvier M. The convergent roles of tapasin and HLA-DM in antigen presentation. *Trends Immunol* 2008; 29: 141-147 [PMID: 18261958 DOI: 10.1016/j.it.2008.01.001.]
- Morón G, Dadaglio G, Leclerc C. New tools for antigen delivery to the MHC class I pathway. *Trends Immunol* 2004; 25: 92-97 [PMID: 15102368]
- Shibagaki N, Udey MC. Dendritic cells transduced with TAT protein transduction domain-containing tyrosinase-related protein 2 vaccinate against murine melanoma. *Eur J Immunol* 2003; 33: 850-860 [PMID: 12672050]
- Chen X, Lai J, Pan Q, Tang Z, Yu Y, Zang G. The delivery of HBcAg via Tat-PTD enhances specific immune response and inhibits Hepatitis B virus replication in transgenic mice. *Vaccine* 2010; 28: 3913-3919 [PMID: 20394723 DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.03.070.]
- Kim D, Jeon C, Kim JH, Kim MS, Yoon CH, Choi IS, Kim SH, Bae YS. Cytoplasmic transduction peptide (CTP): new approach for the delivery of biomolecules into cytoplasm in vitro and in vivo. *Exp Cell Res* 2006; 312: 1277-1288 [PMID: 16466653]
- Kurose K, Akbar SM, Yamamoto K, Onji M. Production of antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs) by murine hepatitis B virus carriers: neonatal tolerance versus antigen presentation by dendritic cells. *Immunology* 1997; 92: 494-500 [PMID: 9497491]
- Woltman AM, Op den Brouw ML, Biesta PJ, Shi CC, Janssen HL. Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function. *PLoS One* 2011; 6: e15324 [PMID: 21246041 DOI: 10.1371/journal.pone.0015324.]
- 刘红红, 陈小华, 周丽芹, 刘雪妮, 余永胜, 臧国庆, 汤正好. CTP-HBcAg<sub>18-27</sub>-Tapasin融合蛋白胞内转导功能的检测. *中国临床药理学与治疗学* 2012; 17: 25-29
- Hasebe A, Akbar SM, Furukawa S, Horiike N, Onji M. Impaired functional capacities of liver dendritic cells from murine hepatitis B virus (HBV) carriers: relevance to low HBV-specific immune responses. *Clin Exp Immunol* 2005; 139: 35-42 [PMID: 15606611]
- Chen W, Shi M, Shi F, Mao Y, Tang Z, Zhang B, Zhang H, Chen L, Chen L, Xin S, Wang FS. HBcAg-pulsed dendritic cell vaccine induces Th1 polarization and production of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Hepatol Res* 2009; 39: 355-365 [PMID: 19889049 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00468.x.]



- 15 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185]
- 16 Chen JH, Yu YS, Chen XH, Liu HH, Zang GQ, Tang ZH. Enhancement of CTLs induced by DCs loaded with ubiquitinated hepatitis B virus core antigen. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1319-1327 [PMID: 22493545 DOI: 10.3748/wjg.v18.i12.1319.]
- 17 Parcej D, Tampé R. ABC proteins in antigen translocation and viral inhibition. *Nat Chem Biol* 2010; 6: 572-580 [PMID: 20644544 DOI: 10.1038/nchembio.410.]
- 18 Tey SK, Khanna R. Host immune system strikes back: Autophagy-mediated antigen presentation bypasses viral blockade of the classic MHC class I processing pathway. *Autophagy* 2012; 8: 1839-1841 [PMID: 22932396 DOI: 10.4161/auto.21860.]
- 19 Säälik P, Elmquist A, Hansen M, Padari K, Saar K, Viht K, Langel U, Pooga M. Protein cargo delivery properties of cell-penetrating peptides. A comparative study. *Bioconjug Chem* 2004; 15: 1246-1253 [PMID: 15546190]
- 20 Liu J, Chen KY, Ren EC. Structural insights into the binding of hepatitis B virus core peptide to HLA-A2 alleles: towards designing better vaccines. *Eur J Immunol* 2011; 41: 2097-2106 [PMID: 21538979 DOI: 10.1002/eji.201041370.]
- 21 Akbar SM, Chen S, Al-Mahtab M, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Strong and multi-antigen specific immunity by hepatitis B core antigen (HBcAg)-based vaccines in a murine model of chronic hepatitis B: HBcAg is a candidate for a therapeutic vaccine against hepatitis B virus. *Antiviral Res* 2012; 96: 59-64 [PMID: 22884884 DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.07.011.]
- 22 Li J, Han YP, Liu B, Liu Y, Chen N, Dong L, Yan YD, Jiang LF, Huang ZH. [Dynamic changes and clinical significance of HBcAg<sub>18-27</sub> specific cytotoxic T lymphocytes in acute hepatitis B patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2011; 19: 38-43 [PMID: 21272457 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2011.01.011.]
- 23 Halenius A, Hauka S, Dölken L, Stindt J, Reinhard H, Wiek C, Hanenberg H, Koszinowski UH, Momberg F, Hengel H. Human cytomegalovirus disrupts the major histocompatibility complex class I peptide-loading complex and inhibits tapasin gene transcription. *J Virol* 2011; 85: 3473-3485 [PMID: 21248040 DOI: 10.1128/JVI.01923-10.]
- 24 Chen M, Bouvier M. Analysis of interactions in a tapasin/class I complex provides a mechanism for peptide selection. *EMBO J* 2007; 26: 1681-1690 [PMID: 17332746]
- 25 Neefjes J, Jongsma ML, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 823-836 [PMID: 22076556 DOI: 10.1038/nri3084.]
- 26 Farag MM, Tedjokusumo R, Flechtenmacher C, Asen T, Stremmel W, Müller M, Protzer U, Weigand K. Immune tolerance against HBV can be overcome in HBV transgenic mice by immunization with dendritic cells pulsed by HBVsvp. *Vaccine* 2012; 30: 6034-6039 [PMID: 22867720 DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.07.057.]
- 27 Praveen PV, Yaneva R, Kalbacher H, Springer S. Tapasin edits peptides on MHC class I molecules by accelerating peptide exchange. *Eur J Immunol* 2010; 40: 214-224 [PMID: 20017190 DOI: 10.1002/eji.200939342]
- 28 Hulpke S, Baldauf C, Tampé R. Molecular architecture of the MHC I peptide-loading complex: one tapasin molecule is essential and sufficient for antigen processing. *FASEB J* 2012; 26: 5071-5080 [PMID: 22923333 DOI: 10.1096/fj.12-217489.]
- 29 Sadasivan B, Lehner PJ, Ortmann B, Spies T, Cresswell P. Roles for calreticulin and a novel glycoprotein, tapasin, in the interaction of MHC class I molecules with TAP. *Immunity* 1996; 5: 103-114 [PMID: 8769474]
- 30 Thirdborough SM, Roddick JS, Radcliffe JN, Howarth M, Stevenson FK, Elliott T. Tapasin shapes immunodominance hierarchies according to the kinetic stability of peptide-MHC class I complexes. *Eur J Immunol* 2008; 38: 364-369 [PMID: 18196518 DOI: 10.1002/eji.200737832.]
- 31 Boulanger DS, Oliveira R, Ayers L, Prior SH, James E, Williams AP, Elliott T. Absence of tapasin alters immunodominance against a lymphocytic choriomeningitis virus polytope. *J Immunol* 2010; 184: 73-83 [PMID: 19949070 DOI: 10.4049/jimmunol.0803489]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 培菲康对高脂饮食诱导脂肪肝病大鼠肠黏膜屏障的保护作用

张智, 单庆文, 王琳琳, 吕自力, 江玲, 黄永二

## ■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是目前世界上最为普遍的肝脏疾病之一, 国内外发病率呈明显上升趋势。NAFLD临床上包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎(NASH)和脂肪性肝硬化3种类型。其中, NASH可能进展为肝纤维化甚至肝硬化, 发生机制尚不明确。

张智, 单庆文, 王琳琳, 江玲, 黄永二, 广西医科大学第一附属医院儿科 广西壮族自治区南宁市 530021

吕自力, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021

张智, 主要从事儿童消化疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由单庆文指导; 张智与单庆文设计; 研究过程由张智、王琳琳、江玲及黄永二完成; 病理分析由吕自力完成; 研究经费由单庆文提供; 数据分析与论文写作由张智完成。

通讯作者: 单庆文, 主任医师, 530021, 广西南宁市双拥路6号, 广西壮族自治区南宁市广西医科大学第一附属医院儿科。shanqw333@yahoo.com.cn

电话: 0771-5356505

收稿日期: 2012-11-19 修回日期: 2012-12-31

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Effect of Bifidobacterium triple viable capsule on intestinal mucosal barrier function in rats with fatty liver induced by a high-fat diet

Zhi Zhang, Qing-Wen Shan, Lin-Lin Wang, Zi-Li Lv, Ling Jiang, Yong-Er Huang

Zhi Zhang, Qing-Wen Shan, Lin-Lin Wang, Ling Jiang, Yong-Er Huang, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Zi-Li Lv, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Qing-Wen Shan, Chief Physician, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. shanqw333@yahoo.com

Received: 2012-11-19 Revised: 2012-12-31

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the potential preventive effect of Bifidobacterium triple viable capsule (Bifico) on intestinal microflora and the expression of IL-17 and occludin proteins in ileum mucosa in rats with non-alcoholic fatty liver disease NAFLD induced by a high-fat diet.

**METHODS:** Thirty-four male Sprague-Dawley rats were divided into three groups and were given a high-fat diet (group I,  $n = 12$ ), a high-

fat diet and Bifico (group II,  $n = 12$ ), and an ordinary diet (group III,  $n = 10$ ). Rats of group II were given Bifico gavage, while the other two groups were given the same amount of normal saline. Seventeen weeks later, the rats were killed for having a liver biopsy to confirm whether NAFLD was successfully induced. The 16S RNA method was used to detect the numbers of three main types of bacteria in the intestinal tract. The ultrastructure of ileum tissue was observed by electron microscopy, and the expression of occludin and IL-17 proteins was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** Compared to group III, there was a significant increase in the number of *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, and *Bifidobacteria*, and expression of occludin in groups I and II (all  $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the number of *Lactobacillus* and expression of occludin between groups I and II. The expression of IL-17 differed significantly between the three groups (all  $P < 0.05$ ). Electron microscopy indicated that intestinal epithelial cells in rats given a high-fat diet showed a series of pathological injuries (e.g., hydropsia and necrosis), and the use of Bifico could relieve intestinal epithelial injury.

**CONCLUSION:** Bifico exerts a preventive effect on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high-fat in rats possibly by protecting the intestinal mucosal barrier.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Rats; Fatty liver; Intestinal microflora

Zhang Z, Shan QW, Wang LL, Lv ZL, Jiang L, Huang YE. Effect of Bifidobacterium triple viable capsule on intestinal mucosal barrier function in rats with fatty liver induced by a high-fat diet. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 130-137

## 摘要

**目的:** 观察培菲康对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease,

## ■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

NAFLD)肠道菌群的干预作用及紧密连接蛋白occludin、白介素(interleukin, IL)-17在回肠黏膜上表达的影响。

**方法:** ♂ SD大鼠34只分为高脂饮食组(I组,  $n = 12$ ), 高脂饮食+培菲康干预组(II组,  $n = 12$ ), 普通饮食组(III组,  $n = 10$ )。II组予培菲康灌胃, 余下两组分别给予相同剂量生理盐水灌胃。于喂养17 wk处死各组大鼠, 肝脏组织病理表现提示NAFLD模型成功建立。采用16S RNA方法检测3组大鼠肠道3种主要细菌数量; 采用透射电镜观察回肠组织超微结构; 免疫组织化学方法观察回肠黏膜occludin蛋白及IL-17量的表达变化。

**结果:** (1) I组、II组较III组: 肠道3种细菌数量及紧密连接蛋白occludin表达差异均有显著性( $P < 0.05$ ); (2) I组较II组: 乳酸杆菌数量、蛋白occludin表达量差异无显著性; (3) IL-17表达在3组间差异有显著性( $36.289 \pm 30.540$  vs  $9.646 \pm 14.530$  vs  $2.609 \pm 5.850$ ); 此外, 透射电镜下观察到I组大鼠肠上皮细胞水肿, 绒毛排列紊乱, 线粒体肿胀、疏松化明显, 并出现坏死细胞, 而经培菲康干预后的大鼠肠上皮损伤减轻。

**结论:** 培菲康对高脂饮食诱导大鼠NAFLD有一定预防作用, 其作用可能与保护高脂饮食引起的肠黏膜屏障损伤有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** SD大鼠; 脂肪肝; 肠道菌群

张智, 单庆文, 王琳琳, 吕自力, 江玲, 黄永二. 培菲康对高脂饮食诱导脂肪肝病大鼠肠黏膜屏障的保护作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 130-137

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/130.asp>

## 0 引言

非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是我国乃至世界范围内普遍的肝脏性疾病之一, 也是造成慢性肝功能异常的重要原因<sup>[1]</sup>, 其具体机制不明。大量实验研究表明, NAFLD与肠道菌群之间存在密切联系<sup>[2]</sup>。本研究以预防为起点, 通过观察双歧杆菌三联活菌胶囊(培菲康)对NAFLD大鼠肠道菌群的调节作用及对肠道炎症变化的影响, 探讨NAFLD与肠道菌群、肠道黏膜occludin蛋白及肠道炎性因子白介素(interleukin, IL)-17表达之间的关系和相互作用, 为今后的研究提供一定思路。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ SPF级SD大鼠34只, 体质量130-160 g, 由广西医科大学实验动物中心提供。高脂饲料由82.5%普通饲料、2%胆固醇、10%猪油、5%蛋黄粉、0.5%三号胆盐组成<sup>[3]</sup>。培菲康(上海信谊制药厂)、胆固醇(上海国药集团化学试剂有限公司)、三号胆盐(北京奥博星生物技术有限公司)、猪油、蛋黄粉自制; 荧光染料SYBR Green I (美国罗氏公司)、粪便细菌基因组DNA提取试剂盒离心柱型(北京天根); 兔抗大鼠IL-17单克隆抗体、兔抗occludin多克隆抗体(美国abcam公司); SP试剂盒(北京中杉金桥)。

### 1.2 方法

**1.2.1 脂肪肝动物模型制备:** 适应性喂养1 wk后, 大鼠完全随机分成3组, 高脂饮食组(I组,  $n = 12$ ), 高脂饮食+培菲康灌胃组(II组,  $n = 12$ ), 普通饮食组(III组,  $n = 10$ )。III组继续喂予普通饲料, I、II组均予以高脂饲料喂养, 同时II组给予双歧杆菌三联活菌胶囊(商品名培菲康, 含双歧杆菌、乳酸杆菌和肠球菌, 规格每粒210 mg, 含活菌量1亿以上)灌胃, 剂量为280 mg/kg, I、III组大鼠予以相同剂量生理盐水灌胃。大鼠每周称体质量一次, 共喂养17 wk。

**1.2.2 动物处理:** 于造模第17 wk处死各组大鼠。大鼠隔夜禁食, 次日称体质量后, 以2%戊巴比妥钠0.5 mL/100 g腹腔注射麻醉, 迅速取出肝脏, 称质量后于肝右叶中部切取小块组织, 以10%多聚甲醛固定, 行HE染色和masson染色观察基本组织学变化, 余下组织置于液氮罐内备用。取盲肠内容物5 g置于2 mL无菌离心管内, 用于细菌定量检测; 在回肠末端2 cm处切取一段1.5 cm肠管, 分成两段, 一段1 cm置于10%多聚甲醛中固定, 用于HE染色和免疫组织化学染色, 另一段0.5 cm置于戊二醛溶液中固定, 用于电镜标本制作。

**1.2.3 观察指标及方法:** (1)每日观察记录大鼠基本行为学及摄食、饮水变化。麻醉后, 迅速取出肝脏, 称湿质量, 计算肝指数(肝湿质量/体质量 $\times 100\%$ ); (2)肝功能及血清脂质变化: 腹主动脉采血2 mL, 分离血清检测谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、胆固醇(cholesterol, CHO)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)等, 采用全自动生化分析仪测定; (3)肝、肠组织病理学检测: 将取下的肝、肠组织标本用10%多聚甲醛溶液固定后, 常规脱水, 包埋, 制作成4  $\mu\text{m}$ 厚切片, 肝、肠组织行HE染色; 同时

## ■ 研发前沿

益生菌制剂可通过调整肠道菌群减轻肠道炎症反应, 进一步减轻肝脏炎症反应。这一发现为临床预防和治疗NAFLD提供了一种可能的途径。



## ■相关报道

Hawrelak等发现, 高脂饮食诱导的脂肪肝小鼠经口服8 wk的乳杆菌PL60治疗后, 小鼠表现出明显的抗肥胖效应, 同时肝脏炎症评分标准显著降低, 肝功能得到有效改善。

表 1 喂养17 wk时各组大鼠体重、血生化指标、肝指数的比较 (mean ± SD)

分组	n	体重(g)	AST(U/L)	ALT(U/L)	CHO(mmol/L)	LDL(mmol/L)	肝指数(%)
I 组	12	541.43 ± 51.03 <sup>a</sup>	226.00 ± 111.65 <sup>b</sup>	102.0 ± 66.92 <sup>a</sup>	2.51 ± 0.48 <sup>b</sup>	0.51 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.98 ± 0.01 <sup>b</sup>
II 组	12	550.17 ± 42.95 <sup>a</sup>	224.33 ± 87.56 <sup>a</sup>	110.33 ± 77.50 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.30 <sup>bd</sup>	0.41 ± 0.92 <sup>bd</sup>	3.55 ± 0.01 <sup>cd</sup>
III 组	10	490.90 ± 22.63	110.25 ± 31.32	35.78 ± 5.63	1.24 ± 0.19	0.91 ± 0.03	2.17 ± 0.01
F		5.93	5.03	4.26	29.21	21.70	39.83

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs III 组, <sup>d</sup>P<0.01 vs I 组. AST: 谷草转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶; CHO: 总胆固醇; LDL: 低密度脂蛋白。

对肝脏行masson染色, 光镜下评估脂肪变性、炎症活动和纤维化情况. 肝细胞脂肪变性的程度判断标准炎症活动度计分参照Kleiner等<sup>[4]</sup>提出的脂肪变性和脂肪肝炎评分标准; (4)肠组织超微结构观察: 取肠组织块切成约1 mm<sup>3</sup>后, 用2.5%戊二醛前固定, 1%锇酸后固定, 漂洗, 逐级脱水、浸透、固化, 超薄切片机切片70 nm, 枸橼酸铅染色, 在H-7650透射电镜下观察肠黏膜上皮细胞及细胞外基质的超微结构变化; (5)肠组织occludin蛋白、IL-17检测: 紧密连接蛋白occludin蛋白及IL-17免疫组织化学染色采用二步法: 石蜡切片常规脱蜡水化, 蛋白酶K 37 °C消化10 min, PBS冲洗, 一抗4 °C过夜, PBS冲洗, 二抗抗体37 °C 30 min, PBS冲洗. DAB显色, 镜下控制显色时间, PBS代替一抗作空白对照. 最后结果利用Image-Pro Plus 6.0病理图像分析仪, 采用光密度值法对其进行计数, 求得平均值; (6)3种细菌荧光定量检测: 粪便细菌基因组DNA提取试剂盒(离心柱型)提取大便DNA, 采用SYBR Green I 荧光染料嵌合法检测各组大鼠肠道3种主要细菌. 利用引物设计软件设计双歧杆菌引物, 大肠、乳酸杆菌序列参考国外文献[5,6]. 所选用引物序列分别与全序列在BLAST数据库([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST))进行比对, 核实其特异性后由上海生工生物工程技术服务有限公司合成. 引物序列(5'-3'): 双歧杆菌上游GGCTCGTAGGCGGTTTCGTC, 下游GCCTTCGCCATTGGTGTCTTC, 157 bp; 大肠杆菌上游GTTAATACCTTTGCTCATTGA<sup>[5]</sup>, 下游ACCAGGGTATCTAATCCTGTT, 340 bp; 乳酸杆菌上游AGCAGTAGGGAATCTTCCA<sup>[6]</sup>, 下游CACCGCTACACATGGAG, 341 bp. PCR反应体系: 荧光染料9 μL, 上、下游引物各0.5 μL, 模板1 μL, 加水至20 μL, 每次试验同时设标准品校正和阴性对照, 每管均设2个副管. 分别提取3种标准菌株(上海信谊药厂有限公司提供)DNA, 换算各标准品1 L的拷贝数, 做10倍系列稀释后分

别行实时荧光定量PCR扩增, 生成标准曲线. 每份粪便标本所含3种细菌的拷贝数可通过循环数与标准曲线比较得到, 结果以每克湿便的细菌拷贝数的对数(以10为底数)表示. 反应条件: 95 °C预变性5 min, 95 °C变性30 s, 双歧杆菌、大肠杆菌退火温度为59 °C, 乳酸杆菌61 °C退火, 72 °C延伸, 循环40次.

**统计学处理** 所有资料采用SPSS13.0软件分析. 结果以用mean±SD表示, 均数比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 两两比较采用LSD法, 线性比较采用相关分析法. 结果以P<0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 各组大鼠体重、生化指标、肝指数、肝脂肪变性及炎症程度比较** 实验前3组大鼠体重无显著性差异, 喂养17 wk后, I 组、II 组大鼠体重及肝脏脂肪变性程度均较III组大鼠体重显著升高, 其中 I 组和II 组大鼠两者比较差异无显著性; 炎症程度比较, 3组之间两两比较差异均显著; 生化结果显示, 与III组相比, I、II 组大鼠血清AST、ALT、CHO、LDL、肝指数显著升高; 与II 组相比, I 组大鼠血清AST、ALT差异无显著性, 但CHO、LDL及肝指数升高, 差异显著(表1, 2).

**2.2 肝组织形态学变化** 肉眼观察, III组大鼠肝脏大体色泽红润, 边缘锐利, 质地柔韧; 与III组比, I 组大鼠肝体积明显增大, 边缘圆钝, 薄膜紧张, 可见大片黄色脂肪样变, 局部切面油腻; II 组大鼠肝脏与 I 组相比, 可见局部黄色脂肪样变. 光镜下, III组大鼠肝脏基本正常(图1A), I 组大鼠肝脏弥漫性大泡脂肪变性, 肝小叶和汇管区炎症变化显著(图1B). II 组大鼠肝脏同样出现脂肪变性, 但其炎症变化相比 I 组减轻, 差异显著(图1C). 其中, I 组大鼠有3例汇管区出现纤维化病变(图1D), II、III组未见.

**2.3 回肠组织形态学变化** 光镜下, III组大鼠小肠

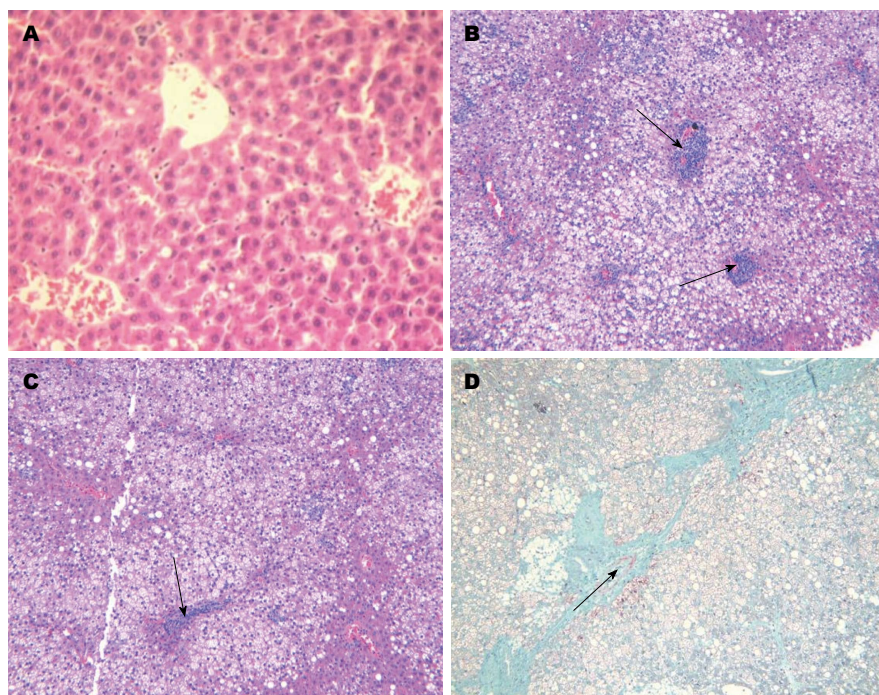


图1 各组大鼠的肝组织病理学。A: III组(HE × 200); B: I组(HE × 100); C: II组(HE × 100); D: I组(Masson × 100)。

#### ■创新盘点

本研究中培菲康与高脂饮食造模同时进行,与既往脂肪肝造模成功后再给予益生菌处理有所不同。

表2 各组大鼠肝脏脂肪变性、炎症程度计分的比较

	<i>n</i>	脂肪变性					炎症程度计分
		0	+	++	+++	++++	
I组	12	0	0	0	1	11	2.50 ± 1.00 <sup>a</sup>
II组	12	0	0	0	2	10	1.83 ± 0.94 <sup>ad</sup>
III组	10	9	1	0	0	0	0.40 ± 0.52

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs III组, <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs I组。

黏膜绒毛细长,排列整齐,紧凑,表面结构完整,无充血、水肿等变化(图2A);I组大鼠小肠绒毛出现断裂,缺失,间隙增宽,上皮细胞坏死、脱落(图2B);而II组大鼠经培菲康干预后,绒毛排列较为整齐,缺失断裂减少(图2C)。电镜下,III组大鼠小肠黏膜绒毛排列整齐,线粒体、内质网、形态正常,上皮细胞无水肿、空泡变,细胞结构正常(图3A, D);I组大鼠小肠绒毛变短、缺失,线粒体水肿,内质网扩张,细胞正常结构破坏(图3B, E);II组在小肠绒毛、线粒体、内质网等细胞器结构方面较为完整(图3C, F)。

2.4 回肠黏膜蛋白occludin、IL-17免疫组织化学染色 III组大鼠回肠黏膜occludin蛋白主要连续分布于黏膜上皮细胞,为棕黄色染色颗粒(图4C);I组occludin蛋白染色散乱,较III组明显减少(图4A),两组比较差异显著;与I组相比,II组occludin蛋白表达差异无显著性(图4B)。IL-17表达方面,III组IL-17基本不表达(图5C);I组

IL-17主要连续分布于肠黏膜上皮细胞边缘,主要表达与细胞膜和细胞质,呈强阳性表达(图5A),与III组比,阳性表达差异呈显著性;II组IL-17呈散在分布表达,棕褐色染色强度及范围均弱于单纯高脂组(图5B),两组比较,差异无显著性(表3)。

2.5 肠道细菌定量结果 I组、II组均和III组在双歧杆菌、大肠杆菌和乳酸杆菌表达量上呈显著差异,其中I组、II组大肠杆菌数量明显增加,而双歧杆菌、乳酸杆菌数量则显著减少;同时,II组较I组,大肠杆菌数量减少,而双歧杆菌数量增加,但乳酸杆菌量的改变无明显差异。3组大鼠3种主要细菌数(拷贝数/g湿便)的对数值(表4)。

2.6 occludin蛋白及IL-17与肝脏炎症相关分析 occludin蛋白与肝脏炎症相关性不大( $r = 0.089$ ,  $P = 0.629$ ),差异无显著性;而炎症表达因子IL-17与肝脏炎症程度密切相关( $r = 0.875$ ,  $P = 0.000$ ),差异呈显著性。

### 3 讨论

肠黏膜屏障是存在于肠道内具有高效选择性能的屏障系统<sup>[7]</sup>。广义的肠黏膜屏障包括机械屏障、生物屏障、免疫屏障和化学屏障,其主要作用是防止致病物质的入侵和阻止肠腔内细菌及内毒素的移位,在保持机体内环境稳定方面起重要作用<sup>[8-10]</sup>。随着对NAFLD机制的深入探索,越来越多的研究表明,这种慢性肝脏性疾病与肠道生物屏障及机械屏障之间存在密切联系,



## ■应用要点

本研究中,单纯高脂饮食脂肪肝大鼠肠道益生菌减少,致病菌增多,肠上皮细胞间紧密连接蛋白occludin表达下降,同时炎症因子IL-17表达显著升高,而经培菲康干预后的高脂饮食脂肪肝大鼠体内益生菌数量增加,致病菌减少,同时炎症因子IL-17表达减少,提示NAFLD大鼠炎症表达因子IL-17与肝脏炎症程度密切相关。益生菌制剂可通过调整肠道菌群抑制或减缓NAFLD的发生及发展。



图2 各组大鼠小肠绒毛及上皮层炎性变化(H&E ×100). A: III组; B: I组; C: II组。

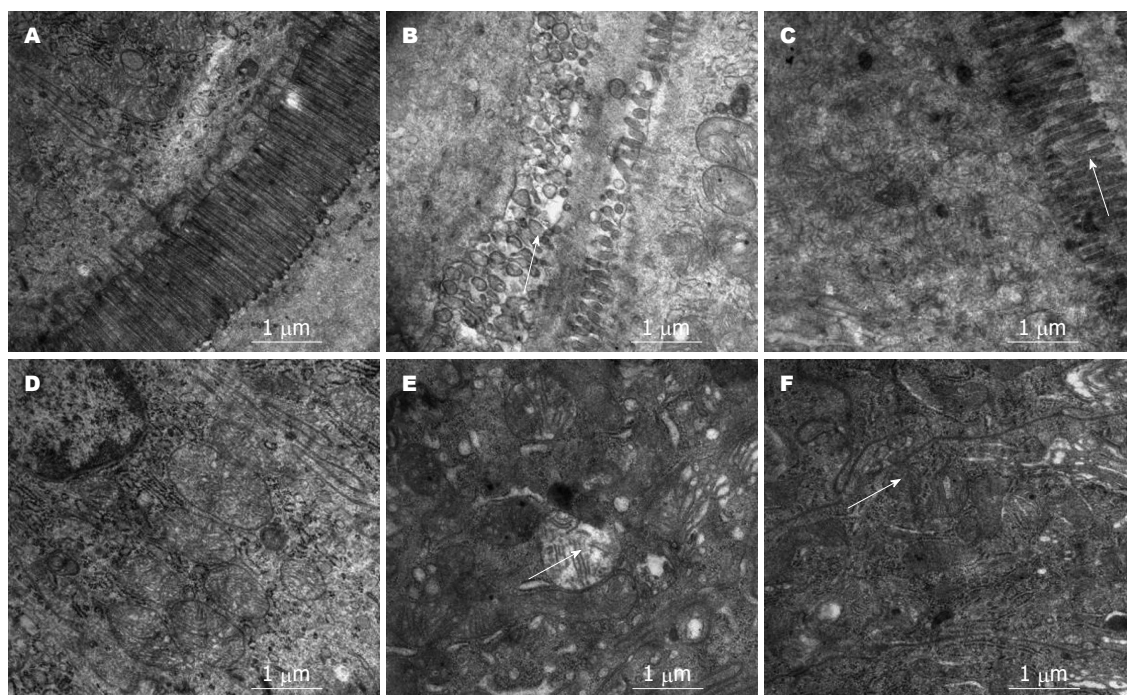


图3 各组大鼠电镜下小肠绒毛及细胞器变化. A: III组; B: I组; C: II组(×30 000); D: III组; E: I组; F: II组(×40 000)。

表3 各组大鼠回肠组织黏膜occludin蛋白、IL-17表达(mean ± SD)的比较

	<i>n</i>	occludin蛋白	IL-17
I组	12	3.362 ± 2.76 <sup>a</sup>	36.289 ± 30.54 <sup>a</sup>
II组	12	3.598 ± 3.49 <sup>b</sup>	9.646 ± 14.53 <sup>c</sup>
III组	10	8.184 ± 5.78	2.609 ± 5.85
<i>F</i>		4.65	8.64

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs III组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs I组。

但其作用机制尚不明确。本研究旨在探讨培菲康对高脂饮食诱导脂肪肝病大鼠肠黏膜屏障的影响。

肠生物屏障由肠道常驻菌群中99%左右的专性厌氧菌与其他细菌构成,组成一个相互依赖又相互作用的微生态系统<sup>[11]</sup>。大量肠道细菌主要位居于结肠和远端小肠,胃、十二直肠、空

肠及回肠上端细菌较少<sup>[12]</sup>。肠道内常驻菌具有吸收和分解代谢物的功能,对维持机体生理功能发挥和新陈代谢具有关键作用<sup>[13]</sup>。肠道菌群功能的发挥主要包括3个方面,即营养肠上皮细胞、分解代谢物质和抵抗外来致病菌<sup>[14]</sup>。一项研究<sup>[15]</sup>显示,肠道菌群的改变可引起肠道通透性的增加,此时大量炎性物质释放入肠腔,引起肠道产生炎症反应。IL-17作为一种前炎性细胞因子,主要由一种新型的CD<sup>+</sup>效应T细胞Th17细胞亚群特异性产生,且主要表达于肠道固有层,并进一步介导肠道炎症的发展<sup>[16-18]</sup>。有研究显示,IL-17有强大的招募中性粒细胞及促进多种细胞因子释放的作用,被认为参与了机体多种炎症疾病的发生<sup>[19-21]</sup>。本研究中,高脂饮食喂养的两组大鼠肠黏膜上皮细胞IL-17表达均高于普通饮食组大鼠,且肠黏膜上皮细胞IL-17表达与肝脏炎症程



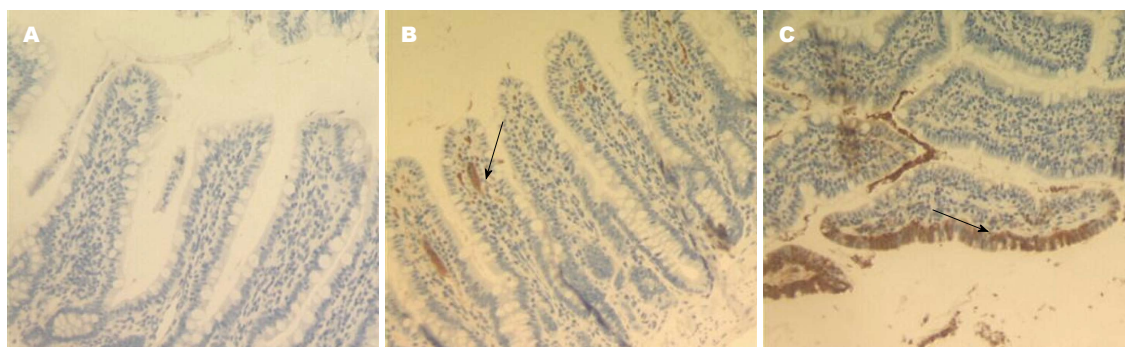


图4 肠黏膜上皮细胞occludin蛋白表达( $\times 200$ ). A: I组; B: II组; C: III组.

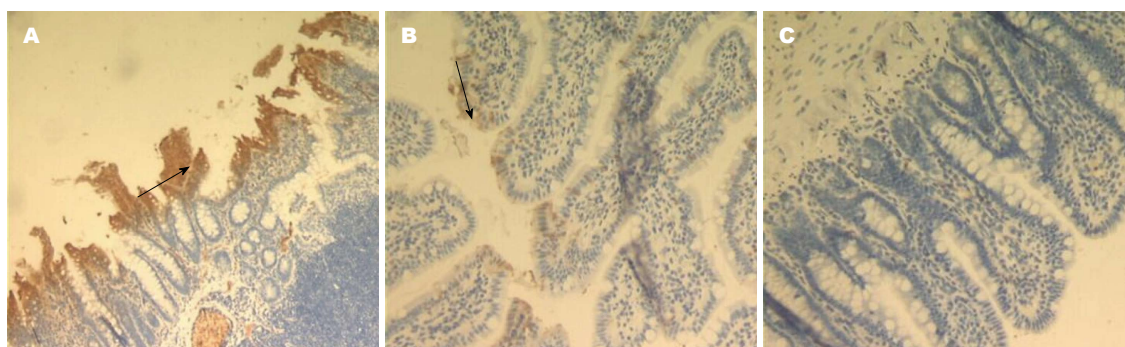


图5 肠黏膜上皮细胞IL-17表达. A: I组( $\times 100$ ); B: II组( $\times 200$ ); C: III组( $\times 200$ ).

#### ■名词解释

紧密连接蛋白occludin: 相对分子质量为65 kDa, 由2个细胞外环和2个细胞内环组成, 相邻细胞就是通过外环以拉链状结合而封闭细胞旁间隙. 机体病理情况下可引起occludin分布异常、表达减少, 导致紧密连接结构和功能异常, 细胞间隙增宽, 从而导致内皮间通透性升高.

表4 各组大鼠粪便3种细菌定量结果 (mean  $\pm$  SD)

	<i>n</i>	双歧杆菌	大肠杆菌	乳酸杆菌
I组	12	6.12 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	6.90 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>	7.45 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>
II组	12	7.59 $\pm$ 1.31 <sup>ac</sup>	6.02 $\pm$ 0.83 <sup>ac</sup>	7.70 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>
III组	10	8.67 $\pm$ 1.57	5.29 $\pm$ 0.58	8.53 $\pm$ 0.66
<i>F</i>		11.55	10.70	9.80

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs III组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs I组.

度呈正相关关系. Federico等<sup>[22]</sup>研究同样显示, 在NAFLD中, Th17对肝脏损伤起促进作用, 同时与肝脏潜在的脂肪变性有关. 这表明IL-17可能参与了非酒精性脂肪肝炎的发病过程, 同时与肠道黏膜屏障的损伤有关; 而予培菲康干预的大鼠, 肝脏虽然同样出现脂肪炎症改变, 但其肠道黏膜IL-17表达下调, 同时肝脏炎症损伤减轻, 肝脂肪含量减少, 表明益生菌制剂培菲康可减缓大鼠肠道炎症进程, 这可能是培菲康减少嗜中性粒细胞的募集, 降低前炎症反应, 进而保护肝细胞. 机械屏障主要由肠上皮细胞及细胞间连接和黏液层组成, 是肠黏膜屏障最重要的部分. 肠上皮结构的完整能对其所围绕的细胞造成膜质的区域性差异, 使这些区域可进行专一的功能活动, 如离子的定向转运等<sup>[23]</sup>. 机体在遭受严

重感染、炎症及营养障碍等情况时, 机械屏障将受到破坏, 主要表现为肠上皮细胞顶侧的紧密连接的中断. 目前研究认为occludin蛋白是最主要的紧密连接蛋白之一<sup>[24]</sup>, occludin作为一种整体膜蛋白, 是紧密连接的重要组成部分, 对维持肠道上皮细胞之间的连接至关重要, 而肠黏膜屏障功能的发挥则需要依赖完整的上皮细胞屏障<sup>[25,26]</sup>. 本研究中, 采用免疫组织化学染色观察肠上皮细胞间连接, 可见普通饮食喂养组大鼠小肠上皮occludin蛋白密集表达, 而高脂饮食喂养组分布稀少; 电镜下观察, 普通饮食喂养组其肠绒毛排列紧密, 无断裂、缺失; 高脂饮食喂养组其肠绒毛出现短小、缺失. 这提示非酒精性脂肪肝状态下的大鼠其肠道黏膜机械屏障遭到破坏, 与Miele等<sup>[27]</sup>和许腊梅等<sup>[28]</sup>研究结果一致.

## ■同行评价

本文设计合理, 图片翔实, 具有一定学术意义。

本研究采用的益生菌制剂培菲康是双歧杆菌、乳酸杆菌和肠球菌的三联活菌制剂, 通过磷壁酸与肠黏膜上皮细胞紧密结合形成天然的生物屏障。并定植于肠道, 与致病菌竞争上皮细胞的位点, 可刺激上皮细胞分泌黏液素在黏膜和微生物之间形成保护层, 防止栖生菌异位<sup>[29]</sup>。本研究中, 单纯高脂饮食喂养的大鼠肠道内对宿主有益的双歧杆菌、乳酸杆菌数量较普通饮食喂养的大鼠显著性减少, 而致病性大肠杆菌数量显著增多, 同时肝指数明显升高、肝脏炎症变化显著; 经培菲康干预后的大鼠, 其肠道内双歧杆菌数量较单纯高脂饮食喂养大鼠增加, 大肠杆菌数量减少, 肝指数下降, 肝脏炎症反应减轻。表明益生菌制剂培菲康可通过黏附于肠道上皮或在肠道内形成暂时细菌集落来保护肠黏膜屏障<sup>[30]</sup>, 进而对大鼠脂肪肝起到一定的预防作用。但本研究中, 经培菲康干预后的大鼠其小肠上皮occludin蛋白表达较单纯高脂组表达量增加不显著。原因可能在于: 一方面, 培菲康并不能阻止或完全逆转NAFLD的形成, 其主要作用是调整肠道菌群来改善生物屏障; 另一方面, 可能与灌胃剂量不够且干预疗程不足有关。因此, 在今后的实验中可能要加大灌胃剂量, 同时进一步从分子水平探讨益生菌作用于肠黏膜机械屏障的机制。

## 4 参考文献

- Sanyal AJ. NASH: A global health problem. *Hepatol Res* 2011; 41: 670-674 [PMID: 21711426 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00824.x]
- Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol* 2003; 38: 681-687 [PMID: 12713883 DOI: 10.1016/S0168-8278(03)00097-7]
- 孙林林, 石军, 郝菁华, 任万华, 阎春英, 张捷, 林晓燕, 崔彬. 高脂饮食致大鼠非酒精性脂肪性肝炎肝纤维化模型的建立. *临床肝胆病杂志* 2011; 27: 254-257, 272
- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-1321 [PMID: 15915461 DOI: 10.1002/hep.20701]
- Malinen E, Kassinen A, Rinttilä T, Palva A. Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiology* 2003; 149: 269-277 [PMID: 12576600 DOI: 10.1099/mic.0.25975-0]
- Walter J, Hertel C, Tannock GW, Lis CM, Munro K, Hammes WP. Detection of *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, and *Weissella* species in human feces by using group-specific PCR primers and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67: 2578-2585 [PMID: 11375166 DOI: 10.1128/AEM.67.6.2578-2585.2001]
- Kraehenbuhl JP, Pringault E, Neutra MR. Review article: Intestinal epithelia and barrier functions. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11 Suppl 3: 3-8; discussion 8-9 [PMID: 9467973 DOI: 10.1111/j.1365-2036.1997.tb00803.x]
- 中华医学会消化病分会. 肠屏障功能障碍临床诊治建议. *中华消化内科杂志* 2006; 26: 620
- Harari Y, Weisbrodt NW, Moody FG. Ileal mucosal response to bacterial toxin challenge. *J Trauma* 2000; 49: 306-313 [PMID: 10963544 DOI: 10.1097/00005373-200008000-00019]
- Kiyono H, Kweon MN, Hiroi T, Takahashi I. The mucosal immune system: from specialized immune defense to inflammation and allergy. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 145-153 [PMID: 11501883 DOI: 10.1080/000163501750266738]
- Fooks LJ, Gibson GR. Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr* 2002; 88 Suppl 1: S39-S49 [PMID: 12215180 DOI: 10.1079/BJN2002628]
- Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, Doré J. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 4799-4807 [PMID: 10543789]
- Musso G, Gambino R, Cassader M. Gut microbiota as a regulator of energy homeostasis and ectopic fat deposition: mechanisms and implications for metabolic disorders. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21: 76-83 [PMID: 19915460 DOI: 10.1097/MOL.0b013e3283347ebb]
- Son G, Kremer M, Hines IN. Contribution of gut bacteria to liver pathobiology. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010 [PMID: 20706692]
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-1772 [PMID: 17456850 DOI: 10.2337/db06-1491]
- Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1123-1132 [PMID: 16200070 DOI: 10.1038/ni1254]
- Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17<sup>+</sup> T helper cells. *Cell* 2006; 126: 1121-1133 [PMID: 16990136 DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.035]
- Mudter J, Neurath MF. IL-6 signaling in inflammatory bowel disease: pathophysiological role and clinical relevance. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1016-1023 [PMID: 17476678 DOI: 10.1002/ibd.20148]
- Lindén A, Laan M, Anderson GP. Neutrophils, interleukin-17A and lung disease. *Eur Respir J* 2005; 25: 159-172 [PMID: 15640338 DOI: 10.1183/09031936.04.00032904]
- Lubberts E, Koenders MI, van den Berg WB. The role of T-cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models. *Arthri-*

- tis Res Ther* 2005; 7: 29-37 [PMID: 15642151 DOI: 10.1186/ar1478]
- 21 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762 DOI: 10.1136/gut.52.1.65]
  - 22 Federico A, D'Aiuto E, Borriello F, Barra G, Gravina AG, Romano M, De Palma R. Fat: a matter of disturbance for the immune system. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4762-4772 [PMID: 20939104 DOI: 10.3748/wjg.v16.i38.4762]
  - 23 Nusrat A, Parkos CA, Verkade P, Foley CS, Liang TW, Innis-Whitehouse W, Eastburn KK, Madara JL. Tight junctions are membrane microdomains. *J Cell Sci* 2000; 113: 1771-1781 [PMID: 10769208]
  - 24 Costantini TW, Deree J, Loomis W, Putnam JG, Choi S, Baird A, Eliceiri BP, Bansal V, Coimbra R. Phosphodiesterase inhibition attenuates alterations to the tight junction proteins occludin and ZO-1 in immunostimulated Caco-2 intestinal monolayers. *Life Sci* 2009; 84: 18-22 [PMID: 18992758 DOI: 10.1016/j.lfs.2008.10.007]
  - 25 Guo X, Rao JN, Liu L, Zou T, Keledjian KM, Boneva D, Marasa BS, Wang JY. Polyamines are necessary for synthesis and stability of occludin protein in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G1159-G1169 [PMID: 15691870 DOI: 10.1152/ajpgi.00407.2004]
  - 26 Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J Gastroenterol* 2011; 17: 557-566 [PMID: 21350704 DOI: 10.3748/wjg.v17.i5.557]
  - 27 Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877-1887 [PMID: 19291785 DOI: 10.1002/hep.22848]
  - 28 许腊梅, 孙丹莉, 张予蜀, 张振玉, 李晓翠. 紧密连接蛋白occludin在非酒精性脂肪肝病大鼠肠上皮细胞中的表达及其与TNF- $\alpha$ 的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 981-986
  - 29 Di Caro S, Tao H, Grillo A, Elia C, Gasbarrini G, Sepulveda AR, Gasbarrini A. Effects of Lactobacillus GG on genes expression pattern in small bowel mucosa. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 320-329 [PMID: 15843081 DOI: 10.1016/j.dld.2004.12.008]
  - 30 Teitelbaum JE, Walker WA. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 107-138 [PMID: 12055340 DOI: 10.1146/annurev.nutr.22.110901.145412]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布.《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01.

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”.(《世界华人消化杂志》编辑部)



# 迷走传入神经功能异常在内脏高敏感形成中的作用

杨焱, 崔秀芳, 王美峰, 李学良, 林琳, 张红杰

## ■背景资料

内脏敏感性异常目前被认为是肠易激综合征(IRS)重要的病理生理特征之一,可能涉及到胃肠道和中枢等多个环节。临床流行病学研究显示,自主神经功能障碍可能参与IRS症状的发生,迷走神经广泛分布于胃肠道,可参与腔内刺激的感觉传递和内脏痛的介导。

杨焱, 崔秀芳, 王美峰, 李学良, 林琳, 张红杰, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029

杨焱, 主要从事功能性胃肠病的研究。

江苏省兴卫工程重点人才基金资助项目, No. RC201163

作者贡献分布: 此课题主要由杨焱与张红杰设计; 研究过程由杨焱与崔秀芳操作完成; 研究用新试剂及分析工具由杨焱、崔秀芳及王美峰等提供; 数据分析由杨焱完成; 本论文写作由杨焱完成。

通讯作者: 张红杰, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化内科。hjzhang06@163.com

电话: 025-68136035 传真: 025-83674636

收稿日期: 2012-10-27 修回日期: 2012-12-25

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Effect of vagal afferent dysfunction on visceral hypersensitivity in rats

Yan Yang, Xiu-Fang Cui, Mei-Feng Wang, Xue-Liang Li, Lin Lin, Hong-Jie Zhang

Yan Yang, Xiu-Fang Cui, Mei-Feng Wang, Xue-Liang Li, Lin Lin, Hong-Jie Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Key Medical Personnel Foundation of Jiangsu Province, No. RC201163

Correspondence to: Hong-Jie Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. hjzhang06@163.com

Received: 2012-10-27 Revised: 2012-12-25

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of vagal afferents on visceral hypersensitivity in rats with neonatal colon sensitivity induced with acetic acid.

**METHODS:** Visceral hypersensitivity in rats at the age of 10 days was induced by intra-colonic infusion of acetic acid (AA). Visceral sensitivity was assessed by measuring abdominal withdrawal reflex (AWR) and electromyography (EMG) in response to graded colorectal distension (CRD). Spontaneous discharge of cervical vagus nerve to CRD was recorded between model rats and controls. The expression of c-fos in neurons of the nucleus of solitary tract (NST) and the myenteric nerve plexus of the colon was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** Treatment with acetic acid in neonates induced visceral hypersensitivity in adult rats. No evidence of inflammation in the colon was found in both groups by H&E staining and MPO levels. The discharge of cervical vagus nerve was higher in model rats than in controls ( $P < 0.05$ ). The expressions of c-fos in neurons of NST and the myenteric nerve plexus of the colon were increased in model rats compared with controls (both  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Rats with colon sensitivity induced with acetic acid have abnormal activation of the vagus nerve.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Visceral hypersensitivity; Vagal afferents; C-fos

Yang Y, Cui XF, Wang MF, Li XL, Li L, Zhang HJ. Effect of vagal afferent dysfunction on visceral hypersensitivity in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 138-144

## 摘要

**目的:** 初步探讨迷走传入神经在醋酸诱导的结肠敏感鼠模型内脏高敏感形成中的作用。

**方法:** 采用乳大鼠于出生第10天给予0.5%醋酸灌肠, 建立慢性内脏高敏感动物模型, 观察直肠内球囊扩张(colorectal distension, CRD)下腹壁撤离反射(withdrawal reflex, AWR)及腹外斜肌放电活动(electromyography, EMG)的变化, 评估内脏敏感性。采用电生理学方法记录大鼠颈部迷走传入神经自发放电, 观察在CRD下模型组与对照组大鼠迷走神经放电活动。免疫组织化学法观察大鼠孤束核及结肠中c-fos分布及表达情况。

**结果:** 与对照组相比, 模型组AWR评分及EMG幅值显著增高( $P < 0.05$ ), HE染色及MPO水平显示两组大鼠结肠均无明显炎症表现, 结果提示内脏高敏感模型鼠建立; 给予直肠内球囊扩张后模型组迷走神经放电活动明显高于对照组( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, 模型组

## ■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

大鼠孤束核及结肠肌间神经丛中c-fos表达明显增加(孤束核 $15.00\% \pm 1.85\%$  vs  $47.30\% \pm 2.79\%$ , 近端结肠 $1.00\% \pm 0.12\%$  vs  $1.90\% \pm 0.17\%$ , 中端结肠 $1.10\% \pm 0.17\%$  vs  $1.90\% \pm 0.18\%$ , 远端结肠 $1.10\% \pm 0.12\%$  vs  $2.10\% \pm 0.17\%$ , 均 $P < 0.01$ ).

**结论:** 乳鼠醋酸灌肠诱导形成的内脏高敏模型大鼠迷走神经活化存在异常.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 内脏高敏感性; 迷走传入神经; C-fos

杨焱, 崔秀芳, 王美峰, 李学良, 林琳, 张红杰. 迷走传入神经功能异常在内脏高敏感形成中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 138-144  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/138.asp>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为主要特征的功能性胃肠病<sup>[1]</sup>. 其发病机制目前尚未完全清楚, 内脏敏感性异常目前被认为是IBS重要的病理生理特征之一, 可能涉及到胃肠道和中枢等多个环节<sup>[2-5]</sup>. 近年来较多临床流行病学研究显示, 自主神经功能障碍可能参与IBS症状的发生, 主要表现为交感活性增强及副交感(迷走)功能减退<sup>[6,7]</sup>. 副交感神经广泛分布于胃肠道, 除参与胃肠道运动与分泌的调控外, 还参与腔内刺激的感觉传递<sup>[8-10]</sup>和内脏痛的介导<sup>[11-14]</sup>. 胃肠道感觉主要通过两条途径传入中枢: (1)经交感神经上传胃肠道伤害性感觉到后根传入脊髓; (2)通过迷走神经接受胃肠道生理性感觉上传至中枢神经系统, 主要是延髓孤束核(nucleus of solitary tract, NST)<sup>[15]</sup>.

本研究采用乳大鼠醋酸灌肠建立内脏高敏感模型, 通过观察颈部迷走神经放电活动及利用c-fos作为伤害性感觉神经元兴奋的标志物观察NTS中c-fos的表达情况, 探讨迷走神经传入通路与内脏高敏感间的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 新生♂SD大鼠, 每10-12只与其母鼠共同饲养在同一笼内. 所有大鼠均在安静、室温 $25^{\circ}\text{C}$ , 昼夜控制为12 h周期下饲养. 实验所用大鼠由北京维通利华实验动物中心提供. 兔抗c-fos购自美国Abcam公司, 余试剂均为市售分析纯.

## 1.2 方法

**1.2.1 大鼠内脏高敏感模型的建立:** 参照Winston等<sup>[16]</sup>的方法, 新生SD大鼠40只随机分为模型组和对照组, 出生第10天, 将石蜡油润滑后的硬膜外导管(直径1 mm)经肛门插入2 cm, 模型组大鼠给予0.5%醋酸0.2 mL灌肠, 建立内脏高敏感性模型, 对照组给予等体积的生理盐水灌肠, 给药后乳大鼠不再给任何处理, 至大鼠体质量达到180 g以上(第7周)开始实验. 实验前1 d禁食, 为消除生物节律对实验结果的影响, 均于8:00开始实验.

**1.2.2 内脏敏感性评估:** 观察大鼠在直肠扩张(colorectal distention, CRD)下, 腹部撤离反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)及腹外斜肌放电活动(electromyographic activity of the external oblique muscle, EMG), 评估内脏敏感性. (1)AWR: 将大鼠放在特制的透明塑料笼( $20\text{ cm} \times 8\text{ cm} \times 8\text{ cm}$ )内, 清醒状态下, 将石蜡油润滑后的气囊导管经肛门插入, 气囊末端距离肛门2 cm, 用胶布将导管和大鼠尾根部固定. 待大鼠适应15 min后, 给予不同压力(20、40、60、80 mmHg)的直肠扩张, 每一压力值扩张持续30 s, 压力归0后休息2 min, 再进行下一次扩张. 分别于0、20、40、60、80 mmHg压力下, 评估大鼠AWR的分值, 上述各压力值重复扩张5次, 数据取中位数. AWR评分标准: 1分: 对扩张无反应; 2分: 腹背部肌肉轻微收缩但腹部未抬离地面; 3分: 腹背部肌肉较强收缩并把腹部抬离地面; 4分: 腹肌强烈收缩, 背部拱起, 腹部、盆部及会阴部抬离地面<sup>[16]</sup>; (2)EMG: 0.3%的戊巴比妥钠1 mL/kg腹腔注射, 麻醉大鼠, 将其固定在手术台上, 将双极电极植入一侧腹外斜肌内, 打皮下隧道至颈后, 将双极电极游离端穿过皮下隧道, 在颈后缝合固定, 待大鼠恢复1 wk, 于第8周开始实验. 禁食12 h, 自由饮水. 大鼠乙醚浅麻醉后, 将气囊导管经肛门插入后, 大鼠固定于手术台上, 待大鼠完全清醒后, 给予球囊扩张, 压力分别为0、20、40、60、80 mmHg, 每次扩张持续2 min, 间隔5 min, 记录2 min内腹外斜肌的放电频率、肌电活动增高超过基线水平 $100\text{ }\mu\text{V}$ 以上为一次有意义的腹部收缩活动.

**1.2.3 迷走神经放电记录:** 乌拉坦( $200\text{ g/L}$ )1 g/kg腹腔注射, 麻醉大鼠, 将其固定在手术台上. 在喉头与胸骨间沿颈正中中线切开, 寻找左侧颈动脉鞘(内有颈动脉及迷走神经)后, 分离出左侧迷走神经, 并用镊子夹伤神经中枢端. 用双极铂金丝电极(直径0.3 mm, 极间距2 mm)引导颈部迷

## ■ 研发前沿

对于IBS内脏高敏感形成机制的研究已成为目前研究的热点. 有关迷走神经与IBS的关系虽有部分文献报道, 但具体到迷走神经与IBS内脏高敏感形成之间关系的研究迄今国内外尚未有报道.

## ■相关报道

国内外研究表明, IBS患者存在自主神经功能障碍比例较高, 主要表现为迷走神经功能减退, 且在慢性食物过敏原引发的胃肠高敏感反应模型中, 存在迷走传入神经功能减退。

走神经的传入电活动, 神经周围用温石蜡油保温并保持电极之间的绝缘状态, 以维持迷走神经活性。采用PowerLab多通道生理信号采集处理系统连续记录不同压力下(20、40、60、80 mmHg)直肠球囊扩张后迷走神经放电活动。

1.2.4 标本采集: 迷走神经放电检测结束后, 打开腹腔, 取大鼠结肠(近端、中端、远端)全层组织, 置于冻存管-80℃保存。开胸经升主动脉插管, 生理盐水100 mL快速冲洗血液, 然后用4%的多聚甲醛(用0.1 mol/L PBS缓冲液配置, pH 7.4)500 mL灌注固定1 h; 灌注结束后立即取延髓, 置于上述相同的新鲜固定液中固定4 h, 再移入20%蔗糖溶液中4℃过夜, 直至组织块沉底, 次日取出组织, 按Paxinos和Watson大鼠脑图谱<sup>[11]</sup>进行解剖定位, 在恒冷箱连续冠状切片, 片厚30 μm, 切片隔两张取1张, 分数套收集于0.01 mol/L PBS(pH 7.4)中, 进行免疫组织化学染色。

1.2.5 评价肠道炎症: (1)结肠组织HE染色: 取大鼠结肠近端、中端、远端组织各一块, 40 g/L甲醛固定, 依次乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片厚度为4 μm, HE染色; (2)髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)测定: 取大鼠结肠近端、中端、远端组织各一块, 按试剂盒操作步骤采用ELISA法检测结肠组织中MPO水平。

1.2.6 免疫组织化学: 石蜡切片常规脱蜡至水, 加3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>液37℃孵育30 min, 封闭内源性过氧化物酶; 用0.01 mol/L PBS漂洗3次, 98℃微波抗原修复10 min, PBS漂洗。冰冻切片加3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>液37℃孵育30 min, 封闭内源性过氧化物酶, PBS漂洗。上述切片, 依次给予: (1)兔抗c-fos抗体(1:150, Abcam) 4℃孵育48 h; (2)生物素标志的羊抗兔IgG(1:500, Sigma), 室温放置3 h; (3)生物素-卵白素-HRP复合物(ABC, 1:500, Sigma)室温放置3 h; 最后用葡萄糖氧化物-DAB-硫酸镍胺法显色。以上每一步骤后均用PBS液漂洗3次, 每次10 min。切片漂洗后裱片, 晾干、脱水、透明、封固, 光镜下观察并摄片。按Paxinos和Watson大鼠脑图谱<sup>[17]</sup>, 每只大鼠选取所需层面3个, 每张切片连续测定5个视野(×100), 计算每个视野中c-fos阳性细胞数占视野内所有基质细胞的百分比的均值。

**统计学处理** 本研究所有资料均以mean±SD表示, 用SPSS17.0统计学软件进行统计学分析。大鼠AWR评分采用Mann-Whitney检验, EMG数值采用重复测量数据方差分析。组间比较采用t检验。P<0.05被认为差异具有统计学意义。

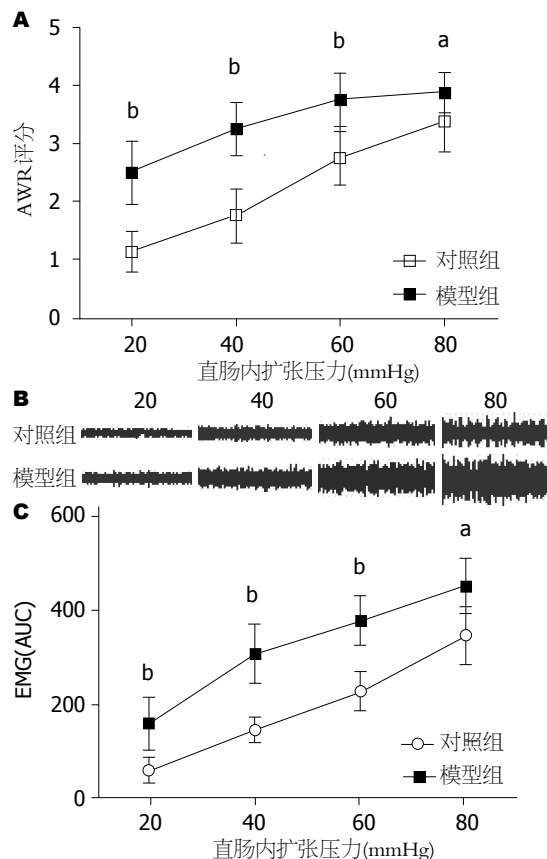


图1 两组大鼠内脏敏感性的比较。A: AWR评分, 模型组大鼠在扩张压力为20、40、60、80 mmHg时AWR评分明显增加, \*P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组; B: EMG描述图; C: EMG曲线下面积, 模型组大鼠在扩张压力为20、40、60、80 mmHg时EMG曲线下面积明显增加, \*P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组。

## 2 结果

2.1 大鼠内脏高敏感模型的建立 内脏敏感性测定结果显示, 在不同直肠扩张压力(20、40、60、80 mmHg)下, 模型组大鼠的AWR评分及EMG幅值均较对照组明显增加, 提示模型组的大鼠内脏敏感性增高(P<0.05, 图1)。两组大鼠结肠组织HE染色切片显示均无明显组织学炎症表现(图2), 且MPO检测结果显示模型组大鼠结肠MPO水平与对照组相比无显著性差异(P>0.05, 表1)。上述结果提示, 在大鼠幼时醋酸灌肠可引起成年后内脏高敏感, 而结肠组织无明显的炎症改变。

2.2 迷走神经放电变化 随直肠内扩张压力的增加, 两组大鼠迷走神经放电频率和峰值均逐渐增加。与对照组相比, 在不同直肠扩张压力(20、40、60、80 mmHg)下, 模型组大鼠迷走神经自发放电活动明显增加, 呈一突发脉冲式的群集放电(P<0.05, 图3)。

2.3 孤束核及结肠组织c-fos的表达 模型组延髓NST中可发现较多c-fos阳性细胞, 而对照组c-fos



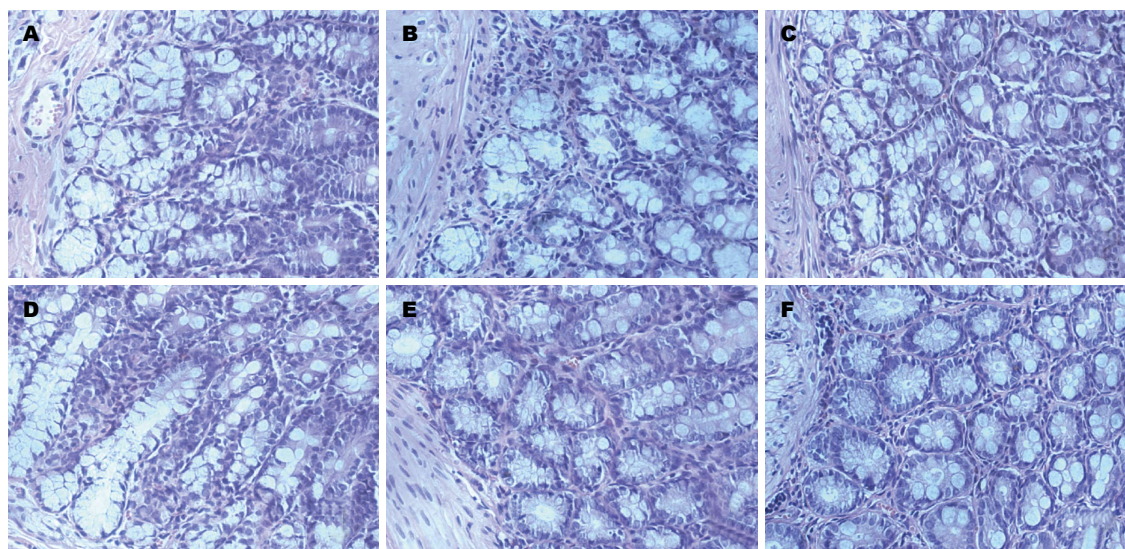


图2 两组大鼠HE染色比较( $\times 400$ ). A, B, C: 模型组大鼠近端、中端及远端结肠; D, E, F: 对照组大鼠近端、中端及远端结肠.

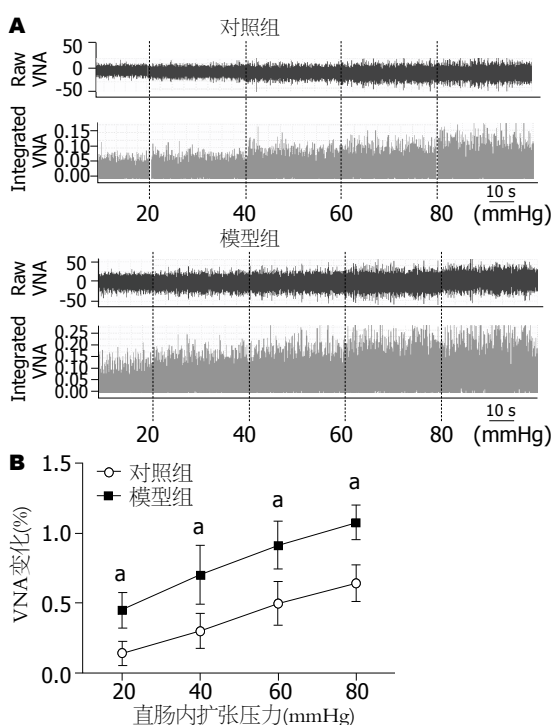


图3 两组大鼠迷走神经活性比较. A: 两组大鼠迷走神经放电幅值; B: CRD下两组大鼠迷走神经活性的变化,  $^aP<0.05$  vs 对照组.

阳性细胞少, 两组间差异显著( $P<0.01$ , 图4, 表2). 结肠组织中c-fos阳性细胞主要在肌间神经丛, 呈梭形, 胞浆着色; 而黏膜下神经丛阳性表达较少. 模型组结肠各端组织中c-fos阳性分布与对照组大致相同, 但c-fos阳性肌间神经丛数目较对照组明显增加( $P<0.01$ , 图5, 表2).

### 3 讨论

中枢神经系统(central nervous system, CNS)与肠

神经系统(enteric nervous system, ENS)作为脑-肠轴的两个“终端”, 其结构和功能的异常是IBS内脏敏感性的重要物质基础<sup>[18-20]</sup>. 近年临床流行病学资料显示, 自主神经功能障碍可能参与IBS症状的发生, 主要表现为交感活性增强及副交感(迷走)功能减退<sup>[6,7,21,22]</sup>, 而迷走神经作为调控胃肠道的主要神经, 在IBS内脏高敏感形成中有着怎样的作用尚不清楚.

本研究采用乳鼠醋酸灌肠法建立内脏高敏感模型, 通过AWR评分及EMG检测验证了内脏高敏感存在, 通过结肠HE染色及大鼠结肠组织中MPO水平测定, 排除了结肠组织炎症的存在. 通过神经电生理技术, 观察到在结直肠扩张压力逐步递增下, 与对照组相比, 模型组大鼠颈部迷走神经放电活动明显增强, 这表明迷走传入神经与内脏感觉传递间存在着联系.

胃肠感觉是胃肠感觉神经的活动在各级中枢内的整合结果. 胃肠道受内在感觉神经及外来感觉神经的双重支配<sup>[23,24]</sup>, 而前者不直接参与胃肠感觉的形成, 后者的活动则经过各级中枢的整合, 引起胃肠感觉和广泛的胃肠分泌与运动反应. 胃肠感觉的传入神经包括舌咽神经感觉纤维、迷走神经传入纤维以及脊神经内脏感觉纤维3种, 这些传入纤维组成胃肠感觉的第I级传入神经<sup>[25]</sup>. 在肠道, 迷走神经传入纤维可大致分为黏膜层传入纤维及肌层传入纤维, 均为ENS的组成部分. 迷走神经胃肠感觉纤维的胞体主要位于迷走神经下神经节, 其周围突广泛分布于从食管至横结肠右半部的黏膜层、肌层及肌间神经丛. 此纤维主要传导胃肠黏膜的机

### ■ 创新盘点

本文首次采用乳大鼠醋酸灌肠建立内脏高敏感模型, 通过观察颈部迷走神经放电活动及观察NTS及结肠中c-fos的表达情况, 探讨迷走神经传入通路与内脏高敏感间的关系.



### ■应用要点

通过探讨迷走传入神经与内脏高敏感之间的关系,有助于进一步阐明IBS内脏高敏感发生发展的相关机制,为今后IBS治疗提供新的线索。

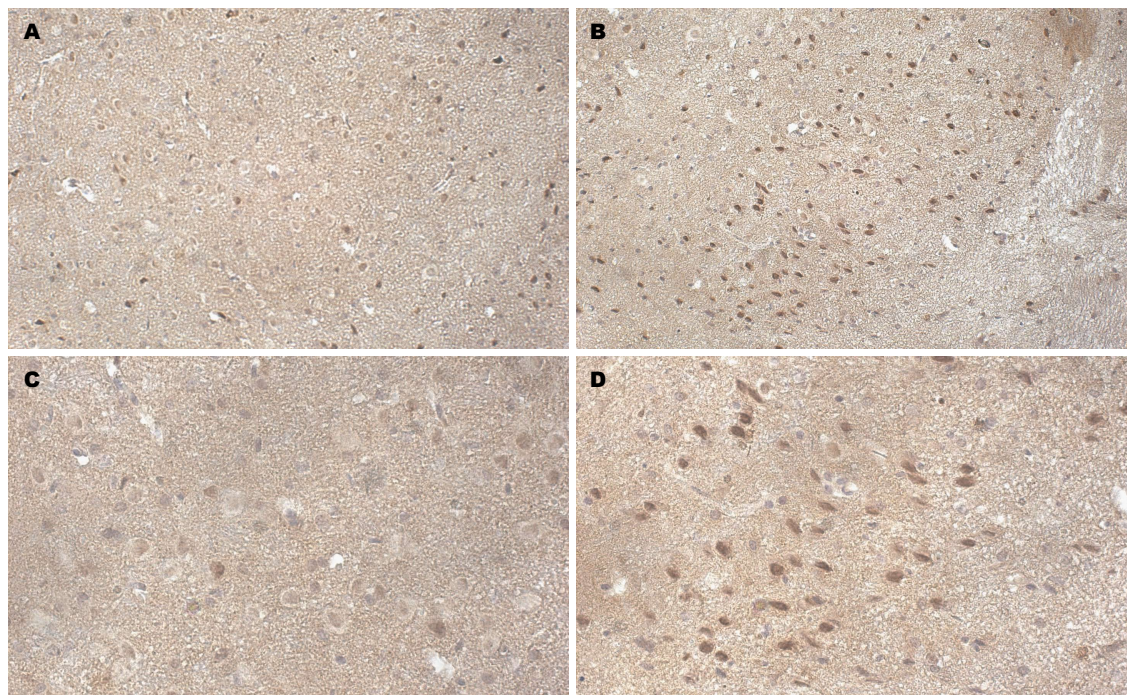


图4 两组大鼠NST c-fos表达情况。A: 对照组( $\times 200$ ); B: 对照组( $\times 400$ ); C: 模型组( $\times 200$ ); D: 模型组( $\times 400$ )。

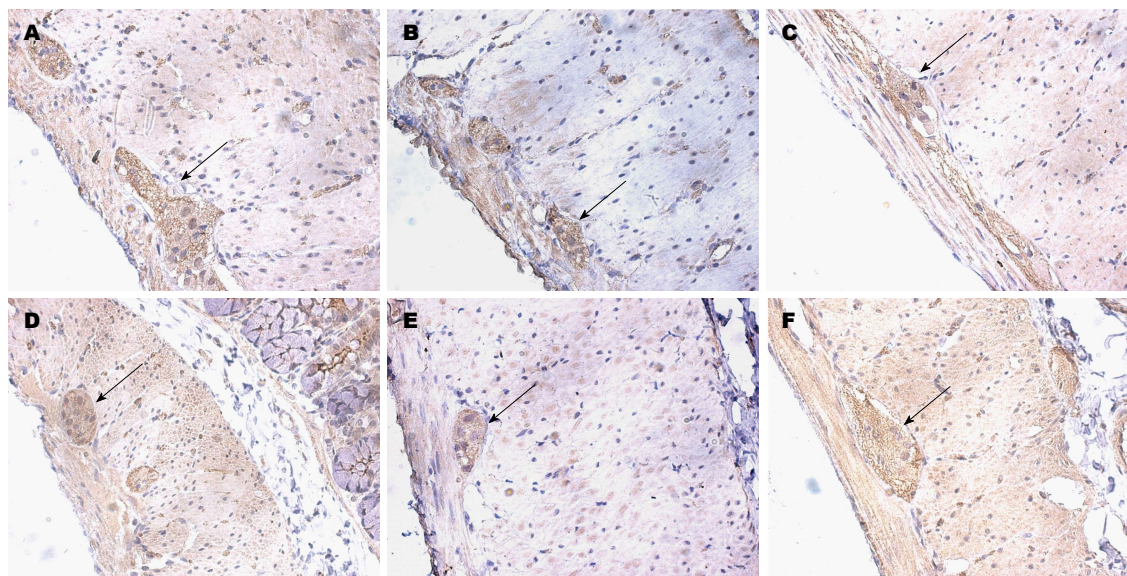


图5 两组大鼠结肠组织中c-fos表达情况( $\times 400$ )。A-C: 模型组大鼠近端、中端及远端结肠; D-F: 分别为对照组大鼠近端、中端及远端结肠。

械、化学感受器和肌层牵张感受器的信息。胃肠道感受器信号主要通过迷走神经中约75%的感觉传入纤维传至CNS。此外, NST是延髓重要的内脏感觉神经核, 是重要的内脏痛传入通路, 与上位中枢(下丘脑、中脑中央灰质、臂旁核等)有纤维联系<sup>[26,27]</sup>。他集中接受来自胸腹腔脏器初级传入的迷走神经投射, 是胃肠感觉在迷走神经传入通路中的第II级神经元所在部位<sup>[28,29]</sup>。胃肠感觉传入到达CNS后, 是通过孤束核与脑的其他结

构联系来调节胃肠道的分泌和运动功能。

c-fos在机体受外界刺激后表达于与痛觉传递相关的神经元细胞核内, 其产物Fos可作为伤害性感受神经元兴奋的标志物<sup>[30]</sup>。正常情况下, c-fos原癌基因表达水平很低, 但他可以在一系列生理或病理刺激作用下短时间诱导表达。我们研究结果显示, 模型组结肠组织中c-fos阳性表达明显高于对照组, 且主要位于结肠肌间神经丛, 黏膜下神经丛无明显阳性表达, 提示内脏



表 1 两组大鼠结肠髓过氧化物酶水平

	对照组	模型组	P值
近端结肠	110.38 ± 4.891	114.28 ± 3.173	0.1658
中端结肠	114.62 ± 1.842	117.82 ± 5.396	0.2381
远端结肠	123.20 ± 4.165	121.76 ± 5.932	0.5116

表 2 两组延髓孤束核及结肠组织中c-fos表达的比较 (%)

部位	对照组	模型组
孤束核	15.0 ± 1.85	47.3 ± 2.79 <sup>b</sup>
近端结肠	1.0 ± 0.12	1.0 ± 0.12
中端结肠	1.1 ± 0.17	1.9 ± 0.18 <sup>b</sup>
远端结肠	1.1 ± 0.12	2.1 ± 0.17 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组, 每×100倍视野下肌间神经丛内c-fos阳性数目占视野内所有基质细胞的百分比。

高敏感大鼠结肠肌间神经丛内c-fos阳性神经元可能参与了内脏痛觉信息传递和调控。我们的研究结果还显示, 内脏高敏大鼠NST中c-fos阳性表达明显高于对照组, 提示在内脏高敏感状态下, 迷走神经传入纤维可能由于接收较多来自ENS的伤害性信号使得自身放电增强, 从而导致NST神经元活化, 进而导致CNS整合、处理结肠感觉传入信息功能异常, 促进结肠内脏中枢敏化机制的形成, 提示NST可能是结肠内脏高敏感性中枢敏化机制形成的作用位点。以上均提示迷走传入神经功能异常可能与内脏高敏感的形成有关。

总之, IBS内脏高敏感形成的机制较为复杂, 我们研究发现迷走传入神经功能异常可能与IBS内脏高敏感的形成有关, 但两者间的具体机制仍需要进一步深入研究。

#### 4 参考文献

- Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]
- Camilleri M, Coulie B, Tack JF. Visceral hypersensitivity: facts, speculations, and challenges. *Gut* 2001; 48: 125-131 [PMID: 11115834 DOI: 10.1136/gut.48.1.125]
- Bouin M, Plourde V, Boivin M, Riberdy M, Lupien F, Laganière M, Verrier P, Poitras P. Rectal distention testing in patients with irritable bowel syndrome: sensitivity, specificity, and predictive values of pain sensory thresholds. *Gastroenterology* 2002; 122: 1771-1777 [PMID: 12055583 DOI: 10.1053/gast.2002.33601]
- Mertz H, Naliboff B, Munakata J, Niazi N, Mayer EA. Altered rectal perception is a biological marker of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1995; 109: 40-52 [PMID: 7797041 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90267-8]
- Ritchie J. Pain from distension of the pelvic colon by inflating a balloon in the irritable colon syndrome. *Gut* 1973; 14: 125-132 [PMID: 4696535 DOI: 10.1136/gut.14.2.125]
- Tanaka T, Manabe N, Hata J, Kusunoki H, Ishii M, Sato M, Kamada T, Shiotani A, Haruma K. Characterization of autonomic dysfunction in patients with irritable bowel syndrome using fingertip blood flow. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 498-504 [PMID: 18248583 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.01039.x]
- Adeyemi EO, Desai KD, Towsey M, Ghista D. Characterization of autonomic dysfunction in patients with irritable bowel syndrome by means of heart rate variability studies. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 816-823 [PMID: 10086672 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.00861.x]
- Chen SL, Wu XY, Cao ZJ, Fan J, Wang M, Owyang C, Li Y. Subdiaphragmatic vagal afferent nerves modulate visceral pain. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G1441-G1449 [PMID: 18420825 DOI: 10.1152/ajpgi.00588.2007]
- Gschossman JM, Mayer EA, Miller JC, Raybould HE. Subdiaphragmatic vagal afferent innervation in activation of an opioidergic antinociceptive system in response to colorectal distension in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2002; 14: 403-408 [PMID: 12213108 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2002.00345.x]
- Chen S, Li J, Zhang L, Dong X, Gao W, Mo J, Chen H, Xiao S, Li Y. 5-HT<sub>3</sub> receptors mediate the time-dependent vagal afferent modulation of nociception during chronic food allergen-sensitized visceral hyperalgesia in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1222. e113 [PMID: 19558425]
- Khasar SG, Green PG, Miao FJ, Levine JD. Vagal modulation of nociception is mediated by adrenomedullary epinephrine in the rat. *Eur J Neurosci* 2003; 17: 909-915 [PMID: 12603283 DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02503.x]
- Furuta S, Shimizu T, Narita M, Matsumoto K, Kuzumaki N, Horie S, Suzuki T, Narita M. Subdiaphragmatic vagotomy promotes nociceptive sensitivity of deep tissue in rats. *Neuroscience* 2009; 164: 1252-1262 [PMID: 19772896 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.09.021]
- Grundy D. Neuroanatomy of visceral nociception: vagal and splanchnic afferent. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i2-i5 [PMID: 12077054 DOI: 10.1136/gut.51.suppl.1.i2]
- Sedan O, Sprecher E, Yarnitsky D. Vagal stomach afferents inhibit somatic pain perception. *Pain* 2005; 113: 354-359 [PMID: 15661444 DOI: 10.1016/j.pain.2004.11.012]

#### ■名词解释

孤束核: 延髓重要的内脏感觉神经核, 是胃肠感觉在迷走神经传入通路中的第Ⅱ级神经元所在部位。



## ■同行评价

本文提示迷走神经功能异常参与了内脏神经高敏性的发生,为临床上研究肠道蠕动功能紊乱(例如IBS)提供重要的动物模型和理论依据。

- 15 Grundy D. Speculations on the structure/function relationship for vagal and splanchnic afferent endings supplying the gastrointestinal tract. *J Auton Nerv Syst* 1988; 22: 175-180 [PMID: 3047201 DOI: 10.1016/0165-1838(88)90104-X]
- 16 Winston J, Shenoy M, Medley D, Naniwadekar A, Pasricha PJ. The vanilloid receptor initiates and maintains colonic hypersensitivity induced by neonatal colon irritation in rats. *Gastroenterology* 2007; 132: 615-627 [PMID: 17258716 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.014]
- 17 Paxinos G, Watson CR, Emson PC. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. *J Neurosci Methods* 1980; 3: 129-149 [PMID: 6110810 DOI: 10.1016/0165-0270(80)90021-7]
- 18 Sheehan J, Gaman A, Vangel M, Kuo B. Pooled analysis of brain activity in irritable bowel syndrome and controls during rectal balloon distension. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 336-346, e158 [PMID: 21118328]
- 19 Drossman DA, Dumitrascu DL. Rome III: New standard for functional gastrointestinal disorders. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 237-241 [PMID: 17013448]
- 20 Mayer EA, Naliboff BD, Chang L, Coutinho SV. V. Stress and irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G519-G524 [PMID: 11254476]
- 21 Gupta V, Sheffield D, Verne GN. Evidence for autonomic dysregulation in the irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1716-1722 [PMID: 12184520 DOI: 10.1023/A:1016424007454]
- 22 Orr WC, Elsenbruch S, Harnish MJ. Autonomic regulation of cardiac function during sleep in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2865-2871 [PMID: 11051361 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.02318.x]
- 23 李在疏. 消化道运动调节研究的进展. *生理科学进展* 1984; 15: 11-17
- 24 Gebhart GF. Visceral pain-peripheral sensitisation. *Gut* 2000; 47 Suppl 4: iv54-iv55; discussion iv58 [PMID: 11076915]
- 25 周吕, 柯美云. 中枢神经系统与胃肠运动功能. *神经胃肠病学与动力-基础与临床*. 北京: 科学出版社, 2005: 143-170
- 26 Rao ZR, Ju G. Morphology of the medullary visceral zone. *Chin Sci Bull* 1999; 44: 1-10 [DOI: 10.1007/BF03182876]
- 27 陈良为, 饶志仁, 施际武. 大鼠延髓内脏带的化学神经解剖学. *解剖报* 1996; 27: 386-390
- 28 Rogers RC, McTigue DM, Hermann GE. Vagovagal reflex control of digestion: afferent modulation by neural and "endoneurocrine" factors. *Am J Physiol* 1995; 268: G1-G10 [PMID: 7840189]
- 29 Altschuler SM, Escardo J, Lynn RB, Miselis RR. The central organization of the vagus nerve innervating the colon of the rat. *Gastroenterology* 1993; 104: 502-509 [PMID: 8425692]
- 30 Sagar SM, Sharp FR, Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science* 1988; 240: 1328-1331 [PMID: 3131879 DOI: 10.1126/science.3131879]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(编辑部主任:李军亮 2012-03-08)。

# 蛋白组学分析胰腺癌干细胞相关差异蛋白的表达

江建新, 高珊, 潘耀振, 孙诚谊

江建新, 潘耀振, 孙诚谊, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

高珊, 贵阳医学院附属医院消化内科 贵州省贵阳市 550001  
江建新, 副主任医师, 主要从事肝胆胰脾疾病的基础与临床研究.  
国家自然科学基金资助项目, No. 81160311

贵州省科技厅贵阳医学院社发联合基金资助项目, No. 黔科合[2010]3171

贵阳市科技局基金资助项目, No. 筑科合[2011103] 22号  
贵州省肝病疾病研究科技创新人才团队基金资助项目, No. 黔科合人才团队[2010]4010

作者贡献分布: 主要实验、资料分析、统计及文章撰写由江建新完成; 研究设计、文章修改和审阅由孙诚谊完成; 资料分析、样本处理、生物信息学分析由高珊与潘耀振完成.

通讯作者: 孙诚谊, 教授, 550001, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院肝胆外科. chengyisun@medmail.com.cn  
电话: 0851-6773083

收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2012-12-26

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Quantitative proteomic analysis of differentially expressed proteins in pancreatic cancer stem cells

Jian-Xin Jiang, Shan Gao, Yao-Zhen Pan, Cheng-Yi Sun

Jian-Xin Jiang, Yao-Zhen Pan, Yi-Cheng Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Shan Gao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160311; the Social Development Joint Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province and Guiyang Medical College, No. [2010]3171; the Foundation of Guiyang City Science and Technology Bureau, No. [2011103] 22; and the Foundation for Liver and Pancreatic Disease Technological Innovation Talent Teams in Guizhou Province, No. [2010]4010

Correspondence to: Yi-Cheng Sun, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 28 Guiyi Street, Guiyang 550001, Guizhou Province, China. chengyisun@medmail.com.cn

Received: 2012-12-04 Revised: 2012-12-26

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To screen and identify differentially expressed proteins in pancreatic cancer stem cells.

**METHODS:** MIA-PaCa2 (TIC<sup>high</sup>) and BxPc-3 (TIC<sup>low</sup>) were used in the study. Differentially expressed proteins between MIA-PaCa2 (TIC<sup>high</sup>) and

BxPc-3 (TIC<sup>low</sup>) cells were isolated and screened by 2D-DIGE analysis. Protein identification was performed by peptide mass fingerprinting with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/TOF). Western blot was performed to verify the differential expression of TRIM28.

**RESULTS:** Fluorescent differential protein expression patterns were obtained between MIA-PaCa2 (TIC<sup>high</sup>) and BxPc-3 (TIC<sup>low</sup>) cells. Analyses with DeCyder v6.5 software showed a total of 23 differentially expressed protein spots (>1.5 folds), and these protein spots were identified by mass spectrometry as 19 proteins, which are involved in cell communication and signal transduction, immune response, transcription and cell cycle regulation, adipocyte differentiation and lipid droplet formation, cytoskeletal formation, cell adhesion, transport, and translation. Western blot analysis revealed that TRIM28 was highly expressed in MIA-PaCa2 (TIC<sup>high</sup>) cells but not expressed in BxPc-3 (TIC<sup>low</sup>) cells. Among the 19 identified proteins, 8 were up-regulated and 11 down-regulated in MIA-PaCa2 (TIC<sup>high</sup>) cells.

**CONCLUSION:** The identified differentially expressed proteins, such as TRIM28, are associated with the genesis, development and regulation of pancreatic cancer stem cells. They may become new therapeutic targets for pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Pancreatic carcinoma; Stem cells; Electrophoresis; Gel; Two-dimensional; Proteomics

Jiang JX, Gao S, Pan YZ, Sun CY. Quantitative proteomic analysis of differentially expressed proteins in pancreatic cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 145-152

## 摘要

**目的:** 筛选与鉴定胰腺癌干细胞相关的差异表达蛋白质.

**方法:** 以MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)

## ■背景资料

胰腺癌进展快、预后差的主要原因 是其早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发. 当前的研究表明胰腺癌干细胞是上述现象的理论基础. 蛋白质组学, 特别是定量蛋白质组学可以从一个细胞或组织的整体角度, 动态、定量地检测差异蛋白的变化, 从而有助于进一步研究这种差异变化的原因, 揭示其发生机制, 寻找新的治疗靶点.

## ■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

## ■ 研发前沿

目前关于胰腺癌干细胞相关差异表达蛋白组学的研究未见文献报道,主要原因与蛋白质组学研究需要的细胞量大有关,该文依据新近发表的2篇高质量文献,采用差异凝胶电泳(DIGE)技术筛选、鉴定胰腺癌干细胞相关差异表达蛋白,为后续分子机制的研究奠定基础。DIGE技术在定量差异蛋白筛选方面具有独特的优势。

为研究胰腺癌干细胞的工具细胞,采用荧光差异双向凝胶电泳技术分离并筛选上述细胞差异表达蛋白,反射式基质辅助激光解吸电离串联飞行时间质谱鉴定差异蛋白,免疫印迹验证差异表达的TRIM28。

**结果:**获得了MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)荧光差异蛋白表达图谱,经DeCyder v6.5软件分析,共有23个差异在1.5倍以上的蛋白质点,经质谱鉴定得到19个蛋白质,相对于BxPc-3(TIC<sup>low</sup>),在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)细胞组中高表达者有8个,低表达者有11个,包括参与细胞通讯和信号传导蛋白、免疫反应蛋白、转录因子与细胞周期调控蛋白、调节脂肪细胞分化和脂滴形成蛋白、细胞骨架蛋白、细胞黏附分子、差向异构酶、转运活性蛋白及参与翻译调节相关蛋白。免疫印迹结果显示TRIM28在BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)没有表达,在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)高表达。

**结论:**筛选得到的TRIM28等胰腺癌干细胞相关差异表达蛋白可能与胰腺癌干细胞的发生、发展和调控机制相关,有望成为胰腺癌新的治疗靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 胰腺癌; 干细胞; 电泳; 凝胶; 双向; 蛋白质组学

江建新, 高珊, 潘耀振, 孙诚谊. 蛋白组学分析胰腺癌干细胞相关差异蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 145-152  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/145.asp>

## 0 引言

胰腺癌是高度恶性、预后最差的恶性肿瘤之一,5年生存率不到5%<sup>[1]</sup>。大多数患者因确诊时伴有局部和/或远处的侵袭、转移而丧失手术时机<sup>[2]</sup>,即使临床手术根治性切除的胰腺癌患者术后也大多数因出现复发和远处转移预后极差,其原因为术前就有微转移灶形成及化疗抵抗<sup>[3]</sup>;胰腺癌的早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发是其致死的关键因素。肿瘤干细胞理论解释了上述现象。研究表明<sup>[4]</sup>:在原发肿瘤里存在一个亚群细胞,这群细胞具有自我更新、分化潜能以及在异位重新成瘤能力。同时,这群细胞还具有侵袭转移和化疗抵抗特性。最新的研究表明:胰腺癌在形成之前通过上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)形成胰腺癌干细胞,是其早期发生转移,治疗抵抗,复

发的根本原因<sup>[5]</sup>。已有的研究表明:具有CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型的胰腺癌细胞具有肿瘤干细胞特性,胰腺癌细胞系MIA-PaCa2的CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表达率95.5%,而BxPc-3的表达率17.5%。因此,MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)可以直接作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞,不需要进一步富集<sup>[6]</sup>。近年来,许多方法学包括基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等被用来研究肿瘤性疾病的诊断或发生机制。蛋白质是最根本的功能生物学分子,他是细胞的各种生物过程或参与调节的终端执行者。蛋白质组学,特别是定量蛋白组学可以从一个细胞或组织的整体角度,动态、定量地检测差异蛋白的变化,从而有助于进一步研究这种差异变化的原因,揭示其发生机制<sup>[7]</sup>。本研究采用双向荧光差异蛋白组学(2-D fluorescence difference gel electrophoresis, 2-D DIGE)技术,以MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)和BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)为研究对象,筛选胰腺癌干细胞相关差异蛋白,并对其生物学功能进行数据库分析,为进一步研究胰腺癌干细胞的发生和调控机制,寻找新的治疗靶点奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胰腺癌细胞株BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)和MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)由本室保存;细胞培养按照文献[8,9]采用DMEM培养基(Gibico公司),含10%的56 °C热灭活胎牛血清,25 mmol/L HEPES,2 mmol/L-谷氨酰胺,青霉素50 U/mL及链霉素50 μg/mL。

### 1.2 方法

**1.2.1 蛋白提取:**在上述细胞中加入1 mL蛋白裂解液(7 mol/L尿素、2 mol/L硫脲、4%CHAPS、30 mmol/L的Tris、蛋白酶抑制剂pH 8.5),静置15 min,冰浴超声15 s(超声0.2 s,间隔2 s)后混旋40 min,40 000 g、4 °C离心30 min,取上清,Bradford蛋白定量,分装样品冻存于-70 °C。

**1.2.2 双向荧光差异凝胶电泳(2D-DIGE):**将Cy2、Cy3、Cy5用DMF溶解成1 nmol/L的母液。每个样本50 μg蛋白用400 pmol Cy3或Cy5标志,等量混合2组样本用Cy2作为内标标志,避光,冰上放置30 min,然后用1 μL 10 mol/L赖氨酸终止反应。将Cy3、Cy5标志的2组细胞蛋白两两混合成2个样本,均加入内标,再加入等体积的2×样品缓冲液(7 mol/L尿素、2 mol/L硫脲、4%CHAPS、2%IPG Buffer、2%DTT),加入水化液(8 mol/L尿素、4%CHAPS、1%IPG Buffer、0.5%DTT)混匀,分别行2D-DIGE。第一向等电



聚焦电泳温度控制在17℃. 程序设置为水化: 50V、13 h, 主动水化; S1: 200 V、线性、2 h、除盐; S2: 500 V、快速、1.5 h、除盐; S3: 1 000 V、快速、1.5 h、升压; S4: 10 000 V、线性、4 h、升压; S5: 10 000 V、快速、60 000 V/h、聚焦; S6: 500 V、快速、任意时间、保持. 聚焦结束将IPG胶条放入SDS平衡液和0.5%DTT中10 min, 再放入SDS平衡液和4.5%碘乙酰胺中10 min. 然后放于12%SDS-PAGE上方, 行第二向电泳. 待溴酚蓝指示剂达到底部边缘时停止电泳.

1.2.3 图像采集分析及质谱鉴定: 在Typhoon 9410<sup>TM</sup>荧光扫描仪上用不同波长激光对凝胶内的Cy2(488/520 nm)、Cy3(532/580 nm)、Cy5(633/670 nm)进行扫描, 并采用DeCyder v6.5软件进行分析. 每一张胶扫描后得到3张扫描胶图(共6张胶图), 对每一张胶图上的所有蛋白点扫描进行胶内分析, 然后对不同胶上的同一个蛋白点与内标匹配, 进行胶间分析. 对匹配后的每个蛋白点的相对量比较(Cy3/Cy2或Cy5/Cy2)后确定差异蛋白. 用1 mg样品重新进行2D, 电泳结束后凝胶行考马斯蓝染色, 与扫描胶图匹配后手动切胶切取相匹配的蛋白质点. 参见Li等<sup>[10]</sup>的方法进行脱色、还原、烷基化、酶解、样本回收及脱盐处理. 回收样品用反射式基质辅助激光解吸电离串联飞行时间质谱(MALDI-TOWTOF)技术进行检测. 扫描方式: 反射式; 扫描范围: 700-3 500 kDa; 激光能量: MS 4 500, MS/MS 5 000; GPS软件检索: 误差MS 0.2 kDa, MS/MS 0.3 kDa. 获取的多肽质谱指纹图(peptide mass finger print, PMF)在人的数据库IPI HUMAN 3.23检索. 数据取舍标准: 蛋白质>61分, 置信水平>95%.

1.2.4 Western blot检测TRIM28蛋白的表达: 分别提取BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)和MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)总蛋白; 将提取的蛋白质样本按每孔30 μg上样于12%SDS-PAGE后进行电泳. 用电转移法转移蛋白质至PVDF膜, 然后用5%脱脂奶粉封闭膜1 h. 加入兔抗人TIF1β单克隆抗体(1:200)(购自Cell Signaling公司)后4℃孵育过夜, 辣根过氧化物酶(HRP)标志的羊抗兔IgG孵育1 h. 参照免疫印迹化学发光(ECL)试剂盒说明进行化学发光法显示结果, X线胶片曝光. 实验重复3次, 条带密度采用Quantity One Program(Bio-Rad)软件进行分析. 目的蛋白的相对表达水平 = 目的蛋白的灰度值/β-actin蛋白的灰度值, 取3次平均值.

统计学处理 采用DeCyder v6.5软件自带的统计学数据处理系统, 设置 $P<0.05$ , 采用 $t$ 检验进

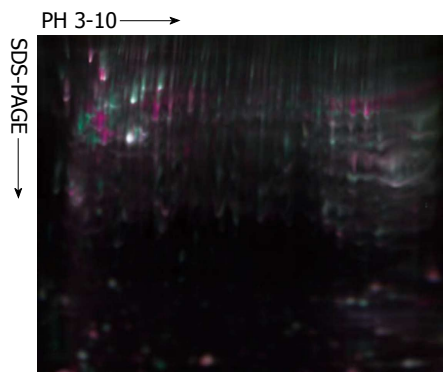


图1 BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)和MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)的荧光差异双向电泳图. Cy2: 蓝色; Cy3: 绿色; Cy5: 红色.

行定量比较( $P<0.05$ ).

## 2 结果

2.1 双向凝胶电泳分离蛋白质 分别用不同波长激光对Cy2(488/520 nm)、Cy3(532/580 nm)和Cy5(633/670 nm)进行扫描, 合并获得的扫描图见图1. 选择其中效果好, 点数多的一块胶作为参考胶, 进行胶内分析及胶间的匹配, 获得重复性较好的MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)和BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)荧光差异蛋白表达图谱. 经DeCyder v6.5软件分析, 筛选出差异1.5倍以上、有统计学意义的差异点23个. 相对于BxPc-3(TIC<sup>low</sup>), 在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)细胞组中高表达者有12个, 低表达者有11个.

2.2 MALDI-TOF/TOF对差异蛋白的鉴定 对23个差异蛋白点进行鉴定, 共获得19个差异表达蛋白, 有4个蛋白点未能鉴定. 在人的数据库IPI HUMAN 3.23检索结果见表1. 差异倍数最大的蛋白点被鉴定为TRIM28, 其质谱鉴定图见图2.

2.3 Western blot验证差异蛋白TRIM28结果显示KAP-1在BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)没有表达, 在和MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)高表达, 与蛋白质组学实验结果基本一致(图3).

## 3 讨论

肿瘤发起细胞, 又称肿瘤干细胞, 具有成瘤、侵袭转移及治疗抵抗作用<sup>[11]</sup>. Kallifatidis等<sup>[6]</sup>从胰腺癌细胞标志分子CD44(+)/CD24(-), CD44(+)/CD24(+)或CD44(+)/CD133(+)的表达与裸鼠成瘤能力、分化程度、克隆性生长、肿瘤微球体形成、ALDH活性以及治疗抵抗等肿瘤干细胞特性的关系进行系列研究, 认为具有CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型的胰腺癌细胞具有肿瘤干细胞特性; 胰腺癌细胞系MIA-PaCa2的CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表达率95.5%, 而BxPc-3的表达率17.5%, 并认为MIA-

### ■ 相关报道

Kallifatidis等研究, 认为具有CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表型的胰腺癌细胞具有肿瘤干细胞特性; 胰腺癌细胞系MIA-PaCa2的CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>表达率为95.5%, 而BxPc-3的表达率为17.5%; 并认为MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)可以直接作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞.

# ■ 创新盘点

目前关于采用胰腺癌细胞系MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞,采用DIGE技术筛选、鉴定胰腺癌干细胞相关差异表达蛋白尚未见报道。本研究发现新的与胰腺癌干细胞发生、发展及调控机制相关的蛋白。

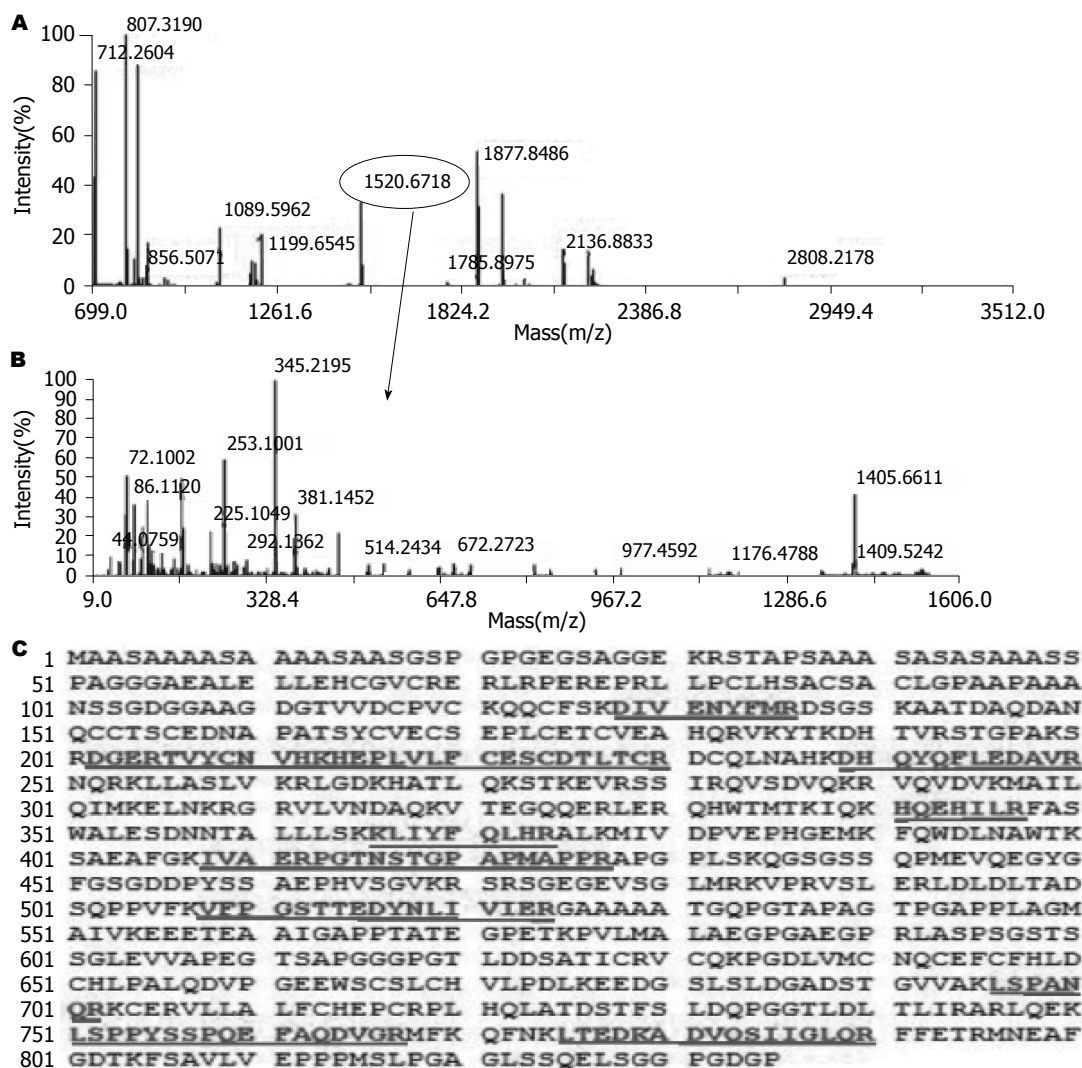


图 2 MALDI-TOF MS-MS鉴定TRIM28. A: 一级肽谱图; B: m/z: 1520.67的二级肽谱图; C: TRIM28氨基酸序列及灰色划线部分肽序列匹配图。

PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)可以直接作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞,不需要进一步富集。因此,本研究基于上述研究基础,直接以MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞,未做CD44(+)/CD24(-)标志物筛选。

本实验应用2D-DIGE共筛选并经质谱鉴定出19个差异表达蛋白质。根据这些蛋白质功能的不同,可以分为9类: (1)参与细胞通讯和信号传导: ROCK2、RAB2B、YWHAQ、EEF1D、CAMK1、SORBS2、CSNK1E。其中ROCK2是细胞内一类具GTP酶活性的小分子G蛋白Rho下游的效应分子,是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族的成员。ROCK2主要在心血管、脑组织中表达<sup>[12]</sup>。近来研究发现ROCK2可以在多种肿瘤中高表达,如肝癌<sup>[13]</sup>、肺癌<sup>[14]</sup>、卵巢癌<sup>[15]</sup>等。ROCK2在多种恶性肿瘤组织中高表达,提

示ROCK2在肿瘤发生发展中起重要的作用。大多数肿瘤的研究都集中在ROCK2与侵袭转移的关系方面,我们的研究表明ROCK2在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)高表达,提示其可能在维持胰腺癌干细胞的“干性”方面起一定的作用。EEF1D催化氨酰基tRNA转移到核糖体上,为鸟嘌呤核苷酸交换因子,其在肿瘤中高表达,表明与肿瘤的蛋白质合成相适应。此外,研究表明,其高表达与肿瘤的淋巴结转移、分期、预后、分化相关<sup>[16,17]</sup>。本研究提示EEF1D在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)低表达,提示其可能促进胰腺癌干细胞的分化; (2)免疫反应蛋白: BST2、GLYCAM1; BST2也被称作PDCA-1, CD137和HM1.24,是细胞表面膜蛋白,在许多肿瘤中高表达,如肾癌<sup>[18]</sup>、子宫内膜癌<sup>[19]</sup>、肺癌<sup>[20]</sup>以及胰腺癌等<sup>[21]</sup>。尚未见文献报道BST2在这些肿瘤的作用报道, BST2在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)低表达,其作用亦需进一步研究;

表 1 BxPc-3 (TIC<sup>low</sup>)和MIA-PaCa2 (TIC<sup>high</sup>)差异表达蛋白

IPI ID	蛋白名称	Mr <sup>a</sup> /pI <sup>b</sup>	差异倍数 <sup>c</sup>	分子功能 <sup>d</sup>
IPI00307155	ROCK2	16.09/5.75	-1.77	丝氨酸/苏氨酸激酶, 参与细胞通讯和信号传导
IPI00879279	RAB2B	24.21/6.97	3.56	GTPase活性蛋白, 参与细胞通讯和信号传导
IPI00018146	YWHAQ	27.76/4.68	-1.71	受体信号转导衔接分子, 参与细胞通讯和信号传导
IPI00981244	EEF1D	71.41/6.84	2.94	鸟嘌呤核苷酸交换因子, 参与细胞通讯和信号传导
IPI00926719	CAMK1	42.34/7.68	2.06	丝氨酸/苏氨酸激酶, 参与细胞通讯和信号传导
IPI00926953	SORBS2	124.11/10.00	-4.12	受体信号转导衔接分子, 参与细胞通讯和信号传导
IPI00385355	BST2	19.77/10.28	1.68	嵌膜蛋白质, 参与免疫应答
IPI00976345	GLYCAM1	5.02/9.56	-1.61	调节免疫应答
IPI00879037	Seipin	51.16/4.73	2.92	调节脂肪细胞分化和脂滴形成
IPI00893466	MAD1L1	83.074.92	2.70	转录调节因子, 调节细胞周期
IPI00894536	RFX5	65.32/8.51	-2.00	转录因子
IPI00908961	THG1L	34.83/5.64	2.18	细胞周期控制蛋白, 参与细胞生存和生长
IPI00977381	KRT18	48.06/9.19	3.24	细胞骨架蛋白, 参与细胞生存和生长
IPI00384120	ISM2	63.91/10.00	-2.06	细胞黏附分子
IPI00878432	CSNK1E	47.32/11.44	3.82	丝氨酸/苏氨酸激酶, 参与DNA修复和信号转导
IPI01009493	MCEE	18.75/6.81	2.08	差向异构酶, 参与能量代谢
IPI00514053	ARCNI	57.21/5.89	-1.61	转运活性蛋白, 参与细胞内物质运输
IPI00215884	SFRS1	27.75/10.37	1.76	RNA结合蛋白, 参与蛋白质代谢
IPI00438229	TRIM28	88.49/5.52	-10.73	翻译调节蛋白

Mr<sup>a</sup>为匹配蛋白质的理论分子质量(kDa); pI<sup>b</sup>为匹配蛋白质的理论等电; 差异倍数<sup>c</sup>为BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)/MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>), “-”表示下调; 分子功能<sup>d</sup>基于人类蛋白质数据库(<http://www.hprd.org/>).

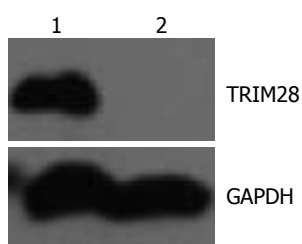


图 3 Western blot验证差异蛋白TRIM28. 1: MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>); 2: BxPc-3(TIC<sup>low</sup>).

(3)转录因子与细胞周期调控蛋白: MAD1L1、RFX5、THG1L. MAD1L1是一种有丝分裂关卡元件, 在有丝分裂染色体赤道板对齐前, 阻止其进入有丝分裂后期. 在胃癌中, 其表达下调<sup>[22]</sup>, 推测与肿瘤细胞不对称分裂相关. 在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)高表达, 推测与胰腺癌干细胞周期相对静止, 阻止进入有丝分裂后期相关; (4)调节脂肪细胞分化和脂滴形成: Seipin; (5)细胞骨架蛋白: KRT18、KRT18是上皮细胞标志蛋白, 其在肿瘤细胞中高表达提示该肿瘤细胞的侵袭转移能力弱, 裸鼠致瘤性差, 肿瘤细胞分化程度高, 外源性KRT18过表达可以使肿瘤细胞再分化, 逆转其恶性表型<sup>[23-25]</sup>. KRT18在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)表达较BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)下调3.24倍, 提示其与MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)的侵袭转移能力强、恶性程度高、分化低相关, 也可能与胰腺癌干细胞的

特性相关, 研究KRT18在胰腺癌细胞的发生发展过程中的表达调控机制或能从一个侧面揭示胰腺癌从干细胞到癌细胞的形成; (6)细胞黏附分子: ISM2、ISM2在胎盘中高表达, 在胰腺、肝脏、脑组织等中表达<sup>[26]</sup>, ISM2是一种分泌型蛋白, 最近研究表明其作为血管生成抑制因子能抑制肿瘤生长<sup>[27,28]</sup>. ISM2在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)表达较BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)上调2.06倍, 其在胰腺癌干细胞中的作用需进一步研究; (7)差向异构酶, 参与能量代谢: 甲基丙二酸单酰-coA表异构酶(MCEE)为丙酸代谢通路中的基因, 参与能量代谢, 其在肿瘤和干细胞的中的作用未见报道; (8)转运活性蛋白, 参与细胞内物质运输: ARCNI; (9)参与蛋白质代谢: SFRS1、TRIM28.

差异倍数最大TRIM28(又称TIF1 $\beta$ , KAP-1等)是一种转录中介因子, 在诸多转录调控复合体中起桥梁作用<sup>[29]</sup>. TRIM28是维持干细胞的“干性”关键基因之一. 研究表明<sup>[30]</sup>, TRIM28在胚胎干细胞(embryonic stem, ES)和胚胎组织中高表达, 在ES分化组织中表达下调, 在胰腺组织中表达极低. RNAi抑制TRIM28的表达能增加分化细胞的百分率. 采用Trim28 ChIP证实TRIM28通过靶向具有多向分化潜能性基因Cnot3、

## 应用要点

本文筛选的TRIM28是维持干细胞“干性”的关键基因之一, 在胚胎干细胞(ES)和胚胎组织中高表达, 且与肿瘤的侵袭转移、化疗抵抗等特性相关, 深入研究TRIM28在胰腺癌干细胞中的作用和调控机制具有一定价值.



## ■名词解释

2D-DIGE技术: 是经典2D(双向)电泳技术的成熟与完善, 通过三色荧光染料分别对内标和生物样本进行标记, 能够在一张2D胶上对两个样本的多种蛋白质进行分离, 并分别单独成像, 应用DeCyder 2D软件分析图像, 得到蛋白表达量的丰度变化, 根据数据分析结果准确地发现差异蛋白。

Nanog、Sox2、Tcf3、Il6st和Lefty2启动子区域调节其表达(Trim28-binding sites: GCCGCGXX), 从而维持干细胞的自我更新能力, 是ES自我更新的关键基因之一。其他研究也证实了TRIM28在ES的“干性”维持方面发挥重要作用<sup>[31]</sup>。Wolf等<sup>[32]</sup>研究表明: F9胚胎癌细胞(embryonal carcinoma, EC)发生分化时, KAP-1的表达水平下调, RNAi抑制TRIM28的表达, F9 EC和JM1 ES生长抑制, 细胞发生分化。Seki等<sup>[33]</sup>研究证实: KAP-1能改变ES的多向分化潜能或是分化状态, 是这两种状态的临界关卡点。TRIM28在具有多向分化潜能的鼠ES高表达, RNAi抑制KAP-1的表达, 鼠ES显示分化状态。磷酸化的TRIM28和特异性多向分化潜能转录因子Oct3/4形成复合物, 能抑制ES的分化, 维持其多向分化潜能, 诱导iPS细胞(诱导多能干细胞iPS Cell)。Cammis等<sup>[34]</sup>也证实了TRIM28在F9 EC分化中的作用。此外, KAP-1与肿瘤的侵袭转移、化疗耐药相关。Ho等<sup>[35]</sup>采用蛋白质组学技术筛选TRIM28与乳腺癌的侵袭转移相关, 并在正常乳腺组织、原位乳腺癌组织以及淋巴结转移组织片中证实。Yokoe等<sup>[36]</sup>证实TRIM28在胃癌中高表达, 且和胃癌的腹腔播散及不良预后相关。Han等<sup>[37]</sup>比较结肠癌细胞株HCT-116(具有结肠癌干细胞特性, 对化疗药NSC 724998不敏感)和恶性黑色素瘤细胞株A375(对化疗药NSC 724998敏感)NSC 724998处理前后不同蛋白质表达的变化, 发现TRIM28在治疗后的表达上调, 且TRIM28的Ser824发生磷酸化。TRIM28参与EMT发生<sup>[38]</sup>。我们的研究表明: 在MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)表达较BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)上调10.73倍, Western blot检测表明前者高表达TRIM28, 而后者无表达。上述研究表明TRIM28可能也参与胰腺癌干细胞的发生, 并发挥重要作用。

总之, 定量蛋白质组学技术是研究肿瘤的一种重要手段。我们利用该技术初步筛选、鉴定了MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)和BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)细胞部分差异蛋白, 并对其生物学功能进行数据库分析和文献复习, 这些差异蛋白, 特别是TRIM28可能与胰腺癌干细胞的发生、发展和调控机制相关, 对他们进一步深入研究, 有可能揭示胰腺癌干细胞的发生机制, 为寻找新的治疗靶点奠定基础。

## 4 参考文献

- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- Tuveson DA, Neoptolemos JP. Understanding metastasis in pancreatic cancer: a call for new clinical approaches. *Cell* 2012; 148: 21-23 [PMID: 22265397 DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.021]
- Lim KH, Chung E, Khan A, Cao D, Linehan D, Ben-Josef E, Wang-Gillam A. Neoadjuvant therapy of pancreatic cancer: the emerging paradigm? *Oncologist* 2012; 17: 192-200 [PMID: 22250057 DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0268]
- Rasheed ZA, Matsui W. Biological and clinical relevance of stem cells in pancreatic adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 15-18 [PMID: 22320910 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07015.x]
- Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, Maitra A, Bailey JM, McAllister F, Reichert M, Beatty GL, Rustgi AK, Vonderheide RH, Leach SD, Stanger BZ. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell* 2012; 148: 349-361 [PMID: 22265420 DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.025]
- Kallifatidis G, Rausch V, Baumann B, Apel A, Beckermann BM, Groth A, Mattern J, Li Z, Kolb A, Moldenhauer G, Altevogt P, Wirth T, Werner J, Schemmer P, Büchler MW, Salnikov AV, Herr I. Sulforaphane targets pancreatic tumour-initiating cells by NF-kappaB-induced antiapoptotic signaling. *Gut* 2009; 58: 949-963 [PMID: 18829980 DOI: 10.1136/gut.2008.149039]
- Pan S, Brentnall TA, Kelly K, Chen R. Tissue proteomics in pancreatic cancer study: Discovery, emerging technologies, and challenges. *Proteomics* 2012; Nov 2. [Epub ahead of print] [PMID: 23125171 DOI: 10.1002/pmic.201200319]
- Rausch V, Liu L, Kallifatidis G, Baumann B, Mattern J, Gladkikh J, Wirth T, Schemmer P, Büchler MW, Zöller M, Salnikov AV, Herr I. Synergistic activity of sorafenib and sulforaphane abolishes pancreatic cancer stem cell characteristics. *Cancer Res* 2010; 70: 5004-5013 [PMID: 20530687 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0066]
- Zhang C, Kolb A, Büchler P, Cato AC, Mattern J, Rittgen W, Edler L, Debatin KM, Büchler MW, Friess H, Herr I. Corticosteroid co-treatment induces resistance to chemotherapy in surgical resections, xenografts and established cell lines of pancreatic cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 61 [PMID: 16539710 DOI: 10.1186/1471-2407-6-61]
- Li C, Chen Z, Xiao Z, Wu X, Zhan X, Zhang X, Li M, Li J, Feng X, Liang S, Chen P, Xie JY. Comparative proteomics analysis of human lung squamous carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 253-260 [PMID: 12943690 DOI: 10.1016/S0006-291X(03)01578-X]
- Cioffi M, Dorado J, Baeuerle PA, Heeschen C. EpCAM/CD3-Bispecific T-cell engaging antibody MT110 eliminates primary human pancreatic cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 465-474 [PMID: 22096026 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1270]
- Bryan BA, Dennstedt E, Mitchell DC, Walshe TE, Noma K, Loureiro R, Saint-Geniez M, Campaigniac JP, Liao JK, D'Amore PA. RhoA/ROCK signaling is essential for multiple aspects of VEGF-mediated angiogenesis. *FASEB J* 2010; 24: 3186-3195 [PMID: 20400538 DOI: 10.1096/fj.09-145102]
- Wong CC, Wong CM, Tung EK, Man K, Ng IO.

- Rho-kinase 2 is frequently overexpressed in hepatocellular carcinoma and involved in tumor invasion. *Hepatology* 2009; 49: 1583-1594 [PMID: 19205033 DOI: 10.1002/hep.22836]
- 14 Vigil D, Kim TY, Plachco A, Garton AJ, Castaldo L, Pachter JA, Dong H, Chen X, Tokar B, Campbell SL, Der CJ. ROCK1 and ROCK2 are required for non-small cell lung cancer anchorage-independent growth and invasion. *Cancer Res* 2012; 72: 5338-5347 [PMID: 22942252 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2373.]
  - 15 Ohta T, Takahashi T, Shibuya T, Amita M, Henmi N, Takahashi K, Kurachi H. Inhibition of the Rho/ROCK pathway enhances the efficacy of cisplatin through the blockage of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in human ovarian cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 25-33 [PMID: 22336585 DOI: 10.4161/cbt.13.1.18440]
  - 16 Ogawa K, Utsunomiya T, Mimori K, Tanaka Y, Tanaka F, Inoue H, Murayama S, Mori M. Clinical significance of elongation factor-1 delta mRNA expression in oesophageal carcinoma. *Br J Cancer* 2004; 91: 282-286 [PMID: 15199388 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601941]
  - 17 Shuda M, Kondoh N, Tanaka K, Ryo A, Wakatsuki T, Hada A, Goseki N, Igari T, Hatsuse K, Aihara T, Horiuchi S, Shichita M, Yamamoto N, Yamamoto M. Enhanced expression of translation factor mRNAs in hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2000; 20: 2489-2494 [PMID: 10953316]
  - 18 Kawai S, Azuma Y, Fujii E, Furugaki K, Ozaki S, Matsumoto T, Kosaka M, Yamada-Okabe H. Interferon-alpha enhances CD317 expression and the antitumor activity of anti-CD317 monoclonal antibody in renal cell carcinoma xenograft models. *Cancer Sci* 2008; 99: 2461-2466 [PMID: 19032371 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00968.x]
  - 19 Wong YF, Cheung TH, Lo KW, Yim SF, Siu NS, Chan SC, Ho TW, Wong KW, Yu MY, Wang VW, Li C, Gardner GJ, Bonome T, Johnson WB, Smith DI, Chung TK, Birrer MJ. Identification of molecular markers and signaling pathway in endometrial cancer in Hong Kong Chinese women by genome-wide gene expression profiling. *Oncogene* 2007; 26: 1971-1982 [PMID: 17043662 DOI: 10.1038/sj.onc.1209986]
  - 20 Wang W, Nishioka Y, Ozaki S, Jalili A, Abe S, Kakiuchi S, Kishuku M, Minakuchi K, Matsumoto T, Sone S. HM1.24 (CD317) is a novel target against lung cancer for immunotherapy using anti-HM1.24 antibody. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 967-976 [PMID: 18979097 DOI: 10.1007/s00262-008-0612-4]
  - 21 Grützmann R, Boriss H, Ammerpohl O, Lüttges J, Kalthoff H, Schackert HK, Klöppel G, Saeger HD, Pilarsky C. Meta-analysis of microarray data on pancreatic cancer defines a set of commonly dysregulated genes. *Oncogene* 2005; 24: 5079-5088 [PMID: 15897887 DOI: 10.1038/sj.onc.1208696]
  - 22 Nishigaki R, Osaki M, Hiratsuka M, Toda T, Murakami K, Jeang KT, Ito H, Inoue T, Oshimura M. Proteomic identification of differentially-expressed genes in human gastric carcinomas. *Proteomics* 2005; 5: 3205-3213 [PMID: 16003825 DOI: 10.1002/pmic.200401307]
  - 23 Bühler H, Schaller G. Transfection of keratin 18 gene in human breast cancer cells causes induction of adhesion proteins and dramatic regression of malignancy in vitro and in vivo. *Mol Cancer Res* 2005; 3: 365-371 [PMID: 16046547 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-04-0117]
  - 24 Walsh N, O'Donovan N, Kennedy S, Henry M, Meleady P, Clynes M, Dowling P. Identification of pancreatic cancer invasion-related proteins by proteomic analysis. *Proteome Sci* 2009; 7: 3 [PMID: 19216797 DOI: 10.1186/1477-5956-7-3]
  - 25 Song HY, Liu YK, Feng JT, Cui JF, Dai Z, Zhang LJ, Feng JX, Shen HL, Tang ZY. Proteomic analysis on metastasis-associated proteins of human hepatocellular carcinoma tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 92-98 [PMID: 16261346 DOI: 10.1007/s00432-005-0044-x]
  - 26 Rossi V, Beffagna G, Rampazzo A, Baucé B, Danielli GA. TAIL1: an isthmin-like gene, containing type 1 thrombospondin-repeat and AMOP domain, mapped to ARVD1 critical region. *Gene* 2004; 335: 101-108 [PMID: 15194193 DOI: 10.1016/j.gene.2004.03.008]
  - 27 Xiang W, Ke Z, Zhang Y, Cheng GH, Irwan ID, Sulochana KN, Potturi P, Wang Z, Yang H, Wang J, Zhuo L, Kini RM, Ge R. Isthmin is a novel secreted angiogenesis inhibitor that inhibits tumour growth in mice. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 359-374 [PMID: 19874420 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00961.x]
  - 28 Yuan B, Xian R, Ma J, Chen Y, Lin C, Song Y. Isthmin inhibits glioma growth through antiangiogenesis in vivo. *J Neurooncol* 2012; 109: 245-252 [PMID: 22772605 DOI: 10.1007/s11060-012-0910-8]
  - 29 Yang D, Jiang Y, He FC. [KAP-1, a scaffold protein in transcription regulation]. *Yi Chuan* 2007; 29: 131-136 [PMID: 17369165]
  - 30 Hu G, Kim J, Xu Q, Leng Y, Orkin SH, Elledge SJ. A genome-wide RNAi screen identifies a new transcriptional module required for self-renewal. *Genes Dev* 2009; 23: 837-848 [PMID: 19339689 DOI: 10.1101/gad.1769609]
  - 31 Fazio TG, Huff JT, Panning B. An RNAi screen of chromatin proteins identifies Tip60-p400 as a regulator of embryonic stem cell identity. *Cell* 2008; 134: 162-174 [PMID: 18614019 DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.031]
  - 32 Wolf D, Goff SP. TRIM28 mediates primer binding site-targeted silencing of murine leukemia virus in embryonic cells. *Cell* 2007; 131: 46-57 [PMID: 17923087 DOI: 10.1016/j.cell.2007.07.026]
  - 33 Seki Y, Kurisaki A, Watanabe-Susaki K, Nakajima Y, Nakanishi M, Arai Y, Shiota K, Sugino H, Asashima M. TIF1beta regulates the pluripotency of embryonic stem cells in a phosphorylation-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 10926-10931 [PMID: 20508149 DOI: 10.1073/pnas.0907601107]
  - 34 Cammas F, Herzog M, Lerouge T, Chambon P, Losson R. Association of the transcriptional corepressor TIF1beta with heterochromatin protein 1 (HP1): an essential role for progression through differentiation. *Genes Dev* 2004; 18: 2147-2160 [PMID: 15342492 DOI: 10.1101/gad.302904]
  - 35 Ho J, Kong JW, Choong LY, Loh MC, Toy W, Chong PK, Wong CH, Wong CY, Shah N, Lim YP. Novel breast cancer metastasis-associated proteins. *J Proteome Res* 2009; 8: 583-594 [PMID: 19086899 DOI: 10.1021/pr8007368]

## 同行评价

本文选题较为新颖, 研究方法合理, 对胰腺癌干细胞相关差异表达蛋白的探讨具有一定的创新, 有重大科研意义。

- 36 Yokoe T, Toiyama Y, Okugawa Y, Tanaka K, Ohi M, Inoue Y, Mohri Y, Miki C, Kusunoki M. KAP1 is associated with peritoneal carcinomatosis in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 821-828 [PMID: 19898899 DOI: 10.1245/s10434-009-0795-8]
- 37 Han B, Stockwin LH, Hancock C, Yu SX, Hollingshead MG, Newton DL. Proteomic analysis of nuclei isolated from cancer cell lines treated with indenoloquinoline NSC 724998, a novel topoisomerase I inhibitor. *J Proteome Res* 2010; 9: 4016-4027 [PMID: 20515076 DOI: 10.1021/pr100194d]
- 38 Venkov CD, Link AJ, Jennings JL, Plieth D, Inoue T, Nagai K, Xu C, Dimitrova YN, Rauscher FJ, Neilson EG. A proximal activator of transcription in epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2007; 117: 482-491 [PMID: 17273560 DOI: 10.1172/JCI29544]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.



# 血清 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶与多种代谢异常及其聚集的相关性

南宗焕, 熊英环, 朴鲜女, 方今女

南宗焕, 熊英环, 朴鲜女, 方今女, 延边大学医学院预防医学教研部 吉林省延吉市 133002

南宗焕, 主要从事慢性病病因流行病学方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 30260098, 30860244

吉林省教育厅基金资助项目, No. 2008-2

作者贡献分布: 此课题由方今女设计; 现场流行病学调查及资料分析由南宗焕、熊英环及朴鲜女完成; 论文写作由南宗焕与方今女完成.

通讯作者: 方今女, 教授, 133002, 吉林省延吉市公园路977号, 延边大学医学院预防医学教研部. jnfang@ybu.edu.cn

电话: 0433-2435167

收稿日期: 2012-10-09 修回日期: 2012-12-26

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Relationship between serum levels of gamma-glutamyl transferase and multiple metabolic disorders and their clustering

Zong-Huan Nan, Ying-Huan Xiong, Xian-Nv Piao, Jin-Nv Fang

Zong-Huan Nan, Ying-Huan Xiong, Xian-Nv Piao, Jin-Nv Fang, Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Yanbian University, Yanji 133002, Jilin Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 30260098 and 30860244; and the Foundation of Education Department of Jilin Province, No. 2008-2

Correspondence to: Jin-Nv Fang, Professor, Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Yanbian University, 977 Gongyuan Road, Yanji 133000, Jilin Province, China. jnfang@ybu.edu.cn

Received: 2012-10-09 Revised: 2012-12-26

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To analyze the relationship between serum levels of gamma-glutamyl transferase (GGT) and multiple metabolic disorders and their clustering in Korean and Han men in Yanbian rural areas.

**METHODS:** A population-based cross-sectional study was conducted. In total, 3 416 subjects, ranging in age from 30 to 70 years, were included. The height, weight, waist circumference and blood pressure were measured. Serum levels of GGT, lipids and glucose were measured after a 12-hour fast.

**RESULTS:** The detection rate of elevated GGT

was 26.1% in Korean and 13.9% in Han men, and the age-adjusted detection rate was 27.2% and 13.8%, respectively, which showed a significant ethnic difference. Univariate analysis showed that elevated GGT in Korean men was correlated with age, drinking, hypertension, high TC, high TG, low HDL-C, general obesity, central obesity and MS, while elevated GGT in Han men was correlated with education level, smoking, drinking, hypertension, high TC, high TG, central obesity and MS. Multivariate logistic analysis showed that elevated GGT was closely related with age, drinking, hypertension, central obesity, high-TC, high-TG, MS and nationality, and dose-response relationship was seen between elevated GGT and age and drinking. The prevalence of elevated GGT increased with the increase in the number of metabolic disorders in both nationalities.

**CONCLUSION:** There was a significant difference in the prevalence of elevated GGT between Korean and Han men. Elevated GGT was closely related with multiple metabolic disorders and their clustering.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Gamma-glutamyl transferase; Metabolic disorder; Relationship; Nationality

Nan ZH, Xiong YH, Piao XN, Fang JN. Relationship between serum levels of gamma-glutamyl transferase and multiple metabolic disorders and their clustering. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 153-159

## 摘要

**目的:** 分析延边地区朝鲜族和汉族男性血清 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(glutamyl transferase, GGT)与多种代谢异常及其聚集的相关性.

**方法:** 于2009-07/2010-07在延边地区安图县采取整群抽样方法选取30-70岁朝鲜族和汉族男性人群3 416例, 收集一般特征、吸烟、饮酒等信息, 测量身高、体质量、腰围、血压, 准确测定清晨空腹(禁食12 h)静脉血GGT、血脂及血糖.

## ■背景资料

既往认为 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(GGT)升高多系肝功能损害或过度饮酒所致, 而近年来则认为, GGT升高与MS及其组分的患病危险密切相关, 且对这些疾病的早期诊断与患病风险的预测具有重要意义.

## ■同行评议者

李淳, 副教授, 汕头大学医学院病理学

## ■研究前沿

由于GGT检测方便、价格低廉,他可以作为MS及心血管疾病发生风险的筛选指标,且能在疾病预防及预测中可具有广泛的应用前景。GGT升高与MS及其组分密切相关,但是GGT与MS之间的具体联系机制尚不完全明确。

**结果:** (1)朝鲜族和汉族男性GGT升高者的检出率分别为26.1%和13.9% ( $\chi^2 = 49.004$ ,  $P < 0.01$ ), 其年龄调整检出率分别为27.2%和13.8% ( $U = 77.011$ ,  $P < 0.01$ ); (2)单因素分析显示,朝鲜族男性的年龄、饮酒、高血压、高TC血症、高TG血症、低HDL-C血症、整体型肥胖、腹型肥胖及MS与GGT升高有关联,汉族男性的文化程度、吸烟、饮酒、高血压、高TC血症、高TG血症、腹型肥胖及MS与GGT升高有关联; (3)多因素Logistic回归分析显示,本地区男性的年龄、饮酒、高血压、腹型肥胖、高TC血症、高TG血症、MS和民族(朝鲜族)与GGT升高呈正相关,其中年龄和饮酒频率对GGT升高的影响具有剂量反应关系; (4)朝鲜族与汉族男性GGT升高者检出率均随着多种代谢异常聚集程度的增加呈增加趋势,其增加趋势有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

**结论:** (1)本地区朝鲜族男性GGT升高检出率明显高于汉族; (2)本地区男性GGT升高与多种代谢异常及其聚集密切相关,且随着多种代谢异常聚集程度的增加呈增加趋势。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:**  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶; 代谢异常; 相关性; 民族

南宗煥, 熊英环, 朴鲜女, 方今女. 血清 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶与多种代谢异常及其聚集的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 153-159

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/153.asp>

## 0 引言

近年来,国内的大量研究认为 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(glutamyl transferase, GGT)升高与代谢综合征及其组分的患病危险密切相关,且对这些疾病的早期诊断与患病风险的预测具有重要意义<sup>[1-7]</sup>。据调查<sup>[8-12]</sup>,延边地区成人高血压病、血脂异常、糖代谢异常、肥胖以及代谢综合征的患病水平均高于全国的平均水平,有些代谢异常病尚属较高发地区,而且出现明显的民族差异。另外,延边地区不同民族居民的饮酒情况<sup>[13]</sup>及心脑血管疾病死亡水平<sup>[14]</sup>也出现明显的差异。目前延边地区尚无关于血清GGT升高与多种代谢异常及其聚集相关性的研究,本文旨在了解汉族和朝鲜族GGT升高与多种代谢异常及其聚集的相关性,以阐明该地区高发多种代谢异常及其聚集以及其种族差异提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 于2009-07/2010-07在延边地区安图县

采取简单随机抽样的方法抽取2个镇,然后采用整群抽样的方法抽取各镇内选取30-70岁全部朝鲜族和汉族男性。本研究源人群总数应为4 012人,其中排除外出打工人员、混血民族(直系亲属无异族通婚,便于准确比较民族之间的差异)、患有严重的代谢性疾病和其他器质性疾病的人群及不愿参与本次健康调查者,最终共3 416(占源人群总数85.1%)例为本次的研究对象。本研究方案经过延边大学附属医院伦理委员会审查批准,并获得研究对象的知情同意签字。进入分析的总人群中,朝鲜族为1 848名(占53.3%),其平均年龄为53.05岁 $\pm$ 10.08岁;汉族为1 618名(占46.7%),其平均年龄为49.64岁 $\pm$ 10.40岁。

**1.2 方法** 采用家访问调查和健康体检收集本次调查相关信息。

**1.2.1 问卷调查:** 调查开始前,对所有调查人员进行严格的培训,规范调查内容、操作流程及方法,并按统一制定的调查表(内容包括研究对象的一般特征、吸烟、饮酒、疾病家族史及本人既往史等)进行家访问调查。

**1.2.2 体格检查:** 所有研究对象均在清晨空腹安静状态下进行体格检查,由统一的仪器和检查者来完成。其内容包括: (1)测量身高(height, Ht)、体重(weight, Wt)和腰围(waist circumference, WC)。要求研究对象免冠、脱鞋、穿内衣,自然站立,腰围的测量分别在肋骨下缘水平面上; (2)血压: 测量清晨空腹未服高血压药的情况下的血压,按照国际标准测量血压,选用台式血压计,休息10 min,端坐位,测量左右上臂血压,以Korotkoff第1音位收缩压,第5音(消失音)为舒张压,连续测量2次,每次间隔5 min,取2次测量结果的平均值; (3)生化指标: 现场抽取禁食12 h的静脉血,2 h以内完成血清分离,8 h以内送往延边大学附属医院检验科完成测定。血清 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(glutamyl transferase, GGT)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及血糖(fasting blood glucose, FBG)等指标采用日立-7600-010全自动生化分析仪测定,本次检测用试剂盒批内与批间变异度均 $< 5\%$ 。

**1.2.3 各种指标的判定标准:** (1)吸烟指标: 按吸烟指数(平均每日吸烟支数 $\times$ 吸烟年限)评分分为4组,即1组为不吸烟; 2组为吸烟指数 $\leq 300$ ; 3组为 $300 <$ 吸烟指数 $\leq 600$ ; 4组为吸烟指数 $> 600$ ; (2)饮酒指标: 按照饮酒的频率分为5组,即1组为不饮酒、2组为1-2次/mo、3组为1次/wk、4组为2-3次/wk、5组为4次/wk及以上; (3)文化程

表 1 朝鲜族和汉族男性人群不同年龄别GGT升高检出率

民族	n	GGT升高检出率 n(%)					$\chi^2$ 值	粗检出率 n (%)	年龄调整 检出率(%)
		30岁-	40岁-	50岁-	60岁-	70岁-			
朝鲜族	1 848	26(17.3)	168(29.1)	164(24.0)	56(17.6)	6(5.0)	18.621	420(22.7)	21.5
汉族	1 618	20(6.9)	56(9.8)	56(10.8)	18(10.1)	6(9.4)	1.498	156(9.6)	8.9
$\chi^2$ 值								106.607 <sup>b</sup>	
U值									81.218

度:按照接受系统教育的文化程度分为5组,即0组为文盲、1组为小学文化程度、3组为初中文化程度、4组为高中文化程度、5组为大学及以上文化程度;(4)GGT异常的诊断标准:延边大学附属医院检验科的GGT试剂盒正常值范围为8.0-58.0 U/L,且本次研究GGT>58.0为GGT升高;(5)MS诊断标准:按照2007年《中国成人血脂异常防治指南》推荐的诊断标准(GCADP标准)<sup>[15]</sup>,以下5个组分中具备3个或3个即可判定为MS:(1)腹型肥胖:WC>90 cm(男),>85 cm(女);(2)高TG血症: TG $\geq$ 1.70 mmol/L(150 mg/dL);(3)低HDL-C血症: HDL-C<1.04 mmol/L(40 mg/dL);(4)高血压: SBP/DBP $\geq$ 130/85 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),将血压已被控制的和近2 wk内服用或正在服用降压药的高血压患者除外;(5)高血糖:空腹血糖 $\geq$ 6.1 mmol/L(110 mg/dL);(6)高TC<sup>[15]</sup>: TC $\geq$ 6.22 mmol/L(240 mg/dL);(7)整体型肥胖:以体质量指数(body mass index, BMI) $\geq$ 24 kg/m<sup>2</sup>为整体型超质量及肥胖。

**统计学处理** 所有收集的资料输入计算机,建立数据库,采用SPSS17.0统计学软件进行处理及分析.计数资料计算粗患病率,以延边朝鲜族自治州2000年第5次人口普查资料中的相应年龄段的人口数作为标准人口计算标准化患病率(直接法),其粗率和标准化率的比较采用 $\chi^2$ 检验和U检验;GGT升高与多种代谢异常及其聚集现象的关系采用单因素及多因素Logistic回归分析。

## 2 结果

**2.1 GGT异常检出率** 朝鲜族和汉族男性GGT升高的粗检出率分别为26.1%和13.9%,其年龄调整率分别为27.2%和13.8%,且朝鲜族均显著高于汉族.朝鲜族男性各年龄组的GGT升高检出率比较差异有统计学意义,而汉族男性比较差异无统计学意义(表1)。

**2.2 GGT升高与多种代谢异常及其聚集的单因素分析** 汉族男性的GGT升高检出率随文化程度

的升高而降低,却随饮酒频率及吸烟指数的升高而升高,其降低或升高趋势均有统计学意义;朝鲜族男性的GGT升高者检出率随饮酒频率和吸烟指数的升高而升高,其升高趋势均有统计学意义(表2)。

朝鲜族和汉族男性高血压组、高血糖组、高TC血症组、高TG血症组、腹型肥胖组及MS组的GGT升高检出率均高于正常对照组,其差异均有统计学意义.朝鲜族男性低HDL-C血症组和整体型肥胖组的GGT升高检出率均高于正常对照组,而汉族不同组间比较差异无统计学意义(表3)。

**2.3 GGT异常与多种代谢异常及其聚集的多因素分析** 非条件多因素Logistic分析结果显示,与70岁年龄组相比,60岁组的OR值(95%CI)为2.200(0.827-5.853)、50岁为3.660(1.507-8.892)、40岁为2.916(1.203-7.072)、30岁为1.975(0.775-5.032);朝鲜族GGT升高的检出率显著高于汉族,其OR值(95%CI)为2.241(1.658-3.030);随饮酒频率的升高GGT升高的检出率呈升高趋势,与不饮酒者相比,1-2次/mo组的OR值(95%CI)为2.312(1.321-4.046)、1次/wk组为3.060(1.544-6.061)、2-3次/wk组为2.465(1.442-4.216)、 $\geq$ 4次/wk组为4.196(2.913-6.044);吸烟指数>300以上组的GGT升高的检出率明显增高;随文化程度的增高GGT升高的检出率呈下降趋势;高血压、腹型肥胖、高TC血症、高TG血症及MS者GGT升高的检出率显著高于正常对照组,其OR值(95%CI)分别为1.625(1.169-2.257)、1.320(0.988-1.764)、2.210(1.332-3.669)、2.834(2.119-3.792)和2.671(2.020-3.531,表4)。

**2.4 多种代谢异常聚集与GGT异常** 朝鲜族无代谢异常、1种代谢异常、2种代谢异常、3种代谢异常和4种以上代谢异常人群GGT升高的检出率分别为8.0%、14.3%、21.3%、27.7%和40.5%,汉族分别为2.2%、7.0%、9.3%、16.5%

## ■ 相关报道

由于遗传背景及环境因素的影响,不同地区及不同特征人群的GGT升高者检出率不尽相同。GGT升高与MS及心血管疾病发生之间可能的联系机制是GGT通过参与IR、氧化应激、慢性炎症等过程促使MS及心血管疾病的发生。



## ■创新盘点

本文以较大样本及不同民族群体为研究对象,比较延边地区朝鲜族和汉族男性GGT升高的检出率,分析本地区GGT升高与多种代谢异常及其聚集现象的相关性,以此阐明本地区高发代谢异常病及其种族差异的可能原因。

表 2 朝鲜族和汉族男性GGT升高与一般特征的单因素分析

相关因素	朝鲜族				汉族			
	调查人数	升高例数(n)	检出率(%)	趋势 $\chi^2$ 值	调查人数	升高例数(n)	检出率(%)	趋势 $\chi^2$ 值
文化程度				1.527				6.313
文盲	158	34	21.5		278	38	13.7	
小学文化	282	48	17.0		284	24	8.5	
初中毕业	796	200	25.1		578	58	10.0	
高中毕业、中大专	512	112	21.9		414	34	8.2	
大学及以上	100	26	26.0		64	2	3.1	
饮酒频率				68.245				60.403
不饮	580	66	11.4		706	28	4.0	
1-2次/mo	188	42	22.3		108	6	5.6	
1次/wk	96	20	20.8		48	8	16.7	
2-3次/wk	186	48	25.8		128	8	6.3	
≥4次/wk	798	244	30.6		628	106	16.9	
吸烟支数				24.327				4.806
不吸	518	88	17.0		624	48	7.7	
≤300/d	442	86	19.5		414	38	9.2	
≤600支/d	702	190	27.1		484	62	12.8	
>600支/d	186	56	30.1		96	8	8.3	

表 3 朝鲜族和汉族GGT升高与多种代谢异常及其聚集现象的单因素分析

相关因素	朝鲜族				汉族			
	调查人数	升高例数(n)	检出率(%)	$\chi^2$ 值	调查人数	升高例数(n)	检出率(%)	$\chi^2$ 值
高血压				21.245 <sup>b</sup>				21.112 <sup>b</sup>
无	538	84	15.6		654	36	5.5	
有	1294	330	25.5		954	118	12.4	
高血糖				0.460				12.239 <sup>b</sup>
无	1602	358	22.3		1430	124	8.7	
有	230	56	24.3		178	30	16.9	
高TC血症				45.405 <sup>b</sup>				6.389
无	1732	364	21.0		1514	138	9.1	
有	100	50	50.0		94	16	17.0	
高TG血症				97.329 <sup>b</sup>				64.156 <sup>b</sup>
无	1140	172	15.1		1186	72	6.1	
有	692	242	35.0		422	82	19.4	
低HDL-C血症				0.184				0.048
无	840	186	22.1		780	76	9.7	
有	992	228	23.0		828	78	9.4	
整体型肥胖				8.790 <sup>b</sup>				1.095
无	1396	294	21.1		1172	118	10.1	
有	430	120	27.9		432	36	8.3	
腹型肥胖				32.169 <sup>b</sup>				0.494
无	1130	206	18.2		1146	106	9.2	
有	702	208	29.6		462	48	10.4	
MS				57.200 <sup>b</sup>				33.627 <sup>b</sup>
无	1260	222	17.6		1272	94	7.4	
有	572	192	33.6		336	60	17.9	

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 无代谢异常组。

表 4 GGT升高与相关因素Logistic回归分析

相关因素	$\beta$ 值	S.E.	Wald $\chi^2$ 值	P值	OR值	95%CI
民族	0.838	0.114	54.125	0.000	2.311	1.849–2.889
年龄			34.085	0.000		
60岁–	0.871	0.361	5.814	0.016	2.390	1.177–4.854
50岁–	1.389	0.326	18.114	0.000	4.010	2.115–7.602
40岁–	1.090	0.324	11.318	0.001	2.974	1.576–5.612
30岁–	0.681	0.341	3.980	0.046	1.976	1.012–3.858
饮酒频率			102.763	0.000		
1–2次/mo	0.795	0.205	15.019	0.000	2.214	1.481–3.310
1次/wk	1.039	0.256	16.509	0.000	2.826	1.712–4.666
2–3次/wk	0.856	0.200	18.243	0.000	2.355	1.589–3.488
$\geq 4$ 次/wk	1.379	0.138	100.412	0.000	3.970	3.030–5.200
吸烟支数			7.270	0.064		
$\leq 300$ /d	0.000	0.149	0.000	0.998	1.000	0.747–1.339
$\leq 600$ 支/d	0.268	0.133	4.087	0.043	1.308	1.008–1.696
$> 600$ 支/d	0.316	0.190	2.774	0.096	1.371	0.946–1.988
文化程度			9.062	0.060		
小学	-0.479	0.199	5.782	0.016	0.619	0.419–0.915
初中	-0.202	0.167	1.451	0.228	0.817	0.589–1.135
高中, 中大专	-0.435	0.183	5.666	0.017	0.647	0.453–0.926
大学及以上	-0.312	0.283	1.213	0.271	0.732	0.421–1.275
高血压	0.441	0.120	13.509	0.000	1.554	1.228–1.965
腹型肥胖	0.263	0.109	5.876	0.015	1.301	1.052–1.610
高TC血症	0.799	0.186	18.473	0.000	2.224	1.545–3.203
高TG血症	1.079	0.107	101.745	0.000	2.942	2.386–3.629
低HDL-C血症	0.181	0.102	3.153	0.076	1.199	0.981–1.464
MS	0.987	0.104	90.467	0.000	2.683	2.189–3.288

TC: 血清总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇.

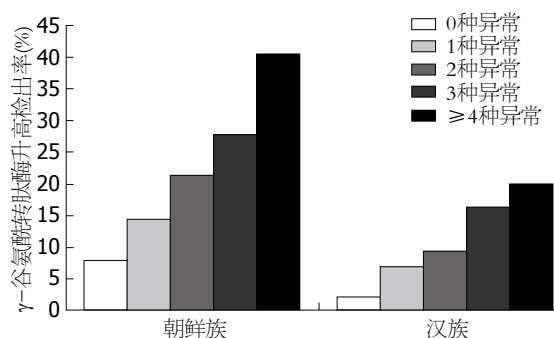


图 1 朝鲜族和汉族多种代谢异常聚集程度与GGT升高检出率(%).

和20.0%, 朝鲜族与汉族GGT升高的检出率随着多种代谢异常聚集程度的增加呈增加趋势, 其增加趋势有统计学意义( $P < 0.01$ , 图1).

### 3 讨论

一般人群的GGT升高者检出率不尽相同. 针对健康体检者进行的国外研究结果显示<sup>[16]</sup>, 男性GGT升高者检出率为18.6%. 国内的一项大样

### ■应用要点

在社区的疾病综合干预和临床实践工作中, 为GGT及其伴发的多种代谢心血管危险因素干预提供实验依据. 目前, GGT在预测心血管事件和MS等方面的价值已被证实, 由于GGT检测方便, 价格低廉, GGT可以作为MS发生风险的筛选指标, 且其在临床中可能有着广泛的应用前景.

本研究结果显示<sup>[17]</sup>, 男性GGT升高者检出率为7.2%; 另一项针对邮政、电信职工进行的体检结果显示<sup>[18]</sup>, 男性GGT升高者检出率为11.7%. 一项针对延边地区电力部门职工(25-74岁)进行的体检结果发现<sup>[19]</sup>, 男性GGT升高者所占比例为25.9%. 本次研究结果表明, 延边农村地区朝鲜族和汉族男性GGT升高者检出率分别为26.1%和13.9%, 且朝鲜族显著高于汉族. 本地区农村成人GGT升高检出率较其他地区高, 且出现明显的民族差异的可能原因是: (1)民族及文化风俗特点及经济因素造成. 延边地区朝鲜族仍然保留着热情好客的传统民俗特点, 群集文化娱乐活动较活跃. 还有, 由于本地地区的特殊的地理特点和语言条件的优势使本地区朝鲜族居民外出务工、出国劳务增多, 使本地区经济文化水平有了一定的提高, 人们的物质生活的大幅度提升, 势必影响及改变了人们的生活方式, 促使人们的社交及娱乐消遣活动增多. 上述这些因素均有可能改变本地区居民的饮酒和吸烟

## ■名词解释

**γ-谷氨酰转移酶 (GGT):** γ-谷氨酰循环中的关键酶, 其功能为催化谷胱甘肽裂解为谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸, 并且在γ-谷氨酰基连接成γ-谷氨酰缩氨酸过程中有水解及促进γ-谷氨酰基合成氨基酸和肽链的作用, 他是反应肝功能异常和过量酒精摄入的传统标志; MS是高血压、血脂异常、糖尿病、肥胖等多种代谢异常的个体聚集现象。

习惯, 使吸烟支数及饮酒频率明显增加。本次调查结果显示, 本地区不同民族男性的吸烟率和饮酒率高于国内的其他地区<sup>[13]</sup>, 且朝鲜族均高于汉族。本次研究单因素和多因素分析结果均显示, 本地区不同民族男性的GGT与吸烟指数和饮酒均相关。本课题组前期小样本的分析结果也显示<sup>[20]</sup>, 饮酒和吸烟与GGT异常患病危险密切相关, 且饮酒频率对GGT异常的影响具有明显的剂量反应关系。国内多数研究结果均显示<sup>[21-24]</sup>, 饮酒与GGT异常关系密切, 其机制是酒精可使肝细胞膜上GGT释放入血引起血清GGT增高, 另外微粒体诱导物可使GGT增高, 而酒精有诱导微粒体酶的作用, 故酒精亦可诱导GGT增高。有研究表明<sup>[25]</sup>, 吸烟不仅与GGT升高有关联, 而且吸烟可能影响GGT升高与MS的关联; (2)代谢异常性疾病在不同地区及民族间的患病水平差异。据前期多项研究结果显示<sup>[8-12]</sup>, 延边地区成人高血压病、血脂异常、糖代谢异常、肥胖以及代谢综合征的患病水平均高于全国的平均水平, 有些代谢异常病尚属较高发地区, 而且出现明显的民族差异。国内多项研究结果均表明<sup>[1-7]</sup>, GGT升高与代谢综合征及其组分的患病危险密切相关, 且对这些疾病的早期诊断与患病风险的预测具有重要意义; (3)据国外的研究报道<sup>[26]</sup>, GGT升高可能存在遗传易感性。至于本地区不同特征人群对GGT水平的遗传易感性的问题, 到目前为止还没有可靠的证据能解释对本地区GGT升高的民族差异。还有其他一些影响GGT异常的因素在不同地区和民族间的分布特征差异, 有待于今后进行系统深入的研究。

冯磊等的体检结果表明<sup>[27]</sup>, 成年人GGT水平随着年龄的增长有增加的趋势, 男性峰值在45-50岁年龄段, 之后呈现出逐渐下降的趋势。于强<sup>[18]</sup>的大样本健康体检结果发现, 男GGT升高的高峰年龄为40岁左右; 而另一项研究结果则显示<sup>[19]</sup>, 男(21-85岁)GGT升高的检出率随着年龄的增长呈逐渐增加的趋势。本次研究GGT升高的年龄分布特征分析结果显示, 其高峰年龄朝鲜族为40岁-年龄段, 汉族为50岁-年龄段; 多因素Logistic回归分析表明, 本地区50岁-年龄段男性GGT升高的危险性最高(OR值高达4.010), 这与其他研究结果基本一致。可能与该年龄男性人群的生活特点有关, 提示应加强干预和管理该年龄人群的生活方式和监测GGT指标。

近年来的诸多研究结果均表明<sup>[1-7]</sup>, GGT升高与MS及其组分密切相关。GGT与MS之间的具

体联系机制尚不完全明确, 但根据已有的研究, 其可能的机制是GGT通过或参与IR<sup>[28,29]</sup>、氧化应激<sup>[30,31]</sup>、慢性炎症<sup>[32-34]</sup>等过程促使MS及心血管疾病的发生。本次调查单因素和多因素分析结果均显示, GGT升高与高血压、腹型肥胖、高TC血症、高TG血症及MS密切相关, 与上述研究结果基本一致。有研究表明<sup>[6]</sup>, GGT水平不仅与MS及其组分密切相关, 而且与MS组分的聚集程度密切相关。本次研究结果也表明, 本地区不同民族男性GGT升高检出率均随着多种代谢异常聚集程度的增加呈增加趋势。

目前, 延边地区经济水平呈上升趋势, 人民物质生活条件也富裕了起来, 尤其农民经济收入的增加使其生活方式发生了很大的变化, 由此推测不合理的膳食结构和不良生活方式导致的GGT升高与其相关多种代谢性疾病, 如高血压、高血糖、高血脂、代谢综合征患病率也可能逐渐升高。提醒我们在今后社区的疾病综合干预和临床实践工作中, 要重视对GGT及其危险因素的干预。目前, GGT在预测心血管事件和MS等方面的价值已被证实, 由于GGT检测方便, 价格低廉, GGT可以作为MS发生风险的筛选指标, 且其在临床中可能有着广泛的应用前景。

## 4 参考文献

- 1 周勇, 樊锦秀, 江雅平, 赖卫强, 李招云. 代谢综合征与GHb及GGT相关性. 浙江医学 2009; 31: 1001-1002
- 2 焦连亨, 蔡钢强. 高血清γ-谷氨酰转移酶对疾病的预示作用. 国际检验医学杂志 2009; 30: 46-48
- 3 吴政, 杨明, 黄春. 老年人谷氨酰转氨酶异常与代谢综合征危险因素及颈动脉硬化关系. 中国老年保健医学杂志 2010; 8: 41-42, 45
- 4 申春梅, 王龙武, 王妹芳. 血清GGT、ALT对2型糖尿病早期诊断价值的初步探讨. 检验医学 2010; 25: 349-351
- 5 李洁茹, 刘伟旗. 血清谷氨酰转移酶与代谢性疾病的关系. 检验医学与临床 2009; 6: 1660-1661
- 6 李英秋, 龙江丽, 张岩, 王向阳. 血清谷氨酰转氨酶与代谢综合征的相关性分析. 中国临床保健杂志 2009; 12: 526-528
- 7 陈秀梅, 卢新政, 占伊扬, 许迪, 郭妍, 宗文纳. 血浆γ-谷氨酰转氨酶与血压水平的关系. 中华高血压杂志 2010; 18: 744-748
- 8 方今女, 金平锡, 周巍, 孙男, 熊英环. 延边朝鲜族自治州朝鲜族和汉族人群血脂异常情况及其相关因素. 中华预防医学杂志 2008; 42: 111-114
- 9 方今女, 金平锡, 崔兰, 周巍, 孙男, 熊英环. 朝鲜族与汉族人群高血压亚型分布特征比较. 中国公共卫生 2008; 24: 257-259
- 10 许梅花, 李跃, 熊英环, 方今女. 农村居民空腹血糖受损及糖尿病患病调查. 中国公共卫生 2011; 27: 188-190
- 11 金香春, 方今女, 黄明爱, 金钟久, 金平锡. 延边农村朝鲜族和汉族居民肥胖类型及相关因素的调查. 中国临床康复 2007; 11: 6908-6911
- 12 熊英环, 南美兰, 方今女. 农村居民代谢综合征不同诊断标准评价. 中国公共卫生 2010; 26: 933-934



- 13 黄明爱, 方今女, 金香春, 金永哲, 许梅花. 延边农村朝鲜族和汉族居民代谢综合征及其相关因素比较. 中国临床康复 2006; 10: 7-9
- 14 吴善玉, 方今女, 全贞玉, 崔莲花, 金昌吉. 延吉市朝鲜族和汉族居民死亡水平分析. 中国卫生统计 2004; 21: 46-47
- 15 中国成人血脂异常防治指南制定联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南. 中华心血管病杂志 2007; 35: 390-419
- 16 Poelzl G, Eberl C, Achraimer H, Doerler J, Pachinger O, Frick M, Ulmer H. Prevalence and prognostic significance of elevated gamma-glutamyltransferase in chronic heart failure. *Circ Heart Fail* 2009; 2: 294-302 [PMID: 19808352 DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.]
- 17 于强. 健康体检血清 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶检测分析. 实验与检验医学 2010; 28: 489-490
- 18 李洁茹, 刘伟旗. 血清谷氨酰转氨酶与代谢性疾病的关系. 检验医学与临床 2009; 19: 1660-1662
- 19 任吉娜. 1 057例健康人血脂、肝功能结果分析. 中国临床实用医学 2008; 2: 73-74
- 20 金永哲, 朴鲜女, 熊英环, 方今女. 延边农村男性居民GGT异常及其相关因素的调查. 中国公共卫生 2012; 28: 909-912
- 21 马文, 王平平, 吉增军, 马正坤. 3135例长期饮酒者血清 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶、甘油三酯、总胆固醇测定结果分析. 国际检验医学杂志 2007; 28: 87-89
- 22 金凤影.  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(GGT)的测定对酒精性肝炎的诊断价值. 中国实用医药 2009; 4: 149-150
- 23 陈晶. 长期饮酒对血清 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶检测结果的影响. 中国实用医药 2009; 4: 127-128
- 24 谭亚君, 陈瑜, 金胜航, 楼滨, 张杰. 酒精摄入量与心血管病危险因子的相关性研究. 浙江大学学报(医学版) 2009; 38: 89-94
- 25 Mason JE, Starke RD, Van Kirk JE. Gamma-glutamyl transferase: a novel cardiovascular risk biomarker. *Prev Cardiol* 2010; 13: 36-41 [PMID: 20021625 DOI: 10.1111/j.1751-7141.]
- 26 Whitfield JB, Zhu G, Nestler JE, Heath AC, Martin NG. Genetic covariation between serum gamma-glutamyltransferase activity and cardiovascular risk factors. *Clin Chem* 2002; 48: 1426-1431 [PMID: 12194918]
- 27 冯磊, 年士艳, 徐文波, 叶丹, 罗曼玲.  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶随年龄及性别变化趋势分析. 临床荟萃 2011; 26: 615-617
- 28 Martins MC, Faleiro LL, Afonso B, Fonseca A. [Association of gamma glutamyltransferase, metabolic syndrome and cardiovascular risk]. *Acta Med Port* 2010; 23: 579-588 [PMID: 20687985]
- 29 Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L, Whincup PH. Hepatic enzymes, the metabolic syndrome, and the risk of type 2 diabetes in older men. *Diabetes Care* 2005; 28: 2913-2918 [PMID: 16306554]
- 30 Lee DH, Blomhoff R, Jacobs DR. Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? *Free Radic Res* 2004; 38: 535-539 [PMID: 15346644]
- 31 Turgut O, Tandogan I. Gamma-glutamyltransferase to determine cardiovascular risk: shifting the paradigm forward. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18: 177-181 [PMID: 21041983]
- 32 Franzini M, Corti A, Martinelli B, Del Corso A, Emdin M, Parenti GF, Glauber M, Pompella A, Paolicchi A. Gamma-glutamyltransferase activity in human atherosclerotic plaques--biochemical similarities with the circulating enzyme. *Atherosclerosis* 2009; 202: 119-127 [PMID: 18486136 DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.03.023]

#### ■同行评价

本课题设计合理, 分析方法恰当, 结果可信. 研究结果对延边地区男性预防和预测心血管事件与MS有一定意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 肝硬化腹水形成机制的研究现状

邵茉莉, 刘冰熔

## ■背景资料

世界范围内肝硬化发病率保持在较高水平, 对人类生命健康具有较大的威胁。在我国, 病毒性肝炎是导致肝硬化的主要致病因素, 尤其以乙型病毒性肝炎肝硬化最常见。肝硬化腹水的形成是门静脉高压和肝功能减退共同作用的结果, 而具体的形成机制尚未明确。对于腹水形成机制的研究有助于指导临床治疗, 具有重大的意义。

邵茉莉, 刘冰熔, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化科 黑龙江省哈尔滨市 150000

作者贡献分布: 本文综述由邵茉莉完成; 刘冰熔负责审校。

通讯作者: 刘冰熔, 教授, 主任医师, 150001, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。shaomoli@163.com

电话: 0451-86296562

收稿日期: 2012-11-20 修回日期: 2013-01-02

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Pathophysiology of ascites formation in liver cirrhosis

Mo-Li Shao, Bing-Rong Liu

Mo-Li Shao, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China  
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. shaomoli@163.com

Received: 2012-11-20 Revised: 2013-01-02

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

Liver cirrhosis has a high morbidity and poses a large threat to human health worldwide. In China, viral hepatitis, especially hepatitis B, is the main pathogenic factor of liver cirrhosis. Ascites formation in cirrhosis is the result of combined action of portal hypertension and liver function impairment, and it is the most prominent clinical manifestation of decompensated cirrhosis. The understanding of pathophysiology of ascites formation can help provide more accurate treatment of this condition so as to alleviate patients' mental and economic burdens.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Ascites; Pathophysiology

Shao ML, Liu BR. Pathophysiology of ascites formation in liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 160-165

## 摘要

目前, 世界范围内肝硬化发病率保持在较高水

平, 对人类生命健康具有较大的威胁。在我国, 病毒性肝炎是导致肝硬化的主要致病因素, 尤其以乙型病毒性肝炎肝硬化最常见。肝硬化腹水的形成是门静脉高压和肝功能减退共同作用的结果, 而腹水的形成是肝硬化发展为肝功能失代偿期最突出的临床表现。对腹水形成机制的研究有助于指导临床更为准确的用药, 以减轻患者的精神及经济压力。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝硬化; 腹水; 形成机制

邵茉莉, 刘冰熔. 肝硬化腹水形成机制的研究现状. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 160-165

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/160.asp>

## 0 引言

肝硬化腹水是肝硬化失代偿期最为突出的临床表现之一。正常人腹腔内有少量游离液体, 大约 50 mL 左右, 起到维持脏器间润滑的作用。而当腹腔内的游离液体超过 200 mL 时称为腹水<sup>[1]</sup>。腹水的形成是慢性肝病自然病程的重要标志, 提示肝硬化肝功失代偿, 预后不佳。腹水的形成是多种因素共同作用的结果。并且所有肝硬化患者腹水形成的病理生理学是相同的以及对利尿剂反应的逐步发展最终导致利尿剂抵抗, 或者顽固性腹水的形成以及对肾功能衰竭, 都只是内脏和系统血管舒张和肾脏血管灌注不足的表现<sup>[2]</sup>。代偿期肝硬化患者十年内约有 50% 进展为腹水形成<sup>[3]</sup>。与无腹水形成的肝硬化失代偿期患者相比, 有腹水形成的患者死亡率明显增高, 约有 15% 的腹水患者在一年内死亡, 44% 的腹水患者在两年内死亡<sup>[4]</sup>。同时, 肝硬化患者腹水形成之后, 患者的生活质量明显下降, 且 5 年生存率降到 50%<sup>[5]</sup>。而假若腹水已进展为难治性腹水, 不进行肝移植的话, 预后将会更差, 2 年生存率下降到 40%-60%<sup>[6]</sup>。对腹水进行治疗不仅改善了患者的生活质量, 同时减少了进展为肝硬化最常见的致死性并发症-自发性细菌性腹膜炎的几率<sup>[7]</sup>。因此, 对肝硬化腹水形成机制进行研究, 从

## ■同行评议者

李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科

而指导临床用药治疗,对改善患者的生活质量和预后有很大的意义。

目前,关于肝硬化腹水的形成机制尚未完全阐明。腹水的形成是一个复杂的过程,主要涉及肝脏、肾脏、血流动力学以及神经激素因子等。腹水形成的主要病理生理学学说包括:灌注不足学说,充盈过度学说,周围动脉扩张学说等<sup>[8]</sup>。这理论并不是完全对立的,而是在某些水平上由相同的病生理原理相联系的,即当身体感知到有效动脉血容量下降时,刺激交感神经系统兴奋,激活精氨酸-抗利尿激素反馈系统及肾素-血管紧张素-醛固酮系统。

### 1 充盈不足学说

经典的灌注不足<sup>[9]</sup>学说主要依据的是Starling液体平衡理论。Starling液体平衡理论是指:由血管内外静水压和胶体渗透压所形成的一种综合平衡。同时,充盈不足学说认为,肝结节的纤维化和再生致使肝静脉流出道梗阻使得肝窦状隙压力增加是腹水形成的始发因素<sup>[10]</sup>,他使得门静脉阻力增加,同时导致肝内及体循环流体静压增加。该学说认为在肝硬化门脉高压时,一方面,门静脉系毛细血管静水压增高和/或血浆胶体渗透压下降,导致毛细血管床的Starling平衡被打破,血管内的液体溢入腹腔。血管内液体丢失致使有效循环血容量降低,经心肺和动脉感受器感应后,导致钠水潴留,但这些潴留的液体并不能恰当的补充血容量,反而进一步潴留于腹腔,形成恶性循环;与此同时淋巴液生成增加,超过了胸导管收集淋巴液进入血液循环的能力,由此导致淋巴液淤滞,从淋巴管漏出,经腹膜脏层和/或肝表面进入腹腔形成腹水<sup>[9]</sup>。另外,阻塞和内脏循环淤血使系统循环阻力降低,导致肾脏的有效动脉血流量降低,同时腹水形成后也使得有效循环血量减少,从而激活RAAS系统,去甲肾上腺素系统及精氨酸加压素系统,使肾小管对钠、水重吸收增加,又进一步促进腹水的形成,也就是说钠水潴留是继发性的<sup>[10,11]</sup>。过度充盈学说假定不恰当的肾脏水钠潴留是造成腹水形成的首发异常情况<sup>[12]</sup>。

但有学者注意到,很多现存的证据与充盈不足理论有矛盾。一方面,几乎所有相关试验均表明,肝硬化者的血容量并不降低,反而恒定高于非肝硬化者。Lieberman等<sup>[12]</sup>应用同位素标志法测定表明,不论有无腹水,肝硬化组血容量都高于非肝硬化者,而且门腔静脉分流术后并未

减少患者血容量,这就说明了总血容量的增加,并不是由于门脉高压导致的内脏血液淤积所引起;另一方面,La Villa等<sup>[13]</sup>的研究表明,肾钠潴留仅与门脉压力升高有关,而门脉压力增高激活RAAS系统,而与体循环动力学无关,也就是说并不是因为“灌注不足”才导致的肾钠潴留。也有相关动物实验表明肾钠潴留先于腹水形成,提示钠潴留是原因而非腹水形成的结果。从而由此提出了第二种学说:“泛滥学说”。

### 2 泛滥学说

泛滥学说<sup>[11]</sup>主要阐述了腹水形成时门脉高压与低血容量的关系。认为肝硬化门脉高压患者腹水形成之前,就已经存在钠水潴留,血容量增加、淋巴液流量增加,充盈过度而“泛滥”于腹腔内,Gattoni等<sup>[14]</sup>的研究证实,实验中肝硬化狗,钠水潴留先于低蛋白血症出现,并且不依赖于门脉高压的存在,由此得出钠水潴留是腹水形成的始动因素,紧接着出现了明显的容量增加后形成腹水。那么,又是什么导致了钠水潴留?Levy等<sup>[15]</sup>认为,肝脏内存在低压性压力感受器,可以向肾小管发出潴钠的信号。即:在肝硬化门脉高压时,由于肝功能改变和肝窦内压增高,从而通过神经体液因素引起肾钠潴留<sup>[16]</sup>继而出现血容量扩张,最后形成腹水。也就是说钠水潴留及血容量扩张是在腹水形成之前就存在的。

当然,也有不支持泛滥学说的证据:肝硬化存在交感神经张力增高,部分实验证明,在腹水形成之前的早期肝硬化鼠,已然存在RAAS活性的增强,而以血容量增加为基础的过度充盈学说,则会抑制交感缩血管系统和RAAS。另外,神经完好、门脉完好的狗,其血容量会扩张18.3%,而去除神经者为12.6%,这至少说明肝肾反射不是肝硬化早期腹水形成前导致钠水潴留的唯一机制。

上述理论表明在腹水形成和增加是多种因素共同作用的结果。这些因素包括肝脏本身的功能状态,肾功能异常,系统循环紊乱以及神经激素的激活。

### 3 周围动脉扩张学说

周围动脉扩张学说<sup>[17]</sup>认为肝硬化时钠水潴留在先,腹水形成在后。此学说于1988年由Schrier<sup>[17]</sup>提出,他认为在肝硬化腹水形成之前,先有周围动脉扩张,后激活缩血管物质、钠水潴留系统和交感神经、肾素-血管紧张素-醛固酮系统以

#### ■研发前沿

近年来,研究发现,根据周围动脉扩张理论,周围和内脏血管的扩张导致了有效血容量的降低和高动力循环状态。由于周围动脉血管扩张激活了血管收缩机制,但其引起强烈的肾血管收缩,阻碍了肾脏的功能。调节血管收缩的中介物是交感神经反应,激活肾素血管紧张素醛固酮系统,增加血管加压素。而涉及全身小动脉扩张的因素,包括:NO、胰高血糖素、前列环素、钾通道、内毒素、细胞因子和腺苷。

#### ■相关报道

近年提出的腹水形成前相学说认为肝硬化、门脉高压所引起的内脏动脉扩张是腹水形成的原因,内脏动脉扩张后,一方面直接影响内脏微循环,促进微循环毛细血管压和滤过系数增加,导致内脏淋巴液形成和回流增多;另一方面内脏动脉扩张、充盈不足则通过神经、体液因素诱导体内钠水潴留,最终导致腹水形成。



### ■创新盘点

本文对近年国内外对肝硬化腹水形成机制的几种学说以及详细病理生理学方面进行了综合的论述,为肝硬化腹水形成机制的进一步研究提供了一定的参考。

及血管加压素等,使肾血管收缩,钠水潴留,从而最终形成腹水。也就是说肝硬化钠水潴留发生在有效动脉血容量减少之后。根据这一理论,门脉高压是起始因素,其引起脾动脉血管扩张并导致脾动脉循环充盈不足,感应动脉血流量减少的动脉受体刺激交感神经系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统和抗利尿激素,引起水钠潴留。在肝硬化早期,脾动脉中度扩张且淋巴系统尚能疏通增加的淋巴液时,一过性水钠潴留维持了动脉循环,抑制了抗钠利尿系统信号和钠潴留,动脉血流量与总细胞外液容量之间维持平衡。随着肝硬化进展,脾动脉明显扩张导致更广泛的动脉充盈不足,水钠潴留日趋严重,潴留的液体从脾循环溢入腹腔和/或从体循环进入间隙组织,此时动脉血流量已不能由增加血浆容量来维持,而血管收缩系统持续激活试图维持动脉血流量,从而加重了肾脏的水钠潴留。结果动脉血流量与总细胞外液间平衡遭到破坏,细胞外液体进行性扩张,动脉血流量不断减少。

目前最为普遍接受的理论是周围动脉血管扩张是腹水形成的始动因素<sup>[15]</sup>。窦状隙门脉压力的增加导致内脏血管舒张,极有可能是由目前尚未确定的血管活性物质所调节的<sup>[18]</sup>。这个过程依次导致系统动脉血管充盈不足,最终增加了内脏毛细血管压及渗透系数<sup>[19]</sup>。晚期肝硬化患者是高动力循环状态伴有系统循环阻力降低,平均动脉压降低及高心输出量<sup>[20]</sup>。扩张的内脏血管床是扰乱系统循环的主要血管源。肝硬化患者主要提供给肾脏血流的其他血管床收缩<sup>[21]</sup>,肾血管收缩最终导致肾功能受损,钠重吸收,水潴留,腹水持续生成。

## 4 选择性肝肾学说

该学说于1997年提出,也称为肝肾相互作用学说<sup>[22]</sup>。该学说把肝硬化腹水发展分成4个阶段:腹水前期、反应性腹水期、顽固性腹水期和肝肾综合征期。对于未形成腹水的肝硬化患者,即腹水前期的肝硬化患者,既无体循环动脉的扩张亦无充盈不足,但由于肝功能不全和门静脉高压通过神经反射已经影响了肾对钠的处理,而此时的钠水潴留具有自限性。反应性腹水期肾脏钠水潴留明显增加而失代偿,总血容量增加,继之大量舒血管物质释放引起全身周围动脉扩张,然后通过周围动脉扩张学说方式出现腹水。顽固性腹水期随着总血管容量的增加,有效循环血量相对不足,刺激容量感受器及肾小

球旁装置,而后激活RAAS并刺激ADH的生成。由于外周血管对血管活性物质反应敏感性低而对血管活性物质反应敏感性高导致肾血管收缩、肾血流减少、肾脏对钠水重吸收增加,以补充已经扩张的血管的血容量。肝肾综合征期肝硬化失代偿的患者为血容量的回补不足以有效的抑制交感缩血管系统激活及钠水潴留激素的进一步释放,从而导致肾血管进一步收缩、肾脏严重低灌注、严重钠水潴留和肾功能衰竭。也就是说肝功能不全和门静脉高压引起的肝肾神经反射在肝硬化腹水形成中为始动因素。

近年来, Eriksson等<sup>[23]</sup>提出腹水和血清中的增加的细胞因子不断地参与炎症反应,从而引发持续进行的系统炎症反应。他认为,这也是导致肝硬化腹水患者肝功能障碍的发生和发展以及腹水体积持续增加的原因之一。

各种因素导致肝细胞损伤,发生变性坏死,进而肝细胞再生和纤维结缔组织增生,肝纤维化形成,最终发展为肝硬化。上述病理改变造成血管床缩小,闭塞和扭曲,血管受到再生结节挤压,肝内门静脉、肝静脉和肝动脉三者分支之间失去正常关系,并且出现交通吻合支等。肝脏血液循环紊乱是形成门静脉高压的病理基础,并且加重肝细胞的缺血缺氧,促进肝硬化病变的进一步发展。肝窦的毛细血管化在肝细胞损害和门静脉高压的发生发展中起重要的作用。早期的纤维化是可逆的,假小叶形成时即已为不可逆性。

肝脏受损的解剖学形态非常重要。由于肝静脉栓子而形成的肝后性门静脉高压时产生的腹水很难治疗,比如巴德吉亚利综合征<sup>[24]</sup>。另一方面,由于门静脉血栓子导致的门静脉高压而形成腹水的患者,是一种晚期的临床表现,而这些患者的腹水,常较易于控制<sup>[25]</sup>。

首先,门静脉压力增高。正常的门静脉压力为13-24 cm H<sub>2</sub>O之间,平均值为18 cm H<sub>2</sub>O,门静脉高压时,压力大都增至30-50 cm H<sub>2</sub>O。(1)门静脉压力升高,腹腔内血管床静水压增高,即门静脉系统毛细血管床的滤过压增加,组织液回吸收减少而漏入腹腔;(2)门静脉高压时肝窦压升高,大量液体进入Disse间隙,造成淋巴液生成增加,超过淋巴负荷,肝窦的流体静压有利于液体从肝包膜直接漏入腹腔形成腹水<sup>[26]</sup>。而动物实验表明,门静脉压力每升高一毫米汞柱,肝脏生成的淋巴液量增加60%。

其次,肝硬化患者,窦状小管门静脉高压导致外周动脉扩张,由此引起全身血管阻力降

低,在内脏循环尤为明显.根据周围动脉扩张理论,周围和内脏血管的扩张导致了有效血容量的降低和高动力循环状态<sup>[27]</sup>.由于周围动脉血管扩张激活了目的在于维持血压的血管收缩的机制,但这些引起强烈的肾血管收缩,阻碍了肾脏的功能<sup>[28]</sup>.调节血管收缩的中介物是交感神经反应,激活肾素血管紧张素醛固酮系统,增加血管加压素<sup>[29]</sup>.而涉及全身小动脉扩张的因素,包括:NO、胰高血糖素、前列环素、钾通道、内毒素、细胞因子和腺苷<sup>[30]</sup>.肝硬化患者高浓度的亚硝酸盐和硝酸盐提示NO生成增多,而NO的生成对于外周血管扩张起着重要的作用<sup>[31]</sup>.胰高血糖素的水平也普遍升高,这些使肠系膜循环血管对药物剂量的儿茶酚胺及血管紧张素II脱敏,导致血管舒张<sup>[32]</sup>.肝硬化长期患者尿中前列腺素排泄增多,表明其在体内的生成增加<sup>[33]</sup>.活化钾水平增高导致血管舒张的原因是血管平滑肌细胞的超极化,从而证明了这些通道的激活对于肝硬化患者的血管舒张起重要作用<sup>[34]</sup>.内毒素导致内脏血管舒张可能是有细胞因子和NO介导的,肝硬化失代偿期患者内毒素含量的增加可能与细菌移位及门体分流有关<sup>[35]</sup>.而腺苷发挥双重作用,扩张内脏血管,收缩肾血管<sup>[36]</sup>.假定NO的释放来自于3个不同的部位:血管内皮<sup>[37]</sup>;血管平滑肌细胞;内脏毛细血管内广泛分布的去甲肾上腺素能和胆碱能神经系统<sup>[38]</sup>.有学者提议,在肝硬化腹水的动物模型中,NO合酶的激活是由于肠腔内的细菌移位而导致的<sup>[39]</sup>.因此,NO在内脏血管床释放,并集中在发生舒张的血管,从而逐渐出现了之前讨论的许多机制.Spahr等<sup>[40]</sup>坚持认为,NO对于肝硬化患者的动脉血管扩张有重要的作用.他们给肝硬化失代偿期的患者使用氮(克)-甲基-L-精氨酸阻断NO合酶,证明可以增加系统血液循环阻力,并且降低了心输出量,肝血流量和血浆肾素活性.在老鼠的肝硬化模型的研究中表明,相对于内脏循环中过剩的NO,在窦状隙和窦后性区域肝内生成的NO被严重地破坏,但是在窦前性区域保存很好.Loureiro-Silva等<sup>[41]</sup>猜测,在肝硬化患者中,NO含量的减少,尤其是在肝内循环的窦前性区域的减少,促进了对于 $\alpha$ -肾上腺素水平增高的过度反应.假定的窦状隙高压的加剧,如此,又加重了腹水的生成.即在肝硬化腹水时,NO调节的扩血管系统被激活,尽管激活NO生成的机制尚不明确.但是NO的生成确实导致有效循环血量的减少<sup>[42]</sup>.从而导致肝硬化时机体处于高心输出量,低外

周阻力的高动力循环状态,此时内脏小动脉扩张<sup>[43]</sup>,大量血液滞留于扩张的血管内,虽然门静脉内血流量增加,但中心血流量却是降低的,即有效循环血容量下降,肾小球旁系统感知低血容量,故而激活了交感神经系统,肾素血管紧张素醛固酮系统,精氨酸加压素系统<sup>[44]</sup>,从而刺激醛固酮分泌增多,导致肾小球滤过率下降及肾钠水重吸收增加,发生钠水潴留而加剧腹水形成.肝硬化患者水潴留增多是多种因素导致的,涉及过高水平的血管加压素,减少呈递给亨氏套的肾小球滤过物和前列腺素合成受损.而水排泄受损主要发生在进展期肝硬化患者<sup>[8]</sup>.以上这些表现中,起最主要作用的是血浆中高含量的血管加压素.肝硬化患者肾血管收缩,与呈递给海氏祥的髓攀升支的肾小球滤过物的体积减小有关,从而进一步减少了自由水的排泄<sup>[45]</sup>.第三个主要导致水潴留的因素是肾前列腺素PGI<sub>2</sub>与PGE<sub>2</sub>合成的相互转变.相关实验表明PGE<sub>1</sub>可降低们静脉高压<sup>[46]</sup>,肝硬化患者的PGI<sub>2</sub>和PGE<sub>2</sub>的合成减少,而血管加压素的作用有所增强.在疾病的最终阶段,严重的肾血管收缩后来甚至导致了肝肾综合征<sup>[17]</sup>.

再次,肝硬化患者,肝脏淋巴液的生成超过了淋巴管的引流能力,从而形成腹水<sup>[47]</sup>.肝窦状隙的渗透性降低,随着时间的进展,肝脏淋巴液中蛋白质的含量不断降低<sup>[48]</sup>.肝硬化时肝脏合成蛋白减少,导致低蛋白血症,当白蛋白<30 g/L时,血管内血浆胶体渗透压下降<sup>[49]</sup>,致使血管内液体进入组织间隙,也就是说促使血管内液体从肝脏表面及肠浆膜面等处漏入腹腔,形成腹水.

由于各种原因导致的诸如以下这些物质的缺乏或者增多,如心房钠尿肽相对不足及机体对其敏感性下降,抗利尿激素分泌增加等等,同样可能是导致钠水潴留,腹水形成的一些相关因素.

## 5 结论

虽然对于肝硬化腹水形成机制已经进行了很多研究,更加有利于对腹水的诊断和治疗,然而预后仍然没有达到预期的效果,目前最有效的治疗当属于肝脏移植,而目前我国的肝源仍存在很大的问题,所以仍然需要对腹水形成机制进行更加详细的研究,指导临床治疗,最终改善患者的生活质量并提高5年生存率.

## 6 参考文献

- 1 梁扩寰,李绍白.门静脉高压症.第1版.北京:人民军医出版社,1999:197

## ■应用要点

目前,世界范围内肝硬化发病率保持在较高水平,而肝硬化腹水的形成是肝硬化患者病情进展的重要标志.腹水的形成给患者及家属带来巨大的压力.而对于腹水形成机制进行研究从而指导临床治疗,会改善患者的生活质量.并有可能阻止腹水的生成,从而降低腹水的发病率,提高肝硬化患者的生存率.

## ■名词解释

腹水: 正常状态下, 人体腹腔内有少量液体(一般少于200 mL), 对肠道蠕动起润滑作用。任何病理状态下导致腹腔内液体量增加超过200 mL时, 称为腹水。

- 2 Ginès P, Cárdenas A. The management of ascites and hyponatremia in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 43-58 [PMID: 18293276 DOI: 10.1055/s-2008-1040320]
- 3 Sandhu BS, Sanyal AJ. Management of ascites in cirrhosis. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 715-732, viii [PMID: 16207572 DOI: 10.1016/j.cld.2005.07.008]
- 4 Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- 5 Planas R, Montoliu S, Ballesté B, Rivera M, Miquel M, Masnou H, Galeras JA, Giménez MD, Santos J, Cirera I, Morillas RM, Coll S, Solà R. Natural history of patients hospitalized for management of cirrhotic ascites. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1385-1394 [PMID: 17081806 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.08.007]
- 6 Salerno F, Cammà C, Enea M, Rössle M, Wong F. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for refractory ascites: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology* 2007; 133: 825-834 [PMID: 17678653 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.020]
- 7 Garcia-Tsao G. Current management of the complications of cirrhosis and portal hypertension: variceal hemorrhage, ascites, and spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 2001; 120: 726-748 [PMID: 11179247 DOI: 10.1053/gast.2001.22580]
- 8 Sabri M, Saps M, Peters JM. Pathophysiology and management of pediatric ascites. *Curr Gastroenterol Rep* 2003; 5: 240-246 [PMID: 12734047 DOI: 10.1007/s11894-003-0026-6]
- 9 Witte MH, Witte CL, Dumont AE. Progress in liver disease: physiological factors involved in the causation of cirrhotic ascites. *Gastroenterology* 1971; 61: 742-750 [PMID: 5117639]
- 10 Wongcharatrawee S, Garcia-Tsao G. Clinical management of ascites and its complications. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 833-850 [PMID: 11565143 DOI: 10.1016/S1089-3261(05)70194-X]
- 11 Schrier RW. Pathogenesis of sodium and water retention in high-output and low-output cardiac failure, nephrotic syndrome, cirrhosis, and pregnancy (2). *N Engl J Med* 1988; 319: 1127-1134 [PMID: 3050523 DOI: 10.1056/NEJM198810273191705]
- 12 Lieberman FL. Overflow theory of ascites formation. *Gastroenterology* 1989; 96: 274 [PMID: 2909434]
- 13 La Villa G, Salmerón JM, Arroyo V, Bosch J, Ginés P, García-Pagán JC, Ginés A, Asbert M, Jiménez W, Rivera F. Mineralocorticoid escape in patients with compensated cirrhosis and portal hypertension. *Gastroenterology* 1992; 102: 2114-2119 [PMID: 1587432]
- 14 Gattoni A, Marotta F, Vangieri B, Pisani G, Cristiano F. Hepatorenal syndrome. *Clin Ter* 2004; 155: 375-389 [PMID: 15700631]
- 15 Levy M, Wexler MJ. Hepatic denervation alters first-phase urinary sodium excretion in dogs with cirrhosis. *Am J Physiol* 1987; 253: F664-F671 [PMID: 3661718]
- 16 Kostreva DR, Castaner A, Kampine JP. Reflex effects of hepatic baroreceptors on renal and cardiac sympathetic nerve activity. *Am J Physiol* 1980; 238: R390-R394 [PMID: 7377377]
- 17 Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodés J. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 1988; 8: 1151-1157 [PMID: 2971015 DOI: 10.1002/hep.1840080532]
- 18 Fernandez-Seara J, Prieto J, Quiroga J, Zozaya JM, Cobos MA, Rodriguez-Eire JL, Garcia-Plaza A, Leal J. Systemic and regional hemodynamics in patients with liver cirrhosis and ascites with and without functional renal failure. *Gastroenterology* 1989; 97: 1304-1312 [PMID: 2676683]
- 19 Korthuis RJ, Kinden DA, Brimer GE, Slattey KA, Stogsdill P, Granger DN. Intestinal capillary filtration in acute and chronic portal hypertension. *Am J Physiol* 1988; 254: G339-G345 [PMID: 3348400]
- 20 Bernardi M, Fornalè L, Di Marco C, Trevisani F, Baraldini M, Gasbarrini A, De Collibus C, Zacà F, Ligabue A, Colantoni A. Hyperdynamic circulation of advanced cirrhosis: a re-appraisal based on posture-induced changes in hemodynamics. *J Hepatol* 1995; 22: 309-318 [PMID: 7608482 DOI: 10.1016/0168-8278(95)80284-3]
- 21 Maroto A, Ginès P, Arroyo V, Ginés A, Saló J, Clària J, Jiménez W, Bru C, Rivera F, Rodés J. Brachial and femoral artery blood flow in cirrhosis: relationship to kidney dysfunction. *Hepatology* 1993; 17: 788-793 [PMID: 8491446]
- 22 范开春, 程留芳. 肝硬化腹水发生机制. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 180
- 23 Eriksson AS, Gretzer C, Wallerstedt S. Elevation of cytokines in peritoneal fluid and blood in patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 505-509 [PMID: 15086192]
- 24 Plessier A, Valla DC. Budd-Chiari syndrome. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 259-269 [PMID: 18814079 DOI: 10.1055/s-0028-1085094]
- 25 Garcia-Pagán JC, Hernández-Guerra M, Bosch J. Extrahepatic portal vein thrombosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 282-292 [PMID: 18814081 DOI: 10.1055/s-0028-1085096]
- 26 Kravetz D, Bildoza M, Argonz J, Romero G, Korula J, Muñoz A, Suarez A, Terg R. Patients with ascites have higher variceal pressure and wall tension than patients without ascites. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1770-1775 [PMID: 10925983 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.02178.x]
- 27 Schrier RW. Decreased effective blood volume in edematous disorders: what does this mean? *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2028-2031 [PMID: 17568020 DOI: 10.1681/ASN.2006111302]
- 28 Gentilini P, Vizzutti F, Gentilini A, La Villa G. Ascites and hepatorenal syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 313-316 [PMID: 11338056 DOI: 10.1097/00042737-200104000-00003]
- 29 Dagher L, Moore K. The hepatorenal syndrome. *Gut* 2001; 49: 729-737 [PMID: 11600480 DOI: 10.1136/gut.49.5.729]
- 30 Genzini T, Torricelli FC. Hepatorenal syndrome: an update. *Sao Paulo Med J* 2007; 125: 50-56 [PMID: 17505686 DOI: 10.1590/S1516-31802007000100010]
- 31 Guarner C, Soriano G, Tomas A, Bulbena O, Novel-la MT, Balanzo J, Vilardell F, Mourelle M, Moncada S. Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 1993; 18: 1139-1143 [PMID: 8225220 DOI: 10.1002/hep.1840180520]
- 32 Pak JM, Lee SS. Glucagon in portal hypertension. *J Hepatol* 1994; 20: 825-832 [PMID: 7930485]
- 33 Guarner F, Guarner C, Prieto J, Colina I, Quiroga J, Casas J, Freixa R, Rosello J, Gelpi E, Balanzo J.



- Increased synthesis of systemic prostacyclin in cirrhotic patients. *Gastroenterology* 1986; 90: 687-694 [PMID: 3510938 DOI: 10.1016/0168-8278(95)80292-4]
- 34 Moreau R, Lebrec D. Endogenous factors involved in the control of arterial tone in cirrhosis. *J Hepatol* 1995; 22: 370-376 [PMID: 7608490 DOI: 10.1002/hep.1840080207]
- 35 Lumsden AB, Henderson JM, Kutner MH. Endotoxin levels measured by a chromogenic assay in portal, hepatic and peripheral venous blood in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1988; 8: 232-236 [PMID: 3281884 DOI: 10.1002/hep.1840080207]
- 36 Lee SS, Chilton EL, Pak JM. Adenosine receptor blockade reduces splanchnic hyperemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 1992; 15: 1107-1111 [PMID: 1592351 DOI: 10.1002/hep.1840150622]
- 37 Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 1078-1087 [PMID: 10442089 DOI: 10.1007/s000180050358]
- 38 Chowdhary S, Townend JN. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. *Clin Sci (Lond)* 1999; 97: 5-17 [PMID: 10369789 DOI: 10.1042/CS19980399]
- 39 Garcia-Tsao G, Lee FY, Barden GE, Cartun R, West AB. Bacterial translocation to mesenteric lymph nodes is increased in cirrhotic rats with ascites. *Gastroenterology* 1995; 108: 1835-1841 [PMID: 7768390 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90147-7]
- 40 Spahr L, Martin PY, Giostra E, Niederberger M, Lang U, Capponi A, Hadengue A. Acute effects of nitric oxide synthase inhibition on systemic, hepatic, and renal hemodynamics in patients with cirrhosis and ascites. *J Invest Med* 2002; 50: 116-124 [PMID: 11928940 DOI: 10.2310/6650.2002.31273]
- 41 Loureiro-Silva MR, Cadelina GW, Groszmann RJ. Deficit in nitric oxide production in cirrhotic rat livers is located in the sinusoidal and postsinusoidal areas. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: G567-G574 [PMID: 12490431]
- 42 La Villa G, Gentilini P. Hemodynamic alterations in liver cirrhosis. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 112-118 [PMID: 18177931 DOI: 10.1016/j.mam.2007.09.010]
- 43 Hennenberg M, Trebicka J, Kohistani AZ, Heller J, Sauerbruch T. Vascular hyporesponsiveness to angiotensin II in rats with CCl(4)-induced liver cirrhosis. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 906-913 [PMID: 19522833 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2009.02181.x]
- 44 Leiva JG, Salgado JM, Estradas J, Torre A, Uribe M. Pathophysiology of ascites and dilutional hyponatremia: contemporary use of aquaretic agents. *Ann Hepatol* 2007; 6: 214-221 [PMID: 18007550]
- 45 Ginés P, Berl T, Bernardi M, Bichet DG, Hamon G, Jiménez W, Liard JF, Martin PY, Schrier RW. Hyponatremia in cirrhosis: from pathogenesis to treatment. *Hepatology* 1998; 28: 851-864 [PMID: 9731583 DOI: 10.1002/hep.510280337]
- 46 赵仕华. 前列腺素E1对肝硬化难治性腹水患者肾脏血流动力学的影响. *现代临床医学* 2009; 35: 97-98
- 47 Dudley FJ. Pathophysiology of ascites formation. *Gastroenterol Clin North Am* 1992; 21: 215-235 [PMID: 1568774]
- 48 Witte MH, Witte CL, Dumont AE. Estimated net transcapillary water and protein flux in the liver and intestine of patients with portal hypertension from hepatic cirrhosis. *Gastroenterology* 1981; 80: 265-272 [PMID: 7450417]
- 49 方敏. 肝硬化腹水的治疗进展. *安徽省第十二次传染病与寄生虫病学术年会论文集* 2007: 132-135

## ■同行评价

本文选题好, 符合当前研究热点, 思路清晰, 对肝硬化腹水形成机制的研究有一定参考意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## ●消息●

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果, 《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# 无线动力胶囊技术的应用

李苗苗, 叶必星, 林琳

## ■背景资料

无线动力胶囊技术(WMC)是国外近年来兴起的一项胃肠动力检测技术, 国内尚无应用, 通过胶囊在消化道内运行并实时记录pH、温度、压力信息间接计算出胃肠道各区域的转运时间, 其检测结果与传统动力检测方法所得结果具有良好的-致性, 可用于胃轻瘫、功能性便秘等动力异常疾病的诊断。

李苗苗, 叶必星, 林琳, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029

李苗苗, 主要从事胃肠动力方面的研究。

作者贡献分布: 本综述由李苗苗查阅整理资料并完成写作; 叶必星进行修改; 林琳审核。

通讯作者: 林琳, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化内科。lin9100@yahoo.cn

电话: 025-68136920

收稿日期: 2012-11-01 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Rationale for clinical use of wireless motility capsule

Miao-Miao Li, Bi-Xing Ye, Lin Lin

Miao-Miao Li, Bi-Xing Ye, Lin Lin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Correspondence to: Lin Lin, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lin9100@yahoo.com  
Received: 2012-11-01 Revised: 2012-12-30  
Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

The wireless motility capsule (WMC) is a recently developed technique for evaluating gastrointestinal motility. As the capsule moves through the gastrointestinal tract, it allows for real-time measurement of the pH, temperature and pressure of its surrounding environment to indirectly calculate gastric emptying time (GET), small bowel transit time (SBTT), colonic transit time (CTT) and whole gut transit time (WGTT). The WMC is especially suitable for patients suspected of dysmotility in more than one region in the gastrointestinal tract. The US FDA has approved the WMC for the evaluation of gastric emptying time in patients with suspected gastroparesis and colonic transit time in patients with suspected chronic constipation, and for the characterization of antral and duodenal pressure profiles. In addition, the WMC has been tested as an alternative to scintigraphy and radiopaque marker technology in several clinical trials. This review summarizes the rationale for clinical use of the WMC.

## ■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Wireless motility capsule; Gastrointestinal motility; Gastrointestinal pressure; Gastroparesis; Constipation

Li MM, Ye BX, Lin L. Rationale for clinical use of wireless motility capsule. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 166-170

## 摘要

无线动力胶囊技术(wireless motility capsule, WMC)是国外近年来兴起的一项胃肠动力检测技术, 通过胶囊在消化道内运行并实时记录pH、温度、压力信息间接计算出胃排空时间(gastric emptying time, GET)、小肠转运时间(small bowel transit time, SBTT)、结肠转运时间(colonic transit time, CTT)和全胃肠道转运时间(whole gut transit time, WGTT)。特别适用于可疑多区域胃肠动力异常的患者。美国食品和药物管理局(food and drug administration, FDA)已批准WMC用于胃轻瘫患者胃排空时间的检测、胃窦十二指肠压力描述及慢性便秘患者结肠转运时间的检测。现对WMC技术的原理和应用作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 无线动力胶囊; 胃肠动力; 胃肠压力; 胃轻瘫; 便秘

李苗苗, 叶必星, 林琳. 无线动力胶囊技术的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 166-170

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/166.asp>

## 0 引言

胃肠动力和功能异常疾病如胃轻瘫、肠易激综合征、功能性便秘等发病率超过了人群的1/3, 胃肠动力检测有助于这类疾病的诊断和分类。传统的胃肠动力检测方法如不透X线标志物法(radiopaque markers, ROMs)和核素显像具有操作繁琐、需接受辐射等特点, 且缺乏统一的操作和诊断标准。近年来, 一项新的胃肠动力

检测技术: 无线动力胶囊技术(wireless motility capsule, WMC)逐渐在国外得到应用, WMC实时记录胃肠道内的pH、温度、压力信息而间接检测出胃肠道各区域的转运时间, 有利于胃肠道不同区域动力情况的综合判断. 已有多项试验证实WMC检测方法与传统动力检测方法所得结果具有良好的一致性, FDA已批准WMC用于胃轻瘫患者胃排空时间的检测、胃窦十二指肠压力描述及慢性便秘患者结肠转运时间的检测. 现对WMC技术的原理和应用作一综述.

## 1 WMC系统的构造和工作原理

WMC系统目前唯一的品牌为美国SmartPill公司生产的SmartPill胃肠监测系统, 该系统由WMC、便携式数据接收器及数据处理软件构成. WMC为11.7 mm×26.8 mm大小的圆柱体, 与胶囊内镜的外形类似, 包含pH、温度、压力3种感应器, 感受范围分别为0.05-9.00、25℃-49℃、0-350 mmHg. 感应器信号采集频率随时间推移而变化以节省电量, pH信号采集频率为24 h内5 s/次, 24-48 h 10 s/次, 48 h后2.5 min/次; 温度信号采集频率为24 h内20 s/次, 24 h后40 s/次; 压力信号采集频率为24 h内0.5 s/次, 24 h后1 s/次<sup>[1]</sup>. 胶囊将感应器信息以434 MHz的频率传送至便携式数据接收器, 数据接收器可随身携带或近距离放置, 与胶囊的距离需保持在5英尺之内. 胶囊和数据接收器所含电池电量均可维持至少5 d, 检查结束后, 将数据接收器中的信息上传至电脑, 利用数据处理软件对接收器中的信息进行分析并自动生成报告.

WMC通过对pH和温度信息综合分析计算出胃排空时间(gastric emptying time, GET)、小肠转运时间(small bowel transit time, SBTT)、结肠转运时间(colonic transit time, CTT)和全胃肠道转运时间(whole gut transit time, WGTT). 温度的变化是胶囊吞入和排出的标志, 胶囊被吞入后, 温度迅速由环境温度升为人体温度(大约36℃), 排出时则迅速降为环境温度. 胶囊在胃肠道内运行时则根据不同部位pH差异进行定位, 胃内平均pH为1.0-2.5, 当胶囊由胃进入相对碱性的十二指肠时, pH值至少上升2个单位(平均3个单位). 末端回肠的平均pH为7.5, 而结肠环境相对偏酸, 胶囊由回盲瓣进入结肠时, pH下降至少1个单位<sup>[2]</sup>, Zarate等<sup>[3]</sup>将WMC与核素显像技术结合对pH下降的区域进行准确定位, 结果显示9名受试者中, 5名受试者pH下降区域位于盲

肠, 2名位于升结肠, 另外2名位于盲肠和升结肠的移行部, 这些区域的酸性环境主要因厌氧菌对食物中不被吸收的纤维素成分进行发酵, 产生短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA)所致, SCFA在盲肠及升结肠中含量最高, 远端结肠含量逐渐减少. SCFA含量受饮食及菌群影响, 部分受试者无法识别CTT的起点, 考虑与SCFA含量较低有关<sup>[4]</sup>.

## 2 检查过程及结果分析

检查前停用影响胃内pH及胃肠动力的药物, 其中PPI停用至少7 d, H2RA和影响胃肠动力药物停用至少3 d, 制酸剂停用至少1 d. 空腹情况下进食260 kcal的标准餐, 随后吞入胶囊并将数据接收器束于受试者腰间, 继续禁食6 h以避免影响胃排空时间, 检查期间患者需记录睡眠、进食、排便及胃肠症状, 保持日常饮食习惯, 避免烟酒, 同时避免剧烈运动(仰卧起坐、俯卧撑及超过15 min的有氧运动).

根据温度曲线可判断胶囊吞入和排出的时间点, 根据pH曲线上两个主要pH变化标志可将WGTT分为GET、SBTT、CTT 3个部分, 少数受试者胶囊通过回盲部时pH值无明显变化, 可用全肠转运时间(small and large bowel transit time, SLBTT)替代CTT, 原因为健康人群的SBTT平均为3-6 h, 而CTT平均为24-60 h, SLBTT数值大致接近CTT, 同时有研究显示WMC测得的SLBTT与ROMs测得的CTT相关性良好( $r = 0.704$ )<sup>[5]</sup>.

## 3 WMC在胃肠动力评估中的应用

### 3.1 胃肠道各区域转运时间的测定

3.1.1 GET: WMC被FDA批准用于胃轻瘫、功能性消化不良等胃排空减慢疾病的诊断. 胃对液体、可消化的固体、不可消化的固体具有不同的排空形式, Cassilly等<sup>[6]</sup>学者将WMC、核素胃排空试验、胃窦十二指肠导管测压(antroduodenal manometry, ADM)3种方法相结合明确WMC在健康人胃内的排空形式, 结果显示通常情况下WMC在III期移行复合运动(migrating motor complex, MMC)的推动下通过幽门进入十二指肠. MMC为发生在消化间期的一种周期性胃肠收缩活动, 共分4期, III期MMC表现为一组规则高振幅收缩的短期爆发, 是MMC的主要组成部分. 在WMC试验中, 胃将标准餐排空后产生MMC, 胶囊随着III期MMC进入十二指肠, 这一排空方式保证了WMC检查胃排空的准确

## ■研发前沿

WMC技术目前的研究热点为对已知或可疑胃肠某区域动力异常的患者进行检查, 全面评估患者的胃肠动力, 为诊断和治疗提供新的信息. 胶囊同时可进行压力测定, 但胶囊中仅有一个压力感受器, 且在消化道中不断移动, 无法测定移行波, 需要新的评判标准以进一步拓展胶囊的压力测定功能.

## ■相关报道

CASSILLY等学者将WMC、核素胃排空试验、胃窦十二指肠导管测压3种方法相结合, 结果显示通常情况下胶囊在健康人胃内的排空形式为III期移行复合运动, 研究不仅将WMC技术与传统的“金标准”方法相比较, 同时提示了胶囊通常在胃排空标准餐后排出幽门, 保证了WMC检查胃排空的准确性.



### ■创新盘点

本文在国内首次介绍了国外近年来一项新的胃动力检测技术-无线动力胶囊技术,对该系统的构造、工作原理、临床应用、优势、安全性、不足等方面一一进行阐述,使国内读者对这一新技术有较全面的了解。

性。WMC在胃动力异常患者胃内的排空形式需进一步研究,使WMC的应用价值得到进一步证实。Kuo等<sup>[7]</sup>对核素胃排空试验和WMC这两种方法进行了对比,研究对象为87名健康人和61名胃轻瘫患者,结果显示WMC测得的GET与核素胃排空试验所测得的GES-4h(4 h核素排空率)、GES-2h(2 h核素排空率)相关系数分别为0.73和0.63,受试者工作特征曲线(the receiver operating characteristic curve, ROC曲线)提示GET的诊断准确性为0.83,而GES-4 h、GES-2 h分别为0.82和0.79,同时该研究显示WMC诊断胃轻瘫的最佳界限值为300 min,敏感性和特异性分别为0.65和0.87,以上结果提示WMC对于胃排空的检测与核素胃排空试验相比具有良好的一致性及更高的准确性。

抑酸药物的应用及慢性萎缩性胃炎、胃轻瘫等病理状态均会改变胃内pH参数。Michalek等<sup>[8]</sup>发现应用高剂量PPI的情况下(埃索美拉唑, 40 mg, bid, 连用1 wk),胶囊通过幽门时pH变化幅度确有降低,但至少在0.5单位以上的pH变化仍可保证GET的准确判断。胃轻瘫患者胃内pH水平的变化与其程度及病因相关,糖尿病性胃轻瘫患者胃酸分泌减少,而特发性胃轻瘫患者的胃酸分泌与健康人相似,同时胃排空越差的患者胃内酸度越低,但这些情况均不影响GET判断的准确性<sup>[9]</sup>。

3.1.2 SBTT: 目前尚无研究应用WMC检测假性肠梗阻等小肠动力障碍疾病。Maqbool等<sup>[10]</sup>应用核素显像及WMC对10名健康人的全消化道动力进行检测,结果显示两种方法对小肠转运时间的测量具有一致性( $r = 0.69$ ;  $P = 0.05$ )。Brun等<sup>[11]</sup>对87名健康人的SBTT进行检测,结果显示SBTT正常值范围为2.5-6.0 h,平均值为4.1 h,这项研究同时发现77名具有消化道动力异常临床表现的患者中,29名(37.6%)患者SBTT延长,同时SBTT延长患者的平均GET、CTT较健康组明显延长。WMC检测SBTT的主要缺点是少数受试者PH曲线上胶囊由小肠进入大肠的标志点无法准确判别,发生率为5%-10%。

3.1.3 CTT: CTT检查主要用于以便秘为主的结肠动力障碍性疾病的诊断和分类,目前广泛采用ROMs,此方法操作方便、费用低,但患者需接受辐射,且缺乏统一的操作和诊断标准。WMC检查中CTT的正常范围为5-59 h,已有多项研究证实WMC和ROMs对于CTT的检查结果具有良好的一致性。Camilleri等<sup>[5]</sup>对158名FC患者同

时行WMC及ROMs检查,STC诊断符合率接近80%,NTC诊断符合率接近91%,总体一致性为86%;ROMs所测得的CTT与WMC测得的CTT、SLBTT具有明显的相关性[CTT( $r = 0.707$ ), SLBTT( $r = 0.704$ )]. Rao等<sup>[12]</sup>的研究通过ROC曲线比较了WMC及ROMs诊断便秘的准确性和特异性,WMC的准确性和特异性分别为0.73和0.95,ROM的准确性和特异性分别为0.71和0.95,提示WMC可有效区别STC和NTC。

3.2 压力测定 WMC的压力测定功能在少数研究中得到初步的探索,胶囊中的压力感受器仅有单个压力感受器,且在消化道中不断移动,无法检测移行波,可记录所在部位的收缩频率和幅度,压力数据以收缩频率(frequency of contractions, Ct),压力曲线下面积(area under the curve, AUC)及动力指数[motility index, MI, Ln(压力幅度总和+Ct+1)]形式表示。Kloetzer等<sup>[13]</sup>用WMC比较了71名健康人和42名胃轻瘫(gastroparesis, GP)患者的胃十二指肠动力参数,GP组的胃和十二指肠Ct值较健康对照组降低约35%,33%的GP患者胃Ct值低于正常对照值的5%,主要见于GET超过12 h的重度GP患者(发生率为75%),GET<12 h的患者Ct值中位数与健康对照组差异不明显( $P > 0.40$ ),提示胃十二指肠压力信息可协同GET区分胃轻瘫轻重程度。

正常情况下小肠收缩活动存在餐后反应(the fed response):进食后小肠的收缩幅度和频率增加。一项研究回顾性分析了144名受试者的WMC报告,其中包括63名健康人,26名胃轻瘫患者和55名便秘患者,结果显示胃轻瘫组小肠餐后反应较健康组延迟,而便秘组的小肠餐后反应迟钝且短暂,12%的健康人、15%的胃轻瘫患者及24%的便秘患者未检测出明显的餐后反应,异常的小肠餐后反应提示这些患者的餐后症状存在潜在的神经过变<sup>[11]</sup>。

便秘患者结肠运动形式的主要改变为以HAPC(high amplitude propagating sequences, 高频率振幅波)为主的顺行推进波的减少及结肠生理反射的减弱或缺失,后者提示神经性结肠动力异常<sup>[14]</sup>。Hasler等<sup>[1]</sup>应用WMC比较了健康人及不同分型便秘患者结肠活动的特点,结果显示便秘各分型及健康人的Ct没有明显差异,但NTC、中度STC组及IBS-C组的平均AUC高于健康组,IBS-C组差异最为明显,重度STC组未发现差异。健康组、NTC、中度STC及IBS-C组的结肠收缩频率呈现由近端结肠向远端结肠的逐

### ■应用要点

胃肠动力障碍疾病的发生率逐年增加,无线动力胶囊技术是一项无辐射、非侵入性并可综合评估胃动力新技术,具有良好的应用前景。本文对这一技术作了全面介绍,同时通过介绍一些应用实例使读者了解到多区域胃肠动力障碍的发生特点。

渐递增,但在重度STC组未发现这种递增,研究者推测这种异常是引起重度STC的原因之一。

**3.3 全面评估胃肠动力的优势** 胃肠动力障碍常累及胃肠道多个区域,WMC可以全面评估胃肠动力,避免分项进行传统动力检查,对可疑多区域动力异常的患者尤为适用。

Sarosiek等<sup>[15]</sup>的研究显示除GET外,胃轻瘫患者的CTT及WGTT均较健康对照组明显延长,SBTT无明显差异,18%的胃轻瘫患者WGTT延长( $P<0.0001$ ),CTT延长以糖尿病胃轻瘫患者尤为明显( $P=0.0054$ )。同时有研究显示便秘患者的GET、CTT及WGTT均长于健康对照组<sup>[12]</sup>,而对于选择手术治疗的顽固性便秘患者而言,存在消化道动力广泛低下将明显降低手术疗效,WMC检查有助于顽固性便秘患者更合理地选择治疗方式<sup>[16]</sup>。

Rao等<sup>[17]</sup>同时用WMC及传统动力检测法对86名可疑上消化道或下消化道动力异常的患者进行检测,根据症状部位分为上消化道组(upper gastrointestinal, UGI)和下消化道组(lower gastrointestinal, LGI)。结果显示WMC及传统方法在UGI组及LGI组诊断符合率分别为81%和76%,WMC为47%的UGI组和53%的LGI症状组患者提供了新的诊断信息,既而改变了30%UGI组和53%的LGI组的治疗计划:例如以便秘症状为主的患者经WMC检查发现胃排空减慢,可加用促动力剂治疗,而胃轻瘫患者经检查发现CTT延长则可加用泻剂;同时WMC提供的信息可以指导部分患者进一步检查:例如若患者腹胀明显但WMC结果正常,可行氢呼气试验明确是否有小肠细菌过度生长或乳糖不耐受,CTT结果正常的便秘患者可行肛门直肠测压评估盆底肌协调情况。

## 4 WMC的安全性

**4.1 禁忌证** 育龄期女性在检查当日晨需行尿妊娠试验排除妊娠。可能影响胶囊正常通过消化道的疾病均属禁忌证,包括吞咽困难、既往胃石病史、近3 mo内的胃肠道手术史、可疑消化道狭窄或瘘管、胃肠梗阻、克罗恩病或憩室炎等。胶囊产生的无线电信号会与人体植入或携带的电机装置相互干扰,所以心脏起搏器、输液泵植入等情况也被列为禁忌证。目前WMC的使用仅限于成人。

**4.2 不良反应** WMC检查主要的并发症为胶囊滞留及滞留继发的肠梗阻,胶囊吞入2 wk后经

腹部平片证实未排出则考虑为胶囊滞留。一项样本量为6 000例的上市后调查中,胶囊滞留的发生率为20例(0.33%),5例滞留在胃内、2例在小肠、13例在结肠,胃内滞留的胶囊通过内镜取出,其余15例中14例自行排出,1例促动力药物干预后排出。发生胶囊滞留时,首先根据pH值判断胶囊的部位,若滞留部位为结肠,发生梗阻的概率很小,等待胶囊自行排出;若滞留部位为胃或小肠,需每间隔3 d行腹部平片检查直至胶囊排出或进入结肠。一旦出现恶心、呕吐、腹痛、腹胀等肠梗阻症状需内镜或手术取出胶囊,目前尚无需手术干预的案例发生。其余不良反应包括胶囊吞入困难、设备故障及腹痛、恶心、腹泻等消化道症状。

## 5 WMC的不足

WMC对于胃肠转运时间测定的准确性已得到多项研究的证实,但其在压力测定方面的应用仍受到较大的限制,与传统压力测定方法相比,WMC仅有一个压力感受器,且在消化道内不停移动,无法测定移行波,需要新的判断标准以进一步拓展WMC的压力测定功能。WMC检查有发生胶囊滞留的可能性,部分受试者存在未知的胃肠道憩室或狭窄可能,增加了胶囊滞留的风险。此外WMC检查价格较贵,难以在国内广泛开展。

## 6 结论

WMC技术是一项无辐射、非侵入性并可综合评估胃肠动力的新技术,已有多项试验证实WMC检测结果与传统方法的一致性,特别适用于可疑多区域胃肠动力异常的患者,且具有应用于药物临床试验的潜能。WMC对于胃肠压力的测定虽有一定的缺陷,但对于压力参数评判标准的改进将使WMC提供更多的压力信息。随着更多的研究提供有力证据,WMC的应用范围将会进一步拓展。

## 7 参考文献

- 1 Hasler WL, Saad RJ, Rao SS, Wilding GE, Parkman HP, Koch KL, McCallum RW, Kuo B, Sarosiek I, Sitrin MD, Semler JR, Chey WD. Heightened colon motor activity measured by a wireless capsule in patients with constipation: relation to colon transit and IBS. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G1107-G1114 [PMID: 19808653 DOI: 10.1152/ajpgi.00136.2009]
- 2 Evans DF, Pye G, Bramley R, Clark AG, Dyson TJ, Hardcastle JD. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut*

## ■名词解释

移行复合运动:发生在消化间期的一种周期性胃肠收缩活动,共分4期:Ⅰ期为间断蠕动期,胃肠偶尔出现间断性收缩;Ⅱ期是不规则收缩期,胃肠开始有散发的蠕动收缩波;Ⅲ期为强烈收缩期,表现为一组规则高振幅收缩的短期爆发,是MMC的主要组成部分;Ⅳ期为收缩消退期,活动渐减弱。

## ■同行评价

无线动力胶囊技术是国外近年来兴起的胃肠动力检测技术, 有较好的临床应用前景。本文对该系统的构造、构造原理和临床应用作了较全面的介绍, 表述清楚, 文字较流畅, 作为一项新技术介绍有一定的临床应用指导价值。

- 3 Zarate N, Mohammed SD, O'Shaughnessy E, Newell M, Yazaki E, Williams NS, Lunniss PJ, Semler JR, Scott SM. Accurate localization of a fall in pH within the ileocecal region: validation using a dual-scintigraphic technique. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G1276-G1286 [PMID: 20847301 DOI: 10.1152/ajpgi.00127.]
- 4 Brinkworth GD, Noakes M, Clifton PM, Bird AR. Comparative effects of very low-carbohydrate, high-fat and high-carbohydrate, low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. *Br J Nutr* 2009; 101: 1493-1502 [PMID: 19224658 DOI: 10.1017/S0007114508094658.]
- 5 Camilleri M, Thorne NK, Ringel Y, Hasler WL, Kuo B, Esfandyari T, Gupta A, Scott SM, McCallum RW, Parkman HP, Soffer E, Wilding GE, Semler JR, Rao SS. Wireless pH-motility capsule for colonic transit: prospective comparison with radiopaque markers in chronic constipation. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 874-882, e233 [PMID: 20465593 DOI: 10.1111/]
- 6 Cassilly D, Kantor S, Knight LC, Maurer AH, Fisher RS, Semler J, Parkman HP. Gastric emptying of a non-digestible solid: assessment with simultaneous SmartPill pH and pressure capsule, antroduodenal manometry, gastric emptying scintigraphy. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 311-319 [PMID: 18194154 DOI: 10.1111/j.1365-2982.]
- 7 Kuo B, McCallum RW, Koch KL, Sitrin MD, Wo JM, Chey WD, Hasler WL, Lackner JM, Katz LA, Semler JR, Wilding GE, Parkman HP. Comparison of gastric emptying of a nondigestible capsule to a radio-labelled meal in healthy and gastroparetic subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 186-196 [PMID: 17973643]
- 8 Michalek W, Semler JR, Kuo B. Impact of acid suppression on upper gastrointestinal pH and motility. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1735-1742 [PMID: 21086166 DOI: 10.1007/s10620-010-1479-8]
- 9 Hasler WL, Coleski R, Chey WD, Koch KL, McCallum RW, Wo JM, Kuo B, Sitrin MD, Katz LA, Hwang J, Semler JR, Parkman HP. Differences in intragastric pH in diabetic vs. idiopathic gastroparesis: relation to degree of gastric retention. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G1384-G1391 [PMID: 18403619 DOI: 10.1152/]
- 10 Maqbool S, Parkman HP, Friedenberg FK. Wireless capsule motility: comparison of the SmartPill GI monitoring system with scintigraphy for measuring whole gut transit. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2167-2174 [PMID: 19655250 DOI: 10.1007/s10620-009-0899-9]
- 11 Brun M, Michalek W, Surjanhata B, Kuo B. Small bowel transit time (SBTT) by wireless motility capsule (WMC): normal values and analysis of pressure profiles in different subgroups of patients with slow SBTT. *Gastroenterology* 2011; 140: S865
- 12 Rao SS, Kuo B, McCallum RW, Chey WD, DiBaise JK, Hasler WL, Koch KL, Lackner JM, Miller C, Saad R, Semler JR, Sitrin MD, Wilding GE, Parkman HP. Investigation of colonic and whole-gut transit with wireless motility capsule and radiopaque markers in constipation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 537-544 [PMID: 19418602]
- 13 Kloetzer L, Chey WD, McCallum RW, Koch KL, Wo JM, Sitrin M, Katz LA, Lackner JM, Parkman HP, Wilding GE, Semler JR, Hasler WL, Kuo B. Motility of the antroduodenum in healthy and gastroparetics characterized by wireless motility capsule. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 527-533, e117 [PMID: 20122128]
- 14 Dinning PG, Di Lorenzo C. Colonic dysmotility in constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 89-101 [PMID: 21382581 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.006]
- 15 Sarosiek I, Selover KH, Katz LA, Semler JR, Wilding GE, Lackner JM, Sitrin MD, Kuo B, Chey WD, Hasler WL, Koch KL, Parkman HP, Sarosiek J, McCallum RW. The assessment of regional gut transit times in healthy controls and patients with gastroparesis using wireless motility technology. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 313-322 [PMID: 19814743 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04162.x]
- 16 Redmond JM, Smith GW, Barofsky I, Ratych RE, Goldsborough DC, Schuster MM. Physiological tests to predict long-term outcome of total abdominal colectomy for intractable constipation. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 748-753 [PMID: 7733081]
- 17 Rao SS, Mysore K, Attaluri A, Valestin J. Diagnostic utility of wireless motility capsule in gastrointestinal dysmotility. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 684-690 [PMID: 21135705 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181ff0122.]

编辑 田滢 电编 闫晋利





## 壮药汗衣台体外抗乙型肝炎病毒的疗效

廖丹, 段雪琳

廖丹, 段雪琳, 广西中医药大学基础医学院生理教研室 广西  
壮族自治区南宁市 530001

廖丹, 副教授, 主要从事感染性疾病的基础研究.

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013198

广西中医药管理局中医药科技专项课题基金资助项目, No.  
GZKZ09-11

广西教育厅科研基金资助项目, No. 200810LX002

作者贡献分布: 此研究由廖丹设计; 细胞培养、药物准备及指  
标检测由廖丹与段雪琳操作完成; 数据分析与论文撰写由廖丹  
完成.

通讯作者: 廖丹, 副教授, 530001, 广西省南宁市明秀东路179  
号, 广西中医药大学基础医学院生理教研室. dan9999@126.com  
电话: 0771-2244199

收稿日期: 2012-10-26 修回日期: 2012-12-27

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

### *In vitro* anti-HBV activity of the Chuang herb Hanyitai

Dan Liao, Xue-Lin Duan

Dan Liao, Xue-lin Duan, Department of Physiology,  
Guangxi Traditional Medical University, Nanning 530001,  
Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi,  
No. 2010GXNSFA013198; the Special Program of Chinese  
Medical Science and Technology of Traditional Medicine  
Administration of Guangxi, No.GZKZ09-11; and the Sci-  
ence Research Program of Department of Education of  
Guangxi, No.200810LX002

Correspondence to: Dan Liao, Associate Professor, De-  
partment of Physiology, Guangxi Traditional Medical Uni-  
versity, 179 Mingxiu East Road, Nanning 530001, Guangxi  
Zhuang Autonomous Region, China. dan9999@126.com

Received: 2012-10-26 Revised: 2012-12-27

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

### Abstract

**AIM:** To assess whether the Chuang herb Hanyitai has anti-HBV activity *in vitro*.

**METHODS:** XTT assay was used to detect the cytotoxicity of different concentrations of Hanyitai in HepG2215 cells to determine the safe concentration range. Cell culture medium was changed once every 3 days, and culture supernatants were collected after 9 days of culture. The contents of HBsAg and HBeAg in supernatants were measured using ELISA. Meanwhile, the secretion of HBV-DNA was detected using fluorescent quantitative PCR.

**RESULTS:** Hanyitai significantly inhibited

the production of HBsAg and HBeAg in a concentration-dependent manner. Hanyitai at concentrations of 500-800  $\mu\text{g/mL}$  had a stronger inhibitory effect on HBsAg and HBeAg production than the same concentration of lamivudine (HBsAg:  $P = 0.002 - 0.000$ ; HBeAg:  $P = 0.002 - 0.000$ ) and interferon (HBsAg:  $P = 0.006 - 0.003$ ; HBeAg:  $P = 0.003 - 0.002$ ). Hanyitai also inhibited the secretion of HBVDNA in a concentration-dependent manner. The inhibitory effect of Hanyitai at concentrations of 500-800  $\mu\text{g/mL}$  on HBVDNA secretion exceeded the same concentration of interferon- $\alpha$  ( $P = 0.018 - 0.031$ ) but was inferior to lamivudine.

**CONCLUSION:** The Chuang herb Hanyitai has anti-HBV activity *in vitro*.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hanyitai; HepG2215 cells; HBV; *In vitro*

Liao D, Duan XL. *In vitro* anti-HBV activity of the Chuang herb Hanyitai. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 171-176

### 摘要

**目的:** 研究汗衣台体外抗乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 的疗效.

**方法:** 不同浓度汗衣台与体外培养的2.2.15细胞共同孵育, 以XTT方法检测其对2.2.15细胞的不良反应, 以此决定汗衣台的安全浓度范围; 3 d更换一次含药培养液, 9 d后收集上清液; 用ELISA法测定上清液中HBsAg和HBeAg含量, 荧光定量PCR法检测上清液中HBV DNA的分泌.

**结果:** 各浓度汗衣台对HBsAg、HBeAg均有明显抑制作用, 抑制率呈剂量依赖性: 500-800  $\mu\text{g/mL}$ 汗衣台对HBsAg的抑制明显高于同浓度的拉米夫定 ( $P = 0.002-0.000$ ) 及干扰素 ( $P = 0.006-0.003$ ), 100-800  $\mu\text{g/mL}$ 浓度汗衣台对HBeAg的抑制明显高于同浓度拉米夫定 ( $P = 0.002-0.000$ ) 及干扰素 ( $P = 0.003-0.002$ ), 差异均有显著性. 各浓度汗衣台对HBV DNA抑制

### ■背景资料

临床上慢性乙型肝炎的抗病毒治疗非常关键, 很大程度上可决定慢性乙型肝炎的病程进展及预后, 所以抗病毒药物的选择是关键问题, 西药具有精准的作用机制和明确的疗效, 而中医药及民族医药的源远流长也一定有其科学性.

### ■同行评议者

杨钦河, 教授, 暨南大学医学院中医系

## ■研发前沿

目前对抗乙型肝炎病毒(HBV)中草药的研究热点主要集中在抗HBV中草药的筛选以及复方制剂抗HBV疗效的基础研究上,但是对抗HBV的有效成分、活性部位及作用机制等核心问题仍然不十分明确。

亦呈剂量依赖性, 500-800  $\mu\text{g/mL}$ 浓度汗衣台短期内抑制HBV DNA分泌的疗效优于同浓度干扰素( $P=0.018-0.031$ ), 但不如拉米夫定。

**结论:** 壮药汗衣台具有一定的体外抗HBV作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 汗衣台; 2.2.15细胞; 乙型肝炎病毒; 体外

廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台体外抗乙型肝炎病毒的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 171-176

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/171.asp>

## 0 引言

临床上慢性乙型肝炎的抗病毒治疗非常关键, 很大程度上可以决定慢性乙型肝炎的病程进展及预后, 而两种常用的抗病毒西药[干扰素(interferon, IFN)和核苷类药物]仍然存在许多不足之处。中医药治疗慢性乙型肝炎在我国具有悠久的历史, 近几十年有学者陆续对一些中草药进行抗HBV筛查<sup>[1,2]</sup>, 发现确实存在一些高效、低毒抑制HBV的中草药。我们所研究的壮药汗衣台, 别称“千里找根”<sup>[3]</sup>, 为防己科植物皱波青牛胆的藤茎, 据文献记载汗衣台具有通关通窍通脉、通经活血、清热排毒、消炎止痛等作用, 多用于治疗跌打骨折刀伤、痢疾腹胀、痈疽肿毒等。前期研究发现该属植物具有降血糖<sup>[4]</sup>、降血压<sup>[5]</sup>、抗增殖<sup>[6]</sup>等活性, 但广西壮族民间流传其对慢性乙型肝炎具有良效, 这方面作用国内外文献尚未见报道。本实验拟对汗衣台体外抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)不良反应与疗效进行初步研究, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 壮药汗衣台由壮族民间灵芝草药堂提供, 汗衣台生药50 g, 置于烧杯中, 加适量蒸馏水浸泡30 min后煎煮, 沸后用文火煮30 min, 滤出煎液, 共煎3次, 合并滤液, 浓缩至生药含量0.5 g/mL, 高速离心法(16 000 r/min)离心10 min, 取上清液调pH值为7.5, 一次性0.22  $\mu\text{m}$ 滤器过滤分装后置4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。注射用人重组干扰素 $\alpha$ -1b(30  $\mu\text{g}$ /支, 上海生物制品研究所); 拉米夫定(0.1 g/片, 葛兰素史克); 细胞HBV DNA转染的人肝癌细胞HepG2.15细胞系购自中南大学湘雅中心实验室细胞库; 胎牛血清(美国Gibco公司); DMEM培养基(HyCone公司); 0.25%DEPC胰酶(上海吉泰科技有限公司); HBV DNA荧光定

量PCR试剂盒(上海科华生物工程有限公司, 批号20071016); HBsAg、HBeAg抗原检测试剂盒(上海科华生物工程公司); XTT检测试剂盒(碧云天); ABI7500 Fast Real-time PCR仪(美国ABI公司); CO<sub>2</sub>孵箱(美国Thermo Forma公司); 酶标仪(Bio-Rad); 24孔板(美国Corning公司); 离心机(effend); 0.22  $\mu\text{m}$ 滤器(millipore)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 2.2.15细胞以DMEM培养基(含10%胎牛血清)培养于培养瓶中, 置37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>孵箱中生长, 待细胞生长至70%-80%时, 用0.25%胰酶消化5 min, 用吹打管将贴壁的细胞吹打成悬液, 按适当比例分瓶继续培养, 4-5 d传代1次。每次换液时, 检测上清液HBsAg、HBeAg和HBV DNA分泌情况, 待表达稳定后开始实验。

**1.2.2 药物浓度的选择:** 干扰素在肌肉注射或皮下注射后入血的速度较慢, 需较长时间才能在血中测到。用大白鼠进行试验<sup>[7]</sup>, 肌肉注射200  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -1b型干扰素, 半衰期为1.40-1.56 h, 血液中干扰素最高浓度( $C_{\text{max}}$ )为4 389-17 487 IU/mL(相当于50-100  $\mu\text{g/mL}$ ); 而拉米夫定口服吸收良好, 成人口服拉米夫定0.1 g约1 h左右达血药峰浓度( $C_{\text{max}}$ )1.1-1.5  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[8]</sup>, 据此可认为这些药物浓度范围对HBV具有有效的抑制作用。后续试验药物浓度的选择应含括干扰素及拉米夫定的有效血清浓度。

**1.2.3 细胞毒性实验:** 2.2.15细胞用胰酶消化后, 轻轻吹打使成单细胞悬液, 细胞计数后调节细胞浓度至 $1 \times 10^5$  cell/mL, 按100  $\mu\text{L}$ /孔接种于96孔板中, 置37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养过夜, 待贴壁后吸去上清, 分别加入100  $\mu\text{L}$ 含终浓度为1 000、900、800、700、600、500、100、50、5、1  $\mu\text{g/mL}$ 汗衣台的DMEM培养液, 每个浓度重复5孔, 同时设无药细胞对照组及空白对照组。培养72 h后滴加新鲜配制的XTT和PMS混合应用液, 继续培养4 h, 在450 nm波长测定吸光度(A)值。按公式计算细胞存活率(细胞存活率=[(A<sub>实验孔</sub>-A<sub>空白对照</sub>)/(A<sub>细胞对照</sub>-A<sub>空白对照</sub>)] $\times$ 100%)。

**1.2.4 HBsAg、HBeAg的检测:** 2.2.15细胞在细胞浓度被调至 $1 \times 10^6$  cell/mL以后, 按1 mL/孔接种至24孔板中, 置37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 6 h细胞贴壁后换用含药培养液, 药物浓度根据细胞毒性实验结果, 以对细胞无明显毒性的浓度为最高浓度, 汗衣台分别设800、500、200、100、10、1  $\mu\text{g/mL}$  6种浓度, 每种浓度重复3孔,

## ■相关报道

目前对抗HBV中草药的筛选以及疗效研究工作都能应用2215细胞作为研究工具, 检测包括病毒抗原和e抗原以及病毒基因在内的比较敏感和特异的指标, 结果比较可靠, 并具有说服力。

表 1 汗衣台对2.2.15细胞的毒性作用(mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	A值	细胞存活率(%)
细胞对照组		1.408 ± 0.018	100.0
空白对照组		0.409 ± 0.025	
汗衣台组	1 000	1.008 ± 0.075	60.0
	900	1.222 ± 0.011	81.4
	800	1.278 ± 0.030	90.8
	700	1.347 ± 0.124	95.7
	600	1.453 ± 0.071	103.2
	500	1.520 ± 0.096	111.2
	100	1.356 ± 0.114	94.8
	50	1.354 ± 0.141	94.6
	5	1.433 ± 0.039	102.5
	1	1.378 ± 0.054	97.9

# ■创新盘点

本文对照组同时选用拉米夫定及干扰素两种作用机制及远近疗效均不同的西药,拟在通过比较异同,有利于发现目的药物可能的作用机制,而且两种西药疗效稳定,可使结论更可靠.

同时设不加药细胞对照3孔及培养液空白对照3孔,第3天和第6天更换新鲜的含药液培养,第9天收集各孔细胞上清液, -20℃保存备用,采用ELISA法检测上清液中HBsAg、HBeAg含量.

1.2.5 HBV DNA的检测: 取上述收集的上清液各100 μL, 分别加至0.5 mL EP管中, 按说明书上的操作要求, 加入试剂盒提供的溶液A 100 μL, 振荡混匀, 13 000 r/min离心10 min, 吸弃上清, 再加入25 μL溶液B, 剧烈震荡, 尽可能使沉淀分散, 100℃干浴10 min, 13 000 r/min离心10 min, 保留上清备用. 按PCR反应液: Taq酶: UDG酶 = 37.7 μL: 0.3 μL: 0.1 μL的比例准备好PCR反应管, 分别加入已提取好的上清液标本, 对照品及标准品各2 μL, 设置反应程序进行PCR扩增: 37℃ 5 min, 94℃预变性2 min; 接着95℃ 5 s; 60℃ 40 s, 共40个循环.

**统计学处理** 采用SPSS11.0统计软件分析数据, 组间比较采用方差分析, 各均数两两比较.  $P < 0.05$ 表明比较有显著意义.

## 2 结果

2.1 汗衣台对2.2.15细胞的不良反应 XTT实验结果显示, 1 000 μg/mL-1 μg/mL浓度范围的拉米夫定及干扰素对细胞生长均无明显不良反应(资料未显示), 而1 000 μg/mL浓度的汗衣台对2.2.15细胞的生长表现出一定的抑制作用, 浓度在800 μg/mL时, 细胞存活率超过90%, 显示对HepG2.2.15细胞无明显不良反应, 所以实验选择800 μg/mL的汗衣台药物浓度为最高浓度(表1).

2.2 汗衣台对HBsAg、HBeAg分泌的影响 药物对病毒抗原的抑制百分率 =  $[(A_{\text{细胞对照}} - A_{\text{实验孔}}) / (A_{\text{细胞对照}} - A_{\text{空白对照}})] \times 100\%$ . 计算结果见表2, 结果表明与阳性对照组比较, 各个浓度的汗衣台均可明显抑制2.2.15细胞分泌HBsAg及HBeAg抗原, 抑制率呈剂量依赖性; 500-800 μg/mL浓度的汗衣台对HBsAg分泌的抑制明显高于同浓度的拉米夫定及干扰素对HBsAg分泌的抑制,  $P = 0.002-0.000$ 及 $P = 0.006-0.003$ , 差异有显著性意义; 100-800 μg/mL浓度范围的汗衣台对HBeAg分泌的抑制明显高于同浓度的拉米夫定及干扰素对HBeAg分泌的抑制,  $P = 0.002-0.000$ 及 $P = 0.003-0.002$ , 差异有显著性, 低浓度差异无显著性, 显示出中高浓度的汗衣台在短期内对病毒具有强大的抑制作用. 此外, 拉米夫定在短期内亦显示出比同浓度干扰素更强的病毒抑制率, 这与拉米夫定的作用机制和临床疗效是相符合的.

2.3 汗衣台对HBV DNA分泌的影响 进一步比较各组药物对HBV DNA分泌的影响, 由表3可知, 各浓度的拉米夫定对HBV DNA的抑制作用最为强烈, 细胞培养上清液未检测到HBV DNA, 这与临床上使用拉米夫定抗病毒的时间效果相符合. 100-800 μg/mL浓度范围的汗衣台抑制HBV DNA复制的作用明显强于阳性对照,  $P = 0.05-0.017$ ; 有趣的是, 干扰素对病毒的抑制率在浓度 $< 200$  μg/mL时(44.3%-63.5%)表现出比高浓度( $\geq 500$  μg/mL)(18.8%-29.3%)更强的病毒抑制率; 500-800 μg/mL浓度的汗衣台抗HBV DNA分泌作用明显强于同浓度的干扰素,  $P = 0.018-0.031$ , 差异有显著性意义; 而且汗衣台组的最高病毒抑制率(77.2%)亦大于干扰素组的最高病毒抑制率(63.5%), 提示汗衣台短期内对抗HBV DNA分泌的作用强于干扰素而不如拉米夫定.



## ■应用要点

本文首次证实汗衣台具有体外抗HBV作用,阐明了广西壮族民间流传医药用于治疗慢性乙型肝炎的科学性,提示汗衣台作为抗HBV药物具有一定的应用前景,值得进一步研究、开发和利用。

表 2 各组药物对2.2.15细胞分泌HBsAg、HBeAg的抑制作用比较 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	HBsAg		HBeAg	
		A值	抑制率(%)	A值	抑制率(%)
汗衣台组	800	1.937 ± 0.095 <sup>bde</sup>	43.3	0.663 ± 0.032 <sup>bde</sup>	80.2
	500	2.015 ± 0.187 <sup>bde</sup>	40.9	0.780 ± 0.015 <sup>bde</sup>	76.5
	200	2.813 ± 0.169 <sup>a</sup>	16.7	1.246 ± 0.087 <sup>bce</sup>	61.7
	100	3.019 ± 0.071 <sup>a</sup>	10.5	1.586 ± 0.189 <sup>bde</sup>	50.9
	10	3.158 ± 0.017 <sup>a</sup>	6.3	2.352 ± 0.110 <sup>b</sup>	26.5
	1	3.186 ± 0.023 <sup>a</sup>	5.4	2.542 ± 0.089 <sup>b</sup>	20.5
拉米夫定组	800	2.916 ± 0.124 <sup>a</sup>	13.6	2.429 ± 0.027 <sup>b</sup>	24.1
	500	2.858 ± 0.116 <sup>af</sup>	15.4	2.393 ± 0.022 <sup>b</sup>	25.2
	200	2.770 ± 0.137 <sup>af</sup>	18.0	2.093 ± 0.157 <sup>bf</sup>	34.8
	100	2.998 ± 0.043 <sup>ag</sup>	11.1	2.294 ± 0.041 <sup>bg</sup>	28.4
	10	3.072 ± 0.069 <sup>a</sup>	8.9	2.442 ± 0.036 <sup>b</sup>	23.7
	1	3.034 ± 0.075 <sup>a</sup>	10.0	2.517 ± 0.024 <sup>b</sup>	21.3
干扰素组	800	3.212 ± 0.021 <sup>a</sup>	4.6	2.532 ± 0.103 <sup>a</sup>	20.8
	500	3.209 ± 0.033 <sup>a</sup>	4.7	2.520 ± 0.131 <sup>a</sup>	21.2
	200	3.216 ± 0.009 <sup>a</sup>	4.5	2.383 ± 0.123 <sup>b</sup>	25.6
	100	3.225 ± 0.016 <sup>a</sup>	4.2	2.595 ± 0.071 <sup>b</sup>	18.8
	10	3.185 ± 0.018 <sup>a</sup>	5.4	2.547 ± 0.070 <sup>b</sup>	20.3
	1	3.199 ± 0.024 <sup>a</sup>	5.0	2.473 ± 0.064 <sup>b</sup>	22.7
阳性对照		3.364 ± 0.044		3.187 ± 0.012	
阴性对照		0.068 ± 0.020		0.040 ± 0.009	

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 阳性对照; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 同浓度拉米夫定组; <sup>e</sup>*P*<0.01 vs 同浓度干扰素组; <sup>f</sup>*P*<0.05, <sup>g</sup>*P*<0.01 vs 同浓度干扰素组。

表 3 各组药物对2.2.15细胞分泌HBV DNA的影响 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	HBV DNA拷贝数(×10 <sup>5</sup> )	抑制率(%)
汗衣台组	800	6.885 ± 1.352 <sup>ac</sup>	77.2
	500	7.299 ± 1.083 <sup>ac</sup>	75.8
	200	17.143 ± 3.905 <sup>a</sup>	43.2
	100	13.723 ± 6.494 <sup>a</sup>	54.5
	10	17.215 ± 5.629	42.9
	1	26.737 ± 4.268	11.4
拉米夫定组	800	<0 <sup>b</sup>	100.0
	500	<0 <sup>b</sup>	100.0
	200	<0 <sup>b</sup>	100.0
	100	<0 <sup>b</sup>	100.0
	10	<0 <sup>b</sup>	100.0
	1	<0 <sup>b</sup>	100.0
干扰素组	800	24.491 ± 5.132	18.8
	500	21.332 ± 4.894	29.3
	200	15.448 ± 3.929 <sup>a</sup>	48.8
	100	16.796 ± 4.437 <sup>a</sup>	44.3
	10	11.785 ± 4.122 <sup>a</sup>	60.9
	1	11.013 ± 4.007 <sup>a</sup>	63.5
阳性对照		30.171 ± 0.577	

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 阳性对照; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 同浓度干扰素组。

### 3 讨论

HBV感染是人类最常见的病毒性感染之一, 在中国普通人群HBV携带率为7.18%<sup>[9]</sup>. 目前抗病毒治疗仍以国外研发的西药为主, 临床中最常用的抗HBV西药有两类, 即核苷类药物和干扰素类. 干扰素是一种广谱抗病毒剂, 并不直接杀伤或抑制病毒, 主要是通过细胞表面的干扰素受体, 引发信号转导等一系列生化过程, 激活干扰素相关基因表达多种抗病毒蛋白, 实现对病毒的抑制作用; 同时还可增强巨噬细胞、T淋巴细胞和自然杀伤细胞(NK细胞)的活力, 起到免疫调节、增强抗病毒能力的作用. 干扰素的应用是慢性乙型肝炎治疗的一个重要里程碑<sup>[10]</sup>, 其抗病毒有效率可达25%-50%左右<sup>[11-14]</sup>, 但由于一些无法忍受的不良反应<sup>[9,13,14]</sup>, 使临床中真正适宜于干扰素治疗的患者并不多. 拉米夫定是一种核苷类抗病毒新药, 他可在HBV感染细胞和正常细胞内代谢生成活性形式的拉米夫定三磷酸盐, 可渗入到病毒DNA链中、阻断病毒DNA的合成, 是HBV DNA聚合酶的抑制剂, 能迅速抑制HBV复制且抑制作用持续整个治疗过程. 但随着越来越多的应用, 发现他仍不能完全清除HBV, 远期有效率低于干扰素(16%-35%)<sup>[9]</sup>, 停药后易出现病毒反跳, 引发肝功能异常, 甚至重型肝炎<sup>[15,16]</sup>以及易出现耐药毒株<sup>[17]</sup>等, 使后续治疗成为难题.

目前国内对中草药抗病毒机制的研究仍属空白, 主要原因是中草药成分多样复杂, 难于分离纯化, 妨碍其进一步的研究. 本实验拟对汗衣台体外抗HBV不良反应以及疗效进行初步研究, 并选用临床上经典的两类抗HBV西药干扰素以及拉米夫定作为对照组, 因为他们具有被世人所公认的稳定疗效, 堪称抗病毒药物研发的“金标准”.

“汗衣台(壮语)”, 别称: 千里找根《云南中草药选》, 小赖藤《云南中草药选》, 绿包藤、癩浆包藤《云南思茅中草药选》, 为防己科植物皱波青牛胆[Tinospora crispa(L.) Miers]的藤茎<sup>[3,18,19]</sup>. 我国有青龙胆属植物11种, 中药大词典中仅收载4种, 该属植物在印度、泰国等东南亚国家被广泛药用, 是印度阿育吠陀医学中最重要的药物之一<sup>[5,6,20]</sup>. 据文献记载汗衣台具有通关通窍通脉、通经活血、清热排毒、消炎止痛等作用, 多用于治疗跌打骨折刀伤、痢疾腹胀、痈疖肿毒等. 据广西壮族民间流传医用证实其对慢性HBV具有良效, 但国内外尚未见相关文献报道.

本实验采用HepG2.2.15细胞为体外细胞模型, 分别给予不同浓度的汗衣台与其作用, 研究其体外抗HBV的疗效. 实验结果表明, 各浓度汗衣台均可明显抑制2.2.15细胞分泌HBsAg及HBeAg抗原, 抑制率呈剂量依赖性; 500-800  $\mu\text{g/mL}$ 浓度汗衣台对HBsAg分泌的抑制明显高于同浓度的拉米夫定及干扰素, 100-800  $\mu\text{g/mL}$ 浓度的汗衣台对HBeAg分泌的抑制明显高于同浓度的拉米夫定及干扰素, 提示在抑制HBsAg及HBeAg抗原分泌方面, 中高浓度的汗衣台优于干扰素和拉米夫定, 而低浓度无明显差别; 相反得, 高浓度干扰素对病毒的抑制作用不及低浓度, 推测可能与干扰素受体的饱和以及下调有关, 而拉米夫定对HBV DNA分泌的抑制作用十分显著, 各浓度抑制率均达100%. 另外, 各浓度汗衣台对HBV DNA抑制亦呈剂量依赖性, 中高浓度的汗衣台对HBV DNA的抑制作用在短期内不如拉米夫定, 但强于干扰素, 而低浓度无明显差别.

从实验结果不难看出, 汗衣台抗病毒的主流模式既不同于干扰素, 因为中高浓度的汗衣台对病毒的抑制效果优于低浓度, 说明他与细胞膜上的受体关系不大, 也不同于拉米夫定, 因为DNA聚合酶抑制剂的效果立竿见影. 推测可能是一种直接的干扰机制: 干扰HBV DNA的复制; 干扰HBV各种抗原的组装以及干扰HBV颗粒的成熟分泌等, 其具体机制有待进一步研究.

总之, 此研究首次证实汗衣台具有体外抗HBV作用, 阐明了广西壮族民间流传医用治疗慢性乙型肝炎的科学性, 提示汗衣台作为抗HBV药物具有一定的应用前景, 值得进一步研究、开发和利用.

### 4 参考文献

- 1 郑浩杰, 刘国强. 利用2.2.15细胞株筛选抗乙肝病毒中草药的体外实验研究进展. 陕西中医学院学报 2003; 26: 61-63
- 2 应国红, 郑民实. 800种中草药抗乙型肝炎病毒的实验研究. 江西医学院学报 2002; 42: 20-22
- 3 昆明军区后勤部卫生部. 云南中草药选. 昆明: 昆明军区后勤部卫生部, 1970: 120-121
- 4 Ruan CT, Lam SH, Chi TC, Lee SS, Su MJ. Borapetoside C from *Tinospora crispa* improves insulin sensitivity in diabetic mice. *Phytomedicine* 2012; 19: 719-724 [PMID: 22579212 DOI: 10.1016/j]
- 5 Praman S, Mulvany MJ, Allenbach Y, Marston A, Hostettmann K, Sirirugsa P, Jansakul C. Effects of an n-butanol extract from the stem of *Tinospora crispa* on blood pressure and heart rate in anesthetized rats. *J Ethnopharmacol* 2011; 133: 675-686 [PMID: 21040767]

### ■名词解释

阿育吠陀: 印度语, 意思为生命的科学. 根据她的观点, 人类应该和自然界和谐共存, 而疾病的产生是由于这种和谐被打破. 通过利用自然界及其产物恢复这种基本平衡是阿育吠陀医学的主要目的.

## ■同行评价

文章有较强的科学性和特色,具有一定的创新性和较好的可读性,结论具有一定的参考意义。

- 6 Zulkhairi A, Abdah MA, M Kamal NH, Nursakinah I, Moklas MA, Hasnah B, Fazali F, Khairunnur FA, Kamilah KA, Zamree MS, Shahidan MM. Biological Properties of *Tinospora crispa* (Akar Patawali) and Its Antiproliferative Activities on Selected Human Cancer Cell Lines. *Malays J Nutr* 2008; 14: 173-187 [PMID: 22691774]
- 7 中国国家科委. 人 $\alpha 1b$ 型基因工程干扰素研究报告. 《人 $\alpha 1b$ 型基因工程干扰素研究》鉴定会资料汇编 2010. Available from: <http://www.kexing.com.cn/yidetail.aspx?NewsID=104>
- 8 拉米夫定片. Available from: <http://baike.baidu.com/view/457273.htm>
- 9 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国临床医生 2010; 40: 66-78
- 10 亚太肝病学会慢性乙型肝炎治疗共识工作组. 亚太地区慢性乙型肝炎治疗共识(2012最新版). 临床肝胆病杂志 2012; 28: 641-661
- 11 李磊, 李宜, 高人焘. HBsAg和HBeAg定量在干扰素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎疗效预测中的价值. 实用肝胆病杂志 2012; 15: 232-234
- 12 蔡灵芝. 干扰素与拉米夫定联用治疗慢性乙型肝炎. 药物与临床 2011; 49: 51-52
- 13 徐小平, 瞿章书, 姚茂军, 洪桥爱, 张伟, 汤丽娟. 不同国产 $\alpha$ -干扰素治疗慢性乙型肝炎临床对比观察. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1192-1194
- 14 谢东文. 大剂量干扰素 $\alpha$ -2b治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎疗效观察. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 259-160
- 15 方立庆, 张振华, 梁佳佳, 杨玥, 孙丙虎, 张黄醒, 赵小苗, 张亚飞, 李旭. 拉米夫定治疗慢性乙型肝炎发生病毒学反弹患者YMDD变异分析. 安徽医科大学学报 2012; 47: 1265-1267
- 16 甘建和, 赵卫峰, 邵幼林, 陈良云. 拉米夫定诱导多重耐药引起重型肝炎. 2009年第五届国际暨全国肝衰竭与人工肝学术会议论文集 2009: 225-226
- 17 孟玉丽, 张红旭, 王斌, 许红华, 张晨曦, 孟春阳. 拉米夫定耐药慢性乙型肝炎患者HBV多聚酶区基因突变分析. 慢性病学杂志 2010; 12: 635-637
- 18 罗献瑞, 赵素云. 中国防已科资料. 广西植物 1986; 6: 49-61
- 19 袁久志, 吴立军. 青龙胆属药用植物研究进展. 中药研究与信息 2005; 7: 14-17
- 20 Kadir FA, Othman F, Abdulla MA, Hussan F, Hassandarvish P. Effect of *Tinospora crispa* on thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats. *Indian J Pharmacol* 2011; 43: 64-68 [PMID: 21455425 DOI: 10.4103/0253-7613.75673]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)



## <sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃黏膜病变程度的相关性

张丽颖, 李振华, 李保双, 蔡毅东, 唐旭东

张丽颖, 中国中医科学院研究生院 北京市 100700  
李振华, 李保双, 蔡毅东, 唐旭东, 中国中医科学院西苑医院 北京市 100091  
张丽颖, 主要从事消化系统疾病中西医结合防治方面的研究。  
中医药行业科研专项基金资助项目, No. 201007006  
作者贡献分布: 此课题由唐旭东、李振华、李保双及张丽颖设计; 研究过程由李振华、李保双、蔡毅东及张丽颖操作完成; 研究用材料工具由唐旭东、李振华及蔡毅东提供; 数据分析由蔡毅东与张丽颖完成; 本论文写作由唐旭东、李振华及张丽颖完成。  
通讯作者: 唐旭东, 教授, 100091, 北京市海淀区西苑操场1号, 中国中医科学院西苑医院. txdlly@sina.com  
收稿日期: 2012-11-29 修回日期: 2012-12-26  
接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

### Correlation between <sup>13</sup>C-urea breath test value and severity of gastric mucosal lesions

Li-Ying Zhang, Zhen-Hua Li, Bao-Shuang Li, Yi-Dong Cai, Xu-Dong Tang

Li-Ying Zhang, Graduate School of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China  
Zhen-Hua Li, Bao-Shuang Li, Yi-Dong Cai, Xu-Dong Tang, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China  
Supported by: the Special Fund of TCM Scientific Research, No. 201007006  
Correspondence to: Xu-Dong Tang, Professor, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, 1 Xiyuan Playground, Haidian District, Beijing 100091, China. txdlly@sina.com  
Received: 2012-11-29 Revised: 2012-12-26  
Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

### Abstract

**AIM:** To explore the correlation between <sup>13</sup>C-urea breath test (UBT) value and severity of gastric mucosal lesions.

**METHODS:** Seventy-four patients who underwent the <sup>13</sup>C-UBT and gastroscopy within 1 week were included in the study. The severity of gastric mucosal lesions was graded pathologically. The correlation between <sup>13</sup>C-UBT value and the score of gastric mucosal lesions was analyzed.

**RESULTS:** <sup>13</sup>C-UBT value was positively correlated with the severity of chronic inflammation ( $r = 0.9958$ ,  $P = 0.0001$ ), atrophy ( $r = 0.2498$ ,  $P = 0.0318$ ) and intestinal metaplasia ( $r = 0.2784$ ,  $P =$

0.02) in the gastric antrum mucosa, but not positively with that of active gastritis in the same site ( $r = 0.1979$ ,  $P = 0.09$ ). <sup>13</sup>C-UBT value was positively correlated with the severity of active inflammation ( $r = 0.6223$ ,  $P = 0.0001$ ), chronic inflammation ( $r = 0.5480$ ,  $P = 0.0001$ ) and atrophy ( $r = 0.6014$ ,  $P = 0.0001$ ) in the gastric angle mucosa, but not positively with that of intestinal metaplasia in the same site ( $r = 0.1308$ ,  $P = 0.27$ ). <sup>13</sup>C-UBT value was not positively correlated with the severity of active inflammation ( $r = 0.2039$ ,  $P = 0.08$ ), chronic inflammation ( $r = 0.0966$ ,  $P = 0.41$ ), atrophy ( $r = 0.1369$ ,  $P = 0.24$ ), or intestinal metaplasia ( $r = 0.1837$ ,  $P = 0.12$ ) in the gastric body mucosa. <sup>13</sup>C-UBT value was positively correlated with the severity of active inflammation ( $r = 0.9958$ ,  $P = 0.0001$ ), chronic inflammation ( $r = 0.9843$ ,  $P = 0.0001$ ), atrophy ( $r = 0.9921$ ,  $P = 0.0001$ ) and intestinal metaplasia ( $r = 0.9934$ ,  $P = 0.0001$ ) in the whole gastric mucosa.

**CONCLUSION:** <sup>13</sup>C-UBT value positively correlates with severity of gastric mucosal lesions. <sup>13</sup>C-UBT quantitative detection may be used clinically to assess the severity of gastric mucosal lesions.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** <sup>13</sup>C-urea breath Test; Gastric mucosa; Pathology

Zhang LY, Li ZH, Li BS, Cai YD, Tang XD. Correlation between <sup>13</sup>C-urea breath test value and severity of gastric mucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 177-181

### 摘要

**目的:** 探讨<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量检测值与胃黏膜病变程度的关系。

**方法:** 74例患者于1 wk内分别测定<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量检测和行胃镜检查取胃黏膜, 进行组织病理学检查, 黏膜按标准予以评分。将<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值和胃黏膜病理病变评分做相关性分析。

**结果:** <sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃窦黏膜

### ■背景资料

幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染是慢性胃炎的主要病因, 其与胃癌的发生关系密切, 临床诊断和治疗尤为重要。<sup>13</sup>C-尿素呼气试验目前应用越来越广泛。

### ■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

## ■ 研究前沿

<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量检测值与胃黏膜病变程度的关系的研究较少,文献报道也较少。目前*H. pylori*的治疗仅靠定性诊断就用药治疗,本文通过定量衡量黏膜病变程度,可以指导治疗及预后。

慢性炎症( $r = 0.9958, P = 0.0001$ )、萎缩( $r = 0.2498, P = 0.0318$ )、肠化( $r = 0.2784, P = 0.02$ )病变程度呈正相关,与其活动性炎症( $r = 0.1979, P = 0.09$ )病变程度不相关;<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃角黏膜活动性炎症( $r = 0.6223, P = 0.0001$ )、慢性炎症( $r = 0.5480, P = 0.0001$ )、萎缩( $r = 0.6014, P = 0.0001$ )病变程度呈正相关,与其肠化( $r = 0.1308, P = 0.27$ )病变程度不相关;<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃体黏膜活动性炎症( $r = 0.2039, P = 0.08$ )、慢性炎症( $r = 0.0966, P = 0.41$ )、萎缩( $r = 0.1369, P = 0.24$ )、肠化( $r = 0.1837, P = 0.12$ )程度均不相关;<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与全胃黏膜活动性炎症( $r = 0.9958, P = 0.0001$ )、慢性炎症( $r = 0.9843, P = 0.0001$ )、萎缩( $r = 0.9921, P = 0.0001$ )、肠化( $r = 0.9934, P = 0.0001$ )病变程度均呈正相关。

**结论:** <sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃黏膜病理病变程度呈正相关,临床上可以根据<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值高低考虑黏膜病理病变程度,进而更好地指导临床诊断、用药及预后。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** <sup>13</sup>C-尿素呼气试验; 胃黏膜; 病理

张丽颖, 李振华, 李保双, 蔡毅东, 唐旭东. <sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃黏膜病变程度的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 177-181

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/177.asp>

## 0 引言

慢性胃炎是指由于各种因素所致的慢性黏膜炎症改变。幽门螺杆菌(*Helicobacter Pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎的重要病因,与胃癌的发生有着密切的关系。自Marshall等<sup>[1]</sup>在1983年发现和成功分离出*H. pylori*后,国内外学者20多年来对其进行了广泛而深入的研究,认为*H. pylori*是慢性胃炎的主要致病菌。长期*H. pylori*感染所致的炎症、免疫反应可使部分患者发生胃黏膜萎缩和肠化<sup>[2]</sup>。我国*H. pylori*的感染率较大,在50%-70%之间,随年龄的增加而升高<sup>[3]</sup>。

*H. pylori*的诊断方法很多,分为侵入性和非侵入性试验两种<sup>[4]</sup>。其中<sup>13</sup>C-尿素呼气试验作为非侵入性试验诊断方法,于1996-09通过美国食品药品监督管理局(FDA)的评审,批准应用于临床,在临床上得到了越来越广泛的应用。

本文试图通过对<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量检测结果与胃黏膜病理检测病变评分值做相关性

分析,探讨<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量检测值的意义,以期能更好地指导临床诊断、用药及预后。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取我院脾胃病科门诊2011-07/2012-04收治的患者74例。其中男35例,女39例,年龄25-62岁,中位年龄40.5岁。排除1 mo内服用抗生素、质子泵抑制剂、H<sub>2</sub>受体拮抗剂及铋剂的患者。所有患者均做<sup>13</sup>C-尿素呼气试验,定值量判断阳性,且在1 mo内行胃镜检查,且胃窦、胃角、胃体3个部位黏膜各取至少1块组织,做病理组织学检查。

中科科仪<sup>13</sup>C呼气质谱仪(型号ZHELICO-BACTER PYLORI-2001); TB-718生物组织包埋机; Leica RM2235组织切片机; Leica HI1220烤片机; Leica ST5020徕卡全自动组织脱水机; Olympus bx51显微镜; Anymicro DSSTM图像采集系统试剂。尿素(<sup>13</sup>C)胶囊呼气试验药盒(深圳市中核海得威生物科技有限公司,规格75 mg)。

### 1.2 方法

**1.2.1 <sup>13</sup>C-尿素呼气试验及定量值标准:** (1)收集零时呼气,嘱受检者平静呼气至10 mL特定样品管内; (2)口服<sup>13</sup>C-尿素试验餐(成人75 mg),并开始计时; (3)收集服药后30 min呼气于特定样品管内; (4)将零时及30 min的2个样品管置于高精度气体同位素比值质谱仪中进行分析检测。利用<sup>13</sup>C-尿素呼气试验诊断*H. pylori*感染的标准通常以DOB值来表示。判定标准是DOB≥4判定阳性; DOB<4判定阴性。

**1.2.2 病理组织学检查及评分标准:** 活检取材及组织学分级标准均参照中国慢性胃炎共识意见<sup>[5]</sup>(2006年上海)。胃窦、胃角、胃体3个部位黏膜各取至少1块组织; 有4种组织学变化分级(慢性炎症、活动性、萎缩和肠化)分为无、轻度、中度和重度4级(分别计分为0、1、2、3)。慢性炎症: 根据黏膜层慢性炎症细胞的密集程度和浸润深度分级。轻度: 慢性炎症细胞较少并局限于黏膜浅层,不超过黏膜层的1/3; 中度: 慢性炎症细胞较密集,不超过黏膜层的2/3; 重度: 慢性炎症细胞密集,占据黏膜全层。活动性: 慢性炎症背景上有中性粒细胞浸润。轻度: 黏膜固有层有少数中性粒细胞浸润; 中度: 中性粒细胞较多存在于黏膜层,可见于表面上皮细胞、小凹上皮细胞或腺管上皮内; 重度: 中性粒细胞较密集,或除中度所见外还可见小凹脓肿。萎缩: 胃固有腺减少,分为2种类型: (1)化生性萎缩; (2)非化

表 1  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值及不同部位的胃黏膜病变评分情况 (M+QR)

项目	胃窦	胃角	胃体	全胃
$^{13}\text{C}$ -尿素呼气 试验定量值	13.90+12.80			
活动性炎症	1.00+0.00	1.00+1.00	0.00+1.00	3.00+2.00
慢性炎症	2.00+3.00	3.00+2.00	1.50+1.00	6.00+4.00
萎缩	0.00+1.00	0.00+0.00	0.00+0.00	0.00+1.00
肠化	0.00+0.00	0.00+0.00	0.00+0.00	0.00+1.00

## ■ 相关报道

李冰冰等研究发现 $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值可以判断患者是否感染 $H. pylori$ 以及 $H. pylori$ 在胃内的定植情况, 对于指导治疗以及判断治疗效果有一定意义。

表 2  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与胃不同部位黏膜病变的相关分析 ( $r$ )

项目	活动性炎症	慢性炎症	萎缩	肠化
胃窦	0.20	0.24 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.28 <sup>a</sup>
胃角	0.62 <sup>b</sup>	0.55 <sup>b</sup>	0.60 <sup>b</sup>	0.13
胃体	0.20	0.10	0.14	0.18
全胃	0.99 <sup>b</sup>	0.98 <sup>b</sup>	0.99 <sup>b</sup>	0.99 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs  $^{13}\text{C}$ -UBT定量值。

生性萎缩。轻度: 固有腺体数减少不超过原有腺体的1/3; 中度: 固有腺体数减少介于原有腺体的1/3-2/3之间; 重度: 固有腺体数减少超过2/3, 仅残留少数腺体, 甚至完全消失。肠化: 轻度: 肠化区占腺体和表面上皮总面积1/3以下; 中度: 肠化区占腺体和表面上皮总面积的1/3-2/3; 重度: 肠化区占腺体和表面上皮总面积的2/3以上。

**统计学处理** 计量资料采用最大值、最小值、mean±SD, 中位数+四分位数间距(M+QR)进行统计学描述。采用SAS9.2进行统计分析。两指标间的相关性分析采用线性相关或秩相关。

## 2 结果

2.1  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值及不同部位的胃黏膜病变评分情况 74例患者接受 $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验检查, 定量值呈非正态分布; 胃黏膜病变评分呈非正态分布, 具体描述参见表1。

2.2  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与不同部位的胃黏膜病变的相关分析  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与胃窦黏膜慢性炎症( $r = 0.2358$ ,  $P = 0.0001$ )、萎缩( $r = 0.2498$ ,  $P = 0.0318$ )、肠化( $r = 0.2784$ ,  $P = 0.02$ )病变程度呈正相关, 与其活动性炎症( $r = 0.1979$ ,  $P = 0.09$ )病变程度不相关;  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与胃角黏膜活动性炎症( $r = 0.6223$ ,  $P = 0.0001$ )、慢性炎症( $r = 0.5480$ ,  $P = 0.0001$ )、萎缩( $r = 0.6014$ ,  $P = 0.0001$ )病变程度呈正相关, 与其肠化( $r = 0.1308$ ,  $P = 0.27$ )病变程度不相关;

$^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与胃体黏膜活动性炎症( $r = 0.2039$ ,  $P = 0.08$ )、慢性炎症( $r = 0.0966$ ,  $P = 0.41$ )、萎缩( $r = 0.1369$ ,  $P = 0.24$ )、肠化( $r = 0.1837$ ,  $P = 0.12$ )程度均不相关;  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与全胃黏膜活动性炎症( $r = 0.9938$ ,  $P = 0.0001$ )、慢性炎症( $r = 0.9843$ ,  $P = 0.0001$ )、萎缩( $r = 0.9921$ ,  $P = 0.0001$ )、肠化( $r = 0.9934$ ,  $P = 0.0001$ )病变程度均呈正相关, 且相关系数均接近于1(表2)。

## 3 讨论

慢性胃炎在成人中有很高的发病率, 引起腺体的损伤, 研究证实慢性胃炎、肠上皮化生和 $H. pylori$ 感染在胃癌的发病中至关重要<sup>[6]</sup>。1994年世界卫生组织/国际癌症研究机构将 $H. pylori$ 定为I类致癌因子。胃癌的发生是一个多因素、多步骤的复杂过程, 目前公认的 $H. pylori$ 感染后肠型胃癌的发生模式是1995年Correa提出的“ $H. pylori$ 感染-慢性胃炎-萎缩、肠化-异性增生-分化型腺癌”模式<sup>[7]</sup>。即在 $H. pylori$ 感染基础上, 多次急慢性胃炎反复发作引发萎缩性胃炎, 萎缩性胃炎没有得到有效治疗, 胃黏膜在多次重创及修复过程中, 可造成胃黏膜的糜烂、坏死及溃疡形成并产生多种致癌物质。这种损伤与修复伴炎性坏死产生的致癌物质, 导致细胞出现异型增生及癌变<sup>[8]</sup>。

目前, 胃镜检查是胃黏膜病变的最可靠的



### ■应用要点

鉴于<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃黏膜的相关性,临床上可以考虑应用定量来指导用药,选择合适的根除方法,减少大量长时间应用抗生素引起的耐药。

诊断方法。慢性胃炎是由于各种因素所致的慢性黏膜炎症改变。*H. pylori*感染是慢性胃炎的主要病因,90%以上的慢性胃炎有*H. pylori*感染。其致病机制与下列因素有关:*H. pylori*产生多种酶如尿素酶及其代谢产物氨、过氧化氢酶、蛋白水解酶、磷脂酶A等,对黏膜有破坏作用。*H. pylori*分泌的细胞毒素如含有细胞毒素相关基因和空泡毒素基因的菌株,可导致胃黏膜细胞空泡样变性坏死。*H. pylori*感染与慢性胃炎胃黏膜炎症活动有关<sup>[9]</sup>。尿素酶是*H. pylori*主要的毒力致病因子,该酶以胞质和表面蛋白2种形式存在,占菌体总蛋白的6%-10%。该因子共分9部分,包括编码尿素酶A亚基(urease A subunit, UreA),尿素酶B亚基(urease B subunit, UreB)蛋白的2个结构基因和其他7个表现尿素酶活性所必需的蛋白因子。尿素酶对*H. pylori*穿过黏液层,定值在上皮细胞有保护和辅助作用<sup>[10]</sup>。

*H. pylori*在胃中呈点状分布。如果胃内细菌定值量较少,或由于应用抗生素、PPI和H<sub>2</sub>受体拮抗剂等导致细菌减少或活性下降,因此取胃黏膜活检有时会有假阴性结果,然而<sup>13</sup>C-尿素呼气试验作为一种非侵入性检测*H. pylori*的方法,由于试剂在胃内均匀分布,结果不受细菌点状分布的影响,且其可靠性已经被广泛认可。其检测*H. pylori*感染的特异性达90%-99%,敏感性达89%-99%<sup>[11]</sup>。Maastricht共识报告认可UBT作为*H. pylori*是否根除的疗后随访的最佳选择<sup>[12]</sup>。但对于具体检测值相关的研究,对临床的诊断和治疗是否有指导意义仍是临床关注的问题。<sup>13</sup>C-UBT优点在于:(1)采用的高精度气体同位素比值质谱仪分析精度可达十万分之一,准确性高;(2)反应是“全胃”的“实时”状态,敏感性和特异性均超过95%,在中国和欧洲的*H. pylori*共识意见中,该方法被首选推荐为确诊*H. pylori*现症感染及判断*H. pylori*根除的非侵入性方法;(3)操作简便快速,自动化程度高,30 min即可得出结果;(4)<sup>13</sup>C为稳定性同位素,适合于各年龄的受试者;(5)呼气样品采用特制气体收集瓶收集,可通过邮寄该瓶对无此设备其他地区患者进行*H. pylori*检测<sup>[13]</sup>。<sup>13</sup>C-UBT检测的结果同样也受很多因素的影响,在检测时要注意把握检测前和检测过程中的质控工作,才能确保检测结果的准确性和可靠性<sup>[14]</sup>。<sup>13</sup>C-尿素呼气试验是通过测量尿素酶活力来检测胃内实际存在的活*H. pylori*,由于口服<sup>13</sup>C在胃内呈均匀分布,无局灶性影响,且与胃黏膜接触广发,只要<sup>13</sup>C尿素接触

部位存在*H. pylori*感染,即便是很少量的*H. pylori*也可准确、灵敏的检测出来。本研究结果显示:<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃窦黏膜慢性炎症、萎缩、肠化病变程度呈正相关( $P<0.05$ ),与胃角黏膜活动性炎症、慢性炎症、萎缩病变程度呈正相关( $P<0.01$ ),与胃体黏膜病理病变程度均不相关( $P>0.05$ )。*H. pylori*感染的程度与胃窦和胃角黏膜病理病变的程度关系密切,感染越严重,病变程度越严重;与胃体黏膜病理病变的程度没有相关性。由于*H. pylori*主要定植于胃窦部,其对胃窦黏膜的病理损伤更为多见,因此关系更为密切。

本文结果显示<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃3个部位黏膜病变之和均呈正相关( $P<0.01$ ),且相关系数接近于1。表明*H. pylori*感染和胃黏膜病变程度的关系密切,*H. pylori*感染越严重,胃黏膜病理改变程度越严重。也有研究证实,*H. pylori*感染、慢性活动性炎症和肠上皮化生之间有着显著的联系<sup>[15]</sup>。

既往报道<sup>[16]</sup>,儿童<sup>13</sup>C-尿素呼气试验定量值与胃镜检查*H. pylori*比较,发现胃黏膜活检病理监测和*H. pylori*培养两项阳性者,其<sup>13</sup>C-尿素呼气试验的定量值明显高于仅一项阳性者,提示,<sup>13</sup>C尿素呼气试验定量值可以在一定程度上反应*H. pylori*在胃黏膜的定值量。本文为国内首次对成人进行此相关研究,结果与既往研究基本一致。

胃镜及病理检查对于胃黏膜及*H. pylori*感染的诊断固然是金标准。但由于其为侵入性,患者耐受差,通过本研究,我们在临床上对于症状较轻以及复查的患者,可以依靠<sup>13</sup>C-尿素呼气试验的定量值,来判断患者是否感染*H. pylori*、*H. pylori*在胃内的定值情况以及胃黏膜的损伤程度等,进而从胃黏膜病理病变方面指导*H. pylori*根除,给予患者全面的治疗。

### 4 参考文献

- 1 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315 [PMID: 6145023 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91816-6]
- 2 中华医学会消化病学分会. 关于幽门螺杆菌感染中医药治疗对策的思考. *中华消化杂志* 2007; 27: 45-50
- 3 王吉耀. 内科学. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 415
- 4 王春江, 葛伏林. 幽门螺杆菌诊断方法评价. *医学与哲学* 2009; 30: 8-10
- 5 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. *胃肠病学* 2006; 11: 674-684
- 6 Dîrnu R, Secureanu FA, Neamțu C, Totolici BD, Pop

- OT, Mitruț P, Mălăescu DG, Mogoantă L. Chronic gastritis with intestinal metaplasia: clinico-statistical, histological and immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol* 2012; 53: 293-297 [PMID: 22732798]
- 7 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3327-3331
- 8 高泽立, 张成, 盛飞英, 金丽雯. 胃黏膜肠上皮化生-胃上皮内瘤变与胃癌的组织发生. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1981-1984
- 9 林进乾. 幽门螺杆菌感染与慢性胃炎炎症活动的关系. 中国疗养医学 2009; 18: 257
- 10 韩秀萍, 王凡, 李家奎, 刘纯杰. 幽门螺杆菌毒力致病因子研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2292-2297
- 11 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识. 现代消化及介入诊疗 2008; 13: 73-76
- 12 朱琦, 刘文忠. 幽门螺杆菌感染处理的当代概念Maas-tricht III 共识报告. 中华消化杂志 2007; 27: 257-261
- 13 闫伟, 曹建彪. 胃幽门螺杆菌检测技术进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1527-1533
- 14 龚立荣, 刘玉萍, 樊衷豆, 王伟维, 任娇娇. 尿素 $^{13}\text{C}$ 呼气试验检测幽门螺杆菌的操作流程. 求医问药 2012; 10: 335
- 15 Sonnenberg A, Lash RH, Genta RM. A national study of *Helicobacter pylori* infection in gastric biopsy specimens. *Gastroenterology* 2010; 139: 1894-1901. e2; quiz e12 [PMID: 20727889]
- 16 李冰冰, 康宏壮.  $^{13}\text{C}$ -尿素呼气试验定量值与胃镜检测幽门螺杆菌比较. 中国当代儿科杂志 2001; 3: 705-706

编辑 田滢 电编 闫晋利

## ■同行评价

本文立题较好, 对临床医师针对 *H. pylori* 进行个体化治疗具有一定指导意义。



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# IL-28B基因多态性与丙型肝炎易感性的关系

米寅, 高英堂, 焦晓磊, 杜智

## ■背景资料

丙型肝炎病毒是由丙型肝炎病毒(HCV)引起的一种传染病, 是导致肝硬化和肝癌的主要原因之一, 每年因HCV感染而死亡者高达35万人。HCV感染的具体机制尚不清楚, 除与病毒本身有关, 更重要的是与不同个体的遗传易感性有关。

米寅, 焦晓磊, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市300170

高英堂, 杜智, 天津市第三中心医院 天津市人工细胞重点实验室 天津市300170

米寅, 硕士, 主要从事肝胆疾病的研究。

天津市卫生局攻关基金资助项目, No. 11KG112

作者贡献分布: 本研究的设计由杜智、高英堂及米寅完成; 米寅完成样本的收集、数据统计及文章的撰写工作; 实验操作由米寅与焦晓磊完成; 文章的修改由高英堂与杜智完成。

通讯作者: 杜智, 教授, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院, 天津市人工细胞重点实验室。

zhi-du@163.com

电话: 022-84112148 传真: 022-24315132

收稿日期: 2012-10-19 修回日期: 2012-12-24

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Association between an IL-28B gene polymorphism and susceptibility to hepatitis C virus infection

Yin Mi, Ying-Tang Gao, Xiao-Lei Jiao, Zhi Du

Yin Mi, Xiao-Lei Jiao, Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China

Ying-Tang Gao, Zhi Du, Key Laboratory of Artificial Cell, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Supported by: the Key Research Project of Tianjin Healthy Bureau, No. 11KG112

Correspondence to: Zhi Du, Professor, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. zhi-du@163.com

Received: 2012-10-19 Revised: 2012-12-24

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

**AIM:** To study the association between interleukin-28B (IL-28B) single nucleotide polymorphism (SNP) rs8099917 and susceptibility to hepatitis C virus (HCV) infection in Chinese patients.

**METHODS:** The IL-28B rs8099917 locus was genotyped in 263 patients infected with HCV and 244 healthy controls using TaqMan SNP genotyping assay. The differences in rs8099917 genotypes and allele frequencies between the two groups were analyzed by statistics.

**RESULTS:** Among 263 patients with chronic HCV, 223 (84.8%) had the TT genotype, 39

(14.8%) had the TG genotype, and 1 (0.40%) carried GG genotype. The frequency of T allele was 0.922. Of 244 healthy controls, the numbers of people who carried TT, TG and GG genotypes were 222 (91.0%), 21 (8.6%) and 1 (0.4%), respectively. T allele frequency was 0.953. TG/GG genotype frequencies differed significantly between patients with chronic HCV and healthy controls ( $OR = 1.810$ , 95%  $CI: 1.042-3.145$ ;  $P = 0.033$ ). Patients with HCV infection had a higher G allele frequency than healthy controls ( $OR = 1.709$ , 95%  $CI: 1.010-2.893$ ;  $P = 0.044$ ).

**CONCLUSION:** The IL-28B rs8099917 gene polymorphism correlates with susceptibility to HCV infection in Chinese patient. G allele is associated with a higher risk of HCV infection.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Interleukin-28B; Hepatitis C; Gene polymorphisms; Susceptibility

Mi Y, Gao YT, Jiao XL, Du Z. Association between an IL-28B gene polymorphism and susceptibility to hepatitis C virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 182-187

## 摘要

**目的:** 探讨白介素-28B(interleukin-28B, IL-28B)单核苷酸多态性位点rs8099917与中国丙型肝炎易感性的关系。

**方法:** 采用TaqMan SNP基因分型的方法检测中国天津地区263名丙型肝炎患者和244名健康人IL-28B rs8099917基因型和等位基因分布情况, 并统计分析rs8099917基因型和等位基因在2组中分布的差异。

**结果:** 在263名丙型肝炎患者中, TT基因型223人(84.8%), TG基因型39人(14.8%), GG基因型1人(0.4%)。T等位基因频率为92.2%。244名健康对照者中, TT基因型222人(91.0%), TG 21人(8.60%), GG 1人(0.40%), T等位基因频率为95.3%。丙型肝炎患者和健康人群TG/GG基因型频率差异有统计学意义( $OR = 1.810$ ,

## ■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科



95%CI: 1.042-3.145;  $P = 0.033$ ). 丙型肝炎患者G等位基因频率也高于健康人( $OR = 1.709$ , 95%CI: 1.010-2.893;  $P = 0.044$ ).

**结论:** 中国人群IL-28B rs8099917基因多态性与丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染易感性相关联. G为HCV感染的风险等位基因.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 白介素-28B; 丙型病毒性肝炎; 基因多态性; 易感性

米寅, 高英堂, 焦晓磊, 杜智. IL-28B基因多态性与丙型肝炎易感性的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 182-187  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/182.asp>

## 0 引言

丙型病毒性肝炎是由丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)引起的一种传染病, 主要通过静脉毒品注射、输血、器官移植和血液透析等途径传播<sup>[1]</sup>. 目前全球丙型肝炎患者约有1.3至1.7亿人, 每年因HCV感染而死亡者高达35万人<sup>[2]</sup>. 相对乙型肝炎, 丙型肝炎更容易慢性化, 他已经成为导致肝硬化和肝癌的主要原因之一<sup>[3]</sup>, 严重危害着人类健康, 所以对丙型肝炎进行积极预防以及有效的治疗是十分必要的. HCV感染的具体机制尚不清楚, 除与病毒本身有关, 更重要的是与不同个体的遗传易感性有关. 白细胞介素-28B(interleukin-28B, IL-28B)又称为IFN- $\lambda$ 3, 属于IFN- $\lambda$ s干扰素家族, 亦即III型干扰素(interferon, IFN)家族, 该家族另外2个成员是IL-29、IL-28A, 分别又称为IFN- $\lambda$ 1、IFN- $\lambda$ 2. 编码人IFN- $\lambda$ s的基因均位于19号染色体(19q13.13), 其中rs8099917位于IL-28B基因上游约8 kb处<sup>[4,5]</sup>. 近年研究表明, IL-28B rs8099917基因多态性与HCV自然清除以及抗病毒治疗应答密切相关, TT基因型较TG/GG更利于HCV的清除<sup>[4-7]</sup>. 然而在中国人群中, 是否rs8099917基因多态性与HCV感染存在易感性还鲜有研究报道. 本研究检测了天津地区慢性丙型肝炎患者和健康人群IL-28B rs8099917基因型和等位基因分布情况, 以探讨IL-28B rs8099917基因多态性与丙型肝炎易感性的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究选取2005-2011年于天津市第三中心医院就诊的丙型肝炎患者263名. 参照《丙型肝炎防治指南》诊治标准<sup>[8]</sup>, 所有患者均确诊为

慢性丙型病毒性肝炎, 且抗HCV抗体(通过酶联免疫吸附实验测定)与HCV-RNA均为阳性. 排除有乙型病毒性肝炎、人类免疫缺陷病毒感染、精神疾病、自身免疫性肝炎、肝移植的患者. 其中男132人(50.2%), 女131人(49.8%), 平均年龄54.0岁 $\pm$ 11.7岁. 另外选取在天津市第三中心医院预防保健科进行健康查体的健康对照者244人. 健康对照组人群均无HCV感染史. 其中男136人(55.7%), 女108人(44.3%), 平均年龄52.1岁 $\pm$ 10.7岁. 所研究对象均为天津地区汉族人群, 一般资料来自门诊或病房的病历记录. 本研究所有血液样本的收集、处理和rs8099917基因型检测均经患者本人同意, 并经天津市第三中心医院伦理委员会批准.

### 1.2 方法

**1.2.1 HCV-RNA检测:** 采用HCV核酸定量检测试剂盒(上海科华生物工程股份有限公司)检测丙型肝炎患者HCV-RNA, 最低检测值为500 IU/mL.

**1.2.2 基因组DNA提取:** 从患者和健康对照者外周静脉血分离出血凝块, 利用酚-氯仿-异戊醇抽提法提取基因组DNA, 并用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测提取结果<sup>[9]</sup>.

**1.2.3 IL-28B rs8099917基因型检测:** 首先采用ABI PRISM® 7000 SDS对所提取的DNA进行PCR扩增, 扩增体系为10  $\mu$ L, 含DNA模板1.5  $\mu$ L、2 $\times$ TaqMan Genotyping Master Mix 5  $\mu$ L、40 $\times$ TaqMan SNP Genotyping Assay Mix(rs8099917, C\_11710096\_10)0.25  $\mu$ L和超纯水3.25  $\mu$ L. 每96孔板设置3个空白对照(NTC). 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C热变性5 min, 92  $^{\circ}$ C变性20 s, 60  $^{\circ}$ C退火1 min, 共50个循环. 在上述PCR基础上, 利用ABI PRISM® 7000 SDS通过读取荧光信号进行等位基因的SNP分析, 并根据散点图的分布情况分析各样品的基因型和等位基因(图1).

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行统计学分析. 对丙型肝炎患者组和健康对照组rs8099917基因型分布进行哈迪温伯格平衡检验. 用Mann-Whitney  $U$ 检验比较两组人群年龄的差异. 两组人群性别的差异以及IL-28B rs8099917基因型和等位基因在两组人群中的分布情况用四格表 $\chi^2$ 检验分析, 并计算比值比(odds ratio,  $OR$ )及95%可信区间(confidential interval, CI). 检验均为双侧,  $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 研究对象一般资料** 在263名慢性丙型肝炎

### ■研究前沿

近年研究表明, 白介素-28B(IL-28B)rs8099917基因多态性与HCV自然清除以及抗病毒治疗应答密切相关, TT基因型较TG/GG更利于HCV的清除. 然而在中国人群中, 是否rs8099917基因多态性与HCV感染存在易感性还鲜有研究报道.

## ■ 相关报道

Rauch等研究了欧洲1015名慢性丙型肝炎患者和347名HCV自然清除患者,发现HCV自然清除患者TT基因型频率高于慢性丙型肝炎患者,与rs8099917 TT基因型相比, TG和GG发展为慢性丙型肝炎的风险更高。

表 1 研究对象一般资料

变量	健康人群( <i>n</i> = 244)	丙型肝炎患者( <i>n</i> = 263)	$\chi^2/Z$ 值	<i>P</i> 值
性别			1.563	0.211 <sup>a</sup>
男, <i>n</i> (%)	136(55.7)	132(50.2)		
女, <i>n</i> (%)	108(44.3)	131(49.8)		
年龄(mean $\pm$ SD, 岁)	52.1 $\pm$ 10.7	54.0 $\pm$ 11.7	1.842	0.065 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>四格表 $\chi^2$ 检验; <sup>b</sup>Mann-Whitney *U*检验。

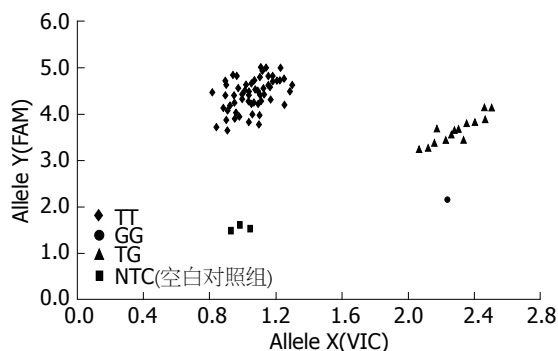


图 1 IL-28B rs8099917基因多态性散点图。

患者中,男132人(50.2%),女131人(49.8%),平均年龄54.0岁 $\pm$ 11.7岁。在244名健康人中,男136人(55.7%),女108人(44.3%),平均年龄52.1岁 $\pm$ 10.7岁。统计发现丙型肝炎患者组与健康对照组在性别、年龄上的差异均无统计学意义( $\chi^2 = 1.563$ ,  $P = 0.211$ ;  $Z = 1.842$ ,  $P = 0.065$ )。两组人群之间显示良好的匹配性(表1)。

**2.2 哈迪温伯格平衡检验** 本研究对丙型肝炎患者组和健康对照组IL-28B rs8099917基因多态性进行遗传平衡检验。结果显示,丙型肝炎患者组和健康对照组均符合哈迪温伯格遗传平衡定律, $\chi^2$ 值分别为0.26和0.43,均 $P > 0.05$ ,具有人群代表性(表2)。

**2.3 IL-28B rs8099917基因型和等位基因在丙型肝炎患者和健康人群中的分布** 丙型肝炎患者组263人,基因型TT 223人(84.8%),TG 39人(14.8%),GG 1人(0.40%),T等位基因频率92.2%。健康对照组244人,基因型TT 222人(91.0%),TG 21人(8.60%),GG 1人(0.40%),T等位基因频率95.3%。丙型肝炎患者TG/GG基因型频率高于健康人(15.2% vs 9.0%;  $OR = 1.810$ , 95%CI: 1.042-3.145;  $P = 0.033$ ),丙型肝炎患者G等位基因频率比例高于健康人(7.8% vs 4.7%;  $OR = 1.709$ , 95%CI: 1.010-2.893;  $P = 0.044$ ),差异均有统计学意义(表3)。结果显示G等位基因为

表 2 Hardy-Weinberg遗传平衡检验

分组	Hardy-Weinberg	
	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
丙型肝炎患者组	0.26	0.5 < $P$ < 0.75
健康对照组	0.43	0.5 < $P$ < 0.75

HCV感染的风险等位基因。

**2.4 分析中国丙型肝炎患者rs8099917基因型频率与其他民族的差异** 如表4所示,TT基因型频率从高到低依次是台湾(89.6%)、韩国(86.2%)、中国(84.8%)、日本(70.4%)、欧洲(58.0%)。中国丙型肝炎患者rs8099917基因型分布与韩国相似( $P = 0.783$ ),亚洲国家和地区中,日本患者TT基因型频率低于中国、台湾和韩国;欧洲患者TT基因型频率则明显低于亚洲丙型肝炎患者。

### 3 讨论

HCV急性感染后,只有不到30%的人发生病毒自然清除,其余患者会持续感染,大大增加了发展为肝硬化和肝癌的风险<sup>[10]</sup>。除了病毒因素,宿主因素(年龄、性别、种族、宿主基因等)与丙型肝炎的发生发展也密切相关<sup>[11]</sup>。近年有研究发现,位于人19号染色体上编码IFN- $\lambda$ 的基因IL-28B与HCV自然清除以及治疗应答密切相关。rs8099917位于IL-28B基因上游约8 kb处,研究发现TT基因型能够预测病毒自然清除和治疗应答<sup>[4-7]</sup>。有关中国人群rs8099917与HCV感染相关性的研究还较少。本研究检测了中国慢性丙型肝炎患者和健康人群IL-28B rs8099917基因型、等位基因的分布情况,以分析rs8099917与HCV感染易感性的关系。

IFN- $\lambda$ s干扰素家族亦即III型IFN家族,包括IL-29、IL-28A、IL-28B,此3种白细胞介素是由外周血单核细胞、树突状细胞和HeLa细胞等经病毒或双链RNA激活而产生的细胞因子<sup>[12]</sup>。与

表 3 rs8099917基因型、等位基因在慢性丙型肝炎患者和健康人群中的分布  $n(\%)$ 

	健康人群( $n = 244$ )	丙型肝炎患者( $n = 263$ )	OR(95%CI)	$\chi^2$ 值	$P$ 值
rs8099917基因型					
TT	222(91.0)	223(84.8)	1		
TG	21(8.6)	39(14.8)			
GG	1(0.4)	1(0.4)			
TG/GG	22(9.0)	40(15.2)	1.810(1.042-3.145)	4.522	0.033
rs8099917等位基因					
T	465(95.3)	485(92.2)	1		
G	23(4.7)	41(7.8)	1.709(1.010-2.893)	4.065	0.044

## ■创新盘点

本研究检测了天津地区慢性丙型肝炎患者和健康人群IL-28B rs8099917基因型和等位基因的分布情况,发现中国人群IL-28B rs8099917基因多态性与HCV感染易感性相关联, G为HCV感染的风险等位基因。

表 4 分析中国丙型肝炎患者rs8099917基因型频率与其他民族的差异 (%)

民族	Rs8099917			$\chi^2$ 值	$P$ 值
	TT	TG	GG		
欧洲 <sup>[4]</sup>	58.0	37.0	5.0	64.6	0.000
日本 <sup>[19]</sup>	70.4	28.2	1.4	16.2	0.000
韩国 <sup>[18]</sup>	86.2	12.3	1.5	0.08	0.783
台湾 <sup>[17]</sup>	89.6	10.3	0.1	4.25	0.039
中国	84.8	14.8	0.4	—	—

IFN信号途径相似, IL-28/29与受体结合后, 启动信号级联反应, 经过多步磷酸化反应, 激活JAK-STAT信号通路, 导致干扰素激活基因因子3复合物(IFN stimulated gene factor 3 complex, ISGF3)与干扰素激活反应元件(IFN stimulated response element, ISRE)相互作用, 从而调节基因的转录, 最终发挥抗病毒效应<sup>[10]</sup>。有实验已经证明IFN- $\lambda$ s在体内体外均能发挥抗病毒的作用<sup>[13-15]</sup>。虽然rs8099917基因多态性在抗HCV感染中的具体机制还不明确, 有研究发现rs8099917 G等位基因与IFN- $\lambda$ 的低表达相关<sup>[5,7]</sup>。

本研究选取的健康对照人群与慢性丙型肝炎患者在年龄和性别上均没有明显差异(均 $P>0.05$ ), 并且同为天津地区汉族人群, 因此可以排除性别、年龄、民族对HCV感染易感性的干扰。本研究发现, rs8099917基因型在两组的存在明显差异。健康人群TT基因型频率(91.0%)高于丙型肝炎患者(84.8%), 而TG/GG基因型频率(9.0%)明显低于丙型肝炎患者(15.2%)。同样, 研究还发现丙型肝炎患者G等位基因频率(7.8%)高于健康人群(4.7%)。由此可以推测, TG/GG基因型人群比TT更易发展为慢性HCV感染, G为HCV持续感染的风险等位基因。IL-28B rs8099917基因多态性与HCV感染易感性相关联。

之前的学者在研究IL-28B rs8099917基因

多态性与丙型肝炎相关性时, 多关注HCV自然清除和基于干扰素治疗的病毒清除, 较少与健康人群对照, 关注丙型肝炎易感性。Rauch等<sup>[4]</sup>研究了欧洲1 015名慢性丙型肝炎患者和347名HCV自然清除患者, 发现与rs8099917 TT基因型相比, TG( $OR = 2.24$ , 95%CI: 1.63-3.07;  $P = 6.63 \times 10^{-7}$ )和GG( $OR = 6.02$ , 95%CI: 2.10-17.21;  $P = 8.10 \times 10^{-4}$ )发展为慢性丙型肝炎的风险更高。Ochi等<sup>[16]</sup>研究发现, 在1b型HCV感染的日本丙型肝炎患者中, T等位基因频率明显低于健康人(86.8% vs 91.7%;  $P = 2.9 \times 10^{-3}$ )。然而这种差异在日本2a型HCV感染者中却不明显(89.9% vs 91.7%;  $P = 0.41$ )。与1型HCV感染者相比, 2型HCV丙型肝炎患者保护等位基因频率较高, 风险等位基因频率较低<sup>[16]</sup>。由此判断, 由于亚洲2型HCV患者与健康人群基因型分布很接近, rs8099917与2型HCV感染易感性的关联可能不显著。与本研究的发现不同, Chen等<sup>[17]</sup>在台湾人群中的研究发现, 台湾健康男性GG基因型频率是男性慢性丙型肝炎患者的21.5倍。是否存在其他作用更强的宿主基因影响HCV感染, 还需要进一步研究。

此外, 本研究还比较了中国汉族与其他民族慢性丙型肝炎患者rs8099917基因型分布的差异。本研究发现, 在亚洲一些国家或地区中, 中



## ■应用要点

IL-28B rs8099917 基因多态性与中国慢性丙型肝炎感染的易感性相关, G等位基因可能增加HCV持续感染的风险。这些发现可能有助于预测HCV感染的风险, 使部分易感人群在一定程度上加强对HCV的预防。IL-28B在抗HCV感染中的具体机制仍然是未来研究的重点。

国丙型肝炎患者rs8099917基因型分布与韩国相似( $P = 0.783$ ), 保护基因型频率介于台湾和日本之间<sup>[17-19]</sup>。日本健康人群TT基因型频率(83.7%)也低于中国健康人群(91%)。这种差异可能与遗传基因与环境的长期相互选择有关。然而在欧洲丙型肝炎患者中, TT基因型频率为58%<sup>[4]</sup>。可见, 亚洲人群TT基因型频率高于白种人, 这种现象也许可以在某种程度上解释亚洲丙型肝炎患者抗病毒治疗应答效果好于白种人的原因<sup>[20]</sup>。

总之, IL-28B rs8099917基因多态性与中国慢性丙型肝炎感染的易感性相关, G等位基因可能增加HCV持续感染的风险。这些发现可能有助于预测HCV感染的风险, 使部分易感人群在一定程度上加强对HCV的预防。IL-28B在抗HCV感染中的具体机制仍然是未来研究的重点。

## 4 参考文献

- Martins T, Narciso-Schiavon JL, Schiavon Lde L. [Epidemiology of hepatitis C virus infection]. *Rev Assoc Med Bras* 2011; 57: 107-112 [PMID: 21390467]
- World Health Organization. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/zh/>. (2011)
- Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S35-S46 [PMID: 12407575]
- Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, Cai T, Di Iulio J, Mueller T, Bochud M, Battegay M, Bernasconi E, Borovicka J, Colombo S, Cerny A, Dufour JF, Furrer H, Günthard HF, Heim M, Hirschel B, Malinverni R, Moradpour D, Müllhaupt B, Witteck A, Beckmann JS, Berg T, Bergmann S, Negro F, Telenti A, Bochud PY. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010; 138: 1338-1345, 1345. e1-e7 [PMID: 20060832 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.056]
- Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, Bassendine M, Spengler U, Dore GJ, Powell E, Riordan S, Sheridan D, Smedile A, Fragomeli V, Müller T, Bahlo M, Stewart GJ, Booth DR, George J. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41: 1100-1104 [PMID: 19749758 DOI: 10.1038/ng.447]
- Grebely J, Petoumenos K, Hellard M, Matthews GV, Suppiah V, Applegate T, Yeung B, Marks P, Rawlinson W, Lloyd AR, Booth D, Kaldor JM, George J, Dore GJ. Potential role for interleukin-28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2010; 52: 1216-1224 [PMID: 20803561 DOI: 10.1002/hep.23850]
- Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105-1109 [PMID: 19749757 DOI: 10.1038/ng.449]
- 中华医学会肝病学分会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. *中华传染病杂志* 2004; 22: 131-136
- 刘娟娟, 高英堂, 杜智, 杨斌, 经翔, 王毅军, 王凤梅, 刘彤. IL-10基因启动子区单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒感染后疾病转归的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1656-1663
- Balagopal A, Thomas DL, Thio CL. IL28B and the control of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010; 139: 1865-1876 [PMID: 20950615 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.004]
- Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009; 49: 1335-1374 [PMID: 19330875 DOI: 10.1002/hep.22759]
- Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, Henderson K, Schlutsmeyer S, Whitmore TE, Kuestner R, Garrigues U, Birks C, Roraback J, Ostrand C, Dong D, Shin J, Presnell S, Fox B, Haldeman B, Cooper E, Taft D, Gilbert T, Grant FJ, Tackett M, Krivan W, McKnight G, Clegg C, Foster D, Klucher KM. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol* 2003; 4: 63-68 [PMID: 12469119]
- Melchjorsen J, Sirén J, Julkunen I, Paludan SR, Matikainen S. Induction of cytokine expression by herpes simplex virus in human monocyte-derived macrophages and dendritic cells is dependent on virus replication and is counteracted by ICP27 targeting NF-kappaB and IRF-3. *J Gen Virol* 2006; 87: 1099-1108 [PMID: 16603509]
- Hou W, Wang X, Ye L, Zhou L, Yang ZQ, Riedel E, Ho WZ. Lambda interferon inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection of macrophages. *J Virol* 2009; 83: 3834-3842 [PMID: 19193806 DOI: 10.1128/JVI.01773-08]
- Hong SH, Cho O, Kim K, Shin HJ, Kotenko SV, Park S. Effect of interferon-lambda on replication of hepatitis B virus in human hepatoma cells. *Virus Res* 2007; 126: 245-249 [PMID: 17451832]
- Ochi H, Maekawa T, Abe H, Hayashida Y, Nakano R, Imamura M, Hiraga N, Kawakami Y, Aimitsu S, Kao JH, Kubo M, Tsunoda T, Kumada H, Nakamura Y, Hayes CN, Chayama K. IL-28B predicts response to chronic hepatitis C therapy—fine-mapping and replication study in Asian populations. *J Gen Virol* 2011; 92: 1071-1081 [PMID: 21228123 DOI: 10.1099/vir.0.029124-0]
- Chen JY, Lin CY, Wang CM, Lin YT, Kuo SN, Shiu CF, Chang SW, Wu J, Sheen IS. IL28B genetic variations are associated with high sustained virological response (SVR) of interferon-α plus ribavirin therapy in Taiwanese chronic HCV infection. *Genes Immun* 2011; 12: 300-309 [PMID: 21346780 DOI: 10.1038/gene.2011.1]
- Lyoo K, Song MJ, Hur W, Choi JE, Hong SW, Kim CW, Bae SH, Choi JY, Choi SW, Shin EC, Yoon SK. Polymorphism near the IL28B gene in Korean hepatitis C virus-infected patients treated with peg-interferon plus ribavirin. *J Clin Virol* 2011; 52: 363-366 [PMID: 21907615 DOI: 10.1016/j.jcv.2011.08.006]
- Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsuhashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor

for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 1853-1860 [PMID: 21389156 DOI: 10.1128/JCM.02139-10]

20 Imazeki F, Yokosuka O, Omata M. Impact of IL-28B SNPs on control of hepatitis C virus infection: a genome-wide association study. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8: 497-499 [PMID: 20455677 DOI: 10.1586/eri.10.30]

#### ■同行评价

本研究设计合理, 资料详细, 结果可信, 有一定的参考价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版。具体出版流程介绍如下:

**第一步 作者提交稿件:** 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复。

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议。编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿。

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改。作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复。为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果。

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量。对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知。稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出。

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对。彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误。排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误。

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校。责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色。责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对。责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑。

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷。责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件。编务配合档案管理员邮寄杂志。

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等。

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一。为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

## 内镜辅助腹腔镜治疗胃肠道间质瘤20例

王小冬, 汪宝林, 褚朝顺, 王翔, 赵庆洪, 李昌阳

### ■背景资料

胃肠道间质瘤(GISTs)是消化系统起源于中胚层组织的间叶性肿瘤, 大部分发生于胃, 最常见的症状为消化道出血、腹部隐痛、腹胀等不适。随着微创外科的发展, 其治疗方法也在不断的更新, 双镜联合技术则应运而生, 为胃肠道的间质瘤的微创治疗提供了新的思路和治疗手段。

王小冬, 汪宝林, 褚朝顺, 王翔, 赵庆洪, 李昌阳, 南京医科大学第二附属医院消化外科 江苏省南京市 210011

王小冬, 主要从事胃肠道肿瘤的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由王小冬与汪宝林设计; 临床操作由褚朝顺、王翔及赵庆洪完成; 资料收集由王小冬与李昌阳完成; 论文由王小冬与汪宝林完成。

通讯作者: 汪宝林, 主任医师, 210011, 江苏省南京市下关区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化外科。

aag727@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-11-26 修回日期: 2012-12-24

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

### Endoscopy-assisted laparoscopic management of gastrointestinal stromal tumors: An analysis of 20 cases

Xiao-Dong Wang, Bao-Lin Wang, Chao-Shun Chu, Xiang Wang, Qing-Hong Zhao, Chang-Yang Li

Xiao-Dong Wang, Bao-Lin Wang, Chao-Shun Chu, Xiang Wang, Qing-Hong Zhao, Chang-Yang Li, Department of Digestive Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Bao-Lin Wang, Chief Physician, Department of Digestive Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Xiguang District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. aag727@yahoo.com.cn

Received: 2012-11-26 Revised: 2012-12-24

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

### Abstract

**AIM:** To explore the safety and feasibility of endoscopy-assisted laparoscopic resection of gastrointestinal stromal tumors.

**METHODS:** The clinical data for 95 patients who underwent resection of gastrointestinal stromal tumors by endoscopy-assisted laparoscopic technique, pure laparoscopic technique or traditional open surgery in the Digestive Medical Center of the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from 2008 to 2012 were analyzed retrospectively. The operative time, blood loss, time to postoperative recovery of gastrointestinal function, time to ambulation and postoperative length of hospital stay were compared between different groups.

**RESULTS:** All surgeries were completed suc-

cessfully without death or postoperative complications. None of recurrence or metastasis was found. The operative time was  $63.0 \text{ min} \pm 7.8 \text{ min}$ ,  $81.6 \text{ min} \pm 6.0 \text{ min}$  and  $134.9 \text{ min} \pm 12.9 \text{ min}$  in the endoscopy-assisted laparoscopy group, pure laparoscopy group and open surgery group, respectively; the blood loss was  $24.5 \text{ mL} \pm 4.6 \text{ mL}$ ,  $27.1 \text{ mL} \pm 7.1 \text{ mL}$  and  $112.4 \text{ mL} \pm 22.5 \text{ mL}$ ; the time to recovery of gastrointestinal function was  $33.4 \text{ h} \pm 2.7 \text{ h}$ ,  $34.6 \text{ h} \pm 5.2 \text{ h}$  and  $36.9 \text{ h} \pm 3.2 \text{ h}$ ; the time to ambulation was  $37.1 \text{ h} \pm 4.8 \text{ h}$ ,  $38.0 \text{ h} \pm 3.7 \text{ h}$  and  $48.6 \text{ h} \pm 4.0 \text{ h}$ ; and the postoperative length of hospital stay was  $7.8 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$ ,  $8.1 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$  and  $9.4 \text{ d} \pm 1.8 \text{ d}$ . The operative time was significantly lower in the endoscopy-assisted laparoscopy group than in the pure laparoscopy group ( $P = 0.000$ ). The operative time, blood loss, time to recovery of gastrointestinal function, time to ambulation and postoperative length of hospital stay were significantly lower in the endoscopy-assisted laparoscopy group than in the open surgery group (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Endoscopy-assisted laparoscopy is a safe and feasible technique for treating gastrointestinal stromal tumors. It has the advantages of minimal invasiveness, accurate positioning, and rapid postoperative recovery. The short-term effect of endoscopy-assisted laparoscopy in managing gastrointestinal stromal tumors is satisfactory, while the long-term results remain to be investigated.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Endoscopy; Laparoscopy; Gastrointestinal stromal tumors; Minimally invasive

Wang XD, Wang BL, Chu CS, Wang X, Zhao QH, Li CY. Endoscopy-assisted laparoscopic management of gastrointestinal stromal tumors: An analysis of 20 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 188-192

### 摘要

**目的:** 探讨内镜辅助腹腔镜(双镜联合)下切除胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)的安全性、可行性。

### ■同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科



**方法:** 回顾性分析南京医科大学第二附属医院消化医学中心2008-2012采用双镜联合、单纯腹腔镜及传统开腹手术治疗GISTs共95例, 比较3组治疗手术时间、术中出血量、术后胃肠道功能恢复时间、术后下床活动时间及术后住院日。

**结果:** 所有手术均顺利完成, 无死亡及并发症。随访至今无复发。其中双镜联合组、腹腔镜组及开腹组手术时间分别为 $63.0 \text{ min} \pm 7.8 \text{ min}$ 、 $81.6 \text{ min} \pm 6.0 \text{ min}$ 、 $134.9 \text{ min} \pm 12.9 \text{ min}$ , 术中出血量为 $24.5 \text{ mL} \pm 4.6 \text{ mL}$ 、 $27.1 \text{ mL} \pm 7.1 \text{ mL}$ 、 $112.4 \text{ mL} \pm 22.5 \text{ mL}$ , 术后胃肠道功能恢复时间 $33.4 \text{ h} \pm 2.7 \text{ h}$ 、 $34.6 \text{ h} \pm 5.2 \text{ h}$ 、 $36.9 \text{ h} \pm 3.2 \text{ h}$ , 术后下床活动时间 $37.1 \text{ h} \pm 4.8 \text{ h}$ 、 $38.0 \text{ h} \pm 3.7 \text{ h}$ 、 $48.6 \text{ h} \pm 4.0 \text{ h}$ , 术后住院日 $7.8 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$ 、 $8.1 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$ 、 $9.4 \text{ d} \pm 1.8 \text{ d}$ 。其中双镜联合组手术时间显著低于腹腔镜( $P = 0.000$ ), 双镜联合组手术时间、术中出血量、术后胃肠道功能恢复时间、术后下床时间术后住院日显著低于开腹组(均 $P < 0.05$ )。

**结论:** 内镜辅助腹腔镜下的双镜联合手术治疗GISTs是安全可行的, 具有定位准确、创伤小, 术后恢复快等优点, 符合微创治疗思路。近期疗效令人满意, 远期结果有待进一步观察。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 内镜; 腹腔镜; 胃肠道间质瘤; 微创

王小冬, 汪宝林, 褚朝顺, 王翔, 赵庆洪, 李昌阳. 内镜辅助腹腔镜治疗胃肠道间质瘤20例. 世界华人消化杂志 2013; 21(2): 188-192  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/188.asp>

## 0 引言

腹腔镜与内镜联合手术(即双镜联合)是近年来出现的微创外科技术, 该技术取长补短, 充分发挥各自的优势, 将微创外科拓展至新的领域。目前腹腔镜联合胃镜或者肠镜治疗胃肠道黏膜下病变在技术上已日趋成熟, 并取得了良好的效果。本文将我院2008-2012采用内镜辅助腹腔镜下治疗胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)与单纯的腹腔镜及传统的开腹手术治疗做一比较, 探讨双镜联合治疗GISTs的安全性及可靠性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我院2008-2012共治疗胃肠道黏膜下隆



图1 胃镜下示瘤体位于胃底小弯侧。

起性病变143例。排除瘤体体积过大( $>100 \text{ cm}^3$ ) 9例, 过小者( $<1 \text{ cm}^3$ ) 12例, 另排除脂肪瘤27例, GISTs共95例, 男38例, 女57例。采用双镜联合组治疗20例, 采用单纯腹腔镜治疗34例, 传统开腹治疗41例。患者一般临床资料如年龄、性别及肿块的部位及大小等方面均具有可比性(表1, 2)。

**1.2 方法** 腹腔镜组与开腹组术前准备相同, 手术在全麻下进行。

**1.2.1 双镜联合:** 内镜定位腹腔镜胃、肠腔外部分切除术: 常规五孔法进镜, 气腹维持12-14 mmHg。术中内镜检查, 确定瘤体位置(图1), 使用美兰沿病变外缘注射1 wk。腹腔镜下病变周围浆膜可见蓝色印记, 提起肿块, 以Endo-GIA沿美兰标志处行楔形切除, 缝合加强闭合处。

**1.2.2 单纯腹腔镜手术:** 采用常规腹腔镜下切除手术。

**1.2.3 传统开腹手术:** 采用传统开腹手术。

**1.2.4 观察指标:** 观察(1)术中指标: 术中手术时间、术中出血量; (2)术后恢复指标: 术后胃肠道功能恢复时间、术后下床活动时间、术后住院日。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析, 均数检验采用 $t$ 检验, 率的检验采用 $\chi^2$ 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

## 2 结果

双镜联合组、腹腔镜组及开腹组手术时间分别为 $63.0 \text{ min} \pm 7.8 \text{ min}$ 、 $81.6 \text{ min} \pm 6.0 \text{ min}$ 、 $134.9 \text{ min} \pm 12.9 \text{ min}$ , 术中出血量为 $24.5 \text{ mL} \pm 4.6 \text{ mL}$ 、 $27.1 \text{ mL} \pm 7.1 \text{ mL}$ 、 $112.4 \text{ mL} \pm 22.5 \text{ mL}$ , 术后胃肠道功能恢复时间 $33.4 \text{ h} \pm 2.7 \text{ h}$ 、 $34.6 \text{ h} \pm 5.2 \text{ h}$ 、 $36.9 \text{ h} \pm 3.2 \text{ h}$ , 术后下床活动时间 $37.1 \text{ h} \pm 4.8 \text{ h}$ 、 $38.0 \text{ h} \pm 3.7 \text{ h}$ 、 $48.6 \text{ h} \pm 4.0 \text{ h}$ , 术后住院日 $7.8 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$ 、 $8.1 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$ 、 $9.4 \text{ d} \pm 1.8 \text{ d}$ 。其中

### ■研发前沿

双镜联合作为一项新兴的微创外科技术, 能提高手术疗效, 保证手术安全。具有安全、准确、快速、微创等优点, 而且有着较低的术后并发症发生率及复发率。

### ■相关报道

目前已有内镜辅助腹腔镜下行胃腔外楔形切除术、经胃腔肿瘤外翻切除术、胃部分切除术及腹腔镜辅助下内镜下GISTs切除术等病例报道。

## ■创新盘点

本文研究发现双镜联合技术具有安全、准确、快速、微创等优点,为GISTs的微创治疗提供了新的思路和治疗手段。

表 1 双镜联合与单纯腹腔镜组的一般资料比较

一般情况	双镜联合组( <i>n</i> = 20)	单纯腹腔镜组( <i>n</i> = 34)	统计值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	64.4 ± 6.4	60.9 ± 12.2	<i>t</i> = 1.169	0.248
性别( <i>n</i> (%))			$\chi^2 = 0.007$	0.932
男	8(40.0)	14(41.2)		
女	12(60.0)	20(58.8)		
部位			$\chi^2 = 0.002$	0.964
胃	14(70)	24(70.6)		
肠道	6(30)	10(29.4)		
瘤体大小( $\text{cm}^3$ )	35.6 ± 13.4	36.8 ± 18.4	<i>t</i> = -0.269	0.789

表 2 双镜联合与传统开腹组的一般资料比较

一般情况	双镜联合组( <i>n</i> = 20)	传统开腹组( <i>n</i> = 41)	统计值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	64.4 ± 6.4	60.4 ± 13.0	<i>t</i> = 1.222	0.226
性别( <i>n</i> (%))			$\chi^2 = 0.005$	0.942
男	8(60)	16(39.0)		
女	12(40)	25(61.0)		
部位			$\chi^2 = 0.475$	0.491
胃	14(70)	25(61.0)		
肠道	6(30)	16(39.0)		
瘤体大小( $\text{cm}^3$ )	35.6 ± 13.4	37.2 ± 18.6	<i>t</i> = -0.362	0.728

双镜联合组手术时间显著低于腹腔镜( $P = 0.000$ , 表3), 双镜联合组手术时间、术中出血量、术后胃肠道功能恢复时间、术后下床时间术后住院日显著低于开腹组(均 $P < 0.05$ , 表4). 各组术后均无死亡及并发症, 随访至今无复发。

### 3 讨论

GISTs是消化系起源于中胚层组织的间叶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 具有非定向分化和潜在恶性的特点<sup>[2]</sup>, 临床较为少见, 可发生在食道至肛门的任何部位, 其中60%-70%的GISTs发生于胃, 约占全部胃肿瘤的2%<sup>[3,4]</sup>. GISTs以中老年多见, 无性别倾向<sup>[5]</sup>, 起病隐匿, 早期通常无症状, 主要与肿瘤大小和部位有关, 最常见的症状为消化道出血、腹部隐痛、腹胀等不适<sup>[6]</sup>等. 通过普通胃镜及影像学检查诊断困难<sup>[7]</sup>, 内镜超声(endoscopic ultrasonography, EUS)检查可精确地探查肿瘤的起源层次、体积大小、边界、周围淋巴结及回声方式, 使GISTs的诊断符合率明显提升, 并且可以为手术方案的制定提供有力的保证<sup>[8]</sup>. EUS消化道管壁显示为5层结构, 由内向外依次为黏膜界面和黏膜浅层(高回声)→黏膜肌层(低回声)→黏膜下层(高回声)→固有肌层(低回声)→浆膜层(高

回声). 胃间质瘤显示为位于第4或第2层的圆形或椭圆形低回声团块, 内部回声均匀, 边界清楚(图2). 内镜超声引导的细针穿刺活检术(EUS-FNA), 进行特征性的免疫组织化学检查, 其特点是肿瘤细胞CD117和CD34染色阳性<sup>[9,10]</sup>, 可提高诊断的准确率, 并有助于术前判定危险程度和预后. 我院行EUS检查, 术前确诊27例.

因GISTs扩散途径主要是血行转移及直接侵犯, 较少发生淋巴结转移<sup>[11,12]</sup>, 且对放疗与化疗均不敏感, 所以手术治疗是首选, 且一般不需作淋巴结清扫<sup>[12]</sup>. 手术总的原则是: (1)肿瘤完整的整块切除; (2)最大限度保留正常胃壁组织; (3)最少的手术污染; (4)胃腔道狭窄. 目前GISTs的手术治疗方法包括: 内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)、腹腔镜下切除术、开腹手术及近年兴起的双镜联合(腹腔镜联合胃镜或肠镜)治疗<sup>[13]</sup>. 单纯内镜或者腹腔镜治疗均有其各自局限性, 单纯的内镜下治疗的局限性为: (1)对于体积较大(直径>5 cm)GIST, 内镜治疗很难进行操作; (2)由于GIST大多起源于固有肌层, 只有少数起源于黏膜肌层, 且血管丰富, 内镜下安全而完整切除肿瘤难度较大; (3)内镜治疗通常依靠能量切割完成, 但很难找到

表 3 双镜联合与单纯腹腔镜组术中及术后参数比较

分组	手术时间(min)	术中出血量(mL)	术后胃肠功能恢复时间(h)	术后下床时间(h)	术后住院日(d)
双镜联合组	63.0 ± 7.8	24.5 ± 4.6	33.4 ± 2.7	37.1 ± 4.8	7.8 ± 1.4
单纯腹腔镜组	81.6 ± 6.0	27.1 ± 7.1	34.6 ± 5.2	38.0 ± 3.7	8.1 ± 1.2
<i>t</i>	-9.281	-1.483	-0.930	-0.800	-1.071
<i>P</i> 值	0.000	0.144	0.357	0.428	0.289

表 4 双镜联合与传统开腹组术中及术后参数比较

分组	手术时间(min)	术中出血量(mL)	术后胃肠功能恢复时间(h)	术后下床时间(h)	术后住院日(d)
双镜联合组	63.0 ± 7.8	24.5 ± 4.6	33.4 ± 2.7	37.1 ± 4.8	7.8 ± 1.4
传统开腹组	134.9 ± 12.9	112.4 ± 22.5	36.9 ± 3.2	48.6 ± 4.0	9.4 ± 1.8
<i>t</i>	-22.928	-17.234	-4.212	-9.924	-3.591
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001

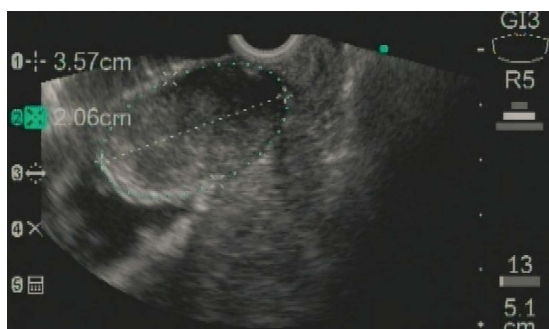


图 2 超声内镜示瘤体位于固有肌层。

能量切割的平衡点, 易造成能量过大或过小, 所以发生并发症如出血、穿孔等风险相对较高, 这也是导致中转开腹手术的主要原因<sup>[13]</sup>, 且内镜直视下难以全面判断胃GIST的浸润深度, 有切除范围不足及切缘阳性的可能。我院因内镜下治疗发生剥离不全而转为腹腔镜切除的1例, 因术中瘤体侵犯较深而转腹腔镜胃部分切除的病例3例。单纯腹腔镜手术的主要局限性为: (1) 由于腹腔镜手术缺乏手的“触觉反馈”, 对腔内型特别是瘤体较小胃GIST患者, 单独使用该技术时对肿瘤的定位比较困难; (2) 对于接近贲门处的GIST行腹腔镜切除时可能会造成术后贲门部狭窄。本文通过我院采取的内镜辅助腹腔镜治疗GISTs的分析显示, 双镜联合较单纯腹腔镜手术时间显著缩短, 余无显著差异, 这与内镜辅助腹腔镜术中定位快速、准确有关。因此毫无疑问, 双镜联合的优势明显, 是未来发展的趋势<sup>[14]</sup>。

双镜联合治疗可分2种形式: 腹腔镜辅助内镜手术(laparoscopy-assisted endoscopic tech-

nique, LAET)和内镜辅助腹腔镜手术(endoscopic-assisted laparo-scopic technique, EALT)。本文讨论内镜辅助腹腔镜手术: 即经内镜引导对肿瘤病灶定位, 在腹腔镜下行切除术。其中EALT又可分为: 内镜辅助楔形切除(endoscopy-assisted wedge resection, EAWR)、内镜辅助经胃切除(endoscopy-assisted transgastric resection, EATR)和内镜辅助腹腔镜非切除性手术。(1)腹腔镜胃腔外胃部分切除术, 主要适用于胃底近大弯侧或胃体前壁、后壁近大弯侧的病灶, 采用楔形胃部分切除方式; 靠近幽门管及贲门部的胃壁肿瘤, 行肿瘤切除加胃壁切口缝合术; (2)腹腔镜胃腔内胃部分切除术, 适用于胃后壁近小弯侧的病灶, 特别是腔内型有亚蒂的肿瘤, 可经胃前壁造口将肿瘤切除, 或腹腔镜下胃腔内肿瘤切除; (3)腹腔镜下近端或远端胃部分切除术, 适用于贲门下方或幽门管附近的肿瘤; (4)内镜辅助腹腔镜非切除性手术: 适用于需要内镜辅助的非切除性手术, 包括腹腔镜胃底折叠术、腹腔镜袖状切除术、腹腔镜胃转流术等。本文中对于GISTs患者使用双镜联合治疗, 其突出的优点体现在术中快速定位, 手术安全、准确, 避免出现胃肠道的狭窄, 且患者手术时间有显著提高。

双镜联合能提高手术疗效, 保证手术安全。作为一项新兴的微创外科技术, 双镜联合在治疗胃肠道良性肿瘤中具有极高的应用价值, 带给患者的创伤比传统开腹手术小得多, 安全性、准确性比普通腹腔镜手术更高, 应用范围比普通消化内镜更广, 具有安全、准确、快速、微创等优点<sup>[15]</sup>, 而且有着较低的术后并发症发生率

## 应用要点

本文将内镜辅助腹腔镜下切除GISTs与单纯的腹腔镜下切除GISTs进行全面系统的比较, 证实在保证安全的前提下, 双镜联合治疗具有准确、快速等优点, 而且有着较低的术后并发症发生率及复发率, 值得推广。



## ■同行评价

本文完成例数较多, 研究结果对临床具有较好的指导作用. 科学性较强, 有一定的创新性, 文笔流畅, 可读性较好.

及复发率<sup>[16]</sup>. 双镜联合技术也为胃肠道的良性疾病的微创治疗提供了新的思路和治疗手段. 相信随着国内外临床外科医师的不断探索和实践, 双镜联合技术会有无比广阔的应用前景.

## 4 参考文献

- Miettinen M, Majidi M, Lasota J. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. *Eur J Cancer* 2002; 38 Suppl 5: S39-S51 [PMID: 12528772 DOI: 10.1016/S0959-8049(02)80602-5]
- Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983; 7: 507-519 [PMID: 6625048 DOI: 10.1097/00000478-198309000-00001]
- Marano L, Torelli F, Schettino M, Porfida R, Reda G, Grassia M, Braccio B, Petrillo M, Di Martino N. Combined laparoscopic-endoscopic "Rendez-vous" procedure for minimally invasive resection of gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Am Surg* 2011; 77: 1100-1102 [PMID: 21944535]
- Bennett JJ, Rubino MS. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Surg Oncol Clin N Am* 2012; 21: 21-33 [PMID: 22098829 DOI: 10.1016/j.soc.2011.09.008]
- Adani GL, Marcello D, Sanna A, Mazzetti J, Anania G, Donini A. Gastrointestinal stromal tumours: evaluation of biological and clinical current opinions. *Chir Ital* 2002; 54: 127-131 [PMID: 12038102]
- 李斯润, 陈永标, 林华. 胃间质瘤27例的诊治分析. *重庆医学* 2008; 37: 1974-1975
- 陈利, 郭文. 胃间质瘤的诊断和治疗进展. *中国实用内科杂志* 2006; 26: 232-234
- Novitsky YW, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. Long-term outcomes of laparoscopic resection of gastric gastrointestinal stromal tumors. *Ann Surg* 2006; 243: 738-745; discussion 745-747 [PMID: 16772777 DOI: 10.1097/01.sla.0000219739.11758.27]
- 巩丽, 赵建业, 李艳红, 张力, 韩秀娟, 刘小艳, 朱少君, 张伟. 骶骨胃间质瘤的临床病理学特点、克隆性及c-kit基因突变分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 316-320
- 马大烈, 白辰光. 胃肠道间质瘤的病理诊断和预后. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2367-2371
- Matthews BD, Walsh RM, Kercher KW, Sing RF, Pratt BL, Answini GA, Heniford BT. Laparoscopic vs open resection of gastric stromal tumors. *Surg Endosc* 2002; 16: 803-807 [PMID: 11997826 DOI: 10.1007/s00464-001-8319-z]
- Nishimura J, Nakajima K, Omori T, Takahashi T, Nishitani A, Ito T, Nishida T. Surgical strategy for gastric gastrointestinal stromal tumors: laparoscopic vs. open resection. *Surg Endosc* 2007; 21: 875-878 [PMID: 17180273 DOI: 10.1007/s00464-006-9065-z]
- 邱伟箐, 曾晖. 双镜联合技术在胃间质瘤治疗中的应用. *国际外科学杂志* 2011; 38: 31-33
- Kitano S, Shiraishi N. Minimally invasive surgery for gastric tumors. *Surg Clin North Am* 2005; 85: 151-164, xi [PMID: 15619536 DOI: 10.1016/j.suc.2004.09.004]
- 许文安, 汪芳裕, 施惠. 内镜下黏膜切除术治疗消化道隆起性病变的价值. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2010; 30: 1804-1805
- Wilhelm D, von Delius S, Weber L, Meining A, Schneider A, Friess H, Schmid RM, Frimberger E, Feussner H. Combined laparoscopic-endoscopic resections of colorectal polyps: 10-year experience and follow-up. *Surg Endosc* 2009; 23: 688-693 [PMID: 19169747 DOI: 10.1007/s00464-008-0282-5]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 聚乙二醇干扰素联 $\alpha$ -2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎合并血友病2例

高丽英, 贾建伟, 赵洁

高丽英, 贾建伟, 赵洁, 天津市传染病医院 天津市 300192  
高丽英, 主治医师, 主要从事中西医结合防治传染病的研究.  
作者贡献分布: 论文写作由高丽英完成; 贾建伟与赵洁校对.  
通讯作者: 高丽英, 300192, 天津市南开区苏堤路75号, 天津市传染病医院. gaoliying020424@sohu.com  
电话: 022-27468219  
收稿日期: 2012-11-09 修回日期: 2013-01-02  
接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Treatment of chronic hepatitis C with haemophilia with peginterferon alfa-2a and ribavirin: Report of two cases

Li-Ying Gao, Jian-Wei Jia, Jie Zhao

Li-Ying Gao, Jian-Wei Jia, Jie Zhao, Tianjin Infectious Disease Hospital, Tianjin 300192, China  
Correspondence to: Li-Ying Gao, Tianjin Infectious Disease Hospital, 75 Sudi Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. gaoliying020424@sohu.com  
Received: 2012-11-09 Revised: 2013-01-02  
Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

### Abstract

Combination therapy with peginterferon alfa-2a plus ribavirin is the most efficacious treatment for hepatitis C. There have been few reports on antiviral therapy of hepatitis C in patients with hemophilia patients. This paper reports two cases of chronic hepatitis C with haemophilia that were managed by antiviral therapy. Satisfactory therapeutic effects were achieved in both cases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Chronic hepatitis C; Haemophilia; Peginterferon alfa-2a; Ribavirin

Gao LY, Jia JW, Zhao J. Treatment of chronic hepatitis C with haemophilia with peginterferon alfa-2a and ribavirin: Report of two cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 193-194

### 摘要

聚乙二醇干扰素联合利巴韦林是最有效的抗丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)治疗方

案. 对于合并血友病的慢性丙型肝炎的抗病毒治疗鲜见国内文献报道. 本文报道2例丙型肝炎合并血友病患者, 经给予HCV治疗疗效满意, 现报道如下.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 慢性丙型肝炎; 血友病; 干扰素 $\alpha$ -2a; 利巴韦林

高丽英, 贾建伟, 赵洁. 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎合并血友病2例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(2): 193-194  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/193.asp>

### 0 引言

血友病患者需要反复输注血制品防治出血, 因此感染肝炎病毒的几率较大. 近年来, 随着丙型肝炎知识的普及, 越来越多的感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的血友病患者被发现, 我国多位学者曾对血友病患者中HCV感染情况进行调查, 结果显示血友病患者中抗-HCV阳性率为8.82%-35.60%<sup>[1-4]</sup>. 国内文献对于丙型肝炎合并血友病患者的抗病毒治疗鲜有报道, 我科对2例慢性丙型肝炎合并血友病患者进行聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a(Peg IFN $\alpha$ -2a)联合利巴韦林进行治疗, 报道如下.

### 1 病例报告

例1: 男, 28岁, 因“查体发现抗-HCV阳性7 mo”入院. 出生8 mo时确诊为血友病甲, 幼年剧烈运动后时有关节腔、皮下出血, 间断输注八因子治疗, 7 mo前查体发现抗-HCV阳性收入院. 入院后体格检查: 右膝关节畸形, 活动受限, 余无异常. 查血常规正常. 凝血指标: PT: 15 s, 活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT): 47 s. 病毒分型: 抗-HCV阳性, HBsAg、抗-HIV、抗HAV-IgM、抗HEV-IgM均阴性. HCV RNA定量为 $3.6 \times 10^5$  copies/mL阳性,

### ■背景资料

血友病患者由于需要反复输注血制品, 有较高的丙型肝炎病毒(HCV)感染率. 慢性丙型肝炎合并血友病患者及时抗病毒治疗, 可延长患者生存期, 提高生活质量. 目前, 由于患者认识不够, 医患对于干扰素给药途径的顾虑, 国内有关慢性丙型肝炎合并血友病患者抗病毒治疗报道较少.

### ■同行评议者

范小玲, 主任医师, 北京地坛医院综合科

### ■研发前沿

慢性HCV感染者需要进行及时、早期抗病毒治疗已成为共识,聚乙二醇干扰素联合利巴韦林是最有效的抗病毒治疗方案。对慢性丙型肝炎合并血友病患者进行抗病毒治疗是必要和有益的,并有待于更多临床经验的积累和总结。

HCV 2a基因型,肝功能检查:丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT): 89 U/L, 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST): 69 U/L, 总胆红素(total bilirubin, TBIL): 8  $\mu$ mol/L。腹部彩超:肝胆脾胰未见异常。诊断: (1)慢性丙型肝炎; (2)甲型血友病。给予Peg IFN $\alpha$ -2a(135  $\mu$ g/wk)和利巴韦林(300 mg 3次/d)抗病毒治疗。4 wk后复查HCVRNA<500 copies/mL, 肝功能正常, 后3 mo检测HVCVRNA均阴性, 肝功能持续正常, 继续原方案治疗至1年停药。停药后随访半年, HCVRNA阴性。治疗期间, 曾因护士注射不当, 造成腹部皮下血肿, 后经对症处理, 历时2 mo余完全自行吸收。嘱护士更换注射部位, 规范操作, 未影响干扰素的应用。

例2: 男, 40岁, 因“查体发现抗-HCV阳性1 mo”入院。2岁时确诊为血友病乙, 幼年时有关节腔、皮下、肌肉出血, 成年后活动量大时可有有关节腔出血, 间断应用九因子治疗, 1 mo前查体发现抗-HCV阳性入院。入院后体格检查: 左膝关节及右肘关节畸形, 活动受限, 余无异常。血常规正常, 凝血指标PT: 18 s, APTT: 75 s, 病毒分型: 抗-HCV阳性、HBsAg、抗-HIV、抗HAV-IgM、抗HEV-IgM均阴性。HCVRNA定量为 $7.6 \times 10^7$  copies/mL阳性, HCV 2a基因型, 肝功能检查: ALT: 78 U/L, AST: 43 U/L, TBIL: 11  $\mu$ mol/L。腹部彩超: 肝胆脾胰未见异常。诊断: (1)慢性丙型肝炎; (2)乙型血友病。给予Peg IFN $\alpha$ -2a(180  $\mu$ g/wk)和利巴韦林(300 mg, 3次/d)抗病毒治疗。4 wk后复查HCVRNA<500 copies/mL, 肝功能正常。3 mo时复查HCVRNA仍为阴性, 其粒细胞、血小板下降显著(白细胞最低降至 $2.1 \times 10^9$ /L, 中性粒细胞最低为 $0.9 \times 10^9$ /L, 血小板最低降至 $6 \times 10^9$ /L), 予以Peg IFN $\alpha$ -2a调整剂量为135  $\mu$ g/wk, 利巴韦林继续原剂量。6 mo时查HCVRNA阴性停药。治疗期间, 患者间断自行输注九因子治疗, 未出现自发性出血的情况。

## 2 讨论

HCV的慢性感染, 可导致肝脏慢性炎症和纤维化, 部分发展为肝硬化, 甚至肝癌。因此, 对于慢性丙型肝炎合并血友病患者, 及时进行抗病毒治疗抑制病毒复制, 可延缓病情进展、延长患者生存期、提高生活质量。国外有学者报道: 干扰素治疗丙型肝炎合并血友病患者, SVR达到

14%, 而干扰素不良反应的情况发生与普通丙型肝炎患者反应是相似的<sup>[5,6]</sup>。对于国内接受抗病毒治疗的患者较少的原因, 考虑可能与患者对于丙型肝炎的认识不足以及干扰素的给药途径给医患都带来一定的顾虑有关。

对于这2例患者的抗病毒治疗的最终疗效是令人满意的。我们临床体会如下: (1)对于有条件的慢性丙型肝炎合并血友病患者是可以应用干扰素进行抗HCV治疗的, 干扰素的反应和普通丙型肝炎患者相似, 干扰素的使用不影响血友病; (2)进行抗病毒治疗之前须进行常规检查, 还需结合血友病自身的特点需要详细询问出血病史, 对于脑出血后继发癫痫者需要慎重; (3)对医护人员, 尤其在传染科或专科医院, 需要加强对血友病知识的宣教, 提高警惕; (4)在抗病毒治疗进行中, 需要加强护理, 规范操作, 保证医疗安全, 如例1属血友病病情轻微者, 平时可从事轻体力活动而不致自发出血, 但是由于护士注射干扰素不规范, 造成了皮下血肿; (5)抗病毒治疗中, 除对临床情况和病毒学指进行标检测外, 还需要定期进行凝血因子含量和凝血时间, 并须备有一定量的凝血因子; (6)干扰素的应用能否促进HCV基因型改变和八/九因子抗体的产生尚无定论。故对于干扰素的剂量和疗程的制订, 应在保证疗效的情况下, 减小药物剂量和缩短疗程; (7)研发抗HCV的口服药将会造福丙型肝炎合并血友病患者。

## 3 参考文献

- 1 黄吉娥, 杨芳, 邓莲萍. 42例血友病患者丙型肝炎感染状况调查. 贵阳医学院学报 2011; 36: 508-509
- 2 李钦伟, 李信业, 张心声. 224例血友病A患者输血感染病毒状况研究. 山东医药 2007; 47: 75
- 3 朱淼勇, 陈李, 黄瑛. 血友病患者血液传播性疾病调查. 温州医学院学报 2006; 36: 280-282
- 4 丁培芳, 张心声, 李钦伟. 1992-2000年血友病甲患者HCV、HBV、HIV和梅毒感染情况调查分析. 血栓与止血学 2002; 8: 115-117
- 5 Husa P, Roznovsky L, Smejkal P, Husova L, Penka M, Dite P. Efficacy and safety of chronic hepatitis C treatment in hemophilic patients. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1541-1544 [PMID: 16201114]
- 6 Beurton I, Bertrand MA, Bresson-Hadni S, Parquet-Gernez A, Goudemand J, Paris JC, Cales P, Briquel ME, Gaucher P, Cortey ML, Trepo C, Miguet JP, Cahn JY. Interferon alpha therapy in haemophilic patients with chronic hepatitis C: a French multicentre pilot study of 58 patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 859-864 [PMID: 11474317 DOI: 10.11021/ie050608m]

编辑 田滢 电编 闫晋利

### ■同行评价

本文思路清晰, 结论可靠, 有一定临床参考价值。





# 原发性胆汁性肝硬化合并系统性硬化症1例

高志远, 何新颖, 徐湘江, 李卫民

高志远, 何新颖, 徐湘江, 李卫民, 河北省沧州中西医结合医院消化科 河北省沧州市 061000

高志远, 主治医师, 主要从事肝脏及胃肠疾病诊治方面的研究。  
作者贡献分布: 徐湘江负责诊治、组织会诊; 李卫民负责写作指导; 高志远与何新颖完成论文写作。

通讯作者: 徐湘江, 教授, 061000, 河北省沧州市运河区黄河西路31号, 河北省沧州中西医结合医院消化科。gzycrystal@126.com  
电话: 0317-2078924

收稿日期: 2012-10-15 修回日期: 2012-12-26

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-18

## Primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis: A case report

Zhi-Yuan Gao, Xin-Ying He, Xiang-Jiang Xu, Wei-Min Li

Zhi-Yuan Gao, Xin-Ying He, Xiang-Jiang Xu, Wei-Min Li, Department of Gastroenterology, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Cangzhou 061000, Hebei Province, China

Correspondence to: Xiang-Jiang Xu, Professor, Department of Gastroenterology, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, 31 Huanghe West Road, Yunhe District, Cangzhou 061000, Hebei Province, China. gzycrystal@126.com

Received: 2012-10-15 Revised: 2012-12-26

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-18

## Abstract

Primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis is a rare clinical entity. Here we report such a case in a 58-year-old woman. She was diagnosed with localized cutaneous systemic sclerosis seven years ago. She was admitted to our hospital because of abdominal distention and fatigue and diagnosed with primary biliary cirrhosis. Our case suggests that attention should be paid to primary biliary cirrhosis-systemic sclerosis overlap syndrome.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Primary biliary cirrhosis; Systemic sclerosis

Gao ZY, He XY, Xu XJ, Li WM. Primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(2): 195-197

## 摘要

原发性胆汁性肝硬化合并系统性硬化症, 临床

少见。本例患者7年前诊断为局限性系统性硬化症, 现因腹胀、乏力入院后诊断为原发性胆汁性肝硬化, 现报道如下。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 原发性胆汁性肝硬化; 系统性硬化症

高志远, 何新颖, 徐湘江, 李卫民. 原发性胆汁性肝硬化合并系统性硬化症1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(2): 195-197

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/195.asp>

## 0 引言

原发性胆汁性肝硬化合并局限性皮肤型系统性硬化症临床少见, 现将我科收治1例患者报道如下。

## 1 病例报告

女, 58岁, 主因“间断乏力、腹胀8 mo, 加重1 wk”入院。患者8 mo前出现乏力、腹胀, 入当地医院查B超示肝硬化、脾大、腹水(图1)。服用复方甘草酸苷片、护肝片等药物治疗, 具体不详, 症状无缓解。1 wk前腹胀加重, 为进一步诊治来我院。病程中纳差, 偶有皮肤瘙痒, 近期体质量较前增加约3 kg。7年前在天津医科大学总医院诊断为局限性皮肤型系统性硬化症, 间断使用外用药物治疗, 具体成分不详, 控制可。入院体检: 神清, 巩膜无黄染, 心肺(-), 腹膨隆, 无腹壁静脉曲张, 中上腹局部皮肤红白相间, 质硬, 轻压痛, 呈带状分布。剑突下轻压痛, 肝肋下未触及, 脾肋下3横指, 移动性浊音阳性。血常规: WBC:  $2.46 \times 10^9/L$ , RBC:  $3.20 \times 10^{12}/L$ , Hb: 101 g/L, PLT:  $44 \times 10^9/L$ 。尿常规、大便常规+潜血均正常。生化: TBIL: 21.0  $\mu\text{mol/L}$ , DBIL: 12.4  $\mu\text{mol/L}$ , GLB: 28.8 g/L, ALB: 26.4 g/L, ALT: 50 U/L, AST: 117 U/L, ALP: 792 U/L,  $\gamma$ -GT: 350 U/L, ChE: 3 552 U/L, TC: 5.55 mmol/L, CA199: 162.7 U/mL, AFP、CEA、CA724、CA125均正常。ESR: 37 mm/h。hsCRP: 8.06 mg/L。甲状腺功能: 正常。ANA: 阳性(1:1 000), AMA: 阳性(1:1 000)AMA-M2(IgG): 593.50 RU/mL。抗着丝点抗体: 1:

## ■背景资料

原发性胆汁性肝硬化、系统性硬化症均为临床少见自身免疫系统疾病。通过本病例报道有助于临床工作者提高对此重叠综合征的重视, 做到早诊断、早治疗。

## ■同行评议者

英卫东, 教授, 安徽省立院肝胆外科

### ■研究前沿

原发性胆汁性肝硬化患者目前可通过肝脏病理活检或AMA-M2检查进一步明确,但本病常伴随其他自身免疫系统疾病,如干燥综合征、系统性硬化症等,对于此类重叠综合征的早期诊治,值得临床进一步研究.

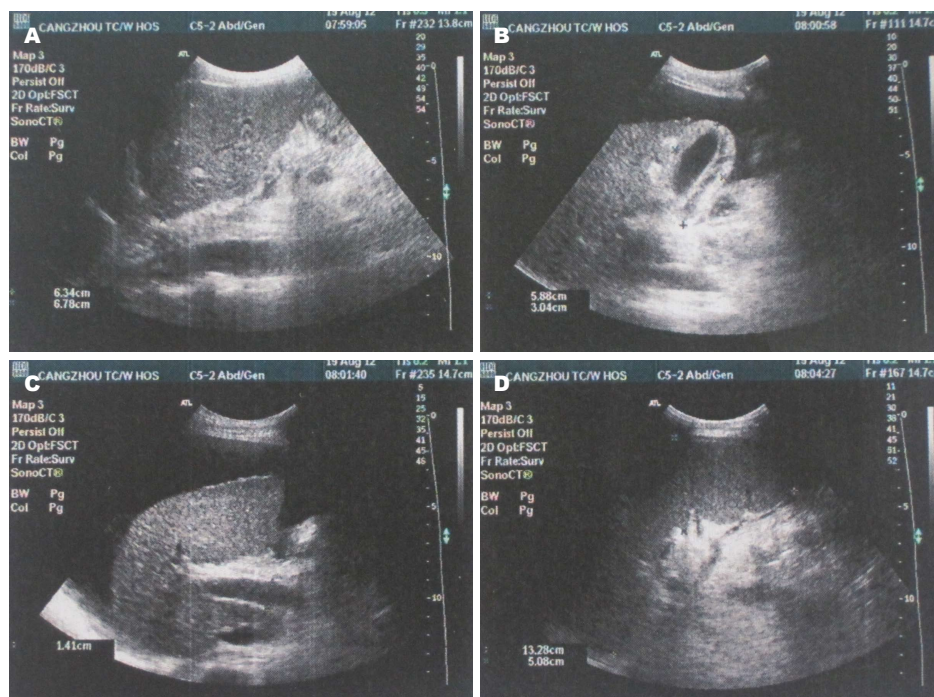


图1 B超示肝硬化、脾大、腹水.

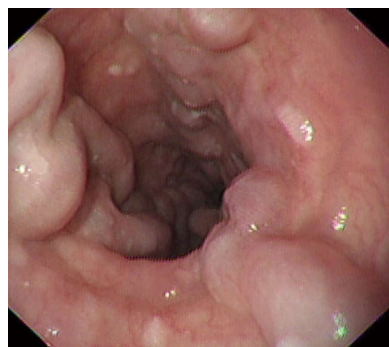


图2 胃镜示食管静脉曲张.

1 000. SMA、LKM、LSP、APCA、ANCA、Sp100、gp210、LC1、SLA/LP、抗RNP、抗SSA、抗SSB、抗Sm、抗Scl-70、抗dsDNA、抗Jo-L均阴性. 巨细胞病毒、EB病毒、乙肝、丙肝病毒学检查阴性. 肺CT: 双肺未见异常. 胃镜: 食管静脉曲张、糜烂性胃炎、十二指肠球炎(图2). 诊断原发性胆汁性肝硬化、脾功能亢进、食管静脉曲张、糜烂性胃炎、十二指肠球炎、局限性皮肤型系统性硬化症, 予熊去氧胆酸、甘草酸二胺、还原型谷胱甘肽等药物治疗, 同时住院期间予补充白蛋白、抽腹水等治疗. 3周后患者肝功能: TBIL: 17.2  $\mu\text{mol/L}$ , DBIL: 10.0  $\mu\text{mol/L}$ , ALB: 31.3 g/L, ALT: 24 U/L, AST: 41 U/L, ALP: 485 U/L,  $\gamma$ -GT: 154 U/L, ChE: 3 619 U/L. 患者症状好转出院. 嘱其定期复诊, 继续服用熊去氧胆酸等药物治疗.

### ■相关报道

2009年美国肝病学会(AASLD)制定了PBC新的实践指南, 进一步规范了对本病的诊治. 2011年我国制定自身免疫性肝病诊治指南中PBC部分亦具体阐述了本病的诊治要点.

## 2 讨论

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)属于自身免疫性肝病, 多见于中年女性, 发病隐匿, 症状期典型症状是乏力和瘙痒, 还可伴厌食、皮肤色素沉着、脂肪泻和干燥综合征. 本患者有胆汁淤积的生化证据, AMA-M2阳性, 根据2009年AASLD制定的标准诊断PBC<sup>[1]</sup>. 系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)是一种以局限性或弥漫性皮肤增厚和纤维化为特征的结缔组织病, 可与多种自身免疫病重叠. 随着对疾病认识的提高和早期临床检查手段出现, 对于PBC合并SSc的报道逐渐增多. 国外关于PBC的两项研究显示, PBC患者中合并SSc达到7.4%-8.0%<sup>[2,3]</sup>. 所以对于PBC患者应注意检查ACA等自身抗体, 同时仔细询问病史(雷诺现象、消化系症状)和查体(毛细血管扩张、软组织钙化、硬指), 以便于早期发现SSc. 同样相对于SSc患者应注意肝功能、AMA-M2的检查, 必要时肝穿刺活检以免漏诊无症状的早期PBC患者. 本患者7年前诊断SSc, 现入院时已处于肝功能失代偿期, 预后不良, 故本重叠综合征应引起临床医师足够的重视.

## 3 参考文献

- 1 Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 50: 291-308 [PMID: 19554543]
- 2 Rigamonti C, Shand LM, Feudjo M, Bunn CC, Black

CM, Denton CP, Burroughs AK. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *Gut* 2006; 55: 388-394 [PMID: 16150855]

3 Assassi S, Fritzler MJ, Arnett FC, Norman GL, Shah

KR, Gourh P, Manek N, Perry M, Ganesh D, Rahbar MH, Mayes MD. Primary biliary cirrhosis (PBC), PBC autoantibodies, and hepatic parameter abnormalities in a large population of systemic sclerosis patients. *J Rheumatol* 2009; 36: 2250-2256 [PMID: 19723904]

编辑 田滢 电编 闫晋利



#### ■同行评价

原发性胆汁性肝硬化合并系统性硬化症临床罕见, 本文报道了一例原发性胆汁性肝硬化合并局限性皮肤型系统性硬化症患者的临床诊断与治疗, 对临床有一定的参考意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H.pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能写Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d。3.56 ± 0.27 pg/mL应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.



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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcgy.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-8538-1892

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

蔡开琳 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

樊冬梅 副主任医师  
广州中医药大学第一附属医院消化内科

傅思源 副教授  
东方肝胆外科医院肝外三科

官泳松 教授  
四川大学华西医院放射科

郝丽萍 副教授  
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何向辉 教授  
天津医科大学总医院普通外科

黄培林 教授  
东南大学肿瘤学

金瑞 教授  
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

姜相君 主任医师  
青岛市市立医院消化科

金山 教授  
内蒙古医学院附属医院普通外科

李升平 教授  
中山大学肿瘤医院肝胆科

李革 副教授  
延边大学附属医院

李健丁 教授  
山西医科大学第一医院放射科CT室

刘炳亚 研究员  
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内镜科

马欣 主任医师  
甘肃省人民医院消化科

倪才方 教授  
苏州大学附属第一医院介入科

邱伟华 主任医师  
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

宋振顺 教授  
西京医院肝胆外科

孙文兵 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆外科西区

唐南洪 教授  
福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

王德盛 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

徐列明 教授  
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

殷正丰 教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

于聪慧 教授  
中国人民解放军北京军区总医院肝胆外科

禹正杨 副教授  
南华大学附属第一医院

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张志坚 教授  
福州总医院消化内科

赵刚 副教授  
协和医院胰腺病研究所

周国雄 主任医师  
南通大学附属医院消化内科



百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

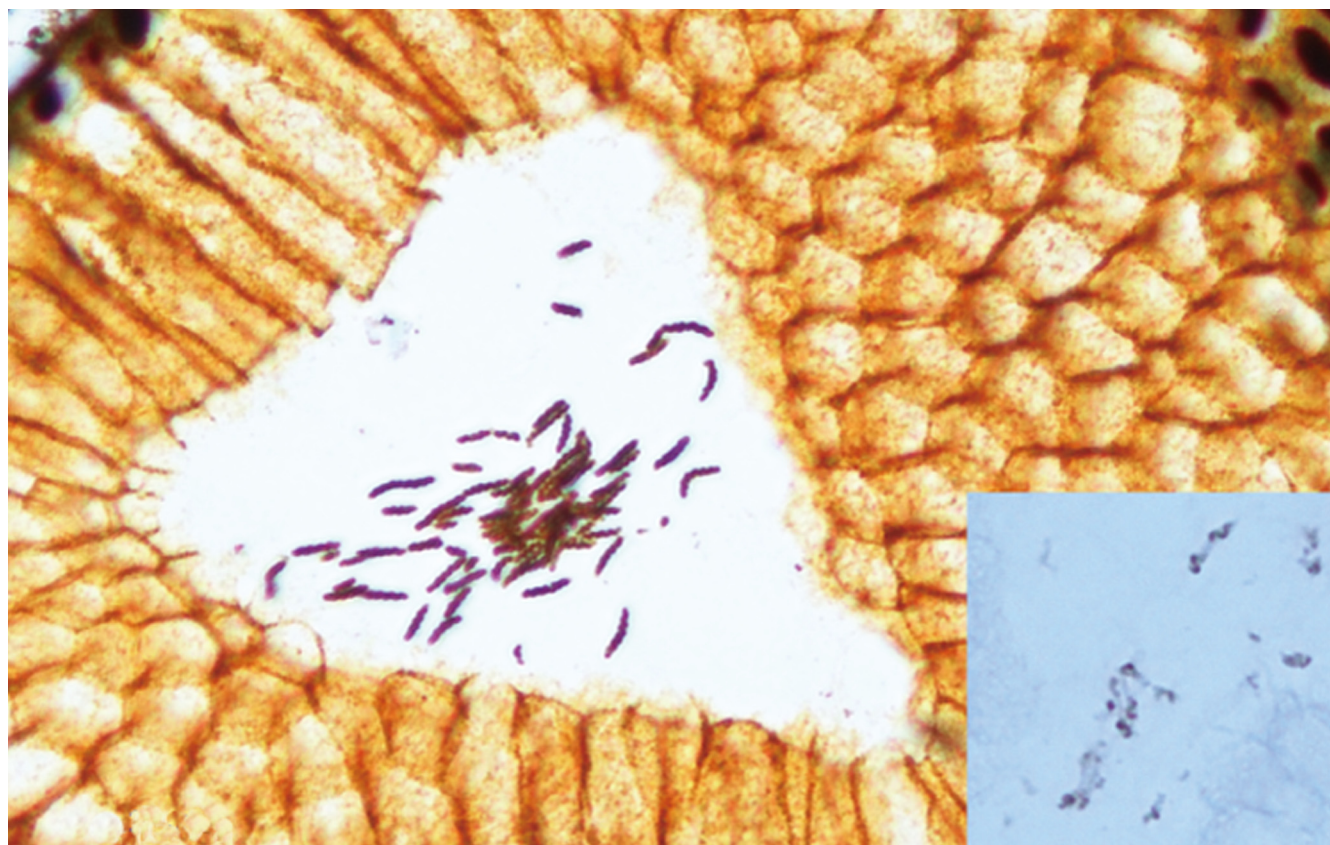


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 1 月 28 日      第 21 卷      第 3 期      (Volume 21 Number 3)**



**3/2013**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思凤教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授

汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐决副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赓宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 1 月 28 日 第 21 卷 第 3 期 (总第407期)

## 述 评

205 EMT在消化系肿瘤中的研究进展

丛宁宁, 张庆瑜

## 基础 研究

211 大鼠重症急性胰腺炎相关性肺损伤模型的建立

王皓, 刘江伟, 李之令, 薛晓玉, 赵红艳, 郭飞, 许永华

## 临 床 研 究

220 CT小肠造影在克罗恩病临床诊断中的价值

李文杰, 蒋文瑜, 张晓斐, 刘希胜, 施瑞华, 张红杰

## 文 献 综 述

226 移植骨髓间充质干细胞治疗胰腺炎的研究进展

李霞, 曲波, 金世柱

233 多排螺旋CT小肠造影在评估小肠克罗恩病中的应用

余晨, 肖香佐

239 Ghrelin与胃肠疾病关系的研究进展

马兴彬, 许伟华

## 临 床 经 验

244 海尔曼螺杆菌与幽门螺杆菌相关性胃炎的临床病理特征

张贺军, 崔荣丽, 韩亚京, 尚慧茹, 张颖, 金珠

250 心理语言协同胃电起搏治疗功能性消化不良30例

邵颖铤, 陈英, 杜斌, 李静, 韩全利, 唐合兰, 葛淑静, 陈璐, 贾敏, 杨春敏

256 慢性HBV感染合并胃黏膜病变时胃黏液sIgA的变化及其意义

曹新鲜, 李佳, 罗亚文, 陈应华, 冉燕

261 环氧合酶-2抑制剂联合XELOX方案一线治疗晚期胃癌24例

潘战和, 苏安, 王馨, 吕霞, 蔡清清, 高岩

266 高脂血症性急性胰腺炎130例

丁岩冰, 路国涛, 蓝宇, 肖炜明, 阴英, 王玉欣, 乔阿会

272 胰周动脉超选择插管法灌注自体骨髓干细胞治疗糖尿病患者24例

刘源, 何春水, 刘洋, 张丽峰, 曾伟, 陈秋

278 经胃造瘘管放置空肠营养管治疗老年上消化道穿孔13例

范学圣, 张舰, 刘兵

282 布-加综合症的诊断治疗59例

谢月萍, 杜凡



附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	219 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 232 《世界华人消化杂志》出版流程 238 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 249 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 255 《世界华人消化杂志》栏目设置 265 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 271 《世界华人消化杂志》修回稿须知 281 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 285 《世界华人消化杂志》正文要求
封面故事	张贺军, 崔荣丽, 韩亚京, 尚慧茹, 张颖, 金珠. 海尔曼螺杆菌与幽门螺杆菌相关性胃炎的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 244-249 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/244.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/244.asp</a>
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核 编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-01-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人  
民医院影像临床医学中心

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交  
通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国  
人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈  
尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属  
第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中  
医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国解放  
军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一  
附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司, up Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No.90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科  
技论文统计源期刊(中国科技核心期  
刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011  
年版)》,《Chemical Abstracts》,  
《EMBASE/Excerpta Medica》,  
《Abstracts Journals》和《Digital  
Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技  
术信息研究所, 2012-12-07发布的2011  
年度《中国科技期刊引证报告(核心  
版)》统计显示, 总被引频次3871次(他  
引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价  
总分65.5分, 分别位居内科学领域  
类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并  
荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## January 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 3

<b>EDITORIAL</b>	205 Role of EMT in gastrointestinal tract tumors <i>Cong NN, Zhang QY</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	211 Development of a rat model of severe acute pancreatitis-associated lung injury <i>Wang H, Liu JW, Li ZL, Xue XY, Zhao HY, Guo F, Xu YH</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	220 Value of CT enteroclysis in the diagnosis of Crohn's disease <i>Li WJ, Jiang WY, Zhang XF, Liu XS, Shi RH, Zhang HJ</i>
<b>REVIEW</b>	226 Progress in treatment of pancreatitis with bone marrow mesenchymal stem cells <i>Li X, Qu B, Jin SZ</i> 233 Application of MSCT enterography in the evaluation of Crohn's disease <i>Yu C, Xiao XZ</i> 239 Ghrelin in gastrointestinal diseases <i>Ma XB, Xu WH</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	244 Clinical characteristics of <i>Helicobacter heilmannii</i> - versus <i>Helicobacter pylori</i> -associated gastritis in Chinese patients <i>Zhang HJ, Cui RL, Han YJ, Shang HR, Zhang Y, Jin Z</i> 250 Psychological language combined with gastric pacing for treatment of functional dyspepsia: An analysis of 30 cases <i>Shao YT, Chen Y, Du B, Li J, Han QL, Tang HL, Ge SJ, Chen L, Jia M, Yang CM</i> 256 Significance of gastric mucosal levels of sIgA in patients with chronic HBV infection and gastric mucosal lesions <i>Cao XX, Li J, Luo YW, Chen YH, Ran Y</i> 261 Cyclooxygenase-2 inhibitor combined with capecitabine and oxaliplatin (XELOX) as a first-line therapy for advanced gastric cancer: An analysis of 24 cases <i>Pan ZH, Su A, Wang X, Lv X, Cai QQ, Gao Y</i> 266 Clinical features of hyperlipidemic acute pancreatitis: An analysis of 130 cases <i>Ding YB, Lu GT, Lan Y, Xiao WM, Yin Y, Wang YX, Qiao AH</i> 272 Superselective peripancreatic arterial catheterization for infusion of autologous bone stem cells in diabetic patients: An analysis of 24 cases <i>Liu Y, He CS, Liu Y, Zhang LF, Zeng W, Chen Q</i> 278 Placement of jejunal feeding tubes via a gastrostomy stoma in elderly patients with upper gastrointestinal perforation: An analysis of 13 cases <i>Fan XS, Zhang J, Liu B</i> 282 Diagnosis and treatment of Budd-Chiari syndrome: An analysis of 59 cases <i>Xie YP, Du F</i>

<b>APPENDIX</b>	I - V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Zhang HJ, Cui RL, Han YJ, Shang HR, Zhang Y, Jin Z. Clinical characteristics of Helicobacter heilmannii-versus Helicobacter pylori-associated gastritis in Chinese patients.</i> Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(3): 244-249 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/244.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/244.asp</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

**Indexed/Abstracted by** Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** January 28, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International  
Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,

Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# EMT在消化系统肿瘤中的研究进展

丛宁宁, 张庆瑜

丛宁宁, 张庆瑜, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052  
丛宁宁, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81172356

天津市重点基础科技项目基金资助项目, No. 10JCZDJC18500

作者贡献分布: 本文综述由丛宁宁完成; 张庆瑜审校。

通讯作者: 张庆瑜, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科. zhangqy@tjmu.edu.cn

电话: 022-60362207

收稿日期: 2012-11-04 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-28

## Role of EMT in gastrointestinal tract tumors

Ning-Ning Cong, Qing-Yu Zhang

Ning-Ning Cong, Qing-Yu Zhang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Tianjin, No. 81172356; and the Foundation of Tianjin Science and Technology Commission, No. 10JCZDJC18500

Correspondence to: Qing-Yu Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. zhangqy@tjmu.edu.cn

Received: 2012-11-04 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-28

## Abstract

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) refers to the process by which cells transit from epithelial phenotype to mesenchymal phenotype. EMT is important for embryonic development, wound healing, and invasion of carcinomas. The molecular mechanisms of EMT are a hot topic of research in invasion and migration of malignant tumors, especially digestive carcinomas. Since malignant epithelial tumors account for a large proportion of tumors and are associated with very poor outcome and prognosis, exploration of the process of epithelial cell migration and invasion is of great significance for the prevention and treatment of tumors. The investigation of EMT provides a basis for understanding the pathogenesis of tumors and their prognosis and resistance to antitumor drugs. This review focuses on the molecular mechanisms and role of EMT in gastrointestinal tract tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-mesenchymal transition; Gastrointestinal tract tumors

Cong NN, Zhang QY. Role of EMT in gastrointestinal tract tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 205-210

## 摘要

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞通过特定的程序转化为间质细胞的生物学过程, EMT在胚胎发育、创伤愈合、肿瘤的侵袭迁移等过程中起重要作用, EMT在恶性肿瘤的侵袭迁移病理过程中的分子机制成为研究热点, 尤其是消化系统肿瘤方面。由于上皮性肿瘤在恶性肿瘤中所占比例较大及转归预后较差, 探究上皮细胞在获得迁移侵袭能力的过程, 即EMT过程, 为消化系统肿瘤的预防和治疗提供方向。EMT的研究将为消化系统肿瘤患者的预后和抗肿瘤药物的应用提供依据。本文对EMT的机制和在消化系统肿瘤方面的研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 上皮-间质转化; 消化系统肿瘤

丛宁宁, 张庆瑜. EMT在消化系统肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 205-210

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/205.asp>

## 0 引言

在胚胎发育过程中, 上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)能促进组织重塑, 还可以促进创伤的愈合。它与肿瘤的侵袭、转移和凋亡有密切的关系<sup>[1-3]</sup>。EMT的具体过程是指维持细胞顶端和基底部极性的紧密连接溶解, 顶部和基底部膜蛋白融合, 细胞获得了侵袭和迁移到细胞外基质的能力<sup>[4,5]</sup>。组织或器官发生EMT后, 细胞的表形由鹅卵石样转变成纺锤体类似于成纤维细胞的形态学变化, 这个过程包括上皮细胞标志物E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达下调, 间质细胞相关标志物波形蛋白(vimen-

## ■背景资料

消化系统肿瘤的发生率和死亡率高, 预后较差。近年来发现, 上皮-间质转化(EMT)在消化系统肿瘤的侵袭迁移过程中发挥重要作用。因此, 探讨其发生的分子机制是最近研究的热点。多种信号通路可以调控EMT过程, 因此寻找信号通路中相应的靶点可为消化系统肿瘤的防治提供依据。

## ■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

## ■研究前沿

EMT相关的信号通路阻断剂在消化系统肿瘤治疗中的应用和研发受到国内外专家的广泛关注,是肿瘤领域的研究热点。

tin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)等表达上调,发生EMT后细胞的黏附力下降,侵袭和转移能力增加<sup>[6]</sup>。

## 1 促进EMT的转录因子

1.1 ZEB1/ZEB2 miR-200通过作用于锌指E-盒结合同源异形盒(zinc-finger E-box binding homeo-box, ZEB)抑制E-cadherin的表达来改变细胞的表型,内源性miR-200作用于ZEB1和ZEB2的3'非编码区,miR-200通过转录后机制调控蛋白的表达。ZEB1和ZEB2结合到E-cadherin启动子区域的E-box基序上,抑制E-cadherin的转录,ZEB蛋白对人类恶性肿瘤的调控非常复杂,ZEB2在乳腺癌、胃癌、胰腺癌的前期表达上调。研究表明ZEB2的表达受miR-200的调控,而miR-200在肿瘤转移的早期表达下调的。因此,肿瘤转移的早期,miR-200的表达下调,ZEB2的表达上调,使E-cadherin表达下降,诱导了EMT的发生,使肿瘤细胞的侵袭迁移能力增强<sup>[7,8]</sup>。

从多种组织器官的miRNA表达情况的调查研究中发现miR-200和miR-205在维持上皮细胞的表型方面起着重要的作用,二者均能调控ZEB1和ZEB2表达。在癌症转移的早期阶段,miR-200和miR-205的表达下调<sup>[9,10]</sup>。

1.2 Twist Twist是具有螺旋-环-螺旋结构的转录因子,他能抑制E-cadherin的表达,诱导EMT的发生。E-cadherin表达下调或缺失时, Twist的表达上调。最近实验证明分别敲低 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)和Twist后,细胞在侵袭迁移方面发生的变化相似,因此在E-cadherin表达缺失或下调的情况下, Twist的诱导不依赖 $\beta$ -catenin。E-cadherin表达缺失时, $\beta$ -catenin、Twist是调节细胞表型变化方面相互独立的两个因子。在E-cadherin表达缺失后, Twist是下游重要的调节因子,是E-cadherin缺陷细胞发生迁移所必须的<sup>[11]</sup>。Yang等<sup>[12]</sup>通过一系列体内实验证明Twist能够特异的增强癌细胞向血管内转移的过程,在细胞存活、增长率、外渗方面没有显著的影响。对这些基因的研究有利于发现新的肿瘤标志物和分子靶点。在胃癌中, Ru等<sup>[13]</sup>用多元统计学分析得出侵袭程度、远处转移和Twist的表达上调三者都是相互独立的预后指标。因此, Twist的表达水平可以作为胃癌发展和预后的有力指标。

1.3 Snail Wang等<sup>[14]</sup>认为Snail是转录因子家族中的一种,能够抑制E-cadherin的基因的表达,在

EMT中起着很重要的作用。而且,在癌症中Snail的异常表达也能诱发EMT。Galaktionov等<sup>[15]</sup>曾报道Snai介导EMT的过程中,同时伴随着基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinase, MMP)合成的增加, MMP能降解胞外间质,加速细胞的侵袭和迁移。Slug是Snail家族成员之一, Zhang等和Lin等<sup>[16,17]</sup>研究认为Slug能够促进细胞的侵袭迁移,与MMP-9的表达上调紧密相关,但与E-cadherin表达没有关系。在研究中还发现MMP-9的上调和肿瘤的淋巴结转移有重要的相关关系, Slug的表达水平可以作为恶性肿瘤手术后的预后标志。Slug还可以介导细胞骨架蛋白的重塑,研究表明Slug可以作为癌症治疗的靶点。

## 2 EMT相关的信号通路

2.1 EMT与Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的关系 最近研究表明, E-cadherin胞内区域、 $\beta$ -catenin与其他蛋白在胞膜上形成复合物,当E-cadherin胞外区域被蛋白水解酶降解脱落后, $\beta$ -catenin被释放,由胞膜进入胞核,抑制了E-cadherin的转录,进而产生EMT<sup>[18-20]</sup>。Yee<sup>[21]</sup>发现Wnt抑制因子1(Wnt inhibitory factor 1, WIF1)在前列腺癌中因启动子区域甲基化而表达缺失,在前列腺癌细胞中WIF表达受抑制从而启动Wnt通路,使E-cadherin表达下调, N-cadherin、vimentin和fibronectin的表达上调,促进EMT现象的发生。当WIF表达恢复后, Wnt通路受抑制,前列腺癌细胞MMP-2、MMP-9水平下降,侵袭和能动性下降。在表皮细胞癌A431细胞中, Snail诱导EMT的过程中激活Wnt5a-Ror2信号通路,使MMP-2表达上调,侵袭迁移能力增强<sup>[22]</sup>。

2.2 EMT与TGF- $\beta$ 信号通路的关系 转化生长因子(transforming growth factor, TGF)信号通路分为依赖Smad和不依赖Smad的信号通路,在肿瘤发展的早期过程中, TGF- $\beta$ 是主要的肿瘤抑制因子,能抑制细胞周期的前进和肿瘤的生长。很多晚期或转移性肿瘤TGF- $\beta$ 通常是高表达的,抵抗TGF- $\beta$ 介导的生长抑制,推测可能的机制是TGF- $\beta$ 信号通路中蛋白的突变<sup>[23]</sup>。Oft等<sup>[24]</sup>使用CT26(鼠类高迁移能力的结肠癌间质细胞)皮下注射裸鼠导致肿瘤快速生长,在TGF- $\beta$  RII-dn稳定表达的CT26中,肿瘤生长缓慢或抑制。肿瘤的生长,侵袭和转移需要TGF- $\beta$ 信号通路的激活。CT26细胞显示为间质细胞的表型, E-cadherin和ZO-1(紧密连接蛋白-1)表达下调, TGF- $\beta$  RII-dn表达的CKR细胞细胞黏附蛋白上调,间质细胞

表型逆转,有部分上皮细胞的表型,因此认为在晚期癌细胞抑制TGF- $\beta$ 信号通路,能诱导MET. 赖氨酰氧化酶(LOX)是TGF- $\beta$ 激活后合成和分泌的, Behar等<sup>[25]</sup>认为LOX的表达水平和TGF- $\beta$ 信号通路紧密相关,能够调控E-cadherin的表达和定位,进而影响EMT的发生. 在胃癌和息肉性结肠中, TGF- $\beta$  RII的等位基因易失活甚至突变,导致侵袭能力受损. TGF- $\beta$ 是以自分泌的方式介导的侵袭和迁移. Sbin等<sup>[26]</sup>在实验中发现TGF- $\beta$ 能诱导EMT, 抑制人类胰腺导管的增殖和分化,通过调节各种的基因的表达和AKT和JNK等相关的信号通路.

**2.3 EMT与NF- $\kappa$ B信号通路的关系** NF- $\kappa$ B-Rel家族包括5个成员,即RelA(p65)、RelB、c-Rel、p105-p50(NF- $\kappa$ B1)和p100-p52(NF- $\kappa$ B2),他们的N-末端均包含一个约300个氨基酸的高度同源序列,称为Rel同源结构域(RHD),介导其与DNA结合及二聚化, C端的反式激活结构域(transactivation domain, TD),介导转录活性. 在未受到刺激的正常细胞中, NF- $\kappa$ B亚基与I- $\kappa$ B $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$ 结合,以非活性形式被阻滞在胞浆中. 受到炎症刺激后激活了活I- $\kappa$ B激酶(IKK)复合物,磷酸化I- $\kappa$ B家族成员,使其泛素化并被蛋白酶体降解. 降解后释放的NF- $\kappa$ B可转移到核内,进而调节其下游的基因表达<sup>[27,28]</sup>. Li等<sup>[29]</sup>的研究证明, HK-2细胞和单核细胞共培养后, E-cadherin表达下降, 纤连蛋白上调, 诱导EMT的发生. 在NF- $\kappa$ B信号通路中, 细胞间细胞黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)是调节细胞间联系的重要分子与单核细胞共培养的HK-2细胞激活NF- $\kappa$ B信号通路, 使ICAM-1上调, 诱导EMT. 在肿瘤的发展过程中, NF- $\kappa$ B能够与Ras和TGF- $\beta$ 依赖的信号通路协作, 在肝上皮细胞TGF- $\beta$ 能够通过TGF- $\beta$ 1激活激酶1(TAK1)激活依赖Smad的TGF- $\beta$ 信号通路, 而且TAK1还能使IKK复合物磷酸化, 促进NF- $\kappa$ B通路的激活. NF- $\kappa$ B通路的研究为新的药物和治疗方法提供依据<sup>[30]</sup>.

**2.4 EMT和Src/FAK信号通路的关系** Src可以诱导E-cadherin的胞吞, 通过激活E3泛素连接酶HaKai或激活Arf家族的GTP酶Arf6, 细胞间解离, 促进EMT的发生<sup>[31]</sup>. FAK是钙黏蛋白(cadherin)和整联蛋白(integrins)介导的黏附通路的调节介质, FAK或桩蛋白(paxillin)下调, 能使周边部位的Rac1表达增加, N-cadherin介导的细胞间黏附发生异常曾报道过integrins引起FAK信号

通路的激活后, 还可以通过复合物激活Rac1<sup>[32]</sup>. EMT与PI3K/AKT等很多信号通路有着紧密的联系, 因此EMT成为最近研究的热点, 引起很多人的关注.

### 3 消化系肿瘤与EMT相关的调控

**3.1 胃癌** 研究发现在EBV相关胃癌中, miR-200低表达, E-cadherin表达降低, 诱导EMT的发生, 使胃癌细胞失去了上皮细胞的特征获得了间质细胞的特征, E-cadherin下调后细胞间的黏附力下降, 促进了EMT的发生<sup>[33,34]</sup>. CDH1(E-cadherin的基因)功能的丢失与胃癌的易感性紧密相关. CDH1的启动子区域的超甲基化是低分化、弥散性胃癌的常见机制. CDH1启动子区域的超甲基化, 转录因子的介导, 环境生理因素如饮食、癌变、溃疡、胃炎都能使CDH1转录下调. CDH1的转录下调导致等位基因受抑制或失活<sup>[35]</sup>.

肿瘤细胞和间质的相互作用在肿瘤发生发展过程中起着重要的作用, 作为间质主要成分的I型胶原能够影响胃癌细胞间的黏附能力, 他可以使 $\beta$ -catenin酪氨酸磷酸化, 破坏E-cadherin/ $\beta$ -catenin复合物, 使骨架蛋白重构,  $\beta$ -catenin发生核易位, 使胃癌细胞的侵袭迁移能力增强.  $\beta$ -catenin还可以通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路促进细胞的增殖<sup>[36]</sup>.

**3.2 结肠癌** P53是常见的抑癌基因, 能够调控侵袭性肿瘤中与转移有关的基因, 而P21在结肠癌中能够调控细胞周期而对增殖没有作用. 在P21不存在的情况下能够促进P53从野生型向突变型转变, 抑制E-cadherin的表达, 促进EMT的发生. 突变型的P53对E-cadherin的抑制是通过作用于E-cadherin近端启动子区域的E-box<sup>[37]</sup>. 在结肠癌中激活了Hedgehog-Gli信号通路, Gli1、PTCH1和SHH等标志物水平上调, 同时侵袭、迁移和增殖能力增强<sup>[38]</sup>. mTOR钠巴霉素的哺乳动物靶子(mammalian target of rapamycin, mTOR)位于AKT/PI3K信号通路的下游, 在结肠癌中mTOR是上调的, mTOR诱导EMT的过程是通过激活RhoA/Rac1信号通路. 抑制mTORC1和mTORC2后, 转移侵袭能力下降, 促进MET的发生, 而且对奥沙利铂的化学敏感性增强. RhoA和Rac1属于GTP家族的成员, 能够调控丝状肌动蛋白(filamentous actin, F-actin)的重构. 因此, RhoA/Rac1通路抑制剂对结肠癌的治疗有突破性的进展<sup>[39]</sup>.

**3.3 胰腺癌** 在胰腺癌中叉头盒蛋白(forkhead box

#### ■ 相关报道

Martin使用CT26(鼠类高迁移能力的结肠癌间质细胞)皮下注射裸鼠导致肿瘤快速增长, 在TGF- $\beta$ RII-dn稳定表达的CT26中, 肿瘤生长缓慢或被抑制. 肿瘤的生长, 侵袭和转移需要TGF- $\beta$ 信号通路的激活. CT26细胞显示为间质细胞的表型, E-cadherin和ZO-1(紧密连接蛋白)表达下调, TGF- $\beta$  RII-dn表达的CKR细胞细胞黏附蛋白上调, 间质细胞表型逆转, 有部分上皮细胞的表型, 因此认为抑制晚期癌细胞中TGF- $\beta$ 信号通路, 能诱导MET.



### ■创新盘点

本文创新性的综述了与EMT相关的信号通路,并系统阐述了EMT在消化系统肿瘤中的调控机制,明确了EMT过程在消化系统肿瘤侵袭和迁移中起重要作用。

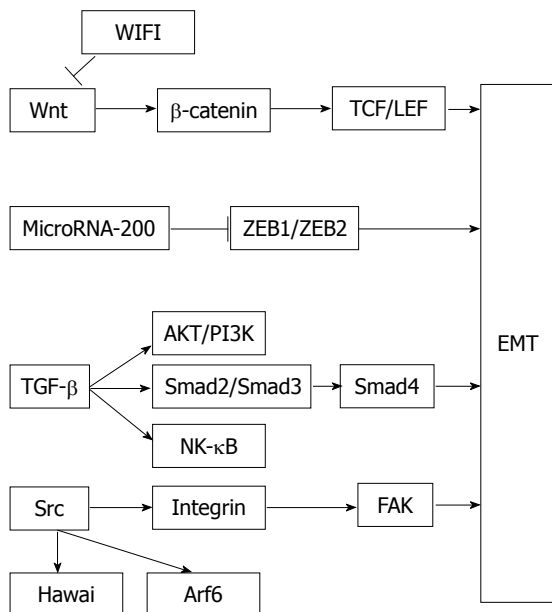


图1 与EMT相关的信号通路。

protein M1, FoxM1)过表达,能够促进上皮细胞表型的转变,发生EMT<sup>[40]</sup>。很多文献中报道FoxM1能够调控细胞周期和有丝分裂过程,最近发现FoxM1能够增强肿瘤的侵袭能力和耐药性<sup>[41,42]</sup>。FoxM1过表达导致miR-200和let-7的表达下调,ZEB1、ZEB2等表达上调,促进了EMT的发生,而miR-200b的重新表达能够逆转EMT,为胰腺癌的治疗提供依据<sup>[43]</sup>。

**3.4 肝癌** 在肝癌Mahlavu细胞中,生存素(Survivin)表达缺失,导致细胞生长受抑制,转移能力增强<sup>[44]</sup>。Tai等<sup>[45]</sup>发现Survivin使葡萄糖调节蛋白(GRP78)表达下调,间质细胞的标志物vimentin表达增加,使迁移能力增强。Survivin能够调节G<sub>2</sub>/M的关卡,通过抑制Capase-3的表达促进细胞的增殖。Survivin与Capase-3结合,通过使P34激酶的磷酸化,抑制Capase-3的表达<sup>[46,47]</sup>。Survivin等抗凋亡分子在肝癌中过表达,肝癌细胞对凋亡诱导因子不敏感是肝癌没有有效治疗策略的原因之一,通过化学的方法抑制Survivin,如姜黄素等,对肝癌的治疗有一定的指导意义<sup>[48]</sup>。TGF-β是促进肝细胞纤维化和癌变的重要调节因子,TGF-β在肝细胞的癌变过程中扮演对立的角色,TGF-β一方面能抑癌、抑制增殖、引起凋亡;另一方面,使肝细胞发生EMT,促进肝细胞的癌变<sup>[49]</sup>。EMT的过程还包括肝细胞蛋白表达的下降,成熟肝细胞转录因子HNF4a或HNF1a表达下调。在肝癌发展的过程中,EMT的重要性逐渐被认识,EMT的分子机制的改变对研究抗

肿瘤药物的有效性和敏感性至关重要,van Zijl等<sup>[50]</sup>建立EMT模型来监测抗癌药物的有效性,发现上皮细胞对索拉菲尼和埃罗替尼敏感性高,这种现象可能机制为上皮细胞的血管内皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的磷酸化水平上调,而间质细胞对化疗药物如多柔比星、顺铂、表柔比星有较高的敏感性,可能与各种抗药蛋白的下调有关。

## 4 结论

EMT是非常复杂的网络系统(图1),无论从通路,转录因子,还是microRNA等水平都做过很多研究,但EMT的详细机制仍不清楚。靶向治疗是当今比较热门且有效的治疗策略,但目前尚未研制出完善的EMT的靶向药物,目前抑制EGFR活性药物已投入临床应用,但其效果尚未完成特异性评估。因此,我们仍需深入探索肿瘤中EMT的发生机制,尤其在消化系统肿瘤中的发生机制,为消化系统恶性肿瘤的治疗提供理论依据。

## 5 参考文献

- Zhang Z, Liu ZB, Ren WM, Ye XG, Zhang YY. The miR-200 family regulates the epithelial-mesenchymal transition induced by EGF/EGFR in anaplastic thyroid cancer cells. *Int J Mol Med* 2012; 30: 856-862 [PMID: 22797360 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1059.]
- Wellner U, Schubert J, Burk UC, Schmalhofer O, Zhu F, Sonntag A, Waldvogel B, Vannier C, Darling D, zur Hausen A, Bruntton VG, Morton J, Sansom O, Schüler J, Stemmler MP, Herzberger C, Hopt U, Keck T, Brabletz S, Brabletz T. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 1487-1495 [PMID: 19935649 DOI: 10.1038/ncb1998.]
- Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 2008; 14: 818-829 [PMID: 18539112 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.05.009.]
- Gibbons DL, Lin W, Creighton CJ, Rizvi ZH, Gregory PA, Goodall GJ, Thilaganathan N, Du L, Zhang Y, Pertsemidis A, Kurie JM. Contextual extracellular cues promote tumor cell EMT and metastasis by regulating miR-200 family expression. *Genes Dev* 2009; 23: 2140-2151 [PMID: 19759262 DOI: 10.1101/gad.1820209.]
- Adam L, Zhong M, Choi W, Qi W, Nicoloso M, Arora A, Calin G, Wang H, Siefker-Radtke A, McConkey D, Bar-Eli M, Dinney C. miR-200 expression regulates epithelial-to-mesenchymal transition in bladder cancer cells and reverses resistance to epidermal growth factor receptor therapy. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5060-5072 [PMID: 19671845 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2245.]
- Micalizzi DS, Farabaugh SM, Ford HL. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2010; 15: 117-134

- [PMID: 20490631 DOI: 10.1007/s10911-010-9178-9.]
- 7 Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N, Bert AG, Wang J, Shannon MF, Goodall GJ. A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2008; 68: 7846-7854 [PMID: 18829540 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1942.]
- 8 Burk U, Schubert J, Wellner U, Schmalhofer O, Vincan E, Spaderna S, Brabletz T. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells. *EMBO Rep* 2008; 9: 582-589 [PMID: 18483486 DOI: 10.1038/embor.2008.74.]
- 9 Burk U, Schubert J, Wellner U, Schmalhofer O, Vincan E, Spaderna S, Brabletz T. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells. *EMBO Rep* 2008; 9: 582-589 [PMID: 18483486]
- 10 Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev* 2008; 22: 894-907 [PMID: 18381893 DOI: 10.1101/gad.1640608.]
- 11 Onder TT, Gupta PB, Mani SA, Yang J, Lander ES, Weinberg RA. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways. *Cancer Res* 2008; 68: 3645-3654 [PMID: 18483246 DOI: 10.1158/0008-5472.]
- 12 Yang Z, Zhang X, Gang H, Li X, Li Z, Wang T, Han J, Luo T, Wen F, Wu X. Up-regulation of gastric cancer cell invasion by Twist is accompanied by N-cadherin and fibronectin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358: 925-930 [PMID: 17512904]
- 13 Ru GQ, Wang HJ, Xu WJ, Zhao ZS. Upregulation of Twist in gastric carcinoma associated with tumor invasion and poor prognosis. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 341-347 [PMID: 21104359 DOI: 10.1007/s12253-010-9332-0.]
- 14 Wang Y, Ngo VN, Marani M, Yang Y, Wright G, Staudt LM, Downward J. Critical role for transcriptional repressor Snail2 in transformation by oncogenic RAS in colorectal carcinoma cells. *Oncogene* 2010; 29: 4658-4670 [PMID: 20562906 DOI: 10.1038/onc.2010.218]
- 15 Galaktionov K, Lee AK, Eckstein J, Draetta G, Meckler J, Loda M, Beach D. CDC25 phosphatases as potential human oncogenes. *Science* 1995; 269: 1575-1577 [PMID: 7667636]
- 16 Zhang K, Chen D, Jiao X, Zhang S, Liu X, Cao J, Wu L, Wang D. Slug enhances invasion ability of pancreatic cancer cells through upregulation of matrix metalloproteinase-9 and actin cytoskeleton remodeling. *Lab Invest* 2011; 91: 426-438 [PMID: 21283078 DOI: 10.1038/labinvest.2010.201]
- 17 Lin CY, Tsai PH, Kandaswami CC, Lee PP, Huang CJ, Hwang JJ, Lee MT. Matrix metalloproteinase-9 cooperates with transcription factor Snail to induce epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Sci* 2011; 102: 815-827 [PMID: 21219539 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01861.x.]
- 18 Fragiadaki M, Mason RM. Epithelial-mesenchymal transition in renal fibrosis - evidence for and against. *Int J Exp Pathol* 2011; 92: 143-150 [PMID: 21554437 DOI: 10.1111/j.1365-2613.2011.00775.x.]
- 19 Su J, Zhang A, Shi Z, Ma F, Pu P, Wang T, Zhang J, Kang C, Zhang Q. MicroRNA-200a suppresses the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway by interacting with  $\beta$ -catenin. *Int J Oncol* 2012; 40: 1162-1170 [PMID: 22211245 DOI: 10.3892/ijo.2011.1322.]
- 20 Mongroo PS, Rustgi AK. The role of the miR-200 family in epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Biol Ther* 2010; 10: 219-222 [PMID: 20592490]
- 21 Yee DS, Tang Y, Li X, Liu Z, Guo Y, Ghaffar S, McQueen P, Atreya D, Xie J, Simoneau AR, Hoang BH, Zi X. The Wnt inhibitory factor 1 restoration in prostate cancer cells was associated with reduced tumor growth, decreased capacity of cell migration and invasion and a reversal of epithelial to mesenchymal transition. *Mol Cancer* 2010; 9: 162 [PMID: 20573255 DOI: 10.1186/1476-4598-9-162.]
- 22 Ren D, Minami Y, Nishita M. Critical role of Wnt5a-Ror2 signaling in motility and invasiveness of carcinoma cells following Snail-mediated epithelial-mesenchymal transition. *Genes Cells* 2011; 16: 304-315 [PMID: 21342370 DOI: 10.1111/j.1365-2443.2011.01487.x.]
- 23 Das S, Becker BN, Hoffmann FM, Mertz JE. Reversal of transforming growth factor- $\beta$  induced epithelial-to-mesenchymal transition and the ZEB proteins. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5 Suppl 1: S28 [PMID: 23259633]
- 24 Oft M, Heider KH, Beug H. TGF $\beta$  signaling is necessary for carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Curr Biol* 1998; 8: 1243-1252 [PMID: 9822576]
- 25 Behar S, Reicher-Reiss H, Abinader E, Agmon J, Barzilai J, Friedman Y, Kaplinsky E, Kauli N, Kishon Y, Palant A. Long-term prognosis after acute myocardial infarction in patients with left ventricular hypertrophy on the electrocardiogram. SPRINT Study Group. *Am J Cardiol* 1992; 69: 985-990 [PMID: 1532881]
- 26 Shin JA, Hong OK, Lee HJ, Jeon SY, Kim JW, Lee SH, Cho JH, Lee JM, Choi YH, Chang SA, Son HY, Kim JH, Yoon KH. Transforming growth factor- $\beta$  induces epithelial to mesenchymal transition and suppresses the proliferation and transdifferentiation of cultured human pancreatic duct cells. *J Cell Biochem* 2011; 112: 179-188 [PMID: 21069735 DOI: 10.1002/jcb.22929]
- 27 Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 301-310 [PMID: 12001991]
- 28 Kiefel H, Bondong S, Pfeifer M, Schirmer U, Erbe-Hoffmann N, Schäfer H, Sebens S, Altevogt P. EMT-associated up-regulation of L1CAM provides insights into L1CAM-mediated integrin signaling and NF- $\kappa$ B activation. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1919-1929 [PMID: 22764136 DOI: 10.1093/carcin/bgs220]
- 29 Li Q, Liu BC, Lv LL, Ma KL, Zhang XL, Phillips AO. Monocytes induce proximal tubular epithelial-mesenchymal transition through NF-kappa B dependent upregulation of ICAM-1. *J Cell Biochem* 2011; 112: 1585-1592 [PMID: 21344487 DOI: 10.1002/jcb.23074.]
- 30 Huber MA, Azoitei N, Baumann B, Grünert S, Sommer A, Pehamberger H, Kraut N, Beug H, Wirth T. NF-kappaB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *J Clin Invest* 2004; 114: 569-581 [PMID: 15314694]
- 31 Avizienyte E, Frame MC. Src and FAK signalling controls adhesion fate and the epithelial-to-mes-

## ■应用要点

研究与EMT相关的信号通路, 阻断信号通路中相应靶点的抗肿瘤药物在消化系统肿瘤的治疗和预防中有重要应用价值。

## ■同行评价

本文内容丰富, 新颖, 具有一定的指导意义。

- enchymal transition. *Curr Opin Cell Biol* 2005; 17: 542-547 [PMID: 16099634]
- 32 Yano H, Mazaki Y, Kurokawa K, Hanks SK, Matsuda M, Sabe H. Roles played by a subset of integrin signaling molecules in cadherin-based cell-cell adhesion. *J Cell Biol* 2004; 166: 283-295 [PMID: 15263022]
- 33 Shinozaki A, Sakatani T, Ushiku T, Hino R, Isogai M, Ishikawa S, Uozaki H, Takada K, Fukayama M. Downregulation of microRNA-200 in EBV-associated gastric carcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 4719-4727 [PMID: 20484038 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4620.]
- 34 Lin Z, Wang X, Fewell C, Cameron J, Yin Q, Flemington EK. Differential expression of the miR-200 family microRNAs in epithelial and B cells and regulation of Epstein-Barr virus reactivation by the miR-200 family member miR-429. *J Virol* 2010; 84: 7892-7897 [PMID: 20484493 DOI: 10.1128/JVI.00379-10]
- 35 Graziano F, Humar B, Guilford P. The role of the E-cadherin gene (CDH1) in diffuse gastric cancer susceptibility: from the laboratory to clinical practice. *Ann Oncol* 2003; 14: 1705-1713 [PMID: 14630673]
- 36 Li A, Zhou T, Guo L, Si J. Collagen type I regulates beta-catenin tyrosine phosphorylation and nuclear translocation to promote migration and proliferation of gastric carcinoma cells. *Oncol Rep* 2010; 23: 1247-1255 [PMID: 20372837]
- 37 Roger L, Jullien L, Gire V, Roux P. Gain of oncogenic function of p53 mutants regulates E-cadherin expression uncoupled from cell invasion in colon cancer cells. *J Cell Sci* 2010; 123: 1295-1305 [PMID: 20332115 DOI: 10.1242/jcs.061002]
- 38 Varnat F, Duquet A, Malerba M, Zbinden M, Mas C, Gervaz P, Ruiz i Altaba A. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-Gli signalling that is essential for tumour growth, recurrence, metastasis and stem cell survival and expansion. *EMBO Mol Med* 2009; 1: 338-351 [PMID: 20049737 DOI: 10.1002/emmm.200900039]
- 39 Gulhati P, Bowen KA, Liu J, Stevens PD, Rychahou PG, Chen M, Lee EY, Weiss HL, O'Connor KL, Gao T, Evers BM. mTORC1 and mTORC2 regulate EMT, motility, and metastasis of colorectal cancer via RhoA and Rac1 signaling pathways. *Cancer Res* 2011; 71: 3246-3256 [PMID: 21430067 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4058.]
- 40 Li J, Wang Y, Luo J, Fu Z, Ying J, Yu Y, Yu W. miR-134 inhibits epithelial to mesenchymal transition by targeting FOXM1 in non-small cell lung cancer cells. *FEBS Lett* 2012; 586: 3761-3765 [PMID: 23010597 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.09.016]
- 41 Laoukili J, Stahl M, Medema RH. FoxM1: at the crossroads of ageing and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775: 92-102 [PMID: 17014965]
- 42 Kalin TV, Wang IC, Ackerson TJ, Major ML, Detrisac CJ, Kalinichenko VV, Lyubimov A, Costa RH. Increased levels of the FoxM1 transcription factor accelerate development and progression of prostate carcinomas in both TRAMP and LADY transgenic mice. *Cancer Res* 2006; 66: 1712-1720 [PMID: 16452231]
- 43 Bao B, Wang Z, Ali S, Kong D, Banerjee S, Ahmad A, Li Y, Azmi AS, Miele L, Sarkar FH. Over-expression of FoxM1 leads to epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype in pancreatic cancer cells. *J Cell Biochem* 2011; 112: 2296-2306 [PMID: 21503965 DOI: 10.1002/jcb.23150.]
- 44 Guha M, Altieri DC. Survivin as a global target of intrinsic tumor suppression networks. *Cell Cycle* 2009; 8: 2708-2710 [PMID: 19717980]
- 45 Tai CJ, Chin-Sheng H, Kuo LJ, Wei PL, Lu HH, Chen HA, Liu TZ, Liu JJ, Liu DZ, Ho YS, Wu CH, Chang YJ. Survivin-mediated cancer cell migration through GRP78 and epithelial-mesenchymal transition (EMT) marker expression in Mahlavu cells. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 336-343 [PMID: 21516372 DOI: 10.1245/s10434-011-1692-5]
- 46 Altieri DC. Survivin, cancer networks and pathway-directed drug discovery. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 61-70 [PMID: 18075512]
- 47 Lin CC, Calvo E, Papadopoulos KP, Patnaik A, Sarantopoulos J, Mita AC, Preston GG, Mita MM, Rodon J, Mays T, Yeh IT, O'Rourke P, Takimoto CH, Dancey JE, Chen H, Tolcher AW. Phase I study of cetuximab, erlotinib, and bevacizumab in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 1065-1071 [PMID: 18795291 DOI: 10.1007/s00280-008-0811-x.]
- 48 Caja L, Bertran E, Campbell J, Fausto N, Fabregat I. The transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) mediates acquisition of a mesenchymal stem cell-like phenotype in human liver cells. *J Cell Physiol* 2011; 226: 1214-1223 [PMID: 20945437 DOI: 10.1002/jcp.22439]
- 49 Franco DL, Mainez J, Vega S, Sancho P, Murillo MM, de Frutos CA, Del Castillo G, López-Blau C, Fabregat I, Nieto MA. Snail1 suppresses TGF-beta-induced apoptosis and is sufficient to trigger EMT in hepatocytes. *J Cell Sci* 2010; 123: 3467-3477 [PMID: 20930141 DOI: 10.1242/jcs.068692.]
- 50 van Zijl F, Mall S, Machat G, Pirker C, Zeillinger R, Weinhaeusel A, Bilban M, Berger W, Mikulits W. A human model of epithelial to mesenchymal transition to monitor drug efficacy in hepatocellular carcinoma progression. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 850-860 [PMID: 21364009 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0917.]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 大鼠重症急性胰腺炎相关性肺损伤模型的建立

王皓, 刘江伟, 李之令, 薛晓玉, 赵红艳, 郭飞, 许永华

王皓, 新疆石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832000

王皓, 刘江伟, 李之令, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

薛晓玉, 赵红艳, 许永华, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

郭飞, 新疆医科大学第一附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

王皓, 在读硕士, 主要从事胰腺炎及继发性脏器损伤方面的研究。中国博士后第48批基金资助项目, No. 20100481517

作者贡献分布: 王皓与刘江伟对此文所做贡献均等; 此课题由王皓与刘江伟设计; 研究过程由王皓、刘江伟及李之令操作完成; 研究所需检验项目由薛晓玉完成; 数据分析由王皓完成; 论文写作由王皓及刘江伟完成; 实验动物由赵红艳与许永华协助提供; 郭飞提供部分实验技术帮助。

通讯作者: 刘江伟, 主任医师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市友好北路359号, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科。ljw273@sohu.com

收稿日期: 2012-11-06 修回日期: 2012-12-26

接受日期: 2013-01-07 在线出版日期: 2013-01-28

## Development of a rat model of severe acute pancreatitis-associated lung injury

Hao Wang, Jiang-Wei Liu, Zhi-Ling Li, Xiao-Yu Xue, Hong-Yan Zhao, Fei Guo, Yong-Hua Xu

Hao Wang, Medical School of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hao Wang, Jiang-Wei Liu, Zhi-Ling Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Xiao-Yu Xue, Hong-Yan Zhao, Yong-Hua Xu, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Fei Guo, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the China Postdoctoral Science Foundation, No. 20100481517

Correspondence to: Jiang-Wei Liu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, 359 Youhao North Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ljw273@sohu.com

Received: 2012-11-06 Revised: 2012-12-26

Accepted: 2013-01-07 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To establish a rat model of severe acute pancreatitis (SAP)-associated lung injury (LI) by occluding the head of the pancreas.

**METHODS:** Two hundred and ten rats were

randomly and equally divided into a control group, a sham-operated group, and a SAP-LI model group. Rats in each group was further divided into seven subgroups for testing at 0, 6, 12, 18, 24, 36, and 48 h ( $n = 10$  for each). The SAP-LI model group underwent occlusion of the head of the pancreas with vessel forceps. The sham-operated group underwent a surgical procedure similar to the SAP-LI model group but the head of the pancreas was not occluded. The control group only underwent anesthetization for 3 h. Blood, pulmonary alveolar lavage fluid, lung tissue and pancreatic tissue samples were collected at various time points. The level of serum amylase, content of serum proteins, percentage of polymorphonuclear neutrophils, wet/dry weight ratio of lung tissue, and content of proteins in pulmonary alveolar lavage fluid were determined. Pathological changes in lung and pancreatic tissues were observed under a light microscope.

**RESULTS:** All rats were live in the experiment. The level of serum amylase ( $5052.1 \text{ U/L} \pm 114.9 \text{ U/L}$ ,  $P < 0.01$ ) and the percentage of polymorphonuclear neutrophils ( $75.2\% \pm 5.8\%$ ,  $P < 0.05$ ) reached the peak at 12 h, and the ratio of the content of proteins in pulmonary alveolar lavage fluid to the content of serum proteins reached the peak at 36 h in the SAP-LI model group ( $0.009021 \pm 0.000107$ ,  $P < 0.01$ ). The wet/dry weight ratio of lung tissue, reaching the minimum at 36 h in the SAP-LI mold group ( $1.2001 \pm 0.0443$ ,  $P < 0.01$ ), differed significantly between the SAP-LI group and the other two groups (both  $P < 0.05$ ). Pancreatic tissue injury became worse with the prolongation of time. LI was most serious at 36 h. Serum amylase showed a correlation with the percentage of polymorphonuclear neutrophils and wet/dry weight ratio of lung tissue ( $r = 0.788$ ,  $P < 0.01$ ;  $r = 0.365$ ,  $P = 0.002$ ). The percentage of polymorphonuclear neutrophils showed a correlation with the wet/dry weight ratio of lung tissue ( $r = 0.348$ ,  $P = 0.003$ ). The wet/dry weight ratio of lung tissue showed a correlation with the ratio of the content of proteins in pulmonary alveolar lavage fluid to the content of serum proteins ( $r = -0.717$ ,  $P < 0.01$ ).

## ■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)常继发其他脏器损伤, 肺损伤是最常见的。SAP继发肺损伤患者病情凶险, 死亡率高。

## ■同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科; 李国威, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

## ■研究前沿

本文所要解决的问题是在SAP的基础上建立肺损伤模型,关于精确的建立SAP相关性肺损伤模型的文章较少见,大多是研究SAP模型的建立,在研究继发性肺损伤时大都是套用SAP模型,无精确损伤时间点的选择。

The score of pancreatic tissue pathology showed a correlation with that of lung tissue pathology ( $r = 0.934, P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** A new rat model of SAP-associated LI has been successfully developed by occluding the head of the pancreas, providing an ideal model for studying the pathogenesis and treatment of this condition. LI was most serious at 36 h, which is the optimal time point for inducing SAP-associated LI.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Severe acute pancreatitis; Lung injury; Occlusion; Model; Rats

Wang H, Liu JW, Li ZL, Xue XY, Zhao HY, Guo F, Xu YH. Development of a rat model of severe acute pancreatitis-associated lung injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 211-219

## 摘要

**目的:** 通过夹闭胰头部的办法建立一种新型大鼠重症急性胰腺炎相关性肺损伤(severe acute pancreatitis-associated lung injury, SAP-LI)的动物模型。

**方法:** 将SPF级健康♂SD大鼠210只随机分为:对照组、假手术组、重症急性胰腺炎相关性肺损伤模型组,每组70只。再分别将每个分组中的70只大鼠随机分为7个分组,包括0、6、12、18、24、36、48 h组,每组10只大鼠。SAP-LI模型组用16 cm弯止血钳夹闭胰头2 h后松开。假手术组于相应各时间点开腹后,仅轻轻翻动胰腺10次后放回其解剖位置。正常对照组除麻醉3 h外不做任何处理。在造模完成后,分别于相应各时间点采集血液、肺泡灌洗液、肺组织、胰腺组织标本。行血淀粉酶、总蛋白、中性粒细胞百分比检测,行大鼠肺组织湿/干质量比,肺泡灌洗液蛋白检测,行肺组织、胰腺组织病理学观察。

**结果:** 造模大鼠均存活。SAP-LI模型组大鼠血清淀粉酶12 h( $5\,052.1\text{ U/L} \pm 114.9\text{ U/L}$ ,  $P < 0.01$ )、中性粒细胞百分比值12 h( $75.2\% \pm 5.8\%$ ,  $P < 0.05$ )达到峰值,大鼠肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值36 h( $0.009021 \pm 0.000107$ ,  $P < 0.01$ )达到高峰;大鼠肺组织湿/干质量比36 h( $1.2001 \pm 0.0443$ ,  $P < 0.01$ )达到最小值。SAP-LI模型组与对照组和假手术组比较,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。病理组织学观察可见造模后随时间进程胰腺炎呈加重表现,肺组织损伤36 h最重。SAP-LI模型组血清淀粉酶与

血液中性粒细胞百分比、肺湿干质量比均呈正相关( $r = 0.794, P < 0.01$ ;  $r = 0.365, P = 0.002$ )。中性粒细胞百分比与肺湿干质量比呈正相关( $r = 0.356, P = 0.003$ )。肺湿干质量比、肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值呈负相关( $r = -0.717, P < 0.01$ )。胰腺病理学评分与肺脏病理学评分呈正相关( $r = 0.934, P < 0.01$ )。

**结论:** 通过夹闭胰头部的办法建立了一种新型大鼠重症急性胰腺炎致肺损伤动物模型,36 h为肺损伤最严重的时间点,也是我们建模的最佳时间点。为重症急性胰腺炎致肺损伤的发病机制及药物干预研究提供了一种较为理想的动物模型。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 重症急性胰腺炎; 肺损伤; 夹闭; 模型; 大鼠

王皓, 刘江伟, 李之令, 薛晓玉, 赵红艳, 郭飞, 许永华. 大鼠重症急性胰腺炎相关性肺损伤模型的建立. *世界华人消化杂志* 2013; 21(3): 211-219

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/211.asp>

## 0 引言

重症急性胰腺炎相关性肺损伤(severe acute pancreatitis-associated lung injury, SAP-LI)是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)胰外损伤中严重的并发症。SAP-LI的发生率高达60%-70%<sup>[1]</sup>,其中继发急性呼吸窘迫综合征者占20%,为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者早期死亡的主要原因<sup>[2]</sup>。目前对于急性胰腺炎导致肺损伤的机制仍未完全阐明。关于SAP-LI模型的研究少有报道,目前尚缺少一种稳定、可靠、重复性强的SAP-LI模型,因而制约着急性胰腺炎相关性肺损伤机制及救治研究的进一步深入。我们首先在前期建立SAP模型<sup>[3]</sup>的基础上建立SAP-LI模型,为急性胰腺炎肺损伤的救治研究奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级♂SD大鼠购自新疆医科大学动物中心,8-10周龄,平均体质量350 g。3%戊巴比妥钠由兰州军区乌鲁木齐总医院动物实验科提供。全自动生化分析仪(迈瑞公司CF-87800);全自动血细胞检测仪(迈瑞公司BC-5800);烤箱,16 cm弯止血钳(张家港市锦丰锦鹿刀剪厂);一次性使用无菌纱布块(乌鲁木齐市雅婕卫生材料有限公司);抗凝管:EDTA-K2(山东威高集团医用

表 1 胰腺病理评分标准表

组织病变	评分标准				
	0	1	2	3	4
水肿	无	弥漫性小叶间水肿	小叶间区域水肿	腺泡肿胀, 小叶间隙增大	明显小叶分隔
炎细胞浸润	无	白细胞2-10个/HP	白细胞11-20个/HP	白细胞21-30个/HP	白细胞>30个/HP
出血	无	胰腺实质出血<25%	实质出血25%-50%	实质出血51%-75%	实质出血>75%
坏死	无	胰管周围实质破坏	点状实质坏死<20%	小叶缺失21%-50%	小叶缺失>50%

## ■创新盘点

本文采用夹闭胰头部的方法建立急性坏死性胰腺炎肺损伤模型, 致伤胰腺准确, 能很好模拟胆源性及缺血所致的胰腺炎继发性肺损伤。

高分子制品股份有限公司); 促凝管: 促凝剂+分离胶(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司); BCA蛋白定量试剂盒: 100T/96样购自南京建成生物技术有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 分组: 将210只♂SD大鼠随机分为对照组、假手术组、SAP-LI模型组, 每组70只。再分别将每个分组中的70只大鼠随机分为7个分组, 包括0、6、12、18、24、36、48 h组, 每组10只大鼠。

1.2.2 术前准备及术后处理: 大鼠术前禁食12 h, 自由饮水。术前称质量, 使用3%戊巴比妥钠按照40 mL/kg用量行腹腔注射麻醉。麻醉成功后行备皮、消毒、铺巾。术中注意观察大鼠呼吸和心跳情况, 术后放回饲养箱。大鼠苏醒后可自由进食、饮水。

1.2.3 手术建模方法和步骤: SAP-LI模型组: 取大鼠腹部正中切口, 长约2 cm, 逐层入腹。将脾脏及胰腺从大鼠左侧腹部一并提出, 将肠管推向下, 胃翻向大鼠头侧, 沿胃大弯侧游离胰腺直至胰头部。用0.9%生理盐水浸湿纱布, 用两层纱布包裹胰头1 wk, 16 cm弯止血钳夹闭包有湿纱布的胰头部, 将胃复位后放回腹腔, 用盐水纱布覆盖手术区。2 h后松开止血钳, 探查胰腺及腹腔内无出血后逐层关腹。假手术组: 将大鼠开腹后提出胰腺, 正反共翻动胰腺10次后, 将其放回解剖位置后关腹。正常对照组麻醉3 h, 不开腹, 其他处理同其余两组。

1.2.4 指标检测及取材方法: (1)SAP-LI模型组、假手术组、对照组分别于0、6、12、18、24、36、48 h麻醉大鼠, 腹部消毒, 开腹, 由下腔静脉采血2 mL注入EDTA抗凝管, 行血常规检测。采血3 mL注入促凝管, 行血淀粉酶、总蛋白检测; (2)延长腹部切口至胸部, 再延长至颈部。用丝线在左侧肺门处将左主支气管及肺动静脉一并结扎。分离气管, 在气管软骨环处用眼科剪将气管剪开一个V型切口, 用一次性静脉输液针

做气管插管, 缝线固定插管。用5 mL注射器吸取4 mL 4℃无菌生理盐水, 将注射器连接于气管插管, 缓慢推注, 用无齿镊轻轻晃动右肺, 然后缓慢回抽注射器, 记录回收肺泡灌洗液(BALF)量并计算肺泡灌洗液回收百分率。要求回收率>80%。连续灌洗5次, 共灌洗20 mL。将肺泡灌洗液2 000 r/min离心10 min后, 吸取上清置入新EP管中, -80℃冰箱冻存, 待行BALF中的蛋白测定; (3)取胰腺体尾部组织两块, 各约0.6 cm×0.6 cm大小, 用4%福尔马林固定后石蜡包埋, 切片后行HE染色, 进行组织形态学观察, 行胰腺病理学评分; (4)取大鼠左肺上叶, 称质量后放入80℃温箱烘烤48 h, 烘干后再次称质量, 计算肺湿干质量比。取左肺中叶组织块0.6 cm×0.6 cm大小, 用4%福尔马林固定后石蜡包埋, 切片后行HE染色, 进行组织形态学观察, 行肺脏病理学评分。

1.2.5 胰腺病理学评分方法: 胰腺病理学评分, 按照Kusske<sup>[4]</sup>、Grewall<sup>[5]</sup>和Schmidt<sup>[6]</sup>标准, 制定以下评分标准(表1)。每张切片随机取10个高倍镜视野, 每个视野病理评分为每项相加后的总分值, 每张切片的组织病理评分为10个视野分值的平均数。

1.2.6 肺组织病理学评分方法: 肺组织病理学评分, 参照Osman<sup>[7]</sup>、Hofbauer<sup>[8]</sup>和雷文章<sup>[9]</sup>的评分标准, 制定以下评分标准(表2)。每张切片随机取10个高倍镜视野, 每个视野病理评分为每项相加后的总分值, 每张切片的组织病理评分为10个视野分值的平均数。

**统计学处理** 数据以mean±SD表示, SAP-LI模型组、假手术组、对照组各组内部不同时间点间的比较以及3组之间同一时间点的比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),  $P<0.05$ 表明有显著差异性。病理学评分采用秩和检验,  $P<0.05$ 表明有显著差异性。用Pearson方法来检验血清淀粉酶、中性粒细胞百分比值、肺湿干质量比、肺灌洗液蛋白/血浆蛋白之间的相关性,  $P<0.05$ 表明有显著相关性。用Spearman方法来检



## ■应用要点

本文建立的SAP-LI模型操作简便, 尽量减少操作过程中对腹腔脏器的刺激, 能够大量、快速的建模. 所建模型各项检测指标结果切合实际, 与现有理论相符. 建模完成后大鼠死亡率极低, 更便于对相关实验进行长期研究. 本模型的建立为SAP-LI的研究提供了一种新的建模方法, 为研究SAP-LI的发病机制及药物干预提供了一种较为理想的动物模型.

表 2 肺组织病理评分标准表

组织病变	评分标准			
	0	1	2	3
水肿	无	轻度肺泡壁水肿	中度肺泡壁水肿	肺泡和间质广泛水肿
炎细胞浸润	无	间质少量PMN和M浸润	间质及肺泡腔内有较多的PMN和M浸润	大部分肺泡及间质有PMN聚集成团, 显著M浸润
出血	无	间质及肺泡壁有少量出血范围<25%	毛细血管淤血出血范围25%~50%	肺泡腔出血范围50%~70%

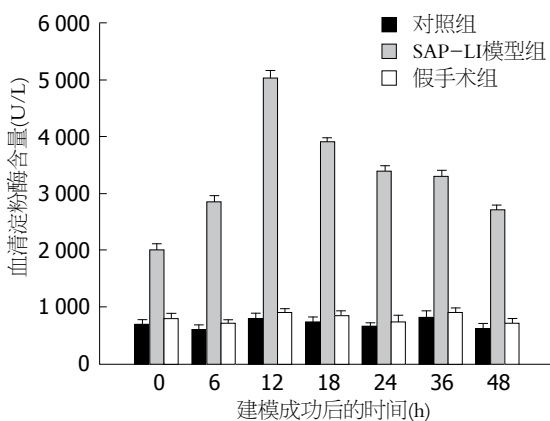


图 1 各组大鼠血清淀粉酶检测值(U/L, mean ± SD).

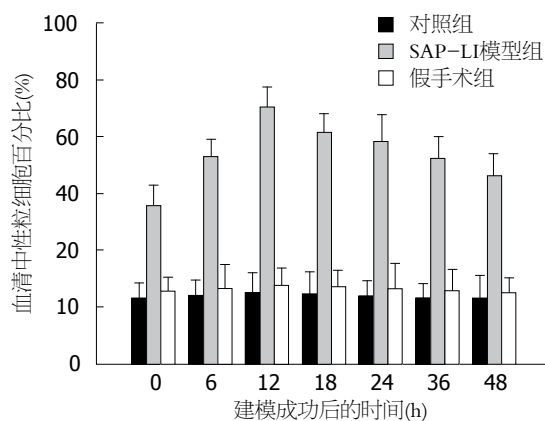


图 2 各组大鼠血液中性粒细胞百分比值(% , mean ± SD).

验胰腺及肺脏病理学评分之间的相关性,  $P < 0.05$  表明有显著相关性. 用SPSS20.0统计软件行数据分析.

## 2 结果

**2.1 各组大鼠血清淀粉酶检测值** SAP-LI模型组, 大鼠血清淀粉酶于模型制作完成后即开始升高, 于12 h( $5\,052.1 \text{ U/L} \pm 114.9 \text{ U/L}$ ,  $P < 0.01$ )达到峰值, 其后逐渐下降. 对SAP-LI模型组、假手术组、对照组组内及组间行单因素方差分析,  $P < 0.05$  表明差异有显著性. SAP-LI模型组组内各时间点淀粉酶之间差异明显, 12 h与各时间点均有明显差别( $P < 0.01$ ). SAP-LI模型组分别与对照组和假手术组同一时间点比较均高于对照组和假手术组, 差异明显( $P < 0.05$ ). 对照组和假手术组组内各时间点比较及两组间相同时间点比较无明显差别( $P > 0.05$ , 图1).

**2.2 各组大鼠血液中性粒细胞百分比值** SAP-LI模型组中, 大鼠血液中性粒细胞百分比于造模完成后即开始升高, 12 h( $75.2\% \pm 5.8\%$ ,  $P < 0.05$ )达峰值, 其后逐渐下降. 对SAP-LI模型组、假手术组、对照组组内及组间行单因素方差分析,  $P < 0.05$  表明差异有显著性. SAP-LI模型组组内各时间点比较均有差异( $P < 0.05$ ). SAP-LI模型组分

别与对照组和假手术组同一时间点比较, 均高于对照组和假手术组( $P < 0.05$ ). 对照组和假手术组组内各时间点比较及两组间相同时间点比较无明显差别( $P > 0.05$ , 图2).

**2.3 各组大鼠肺湿干质量比值** SAP-LI模型组, 大鼠肺组织湿干质量比于模型制作完成后即开始升高, 于12 h达到峰值, 后开始逐渐下降, 36 h( $1.2001 \pm 0.0443$ ,  $P < 0.01$ )达到最低值, 后逐渐升高. 对SAP-LI模型组、假手术组、对照组组内及组间行单因素方差分析,  $P < 0.05$  表明差异有显著性. SAP-LI模型组组内36 h与其他各时间点比较差异明显( $P < 0.01$ ). SAP-LI模型组分别与对照组和假手术组同一时间点比较差异明显( $P < 0.05$ ). 对照组和假手术组组内各时间点比较及两组间相同时间点比较无明显差异( $P > 0.05$ , 图3).

**2.4 各组大鼠肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值** SAP-LI模型组, 大鼠肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值, 大鼠肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值于模型制作完成后即开始升高, 于36 h( $0.009021 \pm 0.000107$ ,  $P < 0.01$ )达到峰值, 其后逐渐下降. 对SAP-LI模型组、假手术组、对照组组内及组间行单因素方差分析,  $P < 0.05$  表明差异有显著性. SAP-LI模型组组内各时间点比较差异明显

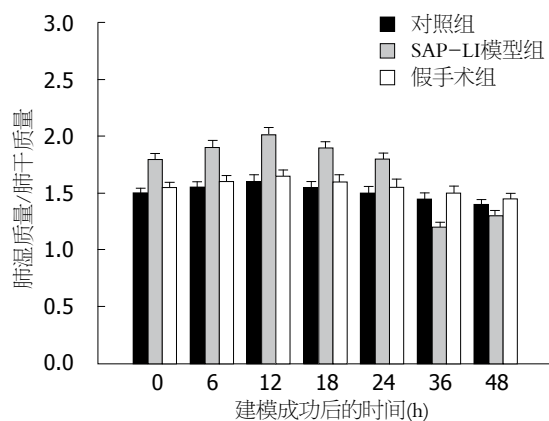


图 3 各组大鼠肺湿干质量比值(mean ± SD).

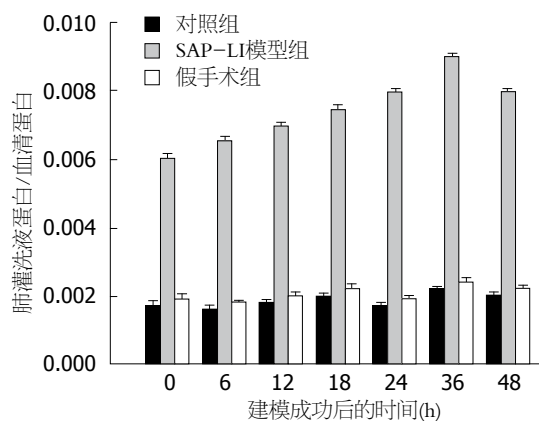


图 4 各组大鼠肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值(mean ± SD).

## ■同行评价

本文参照国内外的相关研究及作者既往的研究结果,建立了一种新型的重症急性胰腺炎肺损伤的动物模型,并从多种角度对该模型进行了分析、比较及评价,并对该模型的理论依据进行了较为详实的论述,表明该模型稳定、可靠,为后续机制研究奠定基础,具有较好的先进性及创新性.

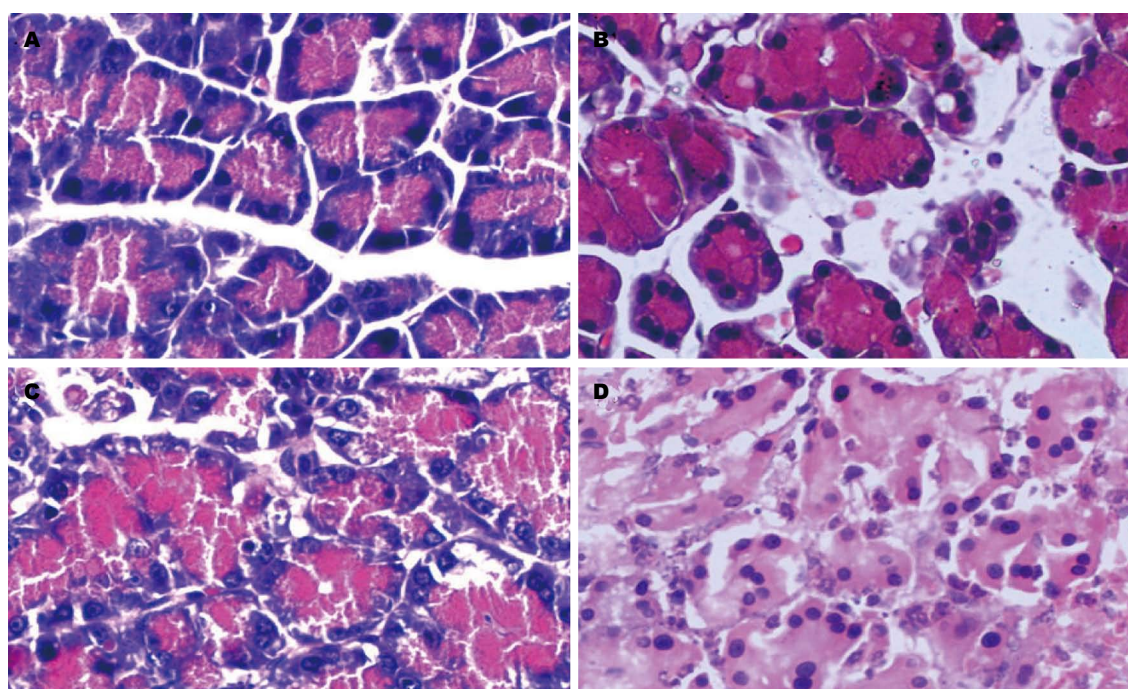


图 5 各组大鼠胰腺组织的病理变化(HE × 400). A: 对照组; B: 假手术组; C: SAP-LI模型组0 h组; D: SAP-LI模型组48 h组.

( $P < 0.05$ ). SAP-LI模型组分别与对照组和假手术组同一时间点比较均高于对照组和假手术组,差异明显( $P < 0.05$ ). 对照组和假手术组组内各时间点比较及两组间相同时间点比较无明显差异( $P > 0.05$ , 图4).

**2.5 各组大鼠胰腺病理学分析** 各时间点对照组大鼠胰腺病理切片见胰腺小叶无水肿,无白细胞浸润,无出血、坏死,破裂. 假手术组大鼠仅见胰腺小叶轻度水肿,无白细胞浸润,无出血、坏死,破裂. SAP-LI模型组,造模完成后0 h即出现胰腺组织水肿,6 h胰腺小叶间隙增宽、腺泡细胞水肿,并出现出血、坏死,腺泡完整性遭破坏,腺泡液外溢. 12 h出现大量炎细胞浸润. 之后随时间进展,坏死逐步加重. 48 h时出现大量

片状坏死(图5). 对SAP-LI模型组、假手术组、对照组组内病理评分分别行Kruskal-Wallis秩和检验,  $P < 0.05$ 表明差异有显著性. 手术组各时间点的差异明显( $H = 67.473$ ,  $P < 0.01$ ). 假手术组( $H = 1.709$ ,  $P = 0.944$ )及对照组( $H = 2.107$ ,  $P = 0.910$ )组内无明显差异(表3).

**2.6 各组大鼠肺组织病理学分析** 各时间点对照组大鼠肺组织病理切片无水肿、无出血、无炎细胞浸润,肺泡壁较薄. 假手术组出现轻微肺泡壁细胞水肿,无出血、无炎细胞浸润. SAP-LI模型组大鼠肺组织,在造模完成后0 h即出现肺泡壁细胞水肿,肺泡壁增厚,随时间进展,肺泡壁逐渐增厚,肺泡腔逐渐缩小,肺泡腔及间质红细胞增多、炎细胞浸润逐渐加重. 12 h时部分肺泡



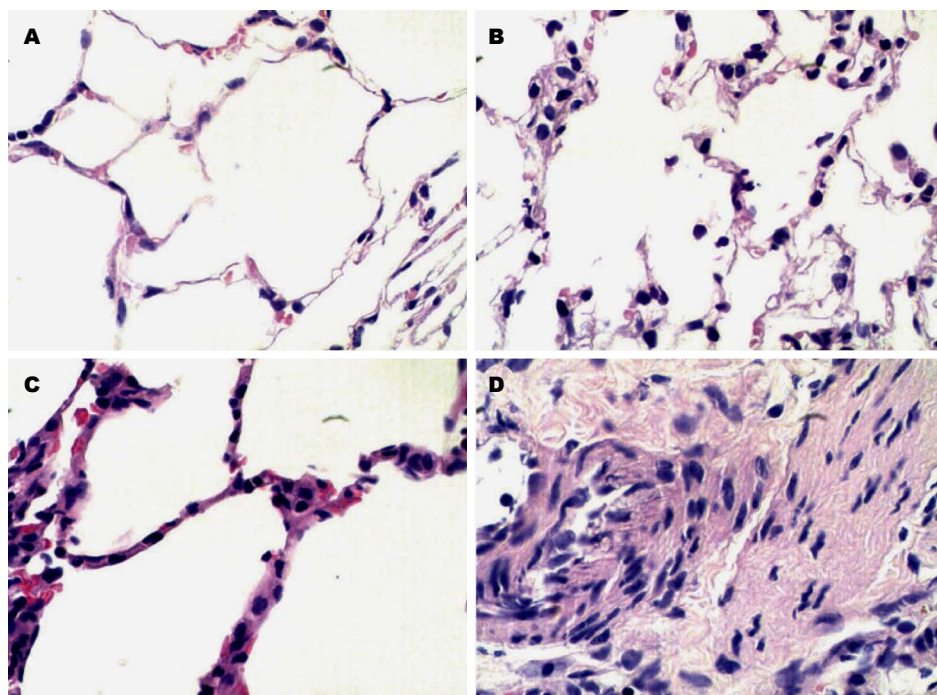


图 6 各组大鼠肺组织病理变化(HE × 400). A: 对照组; B: 假手术组; C: SAP-LI模型组0 h组; D: SAP-LI模型组36 h组.

表 3 各组大鼠胰腺病理学评分 (mean ± SD)

分组	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h	48 h
SAP-LI模型组	1.88 ± 0.41	6.07 ± 0.26	8.24 ± 0.24	10.43 ± 0.28	12.30 ± 0.39	13.28 ± 0.28	14.02 ± 0.35
假手术组	0.50 ± 0.12	0.53 ± 0.16	0.54 ± 0.18	0.53 ± 0.14	0.56 ± 0.19	0.56 ± 0.15	0.57 ± 0.15
对照组	0.49 ± 0.13	0.50 ± 0.21	0.51 ± 0.16	0.52 ± 0.14	0.53 ± 0.09	0.54 ± 0.16	0.56 ± 0.16

表 4 各组大鼠肺脏病理学评分 (mean ± SD)

分组	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h	36 h	48 h
SAP-LI模型组	2.12 ± 0.24	4.05 ± 0.32	6.20 ± 0.30	6.91 ± 0.28	7.85 ± 0.27	8.49 ± 0.16	6.24 ± 2.21
假手术组	0.49 ± 0.11	0.51 ± 0.21	0.52 ± 0.29	0.56 ± 0.24	0.59 ± 0.33	0.61 ± 0.38	0.58 ± 0.21
对照组	0.49 ± 0.24	0.49 ± 0.30	0.50 ± 0.12	0.53 ± 0.18	0.54 ± 0.27	0.55 ± 0.25	0.53 ± 0.27

腔闭塞, 肺组织出现实变, 部分肺泡腔代偿性扩张. 随时间进展, 水肿及实变逐渐加重, 至36 h时出现大面积的肺实变, 肺泡腔消失, 48 h时出现大量炎细胞浸润, 病变未再继续加重(图6). 对SAP-LI模型组、假手术组、对照组组内病理评分分别行Kruskal-Wallis秩和检验,  $P < 0.05$ 表明差异有显著性. SAP-LI模型组各时间点差异明显( $H = 66.216, P < 0.01$ ). 假手术组各时间点间无明显差异( $H = 1.173, P = 0.978$ ). 对照组各时间点间无明显差异( $H = 1.037, P = 0.984$ , 表4).

2.7 相关性分析 用Pearson方法检验SAP-LI模型组血清淀粉酶与血液中性粒细胞百分比、肺湿干质量比均呈正相关( $r = 0.788, P < 0.01$ ;  $r = 0.365, P = 0.002$ ). 中性粒细胞百分比与肺湿干

质量比呈正相关( $r = 0.348, P = 0.003$ ). 肺湿干质量比、肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值呈负相关( $r = -0.717, P < 0.01$ ). 用Spearman方法来检验胰腺病理学评分与肺脏病理学评分呈正相关( $r = 0.934, P < 0.01$ ).

### 3 讨论

重症急性胰腺炎占急性胰腺炎的10%-20%, 病程进展迅速, 可出现多种并发症, 常继发全身性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 病死率高. 急性肺损伤(acute Lung Injury, ALI)是胰腺炎导致胰外脏器损伤中最常见的表现. 目前对于



急性胰腺炎导致肺损伤的机制仍未完全阐明。

在研究急性胰腺炎肺损伤的过程中, 有人采用Lankish等<sup>[10]</sup>的方法, 通过向胰胆管内注入4%牛磺胆酸钠来制作SAP模型, 继而建立肺损伤模型。但是逆行性胰胆管注射法制作SAP大鼠模型, 需进行胆胰管穿刺, 操作繁琐、复杂, 精确度要求高, 手术过程中对胰管及肠管的损伤加大, 增大了手术风险, 死亡率加大。并且近端胆胰管极易被穿破, 造成药物外漏污染腹腔、胆胰管内压力减小等问题, 影响胰腺炎的严重程度, 从而影响肺损伤的严重程度。有人采用Lampel等<sup>[11]</sup>、Jaworek等<sup>[12]</sup>的方法, 通过向大鼠腹腔注射雨蛙素、脂多糖制造SAP模型, 继而制造肺损伤模型。但是此种方法所致胰腺炎严重程度不够, 仅造成水肿型胰腺炎, 并且药物对腹腔其他脏器产生直接损害, 影响肺损伤结果。

本模型首先采用夹闭法制造SAP模型, 然后在此基础上制造SAP-LI模型。通过使用止血钳夹闭胰头部2 h, 模拟了胆源性胰腺炎的发病过程, 同时也模拟出胰腺血液循环障碍导致胰腺炎的发病过程。有人注意到胰腺血液微循环障碍在急性胰腺炎发病过程中所起的作用<sup>[13]</sup>。胰腺的血流情况与胰腺炎的严重程度有关, 重症胰腺炎时胰腺血流明显降低, 缺血诱发急性胰腺炎并导致加重<sup>[14]</sup>。国内有关急性胰腺炎的报道, 认为最常见的病因为胆源性, 其次是特发性、高脂饮食(过度进食)及酒精性<sup>[15,16]</sup>, 国外报道以胆源性及酒精性为最主要原因。胆源性胰腺炎的成因是胆道结石嵌顿于胆总管造成胰液流出障碍, 胰液反流导致胰管内压力升高, 胰腺导管遭破坏, 是胰腺炎常见的诱因<sup>[17]</sup>。通过本方法既能成功建立出SAP模型, 又能达到肺损伤的要求。通过本实验, 我们证实胰腺在建模完成后0 h即出现充血、水肿, 6 h即出现出血、坏死, 之后症状逐渐加重。在建模后0 h即出现肺组织水肿, 至36 h时即出现大面积肺实变, 达到肺损伤最严重的时间点。36 h即为我们SAP-LI模型所需时间点。

有观点认为胰酶的异常激活与释放、胰腺的自身消化为始动因素<sup>[18,19]</sup>, 继而引起炎症介质瀑布样级联反应, 大量炎症介质进入血流, 引发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)。如SIRS反应过度, 则导致远处器官损害和MODS<sup>[20]</sup>。肺是MODS最先累及的器官。SIRS使得血液循环中白细胞激活, 一些白细胞聚集在肺微循环, 随着病情的发展, 白细胞迁移至肺间质。有研究表明SAP-LI与肺组

织中性粒细胞的积聚、活化, 产生大量促炎因子有关。Werner等<sup>[21]</sup>用<sup>99m</sup>Tc标记白细胞, 发现在急性坏死性胰腺炎时肺组织内的中性粒细胞明显增多。Inoue等<sup>[22]</sup>应用抗中性粒细胞多克隆抗体及CD18单抗来阻断中性粒细胞的粘附功能, 从而阻止了SAP-LI的发生。间接证明了中性粒细胞在SAP-LI中的作用。中性粒细胞能释放出各种氧化剂、蛋白酶。胰蛋白酶可直接水解血浆及组织中的纤维连接素, 使肺血管内皮细胞脱落。弹性蛋白酶可直接溶解血管壁弹力纤维, 并激活中性粒细胞而导致器官损伤<sup>[23]</sup>。急性肺损伤是SIRS的结果, 肺泡上皮细胞和肺血管内皮细胞产生广泛破坏, 细胞损伤、坏死, 紧密连接破坏, 肺毛细血管通透性增加, 大量蛋白渗出, 进入肺泡腔和肺间质, 导致换气功能障碍<sup>[24]</sup>。全身炎症反应的轻重决定了病程和结局<sup>[25,26]</sup>。本次实验结果也表明, 血液中性粒细胞百分比逐渐升高, 以12 h最高, 之后逐渐下降, 但仍处于较高水平, 其与大鼠肺湿干质量比呈正相关关系( $r = 0.348, P = 0.003$ )。进一步表明中性粒细胞与肺损伤的密切关系。

肺湿干质量比反映了肺水肿情况, 本实验建模完成后0 h肺湿干质量比便开始增加, 至12 h达到最高, 之后逐渐下降, 36 h降到最低。表明肺损伤发展迅速, 在最初的急性期肺泡内液体渗出逐渐增加, 12 h时渗出最多, 36 h时液体渗出最少, 但是蛋白渗出最多, 从而导致大面积的肺实变。这与肺组织病理切片观察相符合。测定肺灌洗液(brochoalveolar lavage fluid, BALF)中总蛋白量与血浆蛋白比例, 反映了肺血管的渗透性改变。血管渗透性增加, 血浆中蛋白渗出到肺泡腔就增加。本实验建模完成后BALF中总蛋白量与血浆蛋白比例逐渐变大, 至36 h达到峰值。表明肺血管损伤程度逐渐加重, 36 h肺血管损伤最重, 这与肺干湿质量比值变化相吻合。统计学相关性分析表明, 肺湿干质量比、肺灌洗液蛋白与血清蛋白比值呈负相关( $r = -0.717, P < 0.01$ )。

血清总淀粉酶(amylase, AMY)测定常作为临床上诊断急腹症的常规检查项目之一, 并被普遍作为急性胰腺炎实验室诊断的指标之一<sup>[27]</sup>。急性胰腺炎时AMY可通过淋巴、血循环及腹腔内吸收等途径进入血液循环。国外资料表明, AMY对急性胰腺炎诊断的敏感度75%-92%之间, 特异度在60%-90%之间<sup>[28]</sup>。但其特异性及其与胰腺炎严重程度的相关性一直存在争议, AMY常于发病后2-4 h即开始增高, 8-12

h标本最有价值,随着炎症进行,腺泡进一步破坏,淀粉酶生成减少或很少,AMY可不增高<sup>[29]</sup>。因此AMY对AP的早期诊断较有价值,对后期的诊断尚有待于讨论。于嘉屏等<sup>[30]</sup>的研究表明在急性水肿型胰腺炎模型组中,血清胰淀粉酶的增高与胰腺炎严重程度呈正相关;在坏死型胰腺炎组中,随着胰腺坏死程度的加重,血清总淀粉酶活性下降至正常对照组的1.5倍左右,但血清胰淀粉酶活性仍在正常对照组的5倍以上。本实验中,AMY于建模完成后0 h即开始升高,12 h达到峰值,之后逐渐下降,至48 h仍为正常水平的3倍。胰腺病理学观察发现,胰腺组织于建模完成后0 h即开始出现水肿,12 h出现大量炎细胞浸润。之后随时间进展,出血、坏死逐步加重。48 h时出现大量片状坏死。统计学分析示SAP-LI模型组血清淀粉酶与血液中性粒细胞百分比、肺湿干质量比均呈正相关( $r = 0.788, P < 0.01; r = 0.365, P = 0.002$ )。

SAP-LI的损伤机制是复杂的,至今仍无确切的结论,仍在进行不断的研究。本实验建立的SAP-LI模型操作简便,尽量减少操作过程中对腹腔脏器的刺激,能够大量、快速的建模。所建模型各项检测指标结果切合实际,与现有理论相符合。建模完成后大鼠死亡率极低,更便于对相关实验进行长期研究。本模型的建立为SAP-LI的研究提供了一种新的造模方法,为SAP-LI的发病机制研究及药物干预研究提供了一种较为理想的动物模型。

#### 4 参考文献

- Mofidi R, Duff MD, Wigmore SJ, Madhavan KK, Garden OJ, Parks RW. Association between early systemic inflammatory response, severity of multi-organ dysfunction and death in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 738-744 [PMID: 16671062]
- Pastor CM, Matthay MA, Frossard JL. Pancreatitis-associated acute lung injury: new insights. *Chest* 2003; 124: 2341-2351 [PMID: 14665518 DOI: 10.1378/chest.124.6.2341]
- 郭飞, 刘江伟, 许永华, 卢开柏, 薛晓玉, 刘尧炜, 是文辉, 董翔, 李鹏. 胰头夹闭法致大鼠急性坏死性胰腺炎动物模型的建立. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1175-1177
- Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, McFadden DW, Reber HA. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery* 1996; 120: 284-288; discussion 289 [PMID: 8751594]
- Grewal HP, Mohey el Din A, Gaber L, Kotb M, Gaber AO. Amelioration of the physiologic and biochemical changes of acute pancreatitis using an anti-TNF-alpha polyclonal antibody. *Am J Surg* 1994; 167: 214-218; discussion 214-218; [PMID: 8311136 DOI: 10.1016/0002-9610(94)90076-0]
- Schmidt J, Lewandrowski K, Warshaw AL, Compton CC, Rattner DW. Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat. *Int J Pancreatol* 1992; 12: 41-51 [PMID: 1527449]
- Osman MO, Kristensen JU, Jacobsen NO, Lausten SB, Deleuran B, Deleuran M, Gesser B, Matsushima K, Larsen CG, Jensen SL. A monoclonal anti-interleukin 8 antibody (WS-4) inhibits cytokine response and acute lung injury in experimental severe acute necrotizing pancreatitis in rabbits. *Gut* 1998; 43: 232-239 [PMID: 10189850 DOI: 10.1136/gut.43.2.232]
- Hofbauer B, Saluja AK, Bhatia M, Frossard JL, Lee HS, Bhagat L, Steer ML. Effect of recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase on two models of experimental acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1998; 115: 1238-1247 [PMID: 9797380 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70096-4]
- 雷文章, 韦靖江, 沈文律, 金立人. 实验性坏死性胰腺炎多器官损害与内毒素血症的关系. 中华实验外科杂志 1995; 12: 131-132
- Lankisch PG, Ihse I. Bile-induced acute experimental pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 257-260 [PMID: 3589495 DOI: 10.3109/00365528709078588]
- Lampel M, Kern HF. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1977; 373: 97-117 [PMID: 139754 DOI: 10.1007/BF00432156]
- Jaworek J, Jachimczak B, Bonior J, Kot M, Tomaszewska R, Karczewska E, Stachura J, Pawlik W, Konturek SJ. Protective role of endogenous nitric oxide (NO) in lipopolysaccharide-induced pancreatic damage (a new experimental model of acute pancreatitis). *J Physiol Pharmacol* 2000; 51: 85-102 [PMID: 10768853]
- Schmidt J, Ebeling D, Ryschich E, Werner J, Gebhard MM, Klar E. Pancreatic capillary blood flow in an improved model of necrotizing pancreatitis in the rat. *J Surg Res* 2002; 106: 335-341 [PMID: 12175989 DOI: 10.1006/jsre.2002.6464]
- Halonon KI, Pettilä V, Leppäniemi AK, Kempainen EA, Puolakkainen PA, Haapiainen RK. Multiple organ dysfunction associated with severe acute pancreatitis. *Crit Care Med* 2002; 30: 1274-1279 [PMID: 12072681 DOI: 10.1097/00003246-200206000-00019]
- 急性胰腺炎协作组. 中国6223例急性胰腺炎病因及病死率分析. 胰腺病学 2006; 6: 321-325
- 黄丽彬, 唐承薇, 谢咏梅, 黄茂涛, 李良平, 赵聪, 史维, 岳光平. 成都地区3073例急性胰腺炎致病危险因素分析. 四川大学学报(医学版) 2005; 36: 138-139
- Acosta JM, Ledesma CL. Gallstone migration as a cause of acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1974; 290: 484-487 [PMID: 4810815 DOI: 10.1056/NEJM197402282900904]
- Lerch MM, Saluja AK, Dawra R, Ramaraõ P, Saluja M, Steer ML. Acute necrotizing pancreatitis in the opossum: earliest morphological changes involve acinar cells. *Gastroenterology* 1992; 103: 205-213 [PMID: 1612327]
- Altavilla D, Famulari C, Passaniti M, Galeano M, Macri A, Seminara P, Minutoli L, Marini H, Calò M, Venuti FS, Esposito M, Squadrito F. Attenuated cerulein-induced pancreatitis in nuclear factor-kappaB-deficient mice. *Lab Invest* 2003;

- 83: 1723-1732 [PMID: 14691290 DOI: 10.1097/01.LAB.0000101734.82054.BE]
- 20 Carroll JK, Herrick B, Gipson T, Lee SP. Acute pancreatitis: diagnosis, prognosis, and treatment. *Am Fam Physician* 2007; 75: 1513-1520 [PMID: 17555143]
- 21 Werner J, Dragotakes SC, Fernandez-del Castillo C, Rivera JA, Ou J, Rattner DW, Fischman AJ, Warshaw AL. Technetium-99m-labeled white blood cells: a new method to define the local and systemic role of leukocytes in acute experimental pancreatitis. *Ann Surg* 1998; 227: 86-94 [PMID: 9445115 DOI: 10.1097/0000658-199801000-00013]
- 22 Inoue S, Nakao A, Kishimoto W, Murakami H, Harada A, Nonami T, Takagi H. LFA-1 (CD11a/CD18) and ICAM-1 (CD54) antibodies attenuate superoxide anion release from polymorphonuclear leukocytes in rats with experimental acute pancreatitis. *Pancreas* 1996; 12: 183-188 [PMID: 8720667 DOI: 10.1097/00006676-199603000-00013]
- 23 Yamano M, Umeda M, Miyata K, Yamada T. Protective effects of a PAF receptor antagonist and a neutrophil elastase inhibitor on multiple organ failure induced by cerulein plus lipopolysaccharide in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998; 358: 253-263 [PMID: 9750012 DOI: 10.1007/PL00005250]
- 24 Shields CJ, Winter DC, Redmond HP. Lung injury in acute pancreatitis: mechanisms, prevention, and therapy. *Curr Opin Crit Care* 2002; 8: 158-163 [PMID: 12386518 DOI: 10.1097/00075198-200204000-00012]
- 25 McKay CJ, Gallagher G, Brooks B, Imrie CW, Baxter JN. Increased monocyte cytokine production in association with systemic complications in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1996; 83: 919-923 [PMID: 8813775 DOI: 10.1002/bjs.1800830712]
- 26 Lundberg AH, Granger DN, Russell J, Sabek O, Henry J, Gaber L, Kotb M, Gaber AO. Quantitative measurement of P- and E-selectin adhesion molecules in acute pancreatitis: correlation with distant organ injury. *Ann Surg* 2000; 231: 213-222 [PMID: 10674613 DOI: 10.1097/0000658-200002000-00010]
- 27 黄韻祝, 韦四喜. 血清总淀粉酶测定在急性胰腺炎诊断中的价值及存在问题. *检验医学与临床* 2005; 2: 158-159
- 28 Tsujita T, Shirai K, Saito Y, Okuda H. Relationship between lipase and esterase. *Prog Clin Biol Res* 1990; 344: 915-933 [PMID: 2203066]
- 29 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). *中华内科杂志* 2004; 43: 236-238
- 30 于嘉屏, 金家文, 许绍辉, 王爱华. 小鼠急性胰腺炎血清淀粉酶及其同工酶的变化. *第二军医大学学报* 1999; 20: 474-476

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。



# CT小肠造影在克罗恩病临床诊断中的价值

李文杰, 蒋文瑜, 张晓斐, 刘希胜, 施瑞华, 张红杰

## ■背景资料

克罗恩病(CD)是一种可累及全消化系的疾病,以往用于诊断与评估的方法有普通胃肠镜、小肠镜、胶囊内镜等,均为侵入性检查,存在一定风险且耗时。近年国内外学者报道CT小肠造影(CTE)能够清晰观察肠道本身及肠周病变,可作为IBD诊断的重要方法。

李文杰, 蒋文瑜, 张晓斐, 施瑞华, 张红杰, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210019

刘希胜, 南京医科大学第一附属医院影像科 江苏省南京市 210019

李文杰,在读硕士,主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 此课题由张红杰与李文杰设计; 研究过程、数据分析由李文杰、蒋文瑜及张晓斐完成; 文章由李文杰撰写; 张红杰与刘希胜提供实验材料; 由张红杰与施瑞华审阅并指导论文修改。

通讯作者: 张红杰, 教授, 主任医师, 210019, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化内科。

hjjzhang06@163.com

电话: 025-8371-8836

收稿日期: 2012-12-08 修回日期: 2012-12-31

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-28

## Value of CT enteroclysis in the diagnosis of Crohn's disease

Wen-Jie Li, Wen-Yu Jiang, Xiao-Fei Zhang,  
Xi-Sheng Liu, Rui-Hua Shi, Hong-Jie Zhang

Wen-Jie Li, Wen-Yu Jiang, Xiao-Fei Zhang, Rui-Hua Shi, Hong-Jie Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Xi-Sheng Liu, Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hong-Jie Zhang, Professor & Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. hjzhang06@163.com

Received: 2012-12-08 Revised: 2012-12-31

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the value of CT enteroclysis (CTE) in the diagnosis and assessment of Crohn's disease(CD).

**METHODS:** The clinical and imaging data for 31 patients with CD were retrospectively analyzed. CTE imaging features were compared with erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), and results of colonoscopy and single balloon enteroscopy (SBE).

**RESULTS:** The rate of detection of CD by CTE was 75% in patients with active CD and 66.7% in patients with disease in remission. Imaging findings included intestinal wall thickening in 26

cases (92.9%), mural stratification enhancement in 20 cases (71.4%), lymph node swelling in 20 cases (71.4%), comb sign in 17 cases (60.7%), and intestinal stenosis in 13 cases (46.4%). The detect rate was correlated with disease activity and CRP, and mural stratification enhancement and comb sign were correlated with ESR. CTE features were consistent with colonoscopy results in 11 cases (44.0%); however, 10 cases (40.0%) tested positive by CTE but negative by colonoscopy in foundling small bowel lesions. The combined detection rate for CTE and colonoscopy was 92.0%. Twelve patients underwent SBE, and the SBE findings on the location of lesions were completely consistent with those of CTE in all 12 cases.

**CONCLUSION:** Colonoscopy and CTE can be used to effectively and comprehensively assess CD condition, and CTE is helpful in detection of small intestinal lesions and evaluation of disease activities.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** CT enteroclysis; Crohn's disease; Single balloon enteroscopy; Colonoscopy; C-reactive protein

Li WJ, Jiang WY, Zhang XF, Liu XS, Shi RH, Zhang HJ. Value of CT enteroclysis in the diagnosis of Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 220-225

## 摘要

**目的:** 总结与评估多排CT小肠造影(CT enteroclysis, CTE)在克罗恩病(Crohn's disease, CD)临床诊断与病情评估中的应用价值。

**方法:** 回顾性分析31例CD患者的病史资料,分析与总结CD患者CTE的影像学特点,并与炎症活动生物指标[血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)]、结肠镜、单气囊小肠镜等结果进行比较分析。

**结果:** CTE诊断阳性率在活动期CD为75%,缓解期为66.7%。CD活动期CTE常见的表现为

## ■同行评议者

江学良,教授,主任医师,中国人民解放军济南军区总医院消化科

节段性肠壁增厚(26例, 92.9%)、双层或多层强化(20例, 71.4%)、肠周围淋巴结肿大(20例, 71.4%)、肠系膜血管增多/梳状征(17例, 60.7%)、肠腔狭窄(13例, 46.4%), 随着疾病活动程度加重, 此5种CTE表现的阳性率有逐渐升高趋势, 且均与CRP呈正相关, 而多层强化、梳状征与ESR水平具有正相关。25例CD患者行结肠镜检查, 11例(44.0%)结肠镜与CTE发现病变部位一致, 10例(40.0%)结肠镜下未见末端回肠病变而CTE下可见小肠病变, 结肠镜与CTE二者联合诊断23例(92.0%)。31例中有12例行单气囊小肠镜检查, 结果显示所有12例(100%)CD患者CTE发现的病变部位均与单气囊小肠镜一致。

**结论:** 常规结肠镜检查联合CTE可有效而全面的评估CD患者的病情, 尤其对于小肠病变的发现以及疾病的活动性评估等方面, CTE有重要价值。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** CT小肠造影; 克罗恩病; 单气囊小肠镜; 结肠镜; C反应蛋白

李文杰, 蒋文瑜, 张晓斐, 刘希胜, 施瑞华, 张红杰. CT小肠造影在克罗恩病临床诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 220-225  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/220.asp>

## 0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是一种病因未明的肠道慢性、非特异性炎症性病变, 在我国的发病率呈明显上升趋势<sup>[1]</sup>, 如何对该病作出正确的诊断与全面的评估非常重要。目前用于疾病诊断与评估的方法有普通胃肠镜、小肠镜、胶囊内镜等, 普通胃肠镜、小肠镜可直观的观察黏膜病变情况并可行病变部位组织学检查, 但其观察部位有限, 气囊辅助式小肠镜耗时, 费用也较高, 且内镜检查均为侵入性检查<sup>[2]</sup>, 在直观发现肠道病变同时, 还存在出血、穿孔等风险。胶囊内镜可实现全消化系检查, 但有胶囊滞留等风险, 尤其是在克罗恩病患者<sup>[3]</sup>。CT小肠造影(CT enterography, CTE)是一种新兴的消化系影像学检查技术。近年国外学者报道CTE可清晰观察肠道本身及肠道周围的病变情况, 可作为IBD诊断中的重要检查方法<sup>[4-7]</sup>。本文收集我院收治的31例CD患者的病史资料, 分析与总结CTE的影像学特点、内镜下表现、炎症活动生物指

标等, 旨在探讨CTE在CD诊断与疾病评估中的应用价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析2012-03/2012-10就诊于我院、确诊为CD并行CT小肠造影检查的患者31例, 其中男23例, 女8例, 男女之比为2.88:1。患者年龄15-53岁, 平均年龄32.1岁±10.1岁。患者临床表现、病变部位、疾病活动状况见表1。

### 1.2 方法

**1.2.1 CT小肠造影:** 患者肠道准备同普通肠镜, 检查前半小时分次口服2.5%的等渗甘露醇溶液2 000 mL, 在排除严重肠梗阻及654-2禁忌证后于检查前10 min肌注抗蠕动药654-2 20 mg。扫描参数及三维图像重组: 使用西门子SOMATOM Definition AS 128层螺旋CT机, 扫描范围从膈顶至耻骨联合。对每位患者进行平扫、动脉期和静脉期扫描, 横断位扫描5 mm, 重建层厚3 mm, 行冠状位及斜矢状位重建, 显示肠腔、肠壁、肠外系膜区血管、淋巴结、腹腔肿块、瘘管等。

**1.2.2 诊断标准:** CD诊断标准为2007年中华医学会消化病分会炎症性肠病协作组对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见<sup>[8]</sup>, 综合临床表现、内镜检查, 影像学以及组织病理学结果作出诊断。根据简化CDAI评估CD患者病情。

**1.2.3 观察指标:** CT小肠造影报告的读取, 由2位不知患者诊断的放射科医生独立完成, 分析记录内容包括: 有无病变、病灶部位、肠壁厚度、肠壁强化、肠腔狭窄、肠外淋巴结、肠系膜血管改变、肠外炎症、脓肿、瘘管等, 判断病变是否具有活动性。内镜操作医生依据IBD诊断标准<sup>[8]</sup>对内镜下表现作出描述、分析。

**统计学处理** 应用SPSS17.0进行统计分析, 评估了CTE诊断阳性率及CTE表现在不同疾病活动期的差异、与血沉、C-反应蛋白相关性, 并对CTE联合消化内镜在CD诊断与疾病评估中的作用进行了分析。相关性采用Spearman相关分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CD患者CTE的表现** 31位CD患者行CTE检查, CTE诊断阳性率在活动期为75%, 略高于缓解期的66.7%。缓解期CD患者3例, 1例未见异常, 2例表现有肠壁节段性增厚及单层强化, 其中1例合并有肠腔狭窄。活动期CD患者CTE检查最常见的表现为节段性肠壁增厚、双层或多层强化、

### ■ 研发前沿

国内有关CD患者CTE与临床上内镜及实验室检查等其他诊断方法比较的报道较少, 而对其比较分析能够更加全面的评估CTE在CD临床诊断与评估中的价值。

## ■相关报道

Colombel等报道内镜下组织炎症与CTE肠壁及肠周病变的表现相关。Lee等指出CD合并肠周血管病变者血沉(ESR)、C-反应蛋白(CRP)水平较无肠周血管病变者升高,但无统计学差异。Hara等发现在结肠镜及消化道造影检查阴性而临床怀疑CD时,CTE有可能发现非狭窄型病变。

表 1 CD患者临床特征  $n(\%)$ 

临床特征	活动期	缓解期
<i>n</i>	28	3
临床表现		
腹痛	20(71.4)	2(66.7)
腹泻	8(28.6)	2(66.7)
血便或脓血便	9(32.1)	—
肛周脓肿	3(10.7)	—
肛瘘或肛瘘史	7(25.0)	—
腹部包块	1(3.6)	—
病变部位		
回肠末端及回盲部	14(50.0)	1(33.3)
小肠	11(39.3)	1(33.3)
结肠	17(60.7)	—
疾病严重程度		
轻度	8(28.6)	
中度	12(42.8)	
重度	8(28.6)	

肠系膜根部淋巴结肿大,其次为肠系膜血管增多/梳状征、肠腔狭窄、肠管周围渗出、肛周脓肿、腹腔肿块等表现(表2,图1)。随着活动度增加,CTE表现肠壁增厚、双层强化模式、肠腔狭窄、肠系膜血管病变、肿大淋巴结等征象的阳性率有逐渐升高。

**2.2 CTE的表现与炎症指标的关系** 生物炎症指标如血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)在一定程度上反应疾病炎症活动程度,由表2可知不同疾病活动程度CTE表现有所不同。我们进一步探讨了CD患者CTE的各表现与ESR、CRP之间是否存在一定关系。31例行CTE检查的CD患者均行ESR、CRP测定,由表3可知CTE表现多层强化、肠系膜血管增多与ESR水平具有正相关;肠壁增厚、多层强化、肠腔狭窄、肠系膜血管增多及肿大淋巴结五种CTE表现均与CRP呈正相关(表3)。

### 2.3 CD患者CTE及消化内镜检查阳性发现情况

**2.3.1 结肠镜与CTE:** 结肠镜检查25例中,经结肠镜诊断CD19例(79.2%),结肠镜未明确诊断的6例中,4例行CTE后诊断为CD,另2例结合病理及单气囊小肠镜明确诊断。11例(44.0%)结肠镜与CTE发现病变部位一致,10例(40.0%)结肠镜下未见末端回肠病变而CTE发现小肠病变,4例(16.0%)结肠镜下表现有结直肠病变而CTE无表现,结肠镜与CTE二者联合诊断23例(92.0%)(表4)。

**2.3.2 单气囊小肠镜与CTE:** 经肛或经口单气囊小肠镜检查CD患者12例中,结直肠和小肠均有累及者5例,单小肠累及者5例,结直肠累及者1例,1例经结肠镜及病理诊断者经口单气囊小肠镜及CTE均未见异常(表5)。所有12例(100%)CD患者两种检查方法发现病变部位一致。

## 3 讨论

在国内近几年,CD的发病率升高明显。CD在成人多见于末端回肠与邻近结肠,但从口腔至肛门各段消化道均可累及,典型者表现为病变节段性、跳跃式分布<sup>[9]</sup>。CT小肠造影作为一种全消化系的辅助检查手段,在发现CD肠腔内、肠壁病变同时,对肠周病变的发现均有重要价值<sup>[10-12]</sup>。多个研究显示其对于疾病活动期的诊断敏感性较高<sup>[13-15]</sup>。Turetschek等<sup>[16]</sup>指出当考虑CD患者出现并发症时CTE应成为首选的影像学检查方法。

本研究中CTE诊断阳性率在活动期为75%,轻度、中度、重度活动期无差异,此活动期诊断阳性率稍低于岳文杰等<sup>[17]</sup>的82.6%,考虑与肠道造影剂充盈情况、样本量等有关,而CTE对于不同疾病活动期的诊断与之相仿。Johnson等<sup>[18]</sup>指出CTE对于重度炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)常低估,而对于轻度IBD则常高估。本文中肠壁增厚者占92.9%,与吴颖为等<sup>[19]</sup>的95.5%、Choi等<sup>[4]</sup>的95%相似,后者发现不同肠壁增厚类型与炎症活动度有关,其将CD患者肠壁增厚和强化模式分为4种类型,A型(多层强化)和B型(双层强化)提示处于CD的活动期,而C型(不强化)和D型(单层均匀强化)提示静止期。分层增厚主要由肠壁充血、水肿引起,单层均匀增厚主要由肠壁纤维组织增生引起<sup>[20]</sup>。多个研究显示<sup>[19,21,22]</sup>肠壁增厚、肠壁明显强化、梳状征等与活动性具有高度一致性,均为判断CD是否活动的重要指标。Colombel等与Chiorean等<sup>[23,24]</sup>指出内镜下评分、组织炎症与CTE表现肠壁增厚强化、梳状征、肠系膜脂肪密度等肠壁及肠周病变相关,组织纤维性狭窄与CTE的肠腔狭窄相关。我们对31例患者的总结发现A、B型肠壁强化模式在活动期为71.4%,而缓解期只有C、D型强化模式,CTE表现肠壁增厚、多层强化模式、肠腔狭窄及肠外表现肠系膜血管增多、肿大淋巴结、肠周渗出等在活动期的发生率较缓解期均有升高趋势,且重度活动期高于轻度活动期患者,说明CTE在评估CD活动期与缓解期、不同活动程度方面具有重要价值,但因为样本量



**■创新盘点**  
本文总结与比较了CTE的影像学特点、内镜下表现、炎症活动生物指标等, 全面评估了CTE在CD临床诊断与疾病评估中的应用价值。

表 2 CD患者不同疾病活动度间小肠CT的表现 *n*(%)

征象	缓解期	活动期( <i>n</i> = 28)			
		总数	轻度	中度	重度
<i>n</i>	3	28	8	12	8
CTE诊断	2(66.7)	21(75.0)	6(75.0)	9(75.0)	6(75.0)
肠壁增厚	2(66.7)	26(92.9)	7(87.5)	11(91.7)	8(100)
黏膜强化模式					
双层或多层强化	—	20(71.4)	4(50.0)	8(66.7)	8(100)
单层强化	2(66.7)	6(21.4)	3(37.5)	3(25.0)	—
肠腔狭窄	1(33.3)	13(46.4)	2(25.0)	5(41.7)	6(75.0)
血管增多/梳状征	—	17(60.7)	4(50.0)	7(58.3)	6(75.0)
肿大淋巴结	—	20(71.4)	4(50.0)	9(75.0)	7(87.5)
肠周渗出	—	3(10.7)	—	1(8.3)	2(25.0)
肛周病变	—	2(7.1)	—	2(16.7)	—
腹腔肿块	—	1(3.6)	—	—	1(12.5)

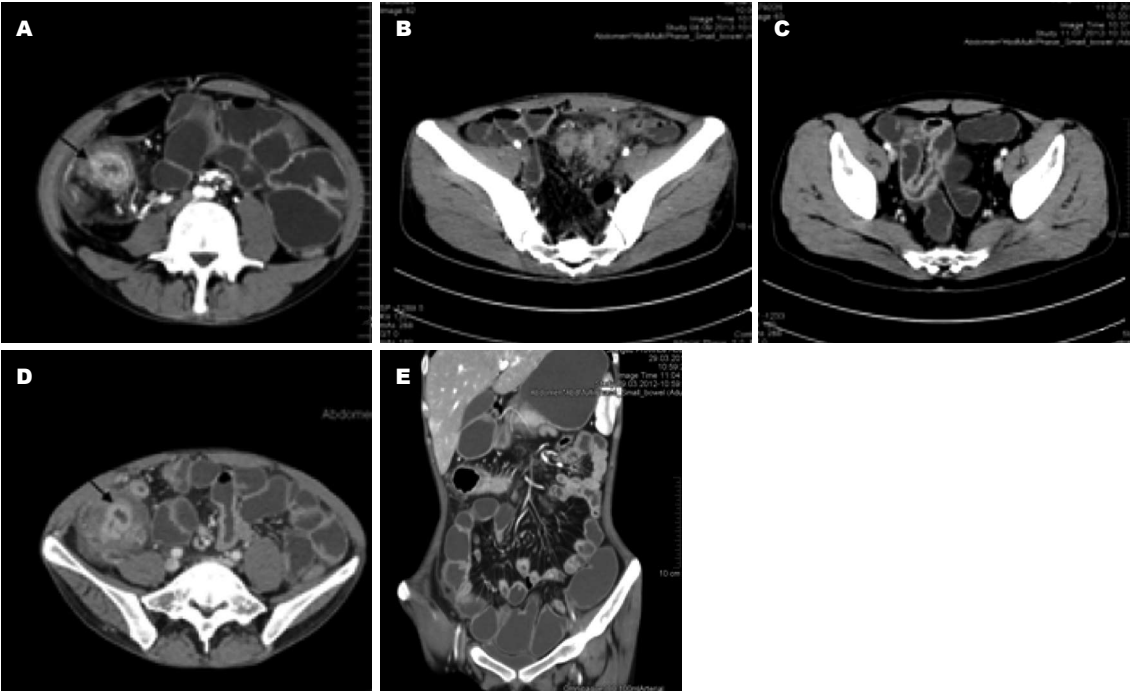


图 1 CT小肠造影. A: 肠壁增厚、分层强化或“靶征”; B: 肠系膜血管增多或“梳状征”; C: 肠壁增厚、强化、肠腔狭窄; D: 腹腔包块; E: 冠状位重建.

较少未进行统计学比较, 此为本文缺陷之一, 尚需扩大样本进一步证实.

CTE可以用来评估疾病活动度, 但CTE与血沉、C-反应蛋白等这些炎症指标的相关性目前说法不一. Lee等<sup>[22]</sup>的研究发现, 活动期CD合并肠周血管病变者体内ESR、CRP水平较无肠周血管病变者升高, 但无统计学差异. 另有研究显示<sup>[25]</sup>活动期CD梳状征数目与ESR水平相关, 与CRP无明显相关. Solem等<sup>[26]</sup>指出CTE等影像学检查异常与CRP无相关性. Higgins等<sup>[27]</sup>发现CTE

表现中血管病变、肠壁强化与CRP相关, 肠周病变(肠外气体出现和肠外局部渗出)与ESR相关, 因在冠状动脉病变时CRP升高, 作者指出CTE可能在血管水平上预测炎症反应. 而Colombel等<sup>[23]</sup>得出CRP与CD患者并发肠周炎症(肠系膜脂肪密度增加)相关, 而与仅局限于肠道的炎症无关. 我们的研究发现多层强化、肠系膜血管增多与ESR水平呈正相关, 肠壁增厚、多层强化、肠腔狭窄、梳状征、肿大淋巴结5种CTE征象均与CRP水平相关. CTE征象在一定程度上同实验室

## ■应用要点

本文将CD患者CTE与临床其他诊断方法进行分析比较, 尤其在小肠病变的发现以及疾病的活动性方面, 为CD的诊断及评估提供了重要参考。

表 3 活动期CD患者CTE表现与炎症生物指标的相关性

CTE表现	与ESR的相关系数 <sup>r</sup>	与CRP的相关系数 <sup>r</sup>
肠壁增厚	0.324	0.379 <sup>a</sup>
多层强化	0.562 <sup>b</sup>	0.524 <sup>b</sup>
肠腔狭窄	0.196	0.363 <sup>a</sup>
血管增多/梳状征	0.596 <sup>b</sup>	0.509 <sup>b</sup>
肿大淋巴结	0.268	0.355 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$ ; <sup>b</sup> $P<0.01$ .

表 4 不同部位的CD患者结肠镜与CTE检查情况对比

CD例数( <i>n</i> )	结肠镜		CTE	
	结直肠	末端回肠	结直肠	小肠
4	+	-	+	-
2	-	+	-	+
5	+	+	+	+
7	+	-	+	+
2	-	-	-	+
1	+	-	-	+
2	+	+	-	+
1	+	-	-	-
1	+	+	+	-

+: 此部位有病变; -: 此部位未见病变。

炎症指标有正相关, 可共同反应疾病严重程度。

结肠镜为CD诊断的常规首选检查, 但对于非结肠、非末端回肠受累的CD患者不能发现病变, 诊断价值较低。本研究中结肠镜对于CD的诊断阳性率79.2%, 与相关文献[17]的76%相仿。结肠镜未发现的小肠病变, 通过CTE检查被发现, 结肠镜联合CTE检查后, 总诊断阳性率上升至92.0%, 同Lu等<sup>[28]</sup>的89.66%相仿, 另有研究示<sup>[29,30]</sup>在结肠镜及消化道造影检查阴性而临床怀疑CD时, CTE有可能发现非狭窄型病变, 与我们的结果共同说明CTE可通过发现小肠病灶来弥补常规结肠镜检查的不足。44.0%CD患者结肠镜发现的病变部位在CTE表现中均有异常, 二者在一定程度上具有一致性。徐妹琪等<sup>[21]</sup>通过比较双气囊小肠镜及CTE对于CD的诊断, 发现后者具有较高的真阴性概率, 于是指出CTE可作为排除CD诊断的主要手段。对于存在内镜检查禁忌证者CTE可作为首选辅助检查手段<sup>[31]</sup>。本文比较单气囊小肠镜与CTE检查结果显示二者在发现小肠、结直肠病变部位上具有较高的一致性。小肠镜检查费时费力, 价格高<sup>[2]</sup>, 且有可能不能

表 5 不同部位的CD患者单气囊小肠镜与CTE检查情况对比

CD例数( <i>n</i> )	单气囊小肠镜		CTE	
	结直肠	小肠	结直肠	小肠
5	+	+	+	+
5	-	+	-	+
1	+	-	+	-
1 <sup>a</sup>	-	-	-	-

+: 此部位有病变; -: 此部位未见病变。\*此患者经结肠镜下活检病理明确诊断。

实现经口经肛的对接, 不能完成全消化系检查, CTE作为一种无创的全消化系的辅助检查, 在发现病变部位上与小肠镜相当, 性价比较高, 在结肠镜已明确CD, 为评估小肠病变情况可考虑行CTE检查。

我们的研究表明, CTE对于CD诊断阳性率活动期稍高于缓解期, CTE各征象在评估CD活动期与缓解期、不同的疾病活动期方面具有重要价值, 且在一定程度上同实验室炎症指标ESR、CRP相关, 共同反应疾病严重程度。CTE可通过发现小肠病灶来弥补常规结肠镜检查的不足提高诊断阳性率, 且与小肠镜在发现病变部位上相当。总之, 临床常规结肠镜检查联合CT小肠造影检查可对CD患者的病情做出有效而全面的评估, 尤其对于小肠病变的发现以及疾病的活动性评价方面, CT小肠造影具有重要价值。

## 4 参考文献

- 胡仁伟, 欧阳钦, 陈曦, 常玉英, 白爱平, 王瑞华, 张虎. 近15年我国炎症性肠病文献分析. 胃肠病学 2007; 12: 74-77
- Vilela EG, Torres HO, Martins FP, Ferrari Mde L, Andrade MM, Cunha AS. Evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 872-881 [PMID: 22408345 DOI: 10.3748/wjg.v18.i9.872]
- 辛磊, 廖专, 李兆申. 胶囊内镜与其他小肠检查技术的比较. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1972-1977
- Furukawa A, Saotome T, Yamasaki M, Maeda K, Nitta N, Takahashi M, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Murata K, Sakamoto T. Cross-sectional imaging in Crohn disease. *Radiographics* 2004; 24: 689-702 [PMID: 15143222]
- Al-Hawary M, Zimmermann EM. A new look at Crohn's disease: novel imaging techniques. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 334-340 [PMID: 22678451 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283540705.]
- Baker ME, Einstein DM, Veniero JC. Computed tomography enterography and magnetic resonance enterography: the future of small bowel imaging. *Clin Colon Rectal Surg* 2008; 21: 193-212 [PMID: 20011418 DOI: 10.1055/s-2008-1080999]

- 7 朱庆强, 王中秋, 陈文新, 朱文荣, 吴晶涛, 王守安. CT 小肠造影对克罗恩病活动期与静止期的诊断价值. 临床放射学杂志 2012; 31: 381-385
- 8 中华医学会消化病分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 胃肠病学 2007; 12: 488-495
- 9 路再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 415
- 10 Bruining DH, Siddiki HA, Fletcher JG, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Loftus EV. Prevalence of penetrating disease and extraintestinal manifestations of Crohn's disease detected with CT enterography. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1701-1706 [PMID: 18623171 DOI: 10.1002/ibd.20529]
- 11 Ippolito D, Invernizzi F, Galimberti S, Panelli MR, Sironi S. MR enterography with polyethylene glycol as oral contrast medium in the follow-up of patients with Crohn disease: comparison with CT enterography. *Abdom Imaging* 2010; 35: 563-570 [PMID: 19582502 DOI: 10.1007/s00261-009-9557-0.]
- 12 Kim AY. Role of computed tomography enterography/magnetic resonance enterography: is it in prime time? *Clin Endosc* 2012; 45: 269-273 [PMID: 22977815 DOI: 10.5946/ce.2012.45.3.269]
- 13 Solem CA, Loftus EV, Fletcher JG, Baron TH, Gostout CJ, Petersen BT, Tremaine WJ, Egan LJ, Faubion WA, Schroeder KW, Pardi DS, Hanson KA, Jewell KA, Barlow JM, Fidler JL, Huprich JE, Johnson CD, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Small-bowel imaging in Crohn's disease: a prospective, blinded, 4-way comparison trial. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 255-266 [PMID: 18513722 DOI: 10.1016/j.gie.2008.02.017]
- 14 Choi D, Jin Lee S, Ah Cho Y, Lim HK, Hoon Kim S, Jae Lee W, Hoon Lim J, Park H, Rae Lee Y. Bowel wall thickening in patients with Crohn's disease: CT patterns and correlation with inflammatory activity. *Clin Radiol* 2003; 58: 68-74 [PMID: 12565208]
- 15 Siddiki HA, Fidler JL, Fletcher JG, Burton SS, Huprich JE, Hough DM, Johnson CD, Bruining DH, Loftus EV, Sandborn WJ, Pardi DS, Mandrekar JN. Prospective comparison of state-of-the-art MR enterography and CT enterography in small-bowel Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 113-121 [PMID: 19542402 DOI: 10.2214/AJR.08.0207]
- 16 Turetschek K, Schober E, Wunderbaldinger P, Bernhard C, Schima W, Puespoek A, Vogelsang H, Moeschl P, Mostbeck G. Findings at helical CT-enteroclysis in symptomatic patients with crohn disease: correlation with endoscopic and surgical findings. *J Comput Assist Tomogr* 2002; 26: 488-492 [PMID: 12218807]
- 17 岳文杰, 董乐, 刘懿. 多层螺旋CT小肠增强造影在诊断炎症性肠病中的价值研究. 临床消化病杂志 2011; 23: 263-266
- 18 Johnson KT, Hara AK, Johnson CD. Evaluation of colitis: usefulness of CT enterography technique. *Emerg Radiol* 2009; 16: 277-282 [PMID: 19214608 DOI: 10.1007/s10140-008-0776-4]
- 19 吴颖为, 唐永华, 郝楠馨. 克罗恩病的MDCT小肠造影. 中国医学计算机成像杂志 2009; 15: 57-63
- 20 Bruining DH, Loftus EV, Ehman EC, Siddiki HA, Nguyen DL, Fidler JL, Huprich JE, Mandrekar JN, Harmsen WS, Sandborn WJ, Fletcher JG. Computed tomography enterography detects intestinal wall changes and effects of treatment in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 679-683. e1 [PMID: 21621641 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.04.025]
- 21 徐妹琪, 钟捷, 唐永华, 缪飞, 程时丹, 张曙, 王立夫, 张晨莉. 双气囊内镜与多层螺旋CT小肠造影在小肠克罗恩病诊断中的作用. 中华消化杂志 2009; 29: 517-520
- 22 Lee SS, Ha HK, Yang SK, Kim AY, Kim TK, Kim PN, Lee MG, Myung SJ, Jung HY, Kim JH, Min YI. CT of prominent pericolic or perienteric vasculature in patients with Crohn's disease: correlation with clinical disease activity and findings on barium studies. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 1029-1036 [PMID: 12239060]
- 23 Colombel JF, Solem CA, Sandborn WJ, Booya F, Loftus EV, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Bodily KD, Fletcher JG. Quantitative measurement and visual assessment of ileal Crohn's disease activity by computed tomography enterography: correlation with endoscopic severity and C reactive protein. *Gut* 2006; 55: 1561-1567 [PMID: 16648154]
- 24 Chiorean MV, Sandrasegaran K, Saxena R, Maglinte DD, Nakeeb A, Johnson CS. Correlation of CT enteroclysis with surgical pathology in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2541-2550 [PMID: 17900329]
- 25 Wu YW, Tao XF, Tang YH, Hao NX, Miao F. Quantitative measures of comb sign in Crohn's disease: correlation with disease activity and laboratory indications. *Abdom Imaging* 2012; 37: 350-358 [PMID: 22002159 DOI: 10.1007/s00261-011-9808-8]
- 26 Solem CA, Loftus EV, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 707-712 [PMID: 16043984]
- 27 Higgins PD, Caoili E, Zimmermann M, Bhuket TP, Sonda LP, Manoogian B, Platt JF, Zimmermann EM. Computed tomographic enterography adds information to clinical management in small bowel Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 262-268 [PMID: 17206719]
- 28 Lu XH, Qin MW, Wen XH, Liu W, Shi JH, Qian JM, Li JN. [The diagnosis of Crohn's disease of the small bowel: comparing CT enterography, capsule endoscopy, small-bowel follow through and ileocolonoscopy]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2010; 49: 746-749 [PMID: 21092443]
- 29 Hara AK, Leighton JA, Heigh RI, Sharma VK, Silva AC, De Petris G, Hentz JG, Fleischer DE. Crohn disease of the small bowel: preliminary comparison among CT enterography, capsule endoscopy, small-bowel follow-through, and ileoscopy. *Radiology* 2006; 238: 128-134 [PMID: 16373764]
- 30 Kohli MD, Maglinte DD. CT enteroclysis in small bowel Crohn's disease. *Eur J Radiol* 2009; 69: 398-403 [PMID: 19121904 DOI: 10.1016/j.ejrad.2008.11.022]
- 31 王小璇, 杜奕奇, 陈洁, 徐灿, 廖专, 生品, 吴仁培, 席惠君, 李兆申. 双气囊小肠镜在小肠克罗恩病中的诊断价值研究. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 144-147

## 同行评价

本文总结与评估CTE在CD临床诊断与病情评估中的应用价值, 尤其在小肠病变的发现以及疾病的活动性评估方面, 具有一定实用性和科学性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 移植骨髓间充质干细胞治疗胰腺炎的研究进展

李霞, 曲波, 金世柱

## ■背景资料

使用骨髓间充质干细胞治疗动物模型胰腺炎、肝硬化等炎症性疾病中取得了很好的效果,然而由于很难解释急性胰腺炎的发病机制,使得骨髓间充质干细胞在临床上仍受到一定程度的限制。

李霞, 曲波, 金世柱, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院消化内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

李霞, 主要从事骨髓间充质干细胞治疗急性重症胰腺炎的基础研究。

哈尔滨市科委青年科技创新人才基金资助项目, No. 2018rfqys103

作者贡献分布: 本文综述由李霞完成; 曲波与金世柱审核。

通讯作者: 曲波, 副教授, 副主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院消化内科. qubo\_1970@hotmail.com

电话: 0451-86605143

收稿日期: 2012-12-06 修回日期: 2013-01-05

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

the functional recovery of the pancreas in patients with severe acute pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Bone marrow mesenchymal stem cells; Severe acute pancreatitis; Transplantation ways

Li X, Qu B, Jin SZ. Progress in treatment of pancreatitis with bone marrow mesenchymal stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 226-232

## Progress in treatment of pancreatitis with bone marrow mesenchymal stem cells

Xia Li, Bo Qu, Shi-Zhu Jin

Xia Li, Bo Qu, Shi-Zhu Jin, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Youth Science and Technology Innovation Fund of Harbin, No. 2018rfqys103

Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo\_1970@hotmail.com

Received: 2012-12-06 Revised: 2013-01-05

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

Severe acute pancreatitis, characterized by a rapid onset and the heaviness of the disease, has a mortality rate of 20%-40%. The major causes of acute pancreatitis are symptomatic gallstone disease and excessive alcohol intake. Drugs, toxins, infections, trauma, ischemia, anatomic variants, hypercalcemia, hyperlipidemia and autoimmune disease are rare causes. Although revolutionary progress has been made in the diagnosis and treatment of severe acute pancreatitis, its mortality rate is still high. Currently, too much attention is paid to restraining pancreatic enzyme secretion and preventing multiple organ secondary damage in the treatment of severe acute pancreatitis, and promotion of functional recovery of the pancreas is less considered. Bone marrow mesenchymal stem cells can be used to promote

## 摘要

急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)起病急,发病重,早期可致患者死亡,死亡率大约为20%-40%,急性胰腺炎主要是由胆石症和过度饮酒引起的,药物、毒素、感染、创伤、局部缺血、解剖异常、高钙血症、高脂血症、免疫疾病均可引起急性胰腺炎,但少见。尽管对于急性重症胰腺炎的诊治已经有了革命性的进步,但其死亡率仍较高。目前,对于急性重症胰腺炎的治疗方法多偏重于以抑制胰酶分泌、防止多个器官继发损害为主的原则,而对于胰腺本身功能恢复治疗的关注研究较少。因此,利用骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)对急性重症胰腺炎的研究有广泛的研究前景和较为重大的临床意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞; 重症胰腺炎; 移植途径

李霞, 曲波, 金世柱. 移植骨髓间充质干细胞治疗胰腺炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(3): 226-232

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/226.asp>

## 0 引言

急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是由各种病因引起胰腺内的胰酶被激活,导致胰腺组织自身消化、水肿、出血和坏死的炎性反应,又称出血坏死性胰腺炎<sup>[1,2]</sup>。SAP常继发感染性腹膜炎、休克、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome,

## ■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科

SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)等严重并发症,预后极差,是一种危害人类健康的常见病和多发病<sup>[3]</sup>。SAP患者促炎细胞因子的产生,如:白介素-1 $\beta$ (intelligence, IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factors, TNF- $\alpha$ )、IL-6、IL-8和抗炎反应系统,如:IL-4、IL-10的失衡<sup>[4]</sup>,这些促炎细胞因子和抗炎因子的相互作用,导致了胰腺的坏死,水肿等严重并发症。目前,临床上SAP的治疗,内科治疗主要是禁食水,营养支持,抑制胰酶分泌,抗生素治疗等;外科治疗主要是手术治疗,最常用的是坏死组织清除加引流术。无论是内科保守治疗还是外科手术治疗,更多的是侧重维持患者生命,而没有太多关注胰腺本身功能的恢复。随着干细胞的研究进展,有望使细胞移植在SAP治疗方面取得重大突破。

BMSCs是存在于骨髓中的间充质干细胞,具有定向或多向分化的潜能,目前的研究证明<sup>[5]</sup>,有治疗急性胰腺炎的潜能,主要通过向损伤部位迁移并增殖,转化为胰腺干细胞,参与组织再生,修复血管内皮,改善血流,调控炎症相关的细胞因子,减轻炎症反应以及免疫调节功能来发挥其治疗作用,为临床上SAP的治疗提供了新的思路。

## 1 骨髓间充质干细胞及胰腺干细胞

1987年Friedenstein等<sup>[6]</sup>发现在塑料培养皿中培养的贴壁的骨髓单个细胞在一定条件下可分化为多种类型的细胞,而且经过20-30个培养周期仍能保持其多向分化潜能。骨髓中的这种多能细胞能够分化为多种中胚层来源的间质细胞, BMSCs是存在于骨髓的成体细胞,在特定的条件下诱导分化为多种组织细胞,如心肌细胞、神经细胞、肝细胞和胰腺干细胞<sup>[7]</sup>。BMSCs不仅有强大的免疫调节功能和多向分化能力<sup>[8]</sup>,最近的研究表明BMSCs起着抑制炎症反应和促进组织修复的作用<sup>[9]</sup>,由于BMSCs能够抑制多种免疫细胞的活性,如抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)、T、B淋巴细胞等,目前已将BMSCs输注应用于治疗SAP老鼠模型的急性炎症反应<sup>[10]</sup>,各种自身免疫性疾病及对抗器官移植的排斥反应和缺血再灌注损伤的研究中。胰腺干细胞能分化形成胰腺导管、胰岛及胰腺外分泌腺泡等特定的胰腺组织细胞,并具有无限分裂和自我更新能力,胰腺干细胞<sup>[11]</sup>属未分化细

胞,可表达干细胞的一些分子标志,但尚未发现其特异性分子标志,胰腺干细胞参与胰腺的病理生理过程,为SAP的治疗开辟了新的领域。Seaberg等<sup>[12]</sup>通过研究小鼠的胰腺干细胞、认为胰腺干细胞为成体干细胞具有高度增殖的多向分化能力,具备分化为胰腺内分泌细胞、腺泡细胞和导管细胞的潜能,胰腺干细胞不是起源于中胚层。近年来有关胰腺干细胞标志的研究取得了较大进展其中胰腺十二指肠同源异型盒-1(pancreatic duodenal homeobox 1, PDX-1)、Nestin及神经元素3(Ngn3)是研究较多的胰腺干细胞标志。PDX-1为胰腺干细胞发育过程中表达最早的分子标志,有人研究了表达PDX-1阳性的分化细胞在SAP的细胞增殖与分化过程中的作用<sup>[13]</sup>,结果证实PDX-1表达阳性的导管上皮细胞在总导管的分化中所起的作用至关重要。巢蛋白最初被认定为一个标记的神经干细胞或祖细胞<sup>[14]</sup>,巢蛋白也被认为是在胰腺的胰岛中细胞表达,体外研究证明巢蛋白细胞是从胰腺胰岛中分离获得的,可分化成胰腺内分泌细胞和外分泌细胞<sup>[15]</sup>。Ishiwata等<sup>[16]</sup>通过腹腔内注射L-精氨酸诱导大鼠胰腺炎,使用免疫印迹法发现巢蛋白在上皮细胞及星状细胞周围管状结构中的表达增加,结果表明巢蛋白可表达于使L-精氨酸诱导的胰腺炎胰腺组织再生的干细胞或祖细胞。Ngn3是胰腺内分泌细胞分化过程中起关键性作用的转录因子<sup>[17]</sup>,其功能的缺失可导致内分泌细胞的缺失。

## 2 BMSCs的免疫特性

2.1 BMSCs的免疫调节抑制作用 人出生时体内CD8+T细胞基本上均表达CD28-受体,但随着年龄的增长,CD8+ CD28-细胞数量增加。与BMSCs共培养的T细胞经PHA作用后,CD8+ CD28-群所占的比例较未经BMSCs处理的T细胞显著增加,而PHA引起的T细胞增殖作用呈BMSCs剂量依赖性,说明上调CD8+ CD28-群是BMSCs发挥其抑制作用的重要环节。BMSCs可通过上调CD8+ CD28-T细胞发挥其抑制作用<sup>[18]</sup>。

2.1.1 BMSCs对自然杀伤: BMSCs具有抑制NK细胞诱导分化的T淋巴细胞增殖分化的作用。且T淋巴细胞与BMSCs共培养后,T细胞亚群由辅助性T细胞Th1、杀伤性T细胞Tc1向Th2、Tc2极化。这可能与BMSCs的负性免疫调节作用有关。体外研究发现,在与效应性T细胞或纯化的NK

### ■研究前沿

关于急性胰腺炎发病机制的模型是今后研究的焦点,L-精氨酸诱发急性胰腺炎可能与一氧化氮、细胞因子、氧自由基等介导的组织细胞损伤有关,目前还不能全面解释急性胰腺炎发病的机制。因此,今后其治疗机制仍需进一步研究,最终为临床治疗提供理论依据。

### ■相关报道

Dawra等提出L-精氨酸的代谢中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在早期起了重要作用,大鼠血中L-精氨酸和iNOS浓度的升高导致了NO的升高,进而造成胰腺腺泡细胞的损伤。

细胞共培养时, BMSCs可降低Th1细胞和NK细胞IFN- $\gamma$ 的分泌水平和提高Th2细胞分泌IL-4的水平<sup>[19]</sup>。

2.1.2 BMSCs对树突状细胞的影响: BMSCs抑制树突状细胞(dendritic cells, DCs)诱导的淋巴细胞增殖, 且该抑制作用与BMSCs的细胞数量呈正相关。该作用的发生可能与BMSCs分泌的细胞因子有关。BMSCs与活化的DCs共培养可使TNF分泌减少, IL-10分泌增加<sup>[20]</sup>。

### 2.2 BMSCs与SAP

2.2.1 BMSCs能够抑制SAP过激的全身炎症反应: 在SAP病理生理中, 炎症扮演了重要角色, 胰腺炎发病过程中, 其临床表现是由于不同的促炎细胞因子和抗炎细胞因子的释放引起的<sup>[21]</sup>, 产生的主要促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6, 研究表明在胰腺炎动物实验模型中抗细胞因子(如: TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6)的治疗是一种预防性措施。另外, 有学者<sup>[22]</sup>研究表明重症胰腺炎增加了IL- $\alpha$ 和IL-6的水平, 证实了上述结果。除此之外, 推测IFN- $\gamma$ 与许多炎症性疾病有关<sup>[23]</sup>。确实, Hayashi等<sup>[24]</sup>观察到随着胰腺组织的破坏和大量嗜酸性粒细胞浸润, 轻度胰腺炎增加了胰腺内IFN- $\gamma$  mRNA和蛋白的表达。此外, 还增加了TGF- $\beta$ 的产生和诱导NO合酶, 他们都与人类和动物实验的胰腺炎有关<sup>[25,26]</sup>。在一项研究<sup>[27]</sup>表明, BMSCs可减少促炎细胞因子的表达, 其他细胞因子和介质同时减少抗炎细胞因子在轻型和重型胰腺炎中。Zhang等<sup>[28]</sup>和Guo等<sup>[29]</sup>也报道了相似的结果, 证明了在心肌梗死和结肠炎中, 从人类牙龈中获得BMSCs降低了TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17、IFN- $\gamma$ 的水平。在SAP的病理生理过程中, 动员BMSCs可减轻SAP的病情, 改善预后<sup>[30]</sup>。BMSCs分泌IL-4、IL-10等抑制性炎症介质, 从而抑制巨噬细胞和T细胞功能, 对抗IL-1、IL-6、IL-8等参与SAP全身炎症反应综合征最初启动的炎症介质。

2.2.2 BMSCs能够促进坏死胰腺的组织修复: BMSCs能够促进坏死胰腺的组织修复, 当组织损伤后, 骨髓BMSCs被迅速动员迁移至病变处, 而通过尾静脉途径引入体内的外源性BMSCs也会定向迁移至损伤处<sup>[21]</sup>。

2.3 BMSCs具有多向分化潜能 BMSCs是来源于中胚层的具有高度自我更新能力和多向分化潜能的一种干细胞, BMSCs除了具有较强的自我更新和增殖、分化潜能外, 还具有较大的可塑

性, 在特定的条件下还可跨胚层及横向分化其他成熟细胞。

2.3.1 横向分化系统: 是指在一定环境诱导下干细胞转变为其他组织系统的细胞<sup>[31]</sup>, 这是20世纪末干细胞领域的突破性进展, 有人称之为“可塑性”、“脱分化”、“反向分化”或“转决定”。Arikura等<sup>[32]</sup>将先天性白蛋白缺乏症大鼠肝脏做70%切除后, 立即通过门静脉植入正常大鼠骨髓间充质干细胞, 4 wk后在受体肝脏检测到白蛋白阳性并表达白蛋白mRNA的肝细胞, 血清中也检测到白蛋白。关于横向分化的调控机制目前还不清楚, 大多数观点认为干细胞的分化与微环境密切相关。

2.3.2 跨胚层分化系统: BMSCs不仅能分化为中胚层的多种成熟组织细胞, 如脂肪、肌肉、骨和软骨细胞等。近年来研究报道BMSCs还能分化为其他胚层组织细胞, 如肝脏、肾、肺、皮肤、胃肠道、神经、心肌和骨骼肌、胰腺干细胞等。有研究表明成功利用小鼠细胞基底模型在活体外使胚胎干细胞分化成为胰腺腺泡样细胞。多项试验证实, 由胚胎干细胞诱导为胰腺干细胞已经成为可能。

### 3 BMSCs治疗SAP对于抑制胰酶分泌、防止多个器官继发损害的关系及影响

SAP及其并发症的病理基础就是大量活化的胰蛋白酶释放后, 激活的机体多种酶系统和补体系统导致的全身炎症反应及多器官功能衰竭以至死亡的重要原因和发病机制, 尤其是SAP早期急性炎症期的炎症级联反应是影响SAP病程发展的关键环节, 但其机制并不完全清楚。目前, 其作用机制推测有以下几点: (1)间充质干细胞在抗炎反应中并在参与调节细胞凋亡中发挥了积极的作用。目前的一些研究提示间充质干细胞具有控制炎症并抑制免疫反应的功能。其机制可能与通过减少细胞因子的释放有关。Wang等<sup>[33]</sup>研究表明BMSCs能分化成肺泡内皮细胞, 从而在损伤的肺组织来替代损伤的肺泡内皮细胞和抑制炎症反应, 在胰腺炎相关肺损伤减少了mRNA表达TNF- $\alpha$ 和P物质; (2)间充质干细胞在对改变调节NF- $\kappa$ B激活水平上的作用<sup>[34]</sup>, 可能是抑制SAP早期炎症级联反应的重要信号传导机制, NF- $\kappa$ B目前作为炎症反应中起中心调控作用的转录因子, 已成为抗炎机制研究的新热点。NF- $\kappa$ B广泛存在于体内各种细胞中, 是调



控多种细胞因子、细胞黏附分子和某些急性期蛋白基因表达所必需的转录因子。金善丰等<sup>[35]</sup>研究证明绿色荧光蛋白转基因小鼠BMSCs干预重症胰腺炎大鼠后在多脏器的稳定分布, 结果表明在肾脏组织中荧光灰度值最高, 脑组织最低, 但是就SAP是否对肾脏损伤最严重, 对脑组织损害最轻还不能下结论, 需要进一步的实验研究及更多的实验数据来作为评估依据。证实了BMSCs可以在SAP大鼠主要损害的器官出现, 为骨髓间充质干细胞治疗SAP并发的多器官功能障碍提供最直接的形态学依据。但是其治疗机制还需要进一步的研究, 并最终为其临床治疗提供理论依据。

#### 4 SAP的动物模型

SAP起病急、进展快、病情重、死亡率高, 发病机制尚未完全阐明, 故复制SAP模型进行病因学和治疗学研究是必要的。因SAP并发症多, 至少尚未找到一种能全面解释SAP发病机制的模型, 继续探索仍是今后的科研焦点。最近几年有SAP建模及其相关机制进展报道<sup>[36]</sup>, 对腹腔注射左旋精氨酸诱导急性坏死性胰腺炎大鼠模型报道比较多。1984年Mizunuma等<sup>[37]</sup>开创L-精氨酸复制SAP, 此后L-精氨酸便用于动物SAP模型研究, 方法: 腹腔注射L-精氨酸(2-3 g/kg)2次或3次, 每次间隔1 h, L-精氨酸诱发SAP的机制还未明了, 许多研究表明与一氧化氮(nitrogen monoxidum, NO)、细胞因子、氧自由基等介导组织细胞损伤有关。Shen等<sup>[38]</sup>在L-精氨酸诱导的胰腺炎模型中观察到了GFBP-4上调, 其免疫组织化学的变化与组织形态学变化具有相关性。McClave<sup>[39]</sup>则认为氧化应激与胰腺炎的发生具有相关性。Dawra等<sup>[40]</sup>提出L-精氨酸的代谢中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在早期起了重要作用, 大鼠血中L-精氨酸和iNOS浓度的升高导致了NO的升高, 进而造成胰腺腺泡细胞的损伤。Booth等<sup>[41]</sup>在实验中发现线粒体、Ca<sup>2+</sup>、ROS的变化引起了胰腺腺泡细胞的死亡。胰腺腺泡细胞的自溶作用是目前胰腺炎研究的热点<sup>[42]</sup>。蛋白激酶K受体的缺失减轻了胰腺炎的炎症反应<sup>[43]</sup>, 可能是由于蛋白激酶K受体介导了线粒体通透性的增加<sup>[44]</sup>。Bhagal等<sup>[45]</sup>研究认为抗氧化剂阻止坏死, 因此增加ROS的水平会加重坏死。有研究结果表明<sup>[46]</sup>, 非正常的Ca<sup>2+</sup>信号通过线粒体的去极化和下调ATP加重了胰腺腺泡细胞的坏死。Yubero

等<sup>[47]</sup>发现急性胰腺炎时趋化因子增加。Ramudo等<sup>[48]</sup>认为NF- $\kappa$ B的上调在胰腺炎的发生中起着重要的作用。L-精氨酸诱导的急性胰腺炎模型操作简便、稳定、成模率高, 与人SAP发病过程相似, 可短时间内大量复制, 能更好的使我们理解SAP的发病机制、病理过程和药物干预后的作用, SAP的发病机制有待于我们进一步研究。

#### 5 BMSCs的不同移植途径

BMSCs增殖能力强, 患者自体骨髓细胞移植消除了免疫排斥反应, 同时作为一种微侵入、微损伤的治疗方法, BMSCs移植的技术方法日渐成熟, 在重症急性胰腺炎的治疗方面展现出了及其诱人的临床应用价值, 但是最佳的移植途径仍存在争议。目前国内、国外有文献报道用于治疗SAP的BMSCs移植途径主要是尾静脉, 滕春燕等<sup>[49]</sup>研究证明应用贴壁法分离、纯化、扩增大鼠BMSCs, 经流式细胞仪检测其细胞周期及表面标志后, 用DAPI标记, 经尾静脉注入胰腺损伤模型大鼠体内, 15 d后在激光共聚焦显微镜下观察BMSCs在大鼠胰腺组织定位, 组织病理切片观察胰腺损伤组织的病理改变, 结果显示BMSCs对大鼠胰腺组织具有修复作用。滕春燕等<sup>[50]</sup>还研究证明了通过尾静脉输注BMSCs来观察胰腺损伤模型大鼠血清生化指标, 结果显示BMSCs对胰腺组织损伤的模型大鼠具有治疗作用。已经有很多研究表明在SAP老鼠模型中通过尾静脉注BMSCs<sup>[51]</sup>, 结果表明以BMSCs治疗SAP的方法是有效的, 他可以作为调节细胞控制胰腺细胞死亡、炎症免疫反应和组织再生。这些诸多的研究提供了令人信服的证据。目前, 国内外尚没有文献对不同途径移植BMSCs对SAP的治疗研究, 但有报道称, 不同移植途径的BMSCs治疗终末期肝病在体内可产生大量的干细胞, 为了准确的观察, Chamberlain等<sup>[52]</sup>分别经腹腔和肝脏两种途径移植从成人骨髓中分离克隆的人BMSCs, 他们发现, 尽管两种途径BMSCs均产生了大量的肝细胞, 但相比之下, 肝内途径的效果更为有效。因此, 关于门静脉、肠系膜上静脉、胰腺局部注射不同途径移植BMSCs治疗重症急性胰腺炎, 哪一种移植途径更有效有待进一步研究。

#### 6 结论

BMSCs移植在治疗诸多损伤性疾病方面具有巨

#### ■创新盘点

本文综述了移植骨髓间充质干细胞治疗胰腺炎, 急性胰腺炎的发病机制, 不同途径移植骨髓间充质干细胞治疗胰腺炎, 哪种途径效果更佳有待于进一步研究。

### ■应用要点

前期研究得出骨髓间充质干细胞通过尾静脉治疗胰腺炎、肝硬化等炎症性疾病,明显参与组织修复,改善血流,调控炎症相关的细胞因子,减轻炎症反应及免疫调节功能来发挥其治疗作用,本文进一步探讨急性胰腺炎的发病机制以及提出多种途径移植治疗胰腺炎,哪种途径效果更佳,为临床治疗提供可靠的依据。

大的潜力,其强大的分化增殖能力,有着自身特殊免疫特性,使得BMSCs能够安全有效的修复损伤的组织,达到治疗疾病的目的。但因为目前其临床应用尚处于起步阶段,有关骨髓干细胞的分离<sup>[53]</sup>、筛选、体外扩增及获得效率、最佳的移植途径、移植数量和移植时间窗、移植后定位跟踪<sup>[54]</sup>及体内分化以及移植适应症、禁忌症、并发症、远期疗效等问题仍需要大量长期的基础实验研究及大规模、多中心的临床观察。因此,BMSCs治疗SAP仍然一项挑战和争议,包括怎样在最佳时机预防多器官功能衰竭、诊断时间和手术干预的时间<sup>[55]</sup>。

### 7 参考文献

- Bradley EL, Dexter ND. Management of severe acute pancreatitis: a surgical odyssey. *Ann Surg* 2010; 251: 6-17 [PMID: 20009748 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181c72b79]
- Talukdar R, Vege SS. Recent developments in acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: S3-S9 [PMID: 19896095 DOI: 10.1016/j.cgh.2009]
- Bai Y, Liu Y, Jia L, Jiang H, Ji M, Lv N, Huang K, Zou X, Li Y, Tang C, Guo X, Peng X, Fang D, Wang B, Yang B, Wang L, Li Z. Severe acute pancreatitis in China: etiology and mortality in 1976 patients. *Pancreas* 2007; 35: 232-237 [PMID: 17895843]
- Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators. *Shock* 2005; 24 Suppl 1: 45-51 [PMID: 16374372]
- 滕春燕, 于庭, 于艳辉, 曲雅琴, 陈玉芮, 金春香. 骨髓间充质干细胞对胰腺损伤模型大鼠血清生化指标的影响. *中国生物制品学杂志* 2009; 22: 252-255
- Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet* 1987; 20: 263-272 [PMID: 3690622]
- Rovira M, Delaspre F, Massumi M, Serra SA, Valverde MA, Lloreta J, Dufresne M, Payré B, Konieczny SF, Savatier P, Real FX, Skoudy A. Murine embryonic stem cell-derived pancreatic acinar cells recapitulate features of early pancreatic differentiation. *Gastroenterology* 2008; 135: 1301-1310, 1310. e1-e5 [PMID: 18725222 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.06.049]
- Matysiak M, Orlowski W, Fortak-Michalska M, Jurewicz A, Selmaj K. Immunoregulatory function of bone marrow mesenchymal stem cells in EAE depends on their differentiation state and secretion of PGE2. *J Neuroimmunol* 2011; 233: 106-111 [PMID: 21354631 DOI: 10.1016/j.jneuroim.2010.12.004]
- Hanson SE, Gutowski KA, Hematti P. Clinical applications of mesenchymal stem cells in soft tissue augmentation. *Aesthet Surg J* 2010; 30: 838-842 [PMID: 21131458 DOI: 10.1177/1090820X10386364]
- Jung KH, Song SU, Yi T, Jeon MS, Hong SW, Zheng HM, Lee HS, Choi MJ, Lee DH, Hong SS. Human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 2011; 140: 998-1008 [PMID: 21130088 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.047]
- Li J, Zhu L, Qu X, Li J, Lin R, Liao L, Wang J, Wang S, Xu Q, Zhao RC. Stepwise differentiation of human adipose derived mesenchymal stem cells towards definitive endoderm and pancreatic progenitor cells by mimicking pancreatic development in vivo. *Stem Cells Dev* 2012 Dec 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23259909]
- Seaberg RM, Smukler SR, Kieffer TJ, Enikolopov G, Asghar Z, Wheeler MB, Korbitt G, van der Kooy D. Clonal identification of multipotent precursors from adult mouse pancreas that generate neural and pancreatic lineages. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 1115-1124 [PMID: 15322557]
- Mitnala S, Pondugala PK, Guduru VR, Rabella P, Thiyyari J, Chivukula S, Boddupalli S, Hardikar AA, Reddy DN. Reduced expression of PDX-1 is associated with decreased beta cell function in chronic pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 856-862 [PMID: 20467340 DOI: 10.1097/MPA.0b013]
- Zhou SY, Zhang YS, Li Q, Zhang Y, Qi H, Zhou HX, Deng CY, Li FR. Protective effect of rat pancreatic progenitors cells expressing Pdx1 and nestin on islets survival and function in vitro and in vivo. *J Physiol Biochem* 2012; 68: 603-610 [PMID: 22644623 DOI: 10.1007/s13105-012-0180-0]
- Wei P, Li L, Qi H, Zhou HX, Deng CY, Li FR. Reversible immortalization of Nestin-positive precursor cells from pancreas and differentiation into insulin-secreting cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 418: 330-335 [PMID: 22266322 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.021]
- Ishiwata T, Kudo M, Onda M, Fujii T, Teduka K, Suzuki T, Korc M, Naito Z. Defined localization of nestin-expressing cells in L-arginine-induced acute pancreatitis. *Pancreas* 2006; 32: 360-368 [PMID: 16670618]
- Swales N, Martens GA, Bonn   S, Heremans Y, Borup R, Van de Casteele M, Ling Z, Pipeleers D, Ravassard P, Nielsen F, Ferrer J, Heimberg H. Plasticity of adult human pancreatic duct cells by neurogenin3-mediated reprogramming. *PLoS One* 2012; 7: e37055 [PMID: 22606327 DOI: 10.1371/journal.pone.0037055]
- 金世柱, 韩明子. 骨髓间充质干细胞免疫调节作用的研究进展. *胃肠病学* 2007; 12: 308-310
- Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35: 213-221 [PMID: 22370776 DOI: 10.1007/s12272-012-0202-z]
- Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105: 1815-1822 [PMID: 15494428]
- Tu XH, Song JX, Xue XJ, Guo XW, Ma YX, Chen ZY, Zou ZD, Wang L. Role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2270-2279 [PMID: 22611322 DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2270]
- Ishibashi T, Zhao H, Kawabe K, Oono T, Egashira K, Suzuki K, Nawata H, Takayanagi R, Ito T. Blocking of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) activity attenuates the severity of acute pancreatitis in rats. *J Gastroenterol* 2008; 43: 79-85 [PMID: 18297440 DOI: 10.1007/s00535-007-2126-9]
- De Miguel MP, Fuentes-Jul  n S, Bl  zquez-Mart  nez A, Pascual CY, Aller MA, Arias J, Arnalich-Montiel F. Immunosuppressive properties of mesenchymal

- stem cells: advances and applications. *Curr Mol Med* 2012; 12: 574-591 [PMID: 22515979]
- 24 Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, Iwakura Y, Mukaida N, Kondo T. IFN-gamma protects cerulein-induced acute pancreatitis by repressing NF-kappa B activation. *J Immunol* 2007; 178: 7385-7394 [PMID: 17513789]
  - 25 Genovese T, Mazzone E, Di Paola R, Muià C, Crisafulli C, Malleo G, Esposito E, Cuzzocrea S. Role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in acute pancreatitis induced by cerulein. *Immunology* 2006; 118: 559-570 [PMID: 16764691]
  - 26 Wildi S, Kleeff J, Mayerle J, Zimmermann A, Böttinger EP, Wakefield L, Büchler MW, Friess H, Korc M. Suppression of transforming growth factor beta signalling aborts caerulein induced pancreatitis and eliminates restricted stimulation at high caerulein concentrations. *Gut* 2007; 56: 685-692 [PMID: 17135311]
  - 27 Larsen S, Lewis ID. Potential therapeutic applications of mesenchymal stromal cells. *Pathology* 2011; 43: 592-604 [PMID: 21876470 DOI: 10.1097/PAT.0b013e3]
  - 28 Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S, Le AD. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol* 2009; 183: 7787-7798 [PMID: 19923445 DOI: 10.4049/jimmunol.0902318]
  - 29 Guo J, Lin GS, Bao CY, Hu ZM, Hu MY. Anti-inflammation role for mesenchymal stem cells transplantation in myocardial infarction. *Inflammation* 2007; 30: 97-104 [PMID: 17497204]
  - 30 Omary MB, Lugea A, Lowe AW, Pandol SJ. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. *J Clin Invest* 2007; 117: 50-59 [PMID: 17200706]
  - 31 王晓东, 任军, 杨仁杰. 骨髓间充质干细胞向肝细胞的横向分化. *中华临床康复* 2006; 10: 121-124
  - 32 Arikura J, Inagaki M, Huiling X, Ozaki A, Onodera K, Ogawa K, Kasai S. Colonization of albumin-producing hepatocytes derived from transplanted F344 rat bone marrow cells in the liver of congenic Nagase's analbuminemic rats. *J Hepatol* 2004; 41: 215-221 [PMID: 15288469]
  - 33 Wang L, Tu XH, Zhao P, Song JX, Zou ZD. Protective effect of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells on pancreatitis-associated lung injury in rats. *Mol Med Report* 2012; 6: 287-292 [PMID: 22613963 DOI: 10.3892/mmr.2011]
  - 34 Schmid RM, Adler G. NF-kappaB/rel/IkappaB: implications in gastrointestinal diseases. *Gastroenterology* 2000; 118: 1208-1228 [PMID: 10833496]
  - 35 金善丰, 陈志耀, 黄鹤光. 绿色荧光蛋白转基因小鼠骨髓间充质干细胞干预重症急性胰腺炎大鼠后在多脏器的分布. *中国组织工程研究与临床康复* 2012; 16: 1711-1715
  - 36 杨元生, 崔淑兰, 陈垦, 王晖. 重症急性胰腺炎实验动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2601-2606
  - 37 Mizunuma T, Kawamura S, Kishino Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. *J Nutr* 1984; 114: 467-471 [PMID: 6199486]
  - 38 Shen JQ, Shen J, Wang XP. Expression of insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4) in acute pancreatitis induced by L-arginine in mice. *Acta Histochem* 2012; 114: 379-385 [PMID: 21839495 DOI: 10.1016/j.acthis.2011.07.0]
  - 39 McClave SA. Drivers of oxidative stress in acute pancreatitis: the role of nutrition therapy. *J Parenter Enteral Nutr* 2012; 36: 24-35 [PMID: 22235106 DOI: 10.1177/0148607111424410]
  - 40 Dawra R, Sharif R, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Saluja AK. Development of a new mouse model of acute pancreatitis induced by administration of L-arginine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1009-G1018 [PMID: 17170029]
  - 41 Booth DM, Murphy JA, Mukherjee R, Awais M, Neoptolemos JP, Gerasimenko OV, Tepikin AV, Petersen OH, Sutton R, Criddle DN. Reactive oxygen species induced by bile acid induce apoptosis and protect against necrosis in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology* 2011; 140: 2116-2125 [PMID: 21354148 DOI: 10.1053/j.gastro.2]
  - 42 Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, Vitale I, Rigoni A, Vacchelli E, Michaud M, Zischka H, Castedo M, Kroemer G. Mitochondrial gateways to cancer. *Mol Aspects Med* 2010; 31: 1-20 [PMID: 19698742 DOI: 10.1016/j.mam.2009.08.002]
  - 43 He S, Wang L, Miao L, Wang T, Du F, Zhao L, Wang X. Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF-alpha. *Cell* 2009; 137: 1100-1111 [PMID: 19524512 DOI: 10.1016/j.cell.2009.05.021]
  - 44 Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. RIP kinases initiate programmed necrosis. *J Mol Cell Biol* 2009; 1: 8-10 [PMID: 19679643 DOI: 10.1093/jmcb/mjp007]
  - 45 Bhogal RH, Curbishley SM, Weston CJ, Adams DH, Afford SC. Reactive oxygen species mediate human hepatocyte injury during hypoxia/reoxygenation. *Liver Transpl* 2010; 16: 1303-1313 [PMID: 21031546 DOI: 10.1002/lt.22157]
  - 46 Baumgartner HK, Gerasimenko JV, Thorne C, Ferdik P, Pozzan T, Tepikin AV, Petersen OH, Sutton R, Watson AJ, Gerasimenko OV. Calcium elevation in mitochondria is the main Ca<sup>2+</sup> requirement for mitochondrial permeability transition pore (mPTP) opening. *J Biol Chem* 2009; 284: 20796-20803 [PMID: 19515844 DOI: 10.1074/jbc.M109.025353]
  - 47 Yubero S, Ramudo L, Manso MA, De Dios I. The role of redox status on chemokine expression in acute pancreatitis. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792: 148-154 [PMID: 19111613 DOI: 10.1016/j.bbdis.2008]
  - 48 Ramudo L, Yubero S, Manso MA, Vicente S, De Dios I. Signal transduction of MCP-1 expression induced by pancreatitis-associated ascitic fluid in pancreatic acinar cells. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 1314-1320 [PMID: 19604316 DOI: 10.1111/j.1582-49]
  - 49 滕春燕, 于庭, 王春娥, 陈玉丙, 金春香. 骨髓间充质干细胞对大鼠胰腺组织的修复作用. *中国生物制品学杂志* 2009; 4: 344-347
  - 50 滕春燕, 于庭, 于艳辉, 曲雅勤, 陈玉丙, 金春香. 骨髓间充质干细胞对胰腺损伤模型大鼠血清生化指标的影响. *中国生物制品学杂志* 2009; 22: 252-255
  - 51 Schneider G, Saur D. Mesenchymal stem cells: therapeutic potential for acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2011; 140: 779-782 [PMID: 21266210 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.026]
  - 52 Chamberlain J, Yamagami T, Colletti E, Theise ND, Desai J, Frias A, Pixley J, Zanjani ED, Porada CD, Almeida-Porada G. Efficient generation of human hepatocytes by the intrahepatic delivery of clonal human mesenchymal stem cells in fetal sheep.

## 同行评价

利用骨髓间充质干细胞治疗急性重症胰腺炎的研究有广泛的研究前景和较为重大的临床意义,因此本文具有一定的理论指导意义。



- Hepatology 2007; 46: 1935-1945 [PMID: 17705296]
- 53 高福来, 韩明子, 金世柱, 胡宗晶, 车德馨. 骨髓干细胞分离技术的探讨. 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 569-572
- 54 金世柱, 孟祥伟, 韩明子. 干细胞示踪技术的研究进展.

胃肠病学和肝病杂志 2009; 18: 319-321

- 55 Chauhan S, Forsmark CE. The difficulty in predicting outcome in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 443-445 [PMID: 20139877 DOI: 10.1038/ajg.2009.623]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

**第一步 作者提交稿件:** 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成.

# 多排螺旋CT小肠造影在评估小肠克罗恩病中的应用

余晨, 肖香佐

余晨, 肖香佐, 南昌大学第一附属医院放射科 江西省南昌市 360006

余晨, 在读硕士, 主要从事腹部疾病影像学诊断的研究.

作者贡献分布: 本文综述由余晨完成; 肖香佐审校.

通讯作者: 肖香佐, 教授, 主任医师, 360006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院放射科.

ncdxyfyyxk@sina.com

电话: 0791-88695052

收稿日期: 2012-07-10 修回日期: 2012-12-28

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Application of MSCT enterography in the evaluation of Crohn's disease

Chen Yu, Xiang-Zuo Xiao

Chen Yu, Xiang-Zuo Xiao, Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 360006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Xiang-Zuo Xiao, Professor, Chief Physician, Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Donghu District, Nanchang 360006, Jiangxi Province, China. ncdxyfyyxk@sina.com

Received: 2012-07-10 Revised: 2012-12-28

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

The assessment of small bowel abnormalities has always been a challenging task for radiologists and gastroenterologists. Conventional radiologic and endoscopic evaluations are often limited by the length and caliber of small bowel loops. CT enterography, a robust new method with high spatial and isotropic spatial resolution, is a variant of conventional CT technique optimized for the evaluation of the small bowel. Crohn's disease is an inflammatory disease which can involve different areas of the gastrointestinal tract, and it was characterized by segmental and transmural inflammation, with the terminal ileum being the most common site of involvement. CT enterography is well tolerated by these patients and enables accurate, efficient assessment of lesions arising from the small bowel wall or surrounding organs. In this article, we discuss the principle of CT enterography and its use in the evaluation of Crohn's disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Crohn's disease; CT enterography; Small bowel; Contrast agent; Oral administration

Yu C, Xiao XZ. Application of MSCT enterography in the evaluation of Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 233-238

## 摘要

对于消化科和放射科医师而言, 评估小肠病变向来都是一项巨大的挑战. 传统的放射影像学 and 内镜学方法常常受到肠管长度及内径宽度的限制. CT小肠造影是一种由传统CT技术改进而来的具有极高时间和空间分辨率的新兴技术, 其优势在于能够优化对小肠肠管的显示和评估. 如我们所知, 克罗恩病是一种可以累及整个消化系的炎性病变, 典型的克罗恩病常表现为肠道多节段性的、透壁性受累, 而末端回肠常为其最易发部位. 克罗恩病患者往往能很好地耐受CT小肠造影检查, 而CT小肠造影检查常常能够对克罗恩病患者的小肠肠壁或周围器官产生的病理变化进行准确、高效的评估. 本文将论述CT小肠造影检查的基本原则与他在评估小肠克罗恩病及其并发症中的应用.

© 2013版权归Baishideng所有.

**关键词:** 克罗恩病; CT小肠造影; 小肠; 造影剂; 口服

余晨, 肖香佐. 多排螺旋CT小肠造影在评估小肠克罗恩病中的应用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(3): 233-238

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/233.asp>

## 0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)于1932年由美国医生Crohn's首先报道<sup>[1]</sup>. 它是一种缓解与复发交替进行的慢性胃肠道炎性肉芽肿性疾病, 病因尚不明确. 目前认为感染、免疫缺陷、饮食、遗传易感性、环境因素及生活方式等因素均与其有关<sup>[2-4]</sup>. 病变可累及从口腔到直肠的胃肠道任何部位, 常呈节段性分布, 但以回肠末端和邻

## ■背景资料

我国克罗恩病(CD)的发病率逐年升高, 由于该病好发于末端回肠, 常规检查手段难以企及, 且该病的临床表现、内镜下改变、常规实验室检查甚至病理特征都缺乏一定的特异性, 常常导致临床诊断陷入困境. 如何通过最新的影像技术来提高对该病的诊断率是目前亟待解决的难题之一.

## ■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

## ■研发前沿

以往对小肠病变的影像诊断主要依赖于传统的吞钡造影技术。然而,由于该检查技术本身的缺陷以及影像诊断设备的不断更新、新的影像诊断手段不断涌现,目前研究较为热门的主要是CT以及MR小肠造影,其中,CT小肠造影较MR小肠造影技术更为成熟,更加适合临床应用。

近结肠多见。该病在西方国家相当常见,近年来国内报道的病例数也明显增多,由Zheng等<sup>[5]</sup>通过对我国22省(市)50年报道资料进行系统分析,推算出CD的发病率与患病率分别为0.28/10<sup>5</sup>和1.38/10<sup>5</sup>。文章还指出,由于存在误诊和未就医患者,故以上数据尚有被低估之虞。由于罹患该病的患者多处于青壮年<sup>[6]</sup>,给社会生产力及个人生活质量带来了极大影响,因而已经引起医疗界的高度重视。

虽然目前临床上用于诊断CD的检查方法很多,但尚无统一的诊断金标准,实际工作中需要综合患者的临床表现、影像学检查、内镜检查和病理组织学检查等各种检测结果进行全面分析,并排除各种非炎症性肠病的小肠结肠炎,甚至某些患者需借助随访和诊断性治疗才能确诊<sup>[7]</sup>。在过去的很长一段时间里,X线小肠吞钡造影(small bowel follow-through, SBFT)占据着小肠影像诊断的主导地位。20世纪80年代由于CT技术的出现,引起了腹部影像技术的全面革新<sup>[8]</sup>。然而,由于早期的CT时间分辨率、空间分辨率均较低,导致CT小肠造影技术难以实现。具有极高时间分辨率和空间分辨率的多排螺旋CT的出现实现了真正意义上的各向同性扫描,辅以适当的肠道对比剂,才使得CT对肠道的检查成为可能。大量研究表明多排螺旋CT小肠低张造影(multidetector computed tomography enterography, MDCTE, 以下简称CTE)技术比传统的SBFT技术有着诸多优势,例如不易受肠道重复堆叠及骨盆的遮挡,可以直接观察肠外的病变等<sup>[9-11]</sup>。在我院临床工作中,CTE已经基本取代了SBFT。基于CTE以上诸多优点,美国放射学会得体准则(2011版)<sup>[12]</sup>指出:对于首次评价可疑的CD患者、已知患有CD而病情进展或存在并发症时,CTE为最恰当的影像学检查方法,这一准则同时适用于成人及儿童患者。现将针对CTE这一新技术对CD诊断的价值做一综述。

## 1 多排螺旋CT小肠低张造影扫描及后处理技术

1.1 多排螺旋CT小肠低张造影扫描技术 由于受传统吞钡造影影响,Raptopoulos等<sup>[13]</sup>通过口服硫酸钡混悬液或含碘溶液等高密度阳性对比剂完成了最早的CTE检查。阳性对比剂的优势在于能够很好的显示肠黏膜的细节、肠腔内充盈缺损、溃疡及肠瘘等;其最大的缺点在于肠道内的高密度造影剂容易遮蔽病变区黏膜的异常强化,甚至干扰后处理及肠系膜血管的显示<sup>[14]</sup>。

而近似水样密度的中性对比剂则很好的弥补了阳性对比剂的不足,现在临床用于CD诊断时多倾向于口服中性对比剂的同时引入静脉团注对比剂的方法,而对于那些对碘剂过敏或者肾功能不全的患者,学者们则一致认为口服阳性对比剂为其最佳选择<sup>[14,15]</sup>。以往不同的研究机构使用的口服中性对比剂的种类是五花八门。Volumen(0.1%的硫酸钡混悬液)因患者对其耐受性好,并且肠道扩张效果较好,逐渐获得大多数欧美研究机构的青睐<sup>[14-17]</sup>,而国内则以2.5%的甘露醇溶液比较流行<sup>[18-20]</sup>,主要原因是甘露醇溶液配制简单、价格低廉、口感较好且安全有效,这一观点得到了国内学者Zhang等<sup>[19]</sup>以及德国学者Schunk等<sup>[21]</sup>的支持。检查前的肠道准备对获得满意的小肠充盈度至关重要<sup>[9]</sup>,主要与检查前禁食时间、是否清洁灌肠、口服对比剂的剂量和速率有关。目前多数方案为检查前禁食6-8 h,一般不要求清洁灌肠,于检查前40-60 min内口服1 350-2 000 mL对比剂<sup>[9,14,15,17,22]</sup>。在此期间如有专业人士指导、监督受检者服药,必然能够大幅提高肠道准备的效果<sup>[23]</sup>。肠道准备完毕后,一般于CT检查前10-15 min肌注低张药物,以减少肠道的蠕动对检查的影响,然后行全腹部CT平扫及增强扫描。大多数文献报道扫描范围应自膈顶至耻骨联合,但是有不少学者指出CD患者常合并肛瘘或肛周脓肿,并且这些并发症对诊断CD帮助较大,故认为扫描范围应该包括会阴部为佳<sup>[24]</sup>。

何时进行图像采集也存在争议,Wold等<sup>[25]</sup>认为动脉期对于诊断炎症性肠道疾病几乎没有作用,故建议CD的患者省略动脉期扫描。Schindera等<sup>[26]</sup>研究发现,无肠道疾病的肠壁于静脉注射对比剂后约50 s(45 s-54 s)达到强化高峰,并将这一时间段命名为肠期(enteric phase),并推荐CD患者检查时只进行肠期增强扫描。而Vandenbroucke等<sup>[27]</sup>则提出门脉期扫描(静脉注射对比剂后约70 s)对诊断CD的作用与肠期的价值相当。因此,出于减少患者辐射剂量的考虑,大多数研究机构推荐,对于怀疑炎症性肠病的患者只需要进行肠期或门脉期一期扫描。

1.2 后处理技术 多平面重建(multiplanar reconstruction, MPR)可显示肠腔、肠壁及肠壁外的结构。其中,水平轴位显示临近肠管及肠管间的病变最佳,冠状位能够显示小肠的整体观,且对回肠末端的定位显示极佳,且易于对受累肠段进行定量测量,矢状位对直肠及骶前的病变显示

## ■相关报道

最新的研究表明,通过CT小肠造影检查对CD进行诊断、分期的技术已较为成熟。随着低辐射剂量的CT小肠造影检查技术的出现,CT小肠造影检查在动态监测CD患者病情中的应用地位也将得到明显提升。



最佳, 对于瘘管的发现也有帮助. 而最大密度投影(maximum intensity projection, MIP)则能更好地显示肠系膜血管及其远端细小分支<sup>[9]</sup>.

## 2 正常小肠的多排螺旋CT小肠低张造影表现

成人小肠总长约5 m, 但其长度范围很广, <3 m到>7 m都有可能. 近侧2/5为空肠, 远侧3/5为回肠, 但两者之间没有明显区别. 不过, 从近端到远端小肠的形态结构逐渐发生变化<sup>[28]</sup>, CTE检查恰能够很好地反映这种变化. 在肠道充分扩张的情况下, 我们可见看到小肠沿着肠系膜自左上腹斜向右下腹均匀的分布在腹腔内, 肠管的管径自十二指肠到回肠末端逐渐变细, 黏膜逐渐稀疏、细小, 肠系膜血管弓级数逐渐增多、血管管径逐渐变细. 一般来说, 肠管扩展良好的情况下, 小肠壁的厚度应<3 mm, 且厚薄均匀, 增强扫描显示肠管分布均匀、自然, 肠壁呈同质强化, 然而即使是在肠道充分扩张的情况下, 通过口服对比剂检查, 空肠的扩张效果往往不如回肠<sup>[22]</sup>.

## 3 用于诊断克罗恩病的价值

临床上CD病灶经常累及小肠, 特别是回肠末端, 且常合并一些肠外病变. 典型的CD表现为一种多节段性的、透壁性的炎性病变<sup>[29]</sup>. CTE应用于CD的目的在于判断受累肠管的范围、位置、分布、有无肠周脂肪受累、判断病变是否处于活动期以及有无肠外并发症存在, 这些对临床治疗方案的制定都有很大的意义. 我国学者朱林林等<sup>[30]</sup>比较CTE、SBFT、CE(小肠胶囊镜检查)及MRE技术发现, CTE对小肠CD的敏感度及特异度之和最大、诊断准确度最高. Bruining等<sup>[31]</sup>指出CTE是一个临床上极为有用的检查手段, 他在提高内科医生对小肠炎症和透壁性病灶的诊断信心的同时, 也改变了近半数CD患者的治疗方案.

**3.1 活动期克罗恩病的表现** 活动期CD的典型表现包括肠壁增厚、黏膜强化、肠壁分层、肠周脂肪受累以及直小血管充血. 肠壁增厚的标准一般为肠壁>3 mm. 肠壁增厚、黏膜强化被认为是活动期CD的最敏感的指标<sup>[32]</sup>. 判断肠管有无异常强化, 最简便的方法就是通过周围扩张程度相近的正常肠管比较, 但应注意以下两点: 首先, 由于十二指肠及空肠的血供较回肠丰富, 其强化程度也较回肠要高<sup>[33]</sup>; 其次, 未扩张的肠管强化程度一般会显得比充分扩张的肠管要

高, 容易出现明显强化的假象. 活动期肠壁分层主要是因为黏膜下层组织水肿呈现为较低信号, 而黏膜层及浆膜层由于炎症作用而明显强化, 在肠管的横截面上呈现为典型的“靶环征”, 但是这一征象并不仅见于CD, 在肠道其他炎性病变及肠管缺血时亦可出现<sup>[34]</sup>. 在活动性CD患者中, 经常可以见到受累肠段周围脂肪间隙密度增高, 这一征象的出现提示炎症累及肠壁全层并突破了肠壁的浆膜层. 直小血管充血主要表现为增强扫描时活动性受累的肠管所属的直小血管增多、增粗, 由于CD病变多累及回肠, 故常表现为“梳征”, 这一征象最初由Meyers和McGuire<sup>[35]</sup>描述, 其病理基础为受累肠管所属肠系膜血管弓受肠系膜内沉积的脂肪推挤, 造成直小血管被拉长、间距增宽, 类似正常空肠的直小血管解剖表现, 故这种回肠血管的梳样改变又被称为“回肠血管空肠化”. 临床上, “梳征”的出现往往与C反应蛋白(C reaction protein, CRP)及血沉率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)升高相关<sup>[29]</sup>, 且出现“梳征”的患者往往更容易被收入住院接受积极的治疗.

**3.2 非活动期克罗恩病的表现** 非活动期CD患者可出现以下影像征象: 黏膜下脂肪沉积、系膜对侧的肠壁呈假憩室样突出、受累肠管周围纤维脂肪增生以及纤维性狭窄. 黏膜下脂肪沉积在慢性肠道疾病中非常常见<sup>[36]</sup>, 却不具有特异性, 这一征象也可以急性的方式或在无肠道疾病的肥胖者中出现<sup>[37,38]</sup>. 临床工作中需要与上文所提到的活动期肠壁分层相区别, 主要区别在于黏膜下层所含异常增多的组织成分不同, 活动期由于黏膜下水肿, 其密度多较脂肪沉积要高. CD常常更易累及系膜侧肠壁, 造成系膜侧与系膜对侧肠壁不对称受累、纤维化, 随着肠蠕动时肠腔内压力不断升高, 最终可导致系膜对侧的肠壁呈假憩室样突出<sup>[9]</sup>. 肠周增生的纤维脂肪组织常常被认为在维持与肿瘤坏死因子 $\alpha$ 相关的炎症过程中发挥着重要作用<sup>[15]</sup>. MSCTE对发现肠腔狭窄具有极高的敏感性, 当肠腔狭窄但不伴有肠黏膜强化且无肠壁分层征象常常提示为非活动期的纤维性狭窄所致, 与活动期的炎性狭窄相比, 纤维性狭窄往往不可逆, 故引起肠道梗阻时常需要手术干预<sup>[9]</sup>.

**3.3 克罗恩病的并发症及肠外病变** 临床上, CD的并发症比较常见, 主要包括肠梗阻、瘘管、窦道、蜂窝织炎、脓肿以及肠系膜淋巴结肿大等, 其中肛瘘及肛周脓肿是临床上最常见的并

## ■创新盘点

本文全面阐述CT小肠造影检查在CD诊断中的应用现状及前景, 为临床诊断小肠CD提供了新的思路.

### ■应用要点

由于青壮年易患CD, 严重危害社会生产力、影响个人生活质量。综合分析CT小肠造影检查的表现将有助于临床医师提高对CD的诊断率及鉴别诊断率, 有很高的临床应用价值。

发症。CD亦常可合并其他肠外病变一同发生, 诸如硬化性胆管炎、肾结石、肾积水及骶髂关节炎等。相较于内镜检查, CT显示这些肠外病变有极大优势<sup>[39]</sup>, 当CTE检查发现以上影像征象时对诊断CD有很大帮助<sup>[39,40]</sup>。

### 4 影像技术用于克罗恩病诊断的新进展

通过CTE检查来正确评估、随访CD的治疗效果本身不存在任何技术难度<sup>[41,42]</sup>。然而, 由于CD本身病程较长且容易反复, 多次复查难以避免。随着公众对CTE检查辐射损伤的关注度越来越高, 研究者们提出了各种减少CTE检查的放射剂量的扫描方案<sup>[6,43,44]</sup>。Lee等<sup>[45]</sup>指出50%标准扫描剂量的CTE检查发现CD患者肠道炎症性病变的能力依然与标准剂量的CTE检查相仿。相信随着低辐射剂量检查技术的发展, MSCTE在动态监测CD患者病情中的应用地位也将大大提高。当然, 关于减少辐射伤害, 我们不可避免的要提到完全无辐射的磁共振成像检查(magnetic resonance imaging, MRI)。这些年, 随着MRI技术的高速发展, 磁共振小肠造影技术(magnetic resonance enterography, MRE)也得到了长足的发展, 目前大多数学者认为二种检查方法在诊断CD时, 其诊断效能几乎相同<sup>[11,46-50]</sup>。但是Jensen等<sup>[47]</sup>也指出CTE能够提供更佳的图像质量以及在不同观察者间诊断一致性也更高。我们认为, 因CTE扫描速度快、图像质量高、检查费用相对较低、病变显示更直观, CTE更易为医生和患者所接受, 较MRE有着更广阔的应用前景。

### 5 结论

CTE检查能显示小肠CD肠壁内外病变及其并发症, 且能发现病变的病变范围、严重程度和判断分期, 对临床制定治疗方案具有极高的指导意义, 是目前诊断小肠CD主要的影像学方法。

### 6 参考文献

- 1 Crohn's BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *JAMA* 1932; 99: 1323-1329
- 2 Neuman MG, Nanau RM. Inflammatory bowel disease: role of diet, microbiota, life style. *Transl Res* 2012; 160: 29-44 [PMID: 22687961 DOI: 10.1016/j.trsl.2011.09.001]
- 3 Marks DJ, Rahman FZ, Sewell GW, Segal AW. Crohn's disease: an immune deficiency state. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010; 38: 20-31 [PMID: 19437144 DOI: 10.1007/s12016-009-8133-2]
- 4 Gerseemann M, Wehkamp J, Stange EF. Innate immune dysfunction in inflammatory bowel disease. *J*

- Intern Med* 2012; 271: 421-428 [PMID: 22324936 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02515.x]
- 5 Zheng JJ, Zhu XS, Huangfu Z, Gao ZX, Guo ZR, Wang Z. Crohn's disease in mainland China: a systematic analysis of 50 years of research. *Chin J Dig Dis* 2005; 6: 175-181 [PMID: 16246226 DOI: 10.1111/j.1443-9573.2005.00227.x]
- 6 Kambadakone AR, Chaudhary NA, Desai GS, Nguyen DD, Kulkarni NM, Sahani DV. Low-dose MDCT and CT enterography of patients with Crohn disease: feasibility of adaptive statistical iterative reconstruction. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: W743-W752 [PMID: 21606263 DOI: 10.2214/AJR.10.5303]
- 7 欧阳钦, Tandon R, Goh K, 潘国宗, Fock K, Focchi C, Lam S, 萧树东. 亚太地区炎症性肠病处理共识意见(一). *胃肠病学* 2006; 11: 233-237
- 8 Lalitha P, Reddy MCh, Reddy KJ, Kumari MV. Computed tomography enteroclysis: a review. *Jpn J Radiol* 2011; 29: 673-681 [PMID: 22009417 DOI: 10.1007/s11604-011-0621-7]
- 9 Tochetto S, Yaghamai V. CT enterography: concept, technique, and interpretation. *Radiol Clin North Am* 2009; 47: 117-132 [PMID: 19195538 DOI: 10.1016/j.rcl.2008.10.007]
- 10 史济华, 刘炜, 陆星华, 潘卫东, 王沅, 吴晰, 温小恒, 秦明伟. CT小肠成像对克罗恩病的诊断价值. *中国医学科学院学报* 2009; 31: 498-502
- 11 Lee SS, Kim AY, Yang SK, Chung JW, Kim SY, Park SH, Ha HK. Crohn disease of the small bowel: comparison of CT enterography, MR enterography, and small-bowel follow-through as diagnostic techniques. *Radiology* 2009; 251: 751-761 [PMID: 19276325 DOI: 10.1148/radiol.2513081184]
- 12 American College of Radiology. ACR Appropriateness Criteria 2011. Available from: URL: <http://www.acr.org/-/media/ACR/Documents/AppCriteria/Diagnostic/Crohn'sDisease.pdf>
- 13 Raptopoulos V, Schwartz RK, McNicholas MM, Movson J, Pearlman J, Joffe N. Multiplanar helical CT enterography in patients with Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 169: 1545-1550 [PMID: 9393162]
- 14 Fletcher JG. CT enterography technique: theme and variations. *Abdom Imaging* 2009; 34: 283-288 [PMID: 18551337 DOI: 10.1007/s00261-008-9411-9]
- 15 Zamboni GA, Raptopoulos V. CT enterography. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2010; 20: 347-366 [PMID: 20451821 DOI: 10.1016/j.giec.2010.02.017]
- 16 Megibow AJ, Babb JS, Hecht EM, Cho JJ, Houston C, Boruch MM, Williams AB. Evaluation of bowel distention and bowel wall appearance by using neutral oral contrast agent for multi-detector row CT. *Radiology* 2006; 238: 87-95 [PMID: 16293806 DOI: 10.1148/radiol.2381041985]
- 17 Young BM, Fletcher JG, Booya F, Paulsen S, Fidler J, Johnson CD, Huprich J, Barlow J, Trout A. Head-to-head comparison of oral contrast agents for cross-sectional enterography: small bowel distention, timing, and side effects. *J Comput Assist Tomogr* 2008; 32: 32-38 [PMID: 18303285 DOI: 10.1097/RCT.0b013e318061961d]
- 18 毕文杰, 朱峰, 李慎江, 陈克敏. 口服甘露醇MSCTE诊断常见小肠肿瘤的临床研究. *放射学实践* 2010; 25: 75-78
- 19 Zhang LH, Zhang SZ, Hu HJ, Gao M, Zhang M, Cao Q, Zhang QW. Multi-detector CT enterogra-

- phy with iso-osmotic mannitol as oral contrast for detecting small bowel disease. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2324-2329 [PMID: 15818746]
- 20 斯洋, 潘杰, 黄崇权, 洪瑞镇. MSCT小肠造影与双气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的价值. *放射学实践* 2011; 26: 325-328
  - 21 Schunk K, Kersjes W, Schadmand-Fischer S, Grebe P, Kauczor HU, Thelen M. [A mannitol solution as an oral contrast medium in pelvic MRT]. *Rofo* 1995; 163: 60-66 [PMID: 7626755]
  - 22 Huprich JE, Fletcher JG. CT enterography: principles, technique and utility in Crohn's disease. *Eur J Radiol* 2009; 69: 393-397 [PMID: 19118968 DOI: 10.1016/j.ejrad.2008.11.014]
  - 23 Ilangoan R, Burling D, George A, Gupta A, Marshall M, Taylor SA. CT enterography: review of technique and practical tips. *Br J Radiol* 2012; 85: 876-886 [PMID: 22553291 DOI: 10.1259/bjr/27973476]
  - 24 朱希松, 章士正, 毛明香. 多层螺旋CT小肠造影对Crohn's病的诊断价值评价. *医学影像学杂志* 2011; 21: 860-865
  - 25 Wold PB, Fletcher JG, Johnson CD, Sandborn WJ. Assessment of small bowel Crohn disease: noninvasive peroral CT enterography compared with other imaging methods and endoscopy—feasibility study. *Radiology* 2003; 229: 275-281 [PMID: 12944602 DOI: 10.1148/radiol.2291020877]
  - 26 Schindera ST, Nelson RC, DeLong DM, Jaffe TA, Merkle EM, Paulson EK, Thomas J. Multi-detector row CT of the small bowel: peak enhancement temporal window—initial experience. *Radiology* 2007; 243: 438-444 [PMID: 17384239 DOI: 10.1148/radiol.2432060534]
  - 27 Vandenbroucke F, Mortelé KJ, Tatli S, Pelsner V, Erturk SM, De Mey J, Silverman SG. Noninvasive multidetector computed tomography enterography in patients with small-bowel Crohn's disease: is a 40-second delay better than 70 seconds? *Acta Radiol* 2007; 48: 1052-1060 [PMID: 17963078 DOI: 10.1080/02841850701589290]
  - 28 Standring S. 格氏解剖学. 第39版. 北京: 北京大学出版社, 2008: 1291
  - 29 Wu YW, Tao XF, Tang YH, Hao NX, Miao F. Quantitative measures of comb sign in Crohn's disease: correlation with disease activity and laboratory indications. *Abdom Imaging* 2012; 37: 350-358 [PMID: 22002159 DOI: 10.1007/s00261-011-9808-8]
  - 30 朱林林, 王一平. CTE、CE、SBFT、MRE对小肠克罗恩病的诊断性系统评价. *解放军医学杂志* 2011; 36: 848-851
  - 31 Bruining DH, Siddiki HA, Fletcher JG, Sandborn WJ, Fidler JL, Huprich JE, Mandrekar JN, Harmsen WS, Evans PE, Faubion WA, Hanson KA, Ingle SB, Pardi DS, Schroeder KW, Tremaine WJ, Loftus EV. Benefit of computed tomography enterography in Crohn's disease: effects on patient management and physician level of confidence. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 219-225 [PMID: 21337477 DOI: 10.1002/ibd.21683]
  - 32 Booya F, Fletcher JG, Huprich JE, Barlow JM, Johnson CD, Fidler JL, Solem CA, Sandborn WJ, Loftus EV, Harmsen WS. Active Crohn disease: CT findings and interobserver agreement for enteric phase CT enterography. *Radiology* 2006; 241: 787-795 [PMID: 17032911 DOI: 10.1148/radiol.2413051444]
  - 33 Baker ME, Walter J, Obuchowski NA, Achkar JP, Einstein D, Veniero JC, Vogel J, Stocchi L. Mural attenuation in normal small bowel and active inflammatory Crohn's disease on CT enterography: location, absolute attenuation, relative attenuation, and the effect of wall thickness. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 417-423 [PMID: 19155404 DOI: 10.2214/AJR.08.1267]
  - 34 Macari M, Megibow AJ, Balthazar EJ. A pattern approach to the abnormal small bowel: observations at MDCT and CT enterography. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 188: 1344-1355 [PMID: 17449781 DOI: 10.2214/AJR.06.0712]
  - 35 Meyers MA, McGuire PV. Spiral CT demonstration of hypervascularity in Crohn disease: "vascular jejunitization of the ileum" or the "comb sign". *Abdom Imaging* 1995; 20: 327-332 [PMID: 7549737]
  - 36 Amitai MM, Arazi-Kleinman T, Avidan B, Apter S, Konen E, Biegon A, Hertz M. Fat halo sign in the bowel wall of patients with Crohn's disease. *Clin Radiol* 2007; 62: 994-997 [PMID: 17765465 DOI: 10.1016/j.crad.2007.04.007]
  - 37 Muldowney SM, Balfe DM, Hammerman A, Wick MR. "Acute" fat deposition in bowel wall submucosa: CT appearance. *J Comput Assist Tomogr* 1995; 19: 390-393 [PMID: 7790548]
  - 38 Harisinghani MG, Wittenberg J, Lee W, Chen S, Gutierrez AL, Mueller PR. Bowel wall fat halo sign in patients without intestinal disease. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 781-784 [PMID: 12933481]
  - 39 Bruining DH, Siddiki HA, Fletcher JG, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Loftus EV. Prevalence of penetrating disease and extraintestinal manifestations of Crohn's disease detected with CT enterography. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1701-1706 [PMID: 18623171 DOI: 10.1002/ibd.20529]
  - 40 Booya F, Akram S, Fletcher JG, Huprich JE, Johnson CD, Fidler JL, Barlow JM, Solem CA, Sandborn WJ, Loftus EV. CT enterography and fistulizing Crohn's disease: clinical benefit and radiographic findings. *Abdom Imaging* 2009; 34: 467-475 [PMID: 18551336 DOI: 10.1007/s00261-008-9419-1]
  - 41 Hara AK, Alam S, Heigh RI, Gurudu SR, Hentz JG, Leighton JA. Using CT enterography to monitor Crohn's disease activity: a preliminary study. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190: 1512-1516 [PMID: 18492900 DOI: 10.2214/AJR.07.2877]
  - 42 Wu YW, Tang YH, Hao NX, Tang CY, Miao F. Crohn's disease: CT enterography manifestations before and after treatment. *Eur J Radiol* 2012; 81: 52-59 [PMID: 21185142 DOI: 10.1016/j.ejrad.2010.11.010]
  - 43 Siddiki H, Fletcher JG, Hara AK, Kofler JM, McCollough CH, Fidler JL, Guimaraes L, Huprich JE, Sandborn WJ, Loftus EV, Mandrekar J, Bruining DH. Validation of a lower radiation computed tomography enterography imaging protocol to detect Crohn's disease in the small bowel. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 778-786 [PMID: 20848546 DOI: 10.1002/ibd.21364]
  - 44 Allen BC, Baker ME, Einstein DM, Remer EM, Herts BR, Achkar JP, Davros WJ, Novak E, Obuchowski NA. Effect of altering automatic exposure control settings and quality reference mAs on radiation dose, image quality, and diagnostic efficacy in MDCT enterography of active inflammatory Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2010; 195: 89-100 [PMID: 20566801 DOI: 10.2214/AJR.09.3611]
  - 45 Lee SJ, Park SH, Kim AY, Yang SK, Yun SC, Lee SS, Jung GS, Ha HK. A prospective comparison of

## ■名词解释

多排螺旋CT: 安装有多个排探测器的螺旋CT设备, X线管每旋转一周, 即可完成多层面的容积数据采集并重建出多个层面的图像。MPR是在横断面图像上按需要任意划直线, 计算机将一系列横断层面重组, 获得该直线断面的二维重建图像, 包括冠状面、矢状面和任意角度斜位面图像。MIP是通过计算机处理, 对被观察的CT扫描体进行数学线束透视投影, 每一线束所遇密度值高于所选阈值的像素或密度最高的像素, 被投影在与线束垂直的平面上, 并可从任意投影方向进行观察。



## ■同行评价

本文主要对CT小肠造影检查的基本原则与他在评估小肠CD及其并发症中的应用进展进行综述,内容较丰富、思路清晰,对CD的诊断有一定的临床应用价值。

- standard-dose CT enterography and 50% reduced-dose CT enterography with and without noise reduction for evaluating Crohn disease. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 197: 50-57 [PMID: 21701010 DOI: 10.2214/AJR.11.6582]
- 46 Grand DJ, Beland MD, Machan JT, Mayo-Smith WW. Detection of Crohn's disease: Comparison of CT and MR enterography without anti-peristaltic agents performed on the same day. *Eur J Radiol* 2012; 81: 1735-1741 [PMID: 21645982 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.04.068]
- 47 Jensen MD, Ormstrup T, Vagn-Hansen C, Østergaard L, Rafaelsen SR. Interobserver and intermodality agreement for detection of small bowel Crohn's disease with MR enterography and CT enterography. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1081-1088 [PMID: 21484959 DOI: 10.1002/ibd.21534]
- 48 Ippolito D, Invernizzi F, Galimberti S, Panelli MR, Sironi S. MR enterography with polyethylene glycol as oral contrast medium in the follow-up of patients with Crohn disease: comparison with CT enterography. *Abdom Imaging* 2010; 35: 563-570 [PMID: 19582502 DOI: 10.1007/s00261-009-9557-0]
- 49 Fiorino G, Bonifacio C, Peyrin-Biroulet L, Minuti F, Repici A, Spinelli A, Fries W, Balzarini L, Montorsi M, Malesci A, Danese S. Prospective comparison of computed tomography enterography and magnetic resonance enterography for assessment of disease activity and complications in ileocolonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1073-1080 [PMID: 21484958 DOI: 10.1002/ibd.21533]
- 50 Siddiki HA, Fidler JL, Fletcher JG, Burton SS, Huprich JE, Hough DM, Johnson CD, Bruining DH, Loftus EV, Sandborn WJ, Pardi DS, Mandrekar JN. Prospective comparison of state-of-the-art MR enterography and CT enterography in small-bowel Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 113-121 [PMID: 19542402 DOI: 10.2214/AJR.08.2027]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# Ghrelin与胃肠疾病关系的研究进展

马兴彬, 许伟华

马兴彬, 许伟华, 山东大学第二医院消化内科 山东省济南市 250033

马兴彬, 硕士, 主要从事胃食管反流病的研究.

作者贡献分布: 本文综述由马兴彬完成; 许伟华审校.

通讯作者: 许伟华, 副教授, 主任医师, 250033, 山东省济南市天桥区北园大街247号, 山东大学第二医院消化内科. xu30002001@yahoo.com.cn

电话: 0531-85875454

收稿日期: 2012-10-26 修回日期: 2012-12-26

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-01-28

## Ghrelin in gastrointestinal diseases

Xing-Bin Ma, Wei-Hua Xu

Xing-Bin Ma, Wei-Hua Xu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong Province, China

Correspondence to: Wei-Hua Xu, Chief Physician, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Shandong University, 247 Beiyuan Street, Tianqiao District, Jinan 250033, Shandong Province, China. xu30002001@yahoo.com.cn

Received: 2012-10-26 Revised: 2012-12-26

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-01-28

## Abstract

Ghrelin is an endogenous ligand of the growth hormone secretagogue receptor (GHSR). Upon binding to its receptor, Ghrelin can produce a variety of biological effects, such as promoting the release of growth hormone and maintaining energy balance. Besides, it also promotes gastrointestinal motility, increases gastric acid secretion, and is involved in the genesis of tumors. This article reviews the role of Ghrelin in gastrointestinal system disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ghrelin; Gastrointestinal motility; Gastric acid secretion; Protection of gastric mucosa; Gastrointestinal tumor

Ma XB, Xu WH. Ghrelin in gastrointestinal diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 239-243

## 摘要

Ghrelin是生长激素促分泌素受体的内源性配

体, 与受体结合后产生广泛的生物学效应, 可刺激生长激素分泌、调节能量代谢等作用. 而在消化系统中, Ghrelin具有保护胃肠黏膜、调节胃肠动力、促进胃酸分泌及控制肿瘤细胞增殖的作用, 现将其与胃肠病疾病的研究进展综述如下.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Ghrelin; 胃肠动力; 胃酸分泌; 胃黏膜保护; 胃肠肿瘤.

马兴彬, 许伟华. Ghrelin与胃肠疾病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(3): 239-243

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/239.asp>

## 0 引言

Ghrelin又称胃促生长素, 是生长激素促分泌素受体(growth-hormone secretagogue receptor, GHS-R)的内源性配体. Ghrelin与其受体结合后可产生广泛的生物学效应, 如刺激生长激素的分泌、调节摄食与能量代谢、调节免疫功能, 同时还具有保护胃肠黏膜、调节胃肠动力、促进胃酸分泌及控制胃肠道肿瘤细胞增殖的作用. 现将Ghrelin与胃肠道疾病的研究进展综述如下.

## 1 Ghrelin及其受体概述

Ghrelin是1999年由日本科学家Kojima等<sup>[1]</sup>发现的由28个氨基酸组成的内源性脑肠肽, 主要由胃底黏膜的泌酸腺X/A样细胞合成并分泌, 约占全身循环总量的60%-70%, 人和大鼠的Ghrelin具有82.9%的同源性, 两者只有和11、12位氨基酸不同, 提示Ghrelin在种系发生上具有高度保守性<sup>[2]</sup>. 人Ghrelin的分子结构与胃动素十分相似, 主要有两种分子存在形式, 即N端第3位丝氨酸残基的辛酰基化(acylated ghrelin, AG)和非辛酰基化(des-acyl ghrelin, DAG), 这种修饰酶最近被确定和命名为生长素酰基转移酶(ghrelin O-acyltransferase, GOAT)<sup>[3-5]</sup>. GHS-R是一种G蛋白耦联受体, 包括I a和I b两型. 研究表明大多数Ghrelin的生理作用都是由I a型GHS-R介导

## ■背景资料

Ghrelin是1999年由日本科学家Kojima发现的生长激素促分泌素受体的内源性配体, 与受体结合后产生广泛的生物学效应, 可刺激生长激素分泌、调节能量代谢等作用. 同时在消化系统中, Ghrelin具有保护胃肠黏膜、调节胃肠动力、促进胃酸分泌及控制肿瘤细胞增殖的作用, 本文主要介绍Ghrelin与胃肠道系统关系的研究进展.

## ■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

## ■相关报道

目前较多的研究结果显示, Ghrelin可促进胃肠道动力、促进胃酸分泌, 并且根据Ghrelin及受体类似物等应用于临床诊疗, 如Masuda等发现Ghrelin可促进胃酸分泌, Xu等发现促进胃肠动力, Mottershead发现与胃肠道癌症之间的关系等。

## ■创新盘点

本文总结Ghrelin与胃肠道疾病的关系, 如与*H. pylori*、胃肠动力、胃酸分泌、黏膜保护、肿瘤等。

的, 其mRNA在垂体和下丘脑表达量最高, 同时在丘脑和周围组织, 包括胃肠道平滑肌组织、胃肠道内在神经丛、神经节均有表达<sup>[6]</sup>。

## 2 Ghrelin与胃肠道疾病的关系

Ghrelin主要产生于胃底、体的泌酸腺细胞, 其次产生于小肠和结肠, 在下丘脑、垂体、肾、胎盘及其他组织周边也有少量分泌, 作为主要由胃肠道释放的脑肠肽, Ghrelin通过旁分泌、自分泌、远距分泌等方式, 结合神经-体液调节, 联系胃肠道和中枢系统, 进一步调节消化系统。

**2.1 Ghrelin与幽门螺杆菌的关系** 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)为最常见的胃黏膜损伤因素之一, 是慢性胃炎、胃十二指肠溃疡、胃癌的主要致病因素。*H. pylori*的致病机制包括: *H. pylori*致病因子对黏膜的直接损害、宿主的免疫应答介导的黏膜损伤、*H. pylori*感染后胃肠调节肽调节失衡导致的胃肠功能紊乱等。其中对前两种机制的研究已经比较广泛和深入<sup>[7]</sup>, 但对*H. pylori*感染与胃肠调节肽关系的研究尚有待深入<sup>[8,9]</sup>。主要包括*H. pylori*感染是否影响胃黏膜Ghrelin释放, 其中Nweneka等<sup>[8]</sup>对19篇相关文献中的1 801名患者进行Meta分析, 结果显示*H. pylori*阳性患者血浆Ghrelin水平明显低于阴性者。Isomoto等<sup>[10]</sup>研究发现*H. pylori*阳性者血浆Ghrelin的浓度显著低于阴性者, *H. pylori*阳性者胃黏膜Ghrelin的mRNA表达亦低于阴性者, 且血浆Ghrelin水平与胃黏膜mRNA表达呈正相关。但*H. pylori*阳性者胃黏膜Ghrelin的免疫反应阳性细胞较阴性者未见明显差异, 而有学者<sup>[11,12]</sup>发现*H. pylori*阳性患者胃黏膜Ghrelin免疫反应阳性细胞明显低于阴性患者。同时各项针对*H. pylori*根除前后血浆及胃黏膜的Ghrelin的变化研究亦存在较大分歧: Lee等<sup>[13]</sup>研究发现, 根除*H. pylori*可明显增加胃底黏膜Ghrelin mRNA的表达, 且胃黏膜肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factors- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )水平明显较前降低。Osawa等<sup>[14]</sup>发现在*H. pylori*根除后有50例患者血浆Ghrelin水平升高, 84例患者减少, 但在*H. pylori*根除后胃黏膜的preproghrelin的mRNA的表达较前增加4倍。而Nweneka等<sup>[8]</sup>发现对*H. pylori*进行根除治疗后, 血浆Ghrelin并无明显降低。

**2.2 Ghrelin与胃酸分泌的关系** Ghrelin是通过中枢和外周来调节胃酸分泌的活性肽, 经迷走神经、胃泌素等参与胃酸分泌的调节。Masuda等<sup>[15]</sup>研究发现大鼠静脉注射Ghrelin可增加

胃酸分泌, 给药(0.8-20.0  $\mu\text{g/kg}$ ), 20 min后胃酸分泌达到高峰, 50 min时基本恢复, 其最大效应相当于组胺(3 mg/kg)刺激产生的胃酸分泌。该作用可被阿托品或迷走神经切断阻断, 但不能被组胺H<sub>2</sub>受体拮抗剂(法莫替丁)阻断, 提示Ghrelin的促胃酸分泌作用与迷走神经通路以及胃内肠嗜铬样细胞释放组胺有关。同时研究发现, 与对照组相比, 延髓中的孤束核、迷走神经背侧核上的*fos*基因表达增强, 推测Ghrelin可通过激活孤束核、迷走神经背侧核, 实现胃酸分泌的中枢调节。而Yakabi等<sup>[16]</sup>研究发现法莫替丁完全抑制Ghrelin诱导的胃酸分泌, Ghrelin注射后可增加胃黏膜的组氨酸脱羧酶mRNA分泌, 且上述作用迷走神经切断所抑制。而Fukumoto等<sup>[17]</sup>研究发现, 胃泌素可直接刺激胃内Ghrelin的释放, 同时给予胃泌素和Ghrelin在胃酸分泌中起协同促进作用。

**2.3 Ghrelin与黏膜保护的关系** 各种生物感染、理化刺激、药物、应激等因素均可导致胃肠道黏膜急慢性损伤。研究发现Ghrelin不仅有促进胃酸分泌、促进胃肠动力等作用, 同时也是一种胃黏膜保护剂。胃黏膜保护是一个多因素参与的复杂过程, 其中比较重要的是环氧酶-前列腺素系统、抗氧化应激系统、NO系统等。具体如下。

**2.3.1 Ghrelin与环氧酶-前列腺素:** Brzozowski等<sup>[18]</sup>研究发现Ghrelin可剂量依赖性的增加胃酸分泌、胃黏膜血流量及黏膜PGE<sub>2</sub>的表达, 明显减少MPO的活性和MDA浓度。GHS-R拮抗剂和环氧酶(Cyclooxygenase, COX)抑制剂均降低Ghrelin的保护作用, 后者给予PGE<sub>2</sub>类似物后可恢复Ghrelin的保护作用, 提示Ghrelin的作用机制与环氧酶-前列腺素系统(COX-PG)紧密相关。

**2.3.2 Ghrelin与氧化应激:** 胃黏膜损伤及溃疡最常见的原因因*H. pylori*感染与服用非甾体抗炎药。*H. pylori*在其定植的过程中可诱导强大的炎症反应, 产生大量的活性氧<sup>[19,20]</sup>, 且非甾体抗炎药引起的胃黏膜损伤的发病机制中, 氧自由基也发挥了重要的作用<sup>[21]</sup>。许多研究认为Ghrelin最显著的胃黏膜保护作用应该是其抗氧化作用。El Eter等<sup>[22]</sup>报告外周应用Ghrelin后血清LDH和局部组织的TNF- $\alpha$ 水平均显著降低, 同时可通过减少溃疡形成、组织充血、细胞炎症渗出和血管渗透性, 从而减少胃黏膜损伤。同时可见硫代巴比妥酸反应产物(TBARS)的减少和GSH的增加, 这表明Ghrelin具有抗氧化活性, 同时体外研



究发现Ghrelin亦可抑制ROS的生成。

**2.3.3 Ghrelin与NO系统和神经系统的关系:** Konturek等<sup>[23]</sup>研究发现Ghrelin可明显加快胃肠道炎症的愈合, 同时相应增加局部黏膜的iNOS和COX-2表达。Slomiany等<sup>[24]</sup>研究发现Ghrelin可改变*H. pylori*导致的胃黏膜细胞凋亡, 抑制胃黏膜iNOS活化, 促进cNOS表达。Brzozowski等<sup>[25]</sup>研究发现Ghrelin可明显增加胃黏膜血流量、黏膜NO浓度、血浆Ghrelin和胃泌素水平从而促进胃酸分泌和抑制乙醇和应激引起的病变, 而这种作用及影响取决于迷走神经活动和NO系统。

**2.3.4 Ghrelin与生长激素和胰岛素样生长因子-1:** Ceranowicz等<sup>[26]</sup>研究表明Ghrelin促进慢性胃溃疡愈合作用是通过释放内源性生长激素(growth hormone, GH)和胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)来介导的。他们对乙酸诱导慢性胃十二指肠炎症或溃疡的研究发现, 给予Ghrelin后可增加小鼠血清GH和IGF-1水平, 同时增加胃黏膜细胞的增殖、胃黏膜血流量和胃和十二指肠溃疡愈合率。

**2.3.5 Ghrelin与其他:** Slomiany等<sup>[27]</sup>研究认为Ghrelin黏膜保护作用涉及NO和PGE2合成的增加, 并有显著上调细胞内磷脂酶2(cPLA2)的活化和花生四烯酸(AA)释放, 而L-精氨酸抑制上述作用。Fahim等<sup>[28]</sup>发现Ghrelin可以通过调节细胞增生促进阿霉素诱导的小鼠的黏膜损伤。

**2.4 Ghrelin与胃肠动力的关系** Ghrelin与胃动素(motilin)相仿, 其中有36%的氨基酸序列相同, 而受体有50%与Motilin受体相同<sup>[29]</sup>。Ghrelin对胃肠道动力的调节作用不容忽视, 他能加强胃体收缩, 加速胃排空, 促进小肠和结肠推进运动, 缩短肠道转运时间, 诱发消化间期移行性复合运动(MMC)III相提前出现, 缩短MMC发生周期。研究表明, 通过室旁核微量注射药物, Ghrelin可增加下丘脑NPY的表达, 而NPY1受体及CRF1受体拮抗剂可阻断Ghrelin的促胃肠动力作用<sup>[30]</sup>。另外研究发现在迷走传入神经元上分布有Ghrelin受体, 这可能是Ghrelin信号和迷走传入神经活动相互作用的基础<sup>[31-33]</sup>。而Ghrelin直接刺激胃肠内在神经通路和辣椒素敏感性传入神经元而促进胃的排空。迷走神经切断术或大剂量辣椒素阻断胃的迷走神经传入纤维, Ghrelin所引起的摄食增加、生长激素分泌增多、激活NPY能神经元和GHR神经元对胃黏膜损伤的保护作用等也被阻断<sup>[34-36]</sup>。同时胃肠壁内神经丛和平滑肌对各种化学物质具有广泛的敏感性。除乙酰胆

碱、去甲肾上腺素等神经递质外, 一些胃肠肽类激素和胺, 都可直接作用于平滑肌上的受体或通过神经介导调节平滑肌的运动。Xu等<sup>[37,38]</sup>对豚鼠的应用RT-PCR发现胃动素、生长素和生长素受体转录在肌间神经丛和体外培养肌间神经元, 从而直接表明Ghrelin可以发挥激活肠神经系统调节胃肠运动。潜在的Ghrelin及其受体激动剂被用来作为新的促动力类药物实验性的用于治疗糖尿病、神经性或特发性胃轻瘫, 化疗引起的消化不良, 术后肠梗阻或阿片类药物引起的肠道功能障碍和慢性特发性便秘等<sup>[39]</sup>。

**2.5 Ghrelin与消化系肿瘤的关系** 除上述生理作用外, Ghrelin在肿瘤的发生、发展过程中也起重要作用, 部分原因在于他的促生长激素释放功能, 生长激素被认为能增加癌的发病率<sup>[40]</sup>。大量研究显示<sup>[41]</sup>, 许多肿瘤组织和癌细胞株中表达Ghrelin和GHS-R, 如中枢神经系统的垂体瘤、消化系的胃癌、胃神经内分泌细胞增生和肠癌等。Wang等<sup>[42]</sup>研究发现, 在人类不同部位胃肠道肿瘤中均有Ghrelin受体表达, 其表达水平可能与器官类型、组织分级、肿瘤淋巴结转移阶段和营养状况有关。推测Ghrelin-GHS-R系统参与消化系肿瘤的发生发展过程。有学者<sup>[43-45]</sup>用免疫组织化学的方法发现Ghrelin在胃癌、食管癌中的表达较正常组织明显减少, 并随肿瘤的浸润深度的加深Ghrelin逐渐表达降低, 在胃癌组织中Ghrelin和受体GHSR-1a结合激活PKC-MAKP-ERK和IP3-Akt通路, 促进胃癌细胞的增殖和侵袭。提示Ghrelin表达降低促进胃癌的发展可作为预测胃癌恶性程度和预后的参考指标, 并可能称为一个潜在的治疗靶点<sup>[46]</sup>。

### 3 结论

在越来越多的胃肠道系统中发现Ghrelin及其受体的分布和表达, 提示Ghrelin在胃肠系统中具有广泛的调节作用, 甚至参与了很多胃肠系统疾病的病理生理过程, 但其影响机制及相互作用的过程有待进一步的研究<sup>[47]</sup>。Ghrelin的这些生物学效应有望为消化系肿瘤、胃肠动力疾病、胃肠道炎症等病变的诊疗提供新的思路<sup>[48,49]</sup>, 具有广阔的应用前景。

### 4 参考文献

- 1 Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660 [PMID: 10604470 DOI: 10.1038/45230]

### ■应用要点

目前Ghrelin的研究尚处于基础阶段, 只有少部分涉及临床应用的研究, 争议较广泛, 但综合各研究结果, Ghrelin在促进胃肠动力方面有更广阔的前景。

## ■名词解释

Ghrelin: 生长激素促分泌素受体的内源性配体, 与受体结合后产生广泛的生物学效应, 可刺激生长激素分泌、调节能量代谢等作用。  
生长素酰基转移酶: 人Ghrelin的分子结构与胃动素十分相似, 主要有两种分子存在形式, 即N端第3位丝氨酸残基的辛酰基化(AG)和非辛酰基化(DAG), 这种修饰酶最近被确定和命名为生长素酰基转移酶。

- 2 van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25: 426-457 [PMID: 15180951 DOI: 10.1210/er.2002-0029]
- 3 Gahete MD, Córdoba-Chacón J, Salvatori R, Castaño JP, Kineman RD, Luque RM. Metabolic regulation of ghrelin O-acyl transferase (GOAT) expression in the mouse hypothalamus, pituitary, and stomach. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 317: 154-160 [PMID: 20035826 DOI: 10.1016/j.mce.2009.12.023]
- 4 Ohgusu H, Takahashi T, Kojima M. Enzymatic characterization of GOAT, ghrelin O-acyltransferase. *Methods Enzymol* 2012; 514: 147-163 [PMID: 22975052]
- 5 Lim CT, Kola B, Grossman A, Korbonits M. The expression of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) in human tissues. *Endocr J* 2011; 58: 707-710 [PMID: 21646729 DOI: 10.1507/endocrj.K11E-117]
- 6 Kitazawa T, Nakamura T, Saeki A, Teraoka H, Hiraga T, Kaiya H. Molecular identification of ghrelin receptor (GHS-R1a) and its functional role in the gastrointestinal tract of the guinea-pig. *Peptides* 2011; 32: 1876-1886 [PMID: 21843569 DOI: 10.1016/j.peptides.2011.07.026]
- 7 Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 449-490 [PMID: 16847081 DOI: 10.1128/CMR.00054-05]
- 8 Nweneka CV, Prentice AM. *Helicobacter pylori* infection and circulating ghrelin levels - a systematic review. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 7 [PMID: 21269467 DOI: 10.1186/1471-230X-11-7]
- 9 Zub-Pokrowiecka A, Rembiesz K, Konturek SJ, Budzynski A, Konturek PC, Budzynski P. Ghrelin in diseases of the gastric mucosa associated with *Helicobacter pylori* infection. *Med Sci Monit* 2010; 16: CR493-CR500 [PMID: 20885354]
- 10 Isomoto H, Ueno H, Saenko VA, Mondal MS, Nishi Y, Kawano N, Ohnita K, Mizuta Y, Ohtsuru A, Yamashita S, Nakazato M, Kohno S. Impact of *Helicobacter pylori* infection on gastric and plasma ghrelin dynamics in humans. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1711-1720 [PMID: 16086706 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41492.x]
- 11 Osawa H. Ghrelin and *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6327-6333 [PMID: 19009647 DOI: 10.3748/wjg.14.6327]
- 12 Ikeda K, Chiba T, Sugai T, Kangawa K, Hosoda H, Suzuki K. Correlation between plasma or mucosal ghrelin levels and chronic gastritis. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1622-1627 [PMID: 21940353]
- 13 Lee ES, Yoon YS, Park CY, Kim HS, Um TH, Baik HW, Jang EJ, Lee S, Park HS, Oh SW. Eradication of *Helicobacter pylori* increases ghrelin mRNA expression in the gastric mucosa. *J Korean Med Sci* 2010; 25: 265-271 [PMID: 20119581 DOI: 10.3346/jkms.2010.25.2.265]
- 14 Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Nakazato M, Date Y, Bowlus CL, Ishino Y, Watanabe E, Shiiya T, Ueno H, Hoshino H, Satoh K, Sugano K. Changes in plasma ghrelin levels, gastric ghrelin production, and body weight after *Helicobacter pylori* cure. *J Gastroenterol* 2006; 41: 954-961 [PMID: 17096064 DOI: 10.1007/s00535-006-1880-4]
- 15 Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276: 905-908 [PMID: 11027567 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3568]
- 16 Yakabi K, Kawashima J, Kato S. Ghrelin and gastric acid secretion. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6334-6338 [PMID: 19009648 DOI: 10.3748/wjg.14.6334]
- 17 Fukumoto K, Nakahara K, Katayama T, Miyazatao M, Kangawa K, Murakami N. Synergistic action of gastrin and ghrelin on gastric acid secretion in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 374: 60-63 [PMID: 18611393 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.114]
- 18 Brzozowski T, Konturek PC, Sliwowski Z, Pajdo R, Drozdowicz D, Kwiecien S, Burnat G, Konturek SJ, Pawlik WW. Prostaglandin/cyclooxygenase pathway in ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319: 477-487 [PMID: 16868036 DOI: 10.1124/jpet.106.105932]
- 19 Wang G, Olczak A, Forsberg LS, Maier RJ. Oxidative stress-induced peptidoglycan deacetylase in *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 2009; 284: 6790-6800 [PMID: 19147492 DOI: 10.1074/jbc.M808071200]
- 20 Suzuki H, Matsuzaki J, Hibi T. Ghrelin and oxidative stress in gastrointestinal tract. *J Clin Biochem Nutr* 2011; 48: 122-125 [PMID: 21373264 DOI: 10.3164/jcbs.10-16GFR]
- 21 Murata Y, Matsui H, Hirano KI, Kondo Y, Yanaka A, Nakahara A, Tanaka N, Muto H. Autofluorescence in indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats. *J Gastroenterol* 2000; 35: 510-517 [PMID: 10905358 DOI: 10.1007/s005350070073]
- 22 El Eter E, Al Tuwaijiri A, Hagar H, Arafa M. In vivo and in vitro antioxidant activity of ghrelin: Attenuation of gastric ischemic injury in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1791-1799 [PMID: 17914952 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04696.x]
- 23 Konturek PC, Brzozowski T, Engel M, Burnat G, Gaca P, Kwiecien S, Pajdo R, Konturek SJ. Ghrelin ameliorates colonic inflammation. Role of nitric oxide and sensory nerves. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 41-47 [PMID: 19617644]
- 24 Slomiany BL, Slomiany A. Role of constitutive nitric oxide synthase S-nitrosylation in *Helicobacter pylori*-induced gastric mucosal cell apoptosis: effect of ghrelin. *Inflammopharmacology* 2010; 18: 233-240 [PMID: 20596895 DOI: 10.1007/s10787-010-0051-7]
- 25 Brzozowski T, Konturek PC, Drozdowicz D, Konturek SJ, Pawlik M, Sliwowski Z, Pawlik WW, Hahn EG. Role of central and peripheral ghrelin in the mechanism of gastric mucosal defence. *Inflammopharmacology* 2005; 13: 45-62 [PMID: 16259727 DOI: 10.1163/156856005774423971]
- 26 Ceranowicz P, Warzecha Z, Dembinski A, Sendur R, Cieszkowski J, Ceranowicz D, Pawlik WW, Kuwahara A, Kato I, Konturek PC. Treatment with ghrelin accelerates the healing of acetic acid-induced gastric and duodenal ulcers in rats. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 87-98 [PMID: 19439811]
- 27 Slomiany BL, Slomiany A. Involvement of constitutive nitric oxide synthase in ghrelin-induced cytosolic phospholipase A(2) activation in gastric mucosal cell protection against ethanol cytotoxicity. *Inflammopharmacology* 2009; 17: 245-253 [PMID: 19757089 DOI: 10.1007/s10787-009-0013-0]
- 28 Fahim MA, Kataya H, El-Kharrag R, Amer DA, al-Ramadi B, Karam SM. Ghrelin attenuates gastroin-

- testinal epithelial damage induced by doxorubicin. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3836-3841 [PMID: 21987627 DOI: 10.3748/wjg.v17.i33.3836]
- 29 Ohno T, Mochiki E, Kuwano H. The roles of motilin and ghrelin in gastrointestinal motility. *Int J Pept* 2010; 2010 [PMID: 20798893]
- 30 Tebbe JJ, Mrona S, Tebbe CG, Ortmann E, Arnold R, Schäfer MK. Ghrelin-induced stimulation of colonic propulsion is dependent on hypothalamic neuropeptide Y1- and corticotrophin-releasing factor 1 receptor activation. *J Neuroendocrinol* 2005; 17: 570-576 [PMID: 16101895 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2005.01340.x]
- 31 Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Nijima A, Fujino MA, Kasuga M. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001; 120: 337-345 [PMID: 11159873 DOI: 10.1053/gast.2001.22158]
- 32 Ochi M, Tominaga K, Tanaka F, Tanigawa T, Shiba M, Watanabe T, Fujiwara Y, Oshitani N, Higuchi K, Arakawa T. Effect of chronic stress on gastric emptying and plasma ghrelin levels in rats. *Life Sci* 2008; 82: 862-868 [PMID: 18343456 DOI: 10.1016/j.lfs.2008.01.020]
- 33 Date Y. Ghrelin and the vagus nerve. *Methods Enzymol* 2012; 514: 261-269 [PMID: 22975058]
- 34 Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Kwiecień S, Drozdowicz D, Bielanski W, Pajdo R, Ptak A, Nikiforuk A, Pawlik WW, Hahn EG. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Pept* 2004; 120: 39-51 [PMID: 15177919 DOI: 10.1016/j.regpep.2004.02.010]
- 35 Nakamura T, Onaga T, Kitazawa T. Ghrelin stimulates gastric motility of the guinea pig through activation of a capsaicin-sensitive neural pathway: in vivo and in vitro functional studies. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 446-452, e107 [PMID: 19840269]
- 36 Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin on the gastrointestinal motility. *Peptides* 2011; 32: 2348-2351 [PMID: 21835213 DOI: 10.1016/j.peptides.2011.07.020]
- 37 Xu L, Depoortere I, Tomasetto C, Zandecki M, Tang M, Timmermans JP, Peeters TL. Evidence for the presence of motilin, ghrelin, and the motilin and ghrelin receptor in neurons of the myenteric plexus. *Regul Pept* 2005; 124: 119-125 [PMID: 15544849]
- 38 Yang CG, Wang WG, Yan J, Fei J, Wang ZG, Zheng Q. Gastric motility in ghrelin receptor knockout mice. *Mol Med Report* 2012 Oct 29. [Epub ahead of print][PMID: 23128468 DOI: 10.3892/mmr.2012.1157]
- 39 Greenwood-Van Meerveld B, Kriegsman M, Nelson R. Ghrelin as a target for gastrointestinal motility disorders. *Peptides* 2011; 32: 2352-2356 [PMID: 21453735 DOI: 10.1016/j.peptides.2011.03.014]
- 40 Chopin L, Walpole C, Seim I, Cunningham P, Murray R, Whiteside E, Josh P, Herington A. Ghrelin and cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 340: 65-69 [PMID: 21616120 DOI: 10.1016/j.mce.2011.04.013]
- 41 Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-887 [PMID: 11158061 DOI: 10.1210/jc.86.2.881]
- 42 Wang Z, Wang W, Qiu W, Fan Y, Zhao J, Wang Y, Zheng Q. Involvement of ghrelin-growth hormone secretagogue receptor system in pathoclinical profiles of digestive system cancer. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2007; 39: 992-998 [PMID: 18064392 DOI: 10.1111/j.1745-7270.2007.00360.x]
- 43 Mottershead M, Karteris E, Barclay JY, Suortamo S, Newbold M, Randeva H, Nwokolo CU. Immunohistochemical and quantitative mRNA assessment of ghrelin expression in gastric and oesophageal adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 2007; 60: 405-409 [PMID: 16751299 DOI: 10.1136/jcp.2006.038356]
- 44 Fujitsuka N, Asakawa A, Amitani H, Fujimiya M, Inui A. Ghrelin and gastrointestinal movement. *Methods Enzymol* 2012; 514: 289-301 [PMID: 22975060]
- 45 Tian PY, Fan XM. The proliferative effects of ghrelin on human gastric cancer AGS cells. *J Dig Dis* 2012; 13: 453-458 [PMID: 22908970 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00616.x]
- 46 Nikolopoulos D, Theocharis S, Kouraklis G. Ghrelin: a potential therapeutic target for cancer. *Regul Pept* 2010; 163: 7-17 [PMID: 20382189 DOI: 10.1016/j.regpep.2010.03.011]
- 47 Jeffery P, McDonald V, Tippet E, McGuckin M. Ghrelin in gastrointestinal disease. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 340: 35-43 [PMID: 21458525 DOI: 10.1016/j.mce.2011.03.002]
- 48 Akamizu T, Kangawa K. The physiological significance and potential clinical applications of ghrelin. *Eur J Intern Med* 2012; 23: 197-202 [PMID: 22385874 DOI: 10.1016/j.ejim.2011.12.001]
- 49 Deboer MD. Use of ghrelin as a treatment for inflammatory bowel disease: mechanistic considerations. *Int J Pept* 2011; 2011: 189242 [PMID: 21845198]

#### 同行评价

对于Ghrelin的研究处于基础阶段,且分泌及受体作用范围广泛,单独应用于胃肠道的临床研究较少,应在基础研究的基础上更加注重临床应用前景的表述。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 海尔曼螺杆菌与幽门螺杆菌相关性胃炎的临床病理特征

张贺军, 崔荣丽, 韩亚京, 尚慧茹, 张颖, 金珠

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染在消化科日常工作中比较常见, 但是海尔曼螺杆菌(*H. heilmannii*)感染较少见, 本文旨在总结*H. heilmannii*感染患者的内镜、病理特征, 使读者能意识到*H. heilmannii*感染可以引起与*H. pylori*感染相似的组织病理学改变, 从而重视对其的诊断。

张贺军, 崔荣丽, 韩亚京, 尚慧茹, 张颖, 金珠, 北京大学第三医院消化科 北京市 100191

张贺军, 硕士, 助理研究员, 主要从事消化系统疾病的病理诊断与研究。

作者贡献分布: 此课题由张贺军与金珠设计; 研究过程由张贺军、崔荣丽、韩亚京、尚慧茹及张颖操作完成; 研究所用分析工具由金珠提供; 数据分析由张贺军完成; 本论文写作由张贺军完成。

通讯作者: 金珠, 副研究员, 100191, 北京市海淀区花园北路49号, 北京大学第三医院消化科. hjzhang99@126.com

收稿日期: 2012-09-28 修回日期: 2012-11-23

接受日期: 2012-12-28 在线出版日期: 2013-01-28

## Clinical characteristics of *Helicobacter heilmannii*- versus *Helicobacter pylori*-associated gastritis in Chinese patients

He-Jun Zhang, Rong-Li Cui, Ya-Jing Han, Hui-Ru Shang, Ying Zhang, Zhu Jin

He-Jun Zhang, Rong-Li Cui, Ya-Jing Han, Hui-Ru Shang, Ying Zhang, Zhu Jin, Department of Gastroenterology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Correspondence to: Zhu Jin, Associate Researcher, Department of Gastroenterology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China. hjzhang99@126.com

Received: 2012-09-28 Revised: 2012-11-23

Accepted: 2012-12-28 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To compare the endoscopic and histopathological characteristics of *Helicobacter heilmannii* (*H. heilmannii*)- versus *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-associated gastritis in Chinese patients.

**METHODS:** Gastric biopsy specimens from 53 559 consecutive patients treated at Peking University Third Hospital from January 2003 to January 2010 were reviewed retrospectively. All cases of chronic gastritis were evaluated based on the Updated Sydney System. Endoscopic and histopathological characteristics of cases with *H. heilmannii* infection were compared with those with *H. pylori* infection.

**RESULTS:** There were 46 cases with *H. heilmannii* infection (0.1%) and 18 326 cases with *H.*

*pylori* infection (34.2%). Compared to *H. pylori*-associated gastritis, *H. heilmannii*-associated gastritis showed a lower bacterial density ( $P < 0.001$ ), less severe mononuclear cell infiltration ( $P < 0.001$ ) and neutrophil activity ( $P < 0.001$ ), and endoscopic findings of *H. heilmannii*-associated gastritis were devoid of ulcer ( $P = 0.021$ ). *H. heilmannii* density showed a significant correlation with neutrophil activity ( $P = 0.02$ ), but not with chronic inflammation ( $P = 0.159$ ). The percentages of patients with mucosal atrophy, intestinal metaplasia and intraepithelial neoplasia in the *H. heilmannii*-associated gastritis group were 23.9%, 21.7% and 4.3%, respectively, and there was no significant difference in the prevalence and degree of these precancerous lesions between the two groups. A case of signet-ring cell carcinoma concomitant with *H. heilmannii* infection was detected.

**CONCLUSION:** *H. heilmannii*-associated gastritis is uncommon and milder than *H. pylori*-associated gastritis. The observation that there were no significant differences between two groups in the prevalence and degree of mucosal atrophy, intestinal metaplasia and intraepithelial neoplasia suggests that *H. heilmannii* may be partly responsible for malignant-associated lesions just as *H. pylori* does. In addition, one case of signet-ring cell carcinoma concomitant with *H. heilmannii* infection was noted.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** *Helicobacter heilmannii*; *Helicobacter pylori*; Gastritis; Precancerous lesions; Gastric carcinoma

Zhang HJ, Cui RL, Han YJ, Shang HR, Zhang Y, Jin Z. Clinical characteristics of *Helicobacter heilmannii*- versus *Helicobacter pylori*-associated gastritis in Chinese patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 244-249

## 摘要

**目的:** 分析海尔曼螺杆菌(*Helicobacter heilmannii*, *H. heilmannii*)相关性胃炎与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关性胃

## ■同行评议者

任建林, 教授, 厦门大学附属中山医院消化内科

炎的胃镜及组织病理学差异。

**方法:** 回顾性分析2003-01/2010-01于北京大学第三医院行胃镜及病理检查的53 559例病例的相关资料。对*H. heilmannii*相关性胃炎与*H. pylori*相关性胃炎在内镜所见、炎症浸润、癌前病变的等方面进行对比分析。

**结果:** *H. heilmannii*感染病例的检出率为0.1%(46/53 559); 与*H. pylori*相关性胃炎相比, *H. heilmannii*相关性胃炎病例中螺旋杆菌定植量较少( $P < 0.001$ ), 胃黏膜急、慢性炎症程度轻( $P < 0.001$ ), 内镜下溃疡性病变更为少见( $P = 0.021$ )。此外, 两组病例中胃黏膜萎缩、肠上皮化生及上皮内瘤变的检出率及病变程度均无显著性差异。相关分析显示*H. heilmannii*相关性胃炎病例中细菌定植量仅与胃黏膜急性炎症细胞浸润程度相关( $P = 0.02$ )。报道1例伴发*H. heilmannii*感染的胃印戒细胞癌病例。

**结论:** *H. heilmannii*相关性胃炎非常少见且其炎症反应较轻, 但是其癌前病变的检出率及病变程度与*H. pylori*相关性胃炎相比未见显著性差异, 表明*H. heilmannii*在胃恶性相关性病变的发生过程中可能发挥与*H. pylori*相似的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 海尔曼螺杆菌; 幽门螺杆菌; 胃炎; 癌前病变; 胃癌

张贺军, 崔荣丽, 韩亚京, 尚慧茹, 张颖, 金珠. 海尔曼螺杆菌与幽门螺杆菌相关性胃炎的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 244-249  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/244.asp>

## 0 引言

目前已发现至少35种螺旋杆菌, 但仅有小部分被证实与人类胃炎的发生相关<sup>[1]</sup>。海尔曼螺杆菌(*Helicobacter heilmannii*, *H. heilmannii*)是除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)外最常见的定植于人类胃黏膜的螺旋杆菌, 国内外文献报道*H. heilmannii*的感染率约为0.1%-6.2%<sup>[2-6]</sup>。目前已有文献报道海尔曼螺杆菌的感染与胃炎<sup>[7-9]</sup>、消化性溃疡<sup>[10]</sup>、消化不良<sup>[11]</sup>、胃癌及胃黏膜相关恶性淋巴瘤<sup>[12-16]</sup>等疾病的发生存在相关性。本研究通过回顾性分析总结*H. heilmannii*相关性胃炎的临床病理特点, 并与*H. pylori*相关性胃炎对比在内镜及组织病理学等方面的差异。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 分析2003-01/2010-01于我院行上消化道内镜及活检组织病理检查的病例53 559例。

**1.2 方法** 常规行上消化道内镜检查, 将内镜下所见分为慢性胃炎(包括慢性胃炎伴糜烂、慢性胃炎伴息肉等)、消化性溃疡(包括胃溃疡、十二指肠溃疡和复合溃疡)。于内镜表现异常部位进行活检, 活检组织固定于4%甲醛溶液, 常规石蜡包埋, 4  $\mu\text{m}$ 连续切片, 分别行HE和Warthin-Starry(WS)染色, 进行组织学评价及判定螺旋杆菌感染状况。活检组织的炎症细胞浸润、腺体萎缩、肠上皮化生、螺旋杆菌感染等组织学评价及分级依据悉尼胃炎分类标准<sup>[17]</sup>; 胃黏膜上皮细胞的异型增生评价依据WHO标准<sup>[18]</sup>分为低级别上皮内瘤变和高级别上皮内瘤变两级。WS染色切片中*H. heilmannii*形态判定依据Heilmann等<sup>[19]</sup>文献报道, 即菌体较直且明显大于*H. pylori*, 约4-10  $\mu\text{m}$ , 有多个盘绕较紧的螺旋(呈螺丝锥样形态, 图1A)。

**统计学处理** 利用SPSS13.0统计分析软件, 分别采用 $t$ 检验、 $\chi^2$ 检验及秩和检验进行统计学分析, 以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。

## 2 结果

**2.1 一般资料** 7年间我院共检出46例*H. heilmannii*感染患者, *H. heilmannii*检出率为0.1%, 其中男26例, 女20例, 男女比为1.0 : 0.8; 年龄18-84(48.2  $\pm$  17.2)岁; 同期我院共检出18 326例*H. pylori*感染患者, *H. pylori*检出率为34.2%。仅发现1例患者同时感染*H. heilmannii*和*H. pylori*。以1 : 3的比例, 利用SPSS软件随机选取138例*H. pylori*相关性胃炎患者(除外合并*H. pylori*感染的恶性肿瘤及接受过胃部手术的患者), 其中男75例, 女63例, 男女比为1.0 : 0.8; 年龄19-79(49.0  $\pm$  15.8)岁。两组病例在年龄和性别构成上差异无统计学意义( $t = 0.295$ ,  $P = 0.768$ ;  $\chi^2 = 0.066$ ,  $P = 0.797$ )。

**2.2 内镜表现** 内镜下91.3%(42例)的*H. heilmannii*相关性胃炎患者表现为慢性胃炎, 仅4例发现存在溃疡性病变; *H. pylori*相关性胃炎患者中表现为慢性胃炎占75.4%, 溃疡性病变占24.6%。两组病例之间病变构成比差异有统计学意义( $P = 0.021$ , 表1), 溃疡性病变更常见于*H. pylori*相关性胃炎患者。进一步分析发现两组病例溃疡性病变更均以十二指肠溃疡最为常见, 分别为75.0%、70.6%; 两组病例在慢性胃炎构成类型上差异无统计学意义。

### ■ 研究前沿

由于*H. heilmannii*感染比较罕见, 对于其大宗病例分析比较少, 国内外文献报道胃癌患者中可有*H. heilmannii*感染, 仅局限于个别报道, *H. heilmannii*感染与胃癌是一种伴随现象还是因果关系, 目前还不清楚, 这也是目前研究的热点。

## ■相关报道

国内外多篇文献报道*H. heilmannii*感染相关的研究,但是病例数较少,有文献报道*H. heilmannii*感染与胃黏膜淋巴瘤存在显著相关性,但是本文未发现*H. heilmannii*感染的淋巴瘤病例。

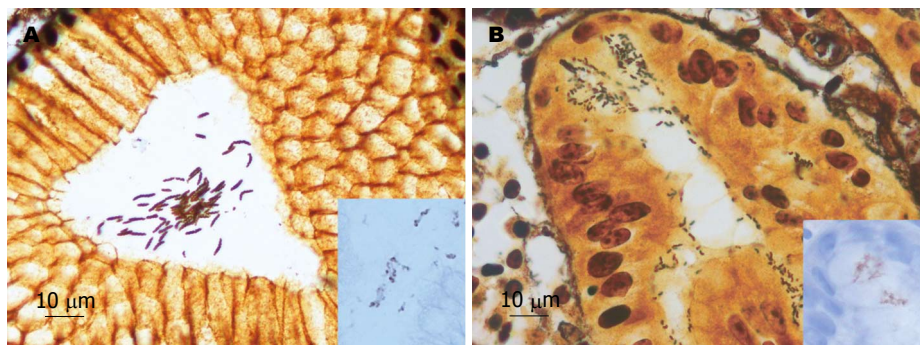


图1 Warthin-Starry染色中螺旋杆菌的形态(SP,  $\times 1000$ )。A: 海尔曼螺旋杆菌, 显示呈螺旋锥样形态, 菌体较大, 不与胃黏膜紧密黏附, 免疫组织化学染色显示与抗幽门螺杆菌抗体呈交叉阳性反应; B: 幽门螺杆菌, 与胃黏膜表面上皮紧密黏附, 免疫组织化学染色显示阳性。

表1 *H. heilmannii*相关性胃炎与*H. pylori*相关性胃炎内镜所见和组织病理学特征的对比  $n(\%)$

	<i>H. heilmannii</i> 相关性胃炎	<i>H. pylori</i> 相关性胃炎	$\chi^2$	P值
<i>n</i>	46	138		
内镜所见			5.351	0.021
慢性胃炎(CG)	42(91.3)	104(75.4)	0.176	0.916
CG	27(64.3)	65(62.5)		
CG伴糜烂	10(23.8)	28(26.9)		
CG伴其他 <sup>1</sup>	5(11.9)	11(10.6)		
溃疡性病变	4(8.7)	34(24.6)	—	—
胃溃疡	1(25.0)	6(17.6)		
十二指肠溃疡	3(75.0)	24(70.6)		
复合溃疡	0(0.0)	4(11.8)		
组织病理学所见				
慢性炎症	46(100.0)	138(100.0)	—	—
中性粒细胞	24(52.2)	133(96.4)	53.838	0.000
腺体萎缩	11(23.9)	43(31.2)	0.874	0.350
肠上皮化生	10(21.7)	47(34.1)	2.449	0.118
上皮内瘤变	2(4.3)	11(8.0)	0.248	0.618
淋巴滤泡形成/淋巴组织增生	29(63.0)	85(61.6)	0.310	0.861

<sup>1</sup>包括CG伴息肉, CG伴胆汁反流等。

2.3 组织病理学观察 *H. heilmannii*引起的患者胃黏膜组织病理学改变与*H. pylori*相关性胃炎患者相似, 均表现为慢性炎细胞(淋巴浆细胞)浸润, 但是*H. heilmannii*相关性胃炎胃黏膜活动性炎症(中性粒细胞)的检出率显著低于*H. pylori*相关性胃炎患者(52.2% vs 96.4%,  $P<0.001$ )。 *H. heilmannii*相关性胃炎患者胃黏膜腺体萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变及灶性淋巴组织增生的检出率分别为23.9%、21.7%、4.3%和63.0%, 与*H. pylori*相关性胃炎(31.2%、34.1%、8.0%和61.6%)相比均无统计学差异; 本研究184例患者中共发现13例上皮内瘤变(其中*H. heilmannii*感染组2例, *H. pylori*感染组11例), 均为低级别上皮内瘤

变(表1)。依据悉尼胃炎分类标准, 将两组病例胃黏膜的螺旋杆菌定植量、慢性炎细胞浸润、活动性、腺体萎缩、肠上皮化生等病变进行程度分级并比较。由表2可知, *H. heilmannii*相关性胃炎患者胃黏膜*H. heilmannii*定植量显著少于*H. pylori*相关性胃炎患者*H. pylori*定植量( $P<0.001$ ), 胃黏膜急、慢性炎症浸润程度明显轻于*H. pylori*相关性胃炎患者(均 $P<0.001$ ); 但两组病例之间胃黏膜发生肠上皮化生、腺体萎缩的程度无显著性差异。

利用Spearman等级相关分析分析螺旋杆菌定植量与胃黏膜炎症反应之间的相关关系, 结果显示*H. pylori*相关性胃炎组胃黏膜*H. pylori*定



表 2 *H. heilmannii*相关性胃炎与*H. pylori*相关性胃炎组织病理学特征的分级及对比  $n(\%)$ 

	<i>H. heilmannii</i> 相关性胃炎	<i>H. pylori</i> 相关性胃炎	$\chi^2$	<i>P</i> 值
<i>n</i>	46	138		
螺旋杆菌定植量			-5.109	0.000
轻度	42(91.3)	67(48.5)		
中度	4(8.7)	51(37.0)		
重度	0(0.0)	20(14.5)		
慢性炎症程度			-7.179	0.000
无	0(0.0)	0(0.0)		
轻度	27(58.7)	10(7.3)		
中度	19(41.3)	111(80.4)		
重度	0(0.0)	17(12.3)		
急性炎症程度			-7.419	0.000
无	22(47.8)	5(3.6)		
轻度	21(45.7)	54(39.1)		
中度	3(6.5)	67(48.6)		
重度	0(0.0)	12(8.7)		
肠上皮化生			-1.675	0.094
无	36(78.3)	91(66.0)		
轻度	7(15.2)	28(20.3)		
中度	2(4.3)	5(3.6)		
重度	1(2.2)	14(10.1)		
腺体萎缩			-1.086	0.278
无	35(76.1)	95(68.9)		
轻度	8(17.4)	24(17.4)		
中度	1(2.2)	5(3.6)		
重度	2(4.3)	14(10.1)		

植量与胃黏膜急、慢性炎细胞浸润呈显著相关( $r = 0.183$ ,  $P = 0.032$  vs 急性炎症;  $r = 0.199$ ,  $P = 0.019$  vs 慢性炎症); 而*H. heilmannii*相关性胃炎组*H. heilmannii*定植量仅与胃黏膜急性炎症反应显著相关( $r = 0.342$ ,  $P = 0.02$ ), 与慢性炎症反应未见显著相关性( $r = 0.211$ ,  $P = 0.159$ ).

**2.4 胃癌伴发*H. heilmannii*感染** 在本研究*H. heilmannii*感染组病例中发现一例胃印戒细胞癌(2.2%, 1/46), 而同期本院18 326例*H. pylori*感染病例中发现304例胃腺癌(1.7%), 其中55例为胃印戒细胞癌。该患者, 女, 24岁, 上腹部不适2年。实验室检查显示血清CA125轻度升高; 胃镜显示胃窦部前壁及大弯可见一深大溃疡, 累及窦腔近1/2, 被覆污秽苔, 底不平坦, 周边呈堤样隆起, 活检质脆。溃疡周边活检组织病理检查为印戒细胞癌, 非溃疡区域活检组织为慢性非萎缩性胃炎(轻度活动)伴*H. heilmannii*感染。术后病理证实为印戒细胞癌, 癌细胞侵及浆膜层。患者否认有胃癌家族史。

### 3 讨论

Warren和Marshall<sup>[21]</sup>从人类胃黏膜组织中成功分

离并培养出*H. pylori*以来, *H. pylori*一直被认为是引起多种上消化道疾病的主要致病因素。*H. heilmannii*与*H. pylori*同属于螺旋杆菌属, 可定植于人类胃黏膜, 并引起胃黏膜的损伤。本研究在53 559例行胃镜及病理检查的病例中检出46例患者存在*H. heilmannii*感染, 检出率为0.1%, 远低于同期*H. pylori*的检出率(34.2%), 与国外多数报道<sup>[3-5]</sup>的*H. heilmannii*检出率相近, 但低于中国南方<sup>[2]</sup>及泰国<sup>[6]</sup>报道的检出率, 可能与地区<sup>[2]</sup>及经济、卫生条件等差异<sup>[20]</sup>有关。

*H. heilmannii*引起的胃黏膜炎症反应与*H. pylori*相关性胃炎相似, 但是炎症程度, 尤其是活动性炎症, 明显轻于*H. pylori*相关性胃炎, 相关性分析显示这与胃黏膜螺旋杆菌的定植量有关。此外推测还与*H. heilmannii*在胃黏膜的定植方式有关, 与*H. pylori*黏附于胃上皮表面不同, *H. heilmannii*与上皮细胞无粘着, 不会深入到细胞间紧密连接处(图1)。由于中性粒细胞的浸润可以破坏上皮细胞<sup>[22]</sup>, 这可能是*H. heilmannii*相关性胃炎组内镜下溃疡性病变较*H. pylori*组少见的原因。但有报道指出*H. heilmannii*相关性胃炎

### ■创新盘点

本文通过总结46例*H. heilmannii*感染病例的组织病理学特征, 并与*H. pylori*感染病例的组织病理学特征进行了对比, 发现其癌前病变发生率与*H. pylori*感染病例没有显著性差异, 此外还报道了一例胃癌伴*H. heilmannii*感染的病例, 从而提示*H. heilmannii*感染在胃癌发生发展过程中可能具有与*H. pylori*感染相似的作用。

## ■应用要点

本文旨在引起消化科医生对于*H. heilmannii*感染的重视, 加强对于*H. heilmannii*感染的研究。

病例中糜烂和溃疡病变与患者服用NSAIDs药物有关<sup>[15]</sup>。

胃癌可能是*H. pylori*长期感染与其他因素共同作用的结果<sup>[23]</sup>, 胃黏膜经历慢性胃炎-胃黏膜萎缩-肠上皮化生-异型增生-胃癌这一癌变模式<sup>[24,25]</sup>。*H. pylori*已被世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)列为 I 类致癌原<sup>[26]</sup>, *H. pylori*相关性胃炎是最为常见的胃癌癌前病变<sup>[19]</sup>。*H. heilmannii*与胃癌发生发展的关系尚未明确, 但是已有文献报道<sup>[12-15]</sup>合并*H. heilmannii*感染的胃癌病例。本研究*H. heilmannii*相关性胃炎病例中, 胃黏膜萎缩、肠上皮化生及上皮内瘤变的检出率分别为23.9%、21.7%和4.3%, 与*H. pylori*相关性胃炎组相比, 上述癌前病变的检出率及病变程度上均无显著性差异, 提示*H. heilmannii*在胃癌发生发展过程中可能具有与*H. pylori*相似的作用。本研究*H. heilmannii*相关性胃炎组病例中检出一例印戒细胞癌, 癌检出率为2.2%, 而同期本院*H. pylori*感染病例中胃腺癌检出率为1.7%(304/18 326)。虽然*H. heilmannii*感染的检出率显著低于*H. pylori*, 但本研究及文献报道<sup>[12,13]</sup>中*H. heilmannii*感染病例的胃癌检出率却并不低于*H. pylori*感染病例, 进一步提示*H. heilmannii*可能在胃癌发生中的病原学作用。

Stolte等<sup>[15]</sup>的研究认为*H. heilmannii*与胃黏膜相关淋巴组织(mucosa associated lymphoid tissue lymphoma, MALT)淋巴瘤的流行病学相关性较*H. pylori*更为紧密, Morgner等<sup>[16]</sup>和Okiyama等<sup>[5]</sup>的研究结果显示根除*H. heilmannii*感染可使胃MALT淋巴瘤达到完全缓解, 进一步证明了*H. heilmannii*是导致人类MALT淋巴瘤的重要病原。本研究*H. heilmannii*相关性胃炎病例组中虽然未发现恶性淋巴瘤病例, 但是胃黏膜组织中淋巴滤泡形成/淋巴组织增生病变的检出率与*H. pylori*相关性胃炎组相比无显著性差异。

综上所述, *H. heilmannii*相关性胃炎非常少见且其炎症反应较轻, 但是其癌前病变的检出率及病变程度与*H. pylori*相关性胃炎相比未见显著性差异, 表明*H. heilmannii*在胃恶性相关性病变的发生过程中可能发挥与*H. pylori*相似的作用。

## 4 参考文献

- Genta RM. Inflammatory Disorders of the Stomach. In: Odze RD, Goldblum JR, Crawford JM. Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas. Saunders: Philadelphia, 2004: 155

- 陈烨, 周殿元, 王继德, 任秀荣, 徐克强, 孙勇. 海尔曼螺杆菌感染的生物学与诊断治疗的研究. 中华医学杂志 1998; 78: 490-493
- Ierardi E, Monno RA, Gentile A, Francavilla R, Burattini O, Marangi S, Pollice L, Francavilla A. Helicobacter heilmannii gastritis: a histological and immunohistochemical trait. J Clin Pathol 2001; 54: 774-777 [PMID: 11577125 DOI: 10.1136/jcp.54.10.774]
- Joo M, Kwak JE, Chang SH, Kim H, Chi JG, Kim KA, Yang JH, Lee JS, Moon YS, Kim KM. Helicobacter heilmannii-associated gastritis: clinicopathologic findings and comparison with Helicobacter pylori-associated gastritis. J Korean Med Sci 2007; 22: 63-69 [PMID: 17297253 DOI: 10.3346/jkms.2007.22.1.63]
- Okiyama Y, Matsuzawa K, Hidaka E, Sano K, Akamatsu T, Ota H. Helicobacter heilmannii infection: clinical, endoscopic and histopathological features in Japanese patients. Pathol Int 2005; 55: 398-404 [PMID: 15982214 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2005.01844.x]
- Yali Z, Yamada N, Wen M, Matsuhisa T, Miki M. Gastrospirillum hominis and Helicobacter pylori infection in Thai individuals: comparison of histopathological changes of gastric mucosa. Pathol Int 1998; 48: 507-511 [PMID: 9701012 DOI: 10.1111/j.1440-1827.1998.tb03941.x]
- Yang H, Dixon MF, Li X, Xu Z, Zhou D, Blum AL. Acute gastritis associated with infection of large spiral-shaped bacteria. Am J Gastroenterol 1995; 90: 307-309 [PMID: 7847307]
- Yamamoto T, Matsumoto J, Shiota K, Kitajima S, Goto M, Imaizumi M, Arima T. Helicobacter heilmannii associated erosive gastritis. Intern Med 1999; 38: 240-243 [PMID: 10337933 DOI: 10.2169/internal-medicine.38.240]
- Boyanova L, Lazarova E, Jeleve C, Gergova G, Mitov I. Helicobacter pylori and Helicobacter heilmannii in untreated Bulgarian children over a period of 10 years. J Med Microbiol 2007; 56: 1081-1085 [PMID: 17644716 DOI: 10.1099/jmm.0.47181-0]
- Sykora J, Hejda V, Varvarovská J, Stozický F, Gottrand F, Siala K. Helicobacter heilmannii related gastric ulcer in childhood. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003; 36: 410-413 [PMID: 12604985 DOI: 10.1097/00005176-200303000-00022]
- Sykora J, Hejda V, Varvarovská J, Stozický F, Siala K, Schwarz J. Helicobacter heilmannii gastroduodenal disease and clinical aspects in children with dyspeptic symptoms. Acta Paediatr 2004; 93: 707-709 [PMID: 15174799 DOI: 10.1111/j.1651-2227.2004.tb03001.x]
- Yang H, Li X, Xu Z, Zhou D. "Helicobacter heilmannii" infection in a patient with gastric cancer. Dig Dis Sci 1995; 40: 1013-1014 [PMID: 7729256 DOI: 10.1007/BF02064190]
- Morgner A, Bayerdörffer E, Meining A, Stolte M, Kroher G. Helicobacter heilmannii and gastric cancer. Lancet 1995; 346: 511-512 [PMID: 7637513 DOI: 10.1016/S0140-6736(95)91364-5]
- Duttala SV, Majumdar AP, Parikh RK, Levi E, Patel BB. H. heilmannii infection and gastric carcinogenesis. Indian J Gastroenterol 2008; 27: 131-132 [PMID: 18787286]
- Stolte M, Kroher G, Meining A, Morgner A, Bayerdörffer E, Bethke B. A comparison of Helicobacter pylori and H. heilmannii gastritis. A matched con-

- trol study involving 404 patients. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 28-33 [PMID: 9018763 DOI: 10.3109/00365529709025059]
- 16 Morgner A, Lehn N, Andersen LP, Thiede C, Benndsen M, Trebesius K, Neubauer B, Neubauer A, Stolte M, Bayerdörffer E. Helicobacter heilmannii-associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. *Gastroenterology* 2000; 118: 821-828 [PMID: 10784580 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70167-3]
- 17 Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-1181 [PMID: 8827022 DOI: 10.1097/00000478-199610000-00001]
- 18 Fenoglio-Preiser C, Carneiro F, Correa P, Guilford P, Lambert R, Megraud F. Gastric carcinoma. In: Hamilton SR, Aaltonen LA. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press: Lyon, 2000: 46, 47
- 19 Heilmann KL, Borchard F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than Helicobacter pylori: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut* 1991; 32: 137-140 [PMID: 1864530 DOI: 10.1136/gut.32.2.137]
- 20 周志韶, 周晓军, 范钦和. 海尔曼螺杆菌研究现状. 诊断病理学杂志 2007; 14: 164-167
- 21 Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275 [PMID: 6134060]
- 22 Sobala GM, Crabtree JE, Dixon MF, Schorah CJ, Taylor JD, Rathbone BJ, Heatley RV, Axon AT. Acute Helicobacter pylori infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut* 1991; 32: 1415-1418 [PMID: 1752479 DOI: 10.1136/gut.32.11.1415]
- 23 Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. Helicobacter pylori infection in gastric cancerogenesis. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 3-21 [PMID: 19826177]
- 24 Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48: 3554-3560 [PMID: 3288329]
- 25 Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. Gastric cancer and Helicobacter pylori infection. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57 Suppl 3: 51-65 [PMID: 17033105]
- 26 Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》  
(2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (编辑部主任: 李军亮 2012-03-08)。



# 心理语言协同胃电起搏治疗功能性消化不良30例

邵颖铎, 陈英, 杜斌, 李静, 韩全利, 唐合兰, 葛淑静, 陈璐, 贾敏, 杨春敏

## ■背景资料

功能性消化不良(FD)发病率较高,以往常规的治疗方法较多且分散,治疗效果不明显,心理语言协同胃电起搏治疗法(GTPG)为临床治疗FD提供了一种全新的治疗模式。

邵颖铎, 陈英, 杜斌, 李静, 韩全利, 唐合兰, 葛淑静, 陈璐, 贾敏, 杨春敏, 中国人民解放军空军总医院干部病房消化科 北京市 100142

邵颖铎,在读研究生,医师,主要从事消化系统疾病的研究。

首都医学发展科研基金资助项目, No. 2009-3088

作者贡献分布: 此课题由杨春敏设计; 研究过程由邵颖铎与陈璐完成; 数据分析由陈英、杜斌、李静、韩全利、唐合兰、葛淑静及贾敏完成; 论文写作由邵颖铎完成。

通讯作者: 杨春敏, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院干部病房消化科。

chunmyang@sina.com

电话: 010-66928142

收稿日期: 2012-10-30 修回日期: 2012-12-27

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Psychological language combined with gastric pacing for treatment of functional dyspepsia: An analysis of 30 cases

Ying-Tan Shao, Ying Chen, Bin Du, Jing Li, Quan-Li Han, He-Lan Tang, Shu-Jing Ge, Lu Chen, Min Jia, Chun-Min Yang

Ying-Tan Shao, Ying Chen, Bin Du, Jing Li, Quan-Li Han, He-Lan Tang, Shu-Jing Ge, Lu Chen, Min Jia, Chun-Min Yang, Department of Gastroenterology, Ward Cadres, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Supported by: the Capital Medical Development Research Fund, No. 2009-3088

Correspondence to: Chun-Min Yang, Professor, Chief Physician, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. chunmyang@sina.com

Received: 2012-10-30 Revised: 2012-12-27

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To assess the efficacy of psychological language combined with gastric pacing (GP) for treating functional dyspepsia (FD).

**METHODS:** Sixty patients with FD diagnosed according to the Rome III criteria were randomly divided into a combination treatment group ( $n = 30$ ) and a GP group ( $n = 30$ ). All patients were placed in a quiet environment. The combination treatment group received psychological language and gastric pacing synchronization output, and the voice ran throughout the treatment

to guide gastric electrical pacing. The GP group underwent GP only. The treatment (20 min each) was given once daily for seven consecutive days. Researcher-rated symptom scores and patients' self-rated symptom scores (both overall and individual symptom scores) were calculated to assess clinical efficacy before and after treatment. Clinical efficacy was compared between the two groups of subjects.

**RESULTS:** Researcher-rated symptom scores and patients' self-rated symptom scores decreased in both groups after treatment. Compared to the GP group, the combination treatment group had more significantly decreased researcher-rated overall symptom score ( $4.033 \pm 1.903$  vs  $1.700 \pm 1.579$ ,  $t = 5.169$ ,  $P < 0.05$ ), postprandial bloating ( $0.967 \pm 0.850$  vs  $0.533 \pm 0.776$ ,  $t = 2.062$ ,  $P < 0.05$ ), early satiety ( $0.933 \pm 0.785$  vs  $0.300 \pm 0.466$ ,  $t = 3.800$ ,  $P < 0.05$ ), upper abdominal pain ( $0.900 \pm 0.759$  vs  $0.400 \pm 0.563$ ,  $t = 2.898$ ,  $P < 0.05$ ), abdominal burning sensation ( $0.700 \pm 0.702$  vs  $0.300 \pm 0.535$ ,  $t = 2.482$ ,  $P < 0.05$ ), and nausea ( $0.533 \pm 0.776$  vs  $0.200 \pm 0.407$ ,  $t = 2.482$ ,  $P < 0.05$ ), scores. The overall response was significantly higher in the combination treatment group than in the GP group ( $96.7\%$  vs  $70.0\%$ ,  $\chi^2 = 7.68$ ,  $P < 0.05$ ). Compared to the GP group, the combination treatment group also had more significantly decreased self-rated overall symptom score ( $12.633 \pm 5.714$  vs  $6.767 \pm 4.232$ ,  $t = 4.519$ ,  $P < 0.05$ ), postprandial bloating ( $3.200 \pm 2.188$  vs  $2.100 \pm 1.729$ ,  $t = 2.161$ ,  $P < 0.05$ ), early satiety ( $2.633 \pm 2.025$  vs  $1.500 \pm 0.563$ ,  $t = 2.461$ ,  $P < 0.05$ ), upper abdominal pain ( $2.567 \pm 1.942$  vs  $1.267 \pm 1.437$ ,  $t = 2.948$ ,  $P < 0.05$ ), abdominal burning sensation ( $2.500 \pm 2.403$  vs  $1.033 \pm 1.189$ ,  $t = 2.996$ ,  $P < 0.05$ ), and nausea scores ( $1.733 \pm 1.946$  vs  $0.833 \pm 1.177$ ,  $t = 2.167$ ,  $P < 0.05$ ). The overall response was significantly higher in the combination treatment group than in the GP group ( $90.0\%$  vs  $80.0\%$ ,  $\chi^2 = 1.18$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Psychological language combined with GP is more effective than GP alone in the treatment of FD, and is a new option for non-drug treatment of FD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

## ■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

**Key Words:** Functional dyspepsia; Psychological language; Gastric pacing; Anxiety; Depression; Non-drug treatment

Shao YT, Chen Y, Du B, Li J, Han QL, Tang HL, Ge SJ, Chen L, Jia M, Yang CM. Psychological language combined with gastric pacing for treatment of functional dyspepsia: An analysis of 30 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 250-255

## 摘要

**目的:** 研究由计算机技术控制, 将心理语言和胃电起搏同步输出协同强化治疗方法(coordinated treatment of psychological language and gastric pacing, CTPG)治疗功能性消化不良的临床疗效。

**方法:** 根据罗马Ⅲ标准选取60例功能性消化不良患者, 随机分为2组: CTPG组(心理语言结合胃电起搏强化治疗组,  $n = 30$ )和对照组(单纯胃电起搏治疗组,  $n = 30$ ), 两组患者均置于安静的环境中, CTPG组采用心理语言与胃电起搏同步输出, 语音贯穿治疗并引导胃电起搏电流输出的治疗方法, 对照组采用单纯胃电起搏治疗, 两组每人均治疗1次/d, 20 min/次, 连续7 d为一疗程, 在治疗前后采用研究者症状评分和患者症状自评评分对患者餐后腹胀、早饱感、上腹痛、上腹烧灼感及恶心5个症状进行评分, 差值越大, 治疗效果越好, 比较两组受试者以及临床疗效总有效率的差异。

**结果:** 两组治疗前后在研究者评分及患者自评评分中均有下降, 但与对照组相比 CTPG组下降更为明显, 在临床研究者评分中, 症状总积分( $4.033 \pm 1.903$  vs  $1.700 \pm 1.579$ ,  $t = 5.169$ ,  $P < 0.05$ ), 餐后腹胀( $0.967 \pm 0.850$  vs  $0.533 \pm 0.776$ ,  $t = 2.062$ ,  $P < 0.05$ ), 早饱感( $0.933 \pm 0.785$  vs  $0.300 \pm 0.466$ ,  $t = 3.800$ ,  $P < 0.05$ ), 上腹痛( $0.900 \pm 0.759$  vs  $0.400 \pm 0.563$ ,  $t = 2.898$ ,  $P < 0.05$ ), 上腹烧灼感( $0.700 \pm 0.702$  vs  $0.300 \pm 0.535$ ,  $t = 2.482$ ,  $P < 0.05$ ), 恶心( $0.533 \pm 0.776$  vs  $0.200 \pm 0.407$ ,  $t = 2.482$ ,  $P < 0.05$ ), 临床疗效总有效率较对照组亦明显升高( $96.7\%$  vs  $70.0\%$ ,  $\chi^2 = 7.68$ ,  $P < 0.05$ ); 患者自评评分中, CTPG组评分与对照组相比也明显下降, 差值较大, 症状总积分( $12.633 \pm 5.714$  vs  $6.767 \pm 4.232$ ,  $t = 4.519$ ,  $P < 0.05$ ), 餐后腹胀( $3.200 \pm 2.188$  vs  $2.100 \pm 1.729$ ,  $t = 2.161$ ,  $P < 0.05$ ), 早饱感( $2.633 \pm 2.025$  vs  $1.500 \pm 0.563$ ,  $t = 2.461$ ,  $P < 0.05$ ), 上腹痛( $2.567 \pm 1.942$  vs  $1.267 \pm 1.437$ ,  $t = 2.948$ ,  $P < 0.05$ ), 上腹烧灼感( $2.500 \pm 2.403$  vs  $1.033 \pm 1.189$ ,  $t = 2.996$ ,  $P < 0.05$ ), 恶心( $1.733 \pm 1.946$

vs  $0.833 \pm 1.177$ ,  $t = 2.167$ ,  $P < 0.05$ ), 临床疗效总有效率较对照组亦明显增高( $90.0\%$  vs  $80.0\%$ ,  $\chi^2 = 1.18$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 心理语言结合胃电起搏协同强化治疗功能性消化不良疗效优于单纯胃电治疗对照组, 是非药物治疗功能性消化不良的一种新选择, 也提示了心理调试在治疗功能性消化不良方面的必要性。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 功能性消化不良; 心理语言结合胃电起搏协同强化治疗; 焦虑; 抑郁; 非药物治疗

邵颖铤, 陈英, 杜斌, 李静, 韩全利, 唐合兰, 葛淑静, 陈璐, 贾敏, 杨春敏. 心理语言协同胃电起搏治疗功能性消化不良30例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(3): 250-255

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/250.asp>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的功能性胃肠道疾病, 是在缺乏任何能解释症状的器质性、系统性或代谢性疾病证据的情况下, 起源于胃、十二指肠区域的消化不良症状, 可持续或反复发作, 包括上腹痛、上腹胀、早饱、恶心等症状, 诊断前症状出现至少6 mo, 近3 mo符合以上诊断标准。欧美国家统计显示, FD人群发病率达19%-41%, 平均32%; 国内为18%-45%, 占消化门诊的20%-40%<sup>[1]</sup>。目前治疗FD的主要方法有口服药物, 如促胃肠动力药、抗精神抑郁药等, 单纯心理治疗或物理疗法等, 治疗方法较多且分散, 治疗效果不明显, 浪费了大量的医疗资源, 人们迫切需要一种新型的方法来治疗FD。已有研究证明体外胃电起搏对治疗胃动力紊乱性疾病有一定疗效<sup>[2]</sup>, 我们曾将胃电起搏与单纯口服胃肠动力药物比较, 结果显示前者治疗FD效果较好<sup>[3]</sup>, 同时随着FD发病机制研究的深入, 发现心理因素占重要作用<sup>[4]</sup>, 但临床上尚无一种简便易行的心理调试方法, 而目前将两者同时结合起来的研究甚少。所以在以往的研究基础上, 我们研制出一种集心理语言疏导结合胃电起搏治疗为一体的新型治疗仪(专利号200620139011.9), 通过计算机软件控制, 将心理语言转化为具体柔和的声音与胃电起搏同步输出, 并配以轻松的背景音乐, 使心理语言贯穿治疗始终并引导胃电起搏电流输出, 使患者在身心放松状态下, 积极配合胃电起搏治疗, 使治疗产

## ■相关报道

有报道胃电起搏治疗方法对治疗FD有效, 但同步结合心理治疗未见报道。

## ■创新盘点

心理语言协同胃电起搏治疗法(GTPG)利用计算机技术将心理疗法、胃肠电等技术融合,对FD同步进行整体、多靶位、多因素协同强化调节治疗,与常规治疗方法相比显示出较好的临床疗效。

生协同正强化效应(coordinated treatment of psychological language and gastric pacing, CTPG). 本文主要评价CTPG法对FD临床症状的改善情况,为该法普遍应用于临床提供理论依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2012-06/2012-08门诊难治性FD患者共60例,入选标准:根据罗马III FD诊断标准及补充初步筛选出FD患者: (1)年龄在20-75岁之间,男女不限; (2)功能性消化不良诊断标准: 以下1项或多项: 餐后饱胀不适; 早饱感; 上腹痛; 上腹烧灼感. 无可以解释上述症状的结构性疾病的证据(包括电子胃镜, 腹部B超等检查); (3)诊断前症状出现至少6 mo, 近3 mo符合以上诊断标准. 排除标准: (1)妊娠和哺乳期妇女; (2)同时患有影响本研究的其他严重疾病(如心、肝、肾等疾病); (3)腹部手术病史者; (4)患有糖尿病、甲亢和风湿免疫性疾病等患者; (5)治疗前1 wk用过促胃肠动力药物者; (6)治疗前1 wk接受物理治疗胃肠疾病者(如电疗、磁疗等); (7)酗酒及药物滥用者; (8)急性化脓性炎症; (9)出血倾向; (10)恶性肿瘤; (11)血栓性静脉炎; (12)活动性肺结核; (13)置有心脏起搏器者; (14)局部金属异物; (15)对电流不能耐受者。

### 1.2 方法

1.2.1 一般方法: 按计算机随机数字表随机将FD患者分成2组: CTPG组(心理语言结合胃电起搏强化治疗组): 每组30人, 每人治疗1次/d, 20 min/次, 连续治疗7 d. 对照组(单纯胃电起搏治疗组): 每组30人, 每人治疗1次/d, 20 min/次, 连续治疗7 d. 心理语言结合胃电起搏同步协同治疗(CTPG)治疗原理如下: (1)心理科医生设计针对FD对胃肠放松治疗的特殊语音背景, 通过计算机软件控制达到根据语音变化贯穿并引导胃电起搏电流的输出, 使语音、胃电起搏协调工作同步正强化; (2)胃电起搏正、负极贴片置于胃窦、胃体在体表的投影部位, 采用1.1-1.2倍内源性胃慢波频率(intrinsic gastric slow-wave frequency, IGF)的类正弦基波叠加一系列双极脉冲方波(高频为15 Hz, 脉宽为50 ms, 低频频率为3.5 cpm)进行起搏. 胃电起搏刺激强度以每位患者自身耐受程度而分别调节, 以患者自觉贴敷电极片处有轻微的针刺感、温热感及抬举感为度. 在每次治疗前需要进行电流强度阈值测定, 且由于随着患者对电流刺激逐渐适应, 故每天在治疗前, 均需重新进行电极点电流强度阈值测定, 以避免

原有的电流强度不足而影响治疗效果。

1.2.2 临床症状评分: (1)患者症状VAS评分, 根据FD最常见的症状如: 餐后腹胀、早饱感、上腹痛、上腹烧灼感、恶心等. 根据上述5个症状, 采用视觉模拟评分量表法(visual analog scale, VAS), 按病情轻重程度标为0-10分, 所有入组患者在治疗前后对上述5个症状逐项进行自我评分, 将治疗前后各项分值分别相加, 计算治疗前后症状总的分值差, 差值越大, 治疗效果越好; (2)研究者症状评分: 症状评分标准: 0分为没有症状, 1分为轻度症状, 患者需提醒能意识到症状存在; 2分为中度, 症状稍重, 患者可意识到症状存在, 但不影响工作, 正常活动未受限制; 3分为重度, 患者意识到症状存在, 无自发缓解期, 或明显影响患者生活、工作. 对上述5个症状逐项评分并进行总计, 作为研究者评分. 计算治疗前后症状分值差, 差值越大, 治疗效果越好。

1.2.3 疗效评价: 患者视觉模拟症状评分及研究者评分, 症状积分(%) = (治疗前总积分-治疗后总积分)/治疗前总积分(%). 症状积分下降百分比>60%, 认为疗效显著; 症状积分下降百分比>30%, 但≤60%为有效; 积分下降百分比≤30%为无效. 总有效 = 显效+有效。

统计学处理 采用SPSS17.0软件包对数据进行统计学处理, 计量资料以mean±SD表示, 采用 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义; 计数资料用百分比表示, 采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组治疗前后临床症状评分差的比较 CTPG组的研究者问诊症状评分差与对照组相比差值较大, 下降更为明显, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 症状总积分( $4.033 \pm 1.903$  vs  $1.700 \pm 1.579$ ,  $t = 5.169$ ,  $P<0.05$ ), 餐后腹胀( $0.967 \pm 0.850$  vs  $0.533 \pm 0.776$ ,  $t = 2.062$ ,  $P<0.05$ ), 早饱感( $0.933 \pm 0.785$  vs  $0.300 \pm 0.466$ ,  $t = 3.800$ ,  $P<0.05$ ), 上腹痛( $0.900 \pm 0.759$  vs  $0.400 \pm 0.563$ ,  $t = 2.898$ ,  $P<0.05$ ), 上腹烧灼感( $0.700 \pm 0.702$  vs  $0.300 \pm 0.535$ ,  $t = 2.482$ ,  $P<0.05$ ), 恶心( $0.533 \pm 0.776$  vs  $0.200 \pm 0.407$ ,  $t = 2.482$ ,  $P<0.05$ ); 患者自评分中, CTPG组评分与对照组相比也明显下降, 症状总积分( $12.633 \pm 5.714$  vs  $6.767 \pm 4.232$ ,  $t = 4.519$ ,  $P<0.05$ ), 餐后腹胀( $3.200 \pm 2.188$  vs  $2.100 \pm 1.729$ ,  $t = 2.161$ ,  $P<0.05$ ), 早饱感( $2.633 \pm 2.025$  vs  $1.500 \pm 0.563$ ,  $t = 2.461$ ,  $P<0.05$ ), 上腹痛( $2.567 \pm$



表 1 两组治疗前后临床症状评分差的比较 ( $n = 30$ , mean  $\pm$  SD)

症状	研究者问诊症状评分差		患者视觉模拟症状评分差	
	CTPG组	对照组	CTPG组	对照组
餐后腹胀	0.967 $\pm$ 0.850	0.533 $\pm$ 0.776 $t = 2.062$	3.200 $\pm$ 2.188	2.100 $\pm$ 1.729 $t = 2.161$
早饱感	0.933 $\pm$ 0.785	0.300 $\pm$ 0.466 $t = 3.800$	2.633 $\pm$ 2.025	1.500 $\pm$ 0.563 $t = 2.461$
上腹痛	0.900 $\pm$ 0.759	0.400 $\pm$ 0.563 $t = 2.898$	2.567 $\pm$ 1.942	1.267 $\pm$ 1.437 $t = 2.948$
上腹烧灼感	0.700 $\pm$ 0.702	0.300 $\pm$ 0.535 $t = 2.482$	2.500 $\pm$ 2.403	1.033 $\pm$ 1.189 $t = 2.996$
恶心	0.533 $\pm$ 0.776	0.200 $\pm$ 0.407 $t = 2.084$	1.733 $\pm$ 1.946	0.833 $\pm$ 1.177 $t = 2.167$
总积分	4.033 $\pm$ 1.903	1.700 $\pm$ 1.579 $t = 5.169$	12.633 $\pm$ 5.714	6.767 $\pm$ 4.232 $t = 4.519$

CTPG组与对照组治疗后评分差比较, 各组症状 $P < 0.05$ . CTPG: 协同正强化效应。

表 2 两组治疗前后临床疗效的比较  $n(\%)$ 

分组	研究者问诊症状评分		患者视觉模拟症状评分	
	无效	总有效	无效	总有效
CTPG组	1(3.3)	29(96.7) <sup>a</sup>	3(10.0)	27(90.0) <sup>c</sup>
对照组	9(30.0)	21(70.0)	6(20.0)	24(80.0)

<sup>a</sup> $\chi^2 = 7.68$ , <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $\chi^2 = 1.18$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组.  
CTPG: 协同正强化效应。

1.942 vs 1.267  $\pm$  1.437,  $t = 2.948$ ,  $P < 0.05$ ), 上腹烧灼感2.500  $\pm$  2.403 vs 1.033  $\pm$  1.189,  $t = 2.996$ ,  $P < 0.05$ ), 恶心(1.733  $\pm$  1.946 vs 0.833  $\pm$  1.177,  $t = 2.167$ ,  $P < 0.05$ ). 说明CTPG治疗组在临床症状改善上优于单纯胃电治疗对照组(表1)。

2.2 两组治疗前后临床疗效比较 CTPG组研究者评分和患者自评分的总有效率均高于对照组(90.0% vs 80.0%; 96.7% vs 70.0%,  $P < 0.05$ ), 说明GTPG组治疗效果明显优于单纯胃电治疗对照组(表2)。

### 3 讨论

FD的发病机制目前尚未完全阐明, 现有研究表明主要与胃肠动力、胃电紊乱、内脏敏感性<sup>[5,6]</sup>、心理因素、幽门螺杆菌定植感染、遗传等有关。由于FD发病机制复杂, 其治疗方法也较多、较分散。目前治疗FD的方法主要有口服促胃肠动力药、抗抑郁药、中医中药, 心理治疗、单纯胃肠电治疗、穴位治疗等, 上述方法均属于单因素治疗, 其疗效有限, 一些药物如促

胃肠动力剂、抗抑郁抗焦虑等药物在治疗过程中容易出现药物不良反应, 有的反而加重症状, 因此导致症状较重的FD患者到处就医, 浪费大量的医疗资源。本文中, 我们将心理暗示、语言疏导结合到胃电起搏治疗中, 通过计算机技术将二者同步输出, 通过加强心理疏导, 改变患者的认知心理意象、观点信念和思维方式, 使患者放弃对自己身体的过分关心行为和疑病的观念, 使患者在身心放松、惬意的状态下积极配合胃电起搏治疗, 结果显示治疗效果明显优于单纯胃电起搏治疗对照组。

已有研究证明胃肠电刺激通过控制胃和小肠慢波, 可作为胃肠动力障碍性疾病的治疗手段之一<sup>[7]</sup>。杨春敏等<sup>[8]</sup>的研究显示在空腹和餐后状态体表胃电活动能反应胃收缩的程度, 表现为胃电振幅和胃电主功率不稳定性明显增加, 结果证实体表胃电与胃收缩之间有密切关系。胃电节律紊乱可引起胃动力低下和胃排空延迟。吴改玲等<sup>[9]</sup>研究发现FD患者存在胃排空和近端胃感觉功能的异常。所以我们通过应用电子技术模拟正常胃生物电, 采用由低频类正弦基波叠加一系列双极高频脉冲而合成的特殊波形, 并从胃体、胃窦在腹部体表的投影部位输入起搏信号, 间接驱动胃电节律, 可完全触发胃电慢波, 起搏效应维持约20 min。国内已有研究表明, 这种不同频率的合成波可驱动胃肠电节律, 明显改善患者的临床症状<sup>[10]</sup>。我们以往的研究也表明此法优于单纯口服胃动力药物治疗。胃电起搏治疗机制可能是通过调节肠神经系统、自主神经系统或胃肠内分泌

### 应用要点

本文采用心理语言与胃电起搏治疗同步输出, 在改善功能性消化不良的临床症状上效果更明显。

### ■同行评价

本研究将心理语言结合胃电起搏同步来治疗功能性消化不良, 创新性较强, 有一定的临床应用价值。

泌功能等来发挥作用。黄伟锋等<sup>[11]</sup>的研究考虑可能存在一个“下行系统”, 通过胃电可刺激延髓水平“下行性兴奋系统”调节胃电活动及其他功能。胃电起搏治疗作用的机制尚未完全明确, 但从临床治疗效果来看, 患者的临床症状缓解率、胃运动节律等指标均有较好的改善, 我们此次的研究结果再次证明了上述结论。但是FD的发病率高、复发率高, 发病机制复杂, 为多因素共同作用导致, 所以只针对单因素的治疗方法其治疗效果难免有限。

近年来由于对FD发病机制研究的不断深入, 许多研究者认为心理因素在功能性胃肠道疾病的发病机制中发挥了重要作用, 情绪、心理、社会等应激刺激因素可通过边缘系统和下丘脑使中枢性感觉高敏<sup>[12,13]</sup>, 具体机制以脑-肠轴模型研究较多。脑-肠轴通过双向调节情感和认知中心与外围功能的胃肠大脑而发挥作用, 一方面胃肠道内的感受器将各种信息由传入纤维传至中枢神经系统(CNS), 通过对信息进行整合、翻译及反应; 另一方面, CNS可以通过自主神经、肠神经和激素、神经内分泌等途径来调节胃肠道的运动、分泌、血流、免疫等功能<sup>[14]</sup>。大量研究显示, FD可以引起患者情绪、心理、精神的异常; 而情绪、心理、精神的异常也是FD的病因, 两者之间通过脑肠轴相互影响<sup>[15-17]</sup>。另外, 研究者利用PET/CT等核磁显像技术为脑长轴与胃肠活动的关联提供了实际影像理论支持<sup>[18]</sup>。此外, 有研究表明在FD发病机制中胃肠激素, 如胃动素、胆囊收缩素、P物质及CGRP、5-HT<sup>[19]</sup>、一氧化氮及瘦素等共同发挥作用, 我们以往的研究也显示在胃电起搏治疗情况下, 血浆胃动素(motilin, MTL)、瘦素(leptin, LEP)、降钙素基因相关肽浓度均与其对照组有着明显差异<sup>[20]</sup>。

我们的研究也发现, 此次入组的60例患者中, 约有50例患者因工作、生活或本身疾病状态等因素而存在焦虑、抑郁或持续精神紧张状态, 有研究认为各种环境应激因子作用于大脑的应激反应系统, 通过脑-肠轴的双向调节作用, 使胃肠道运动、感觉、分泌和免疫功能发生变化, 两者相互作用、影响而表现为功能性胃肠病<sup>[21]</sup>。功能性胃肠症状可能是精神心理障碍的躯体化表现, 而躯体化症状又加重了患者的精神心理障碍<sup>[22]</sup>。Van Oudenhove等<sup>[23]</sup>的研究显示, 患有FD时可呈现出内脏高敏性, 且焦虑状态可加重患者的不适感、降低胃肠道容受性, 同时也指出进行抗抑郁治疗的益处<sup>[24]</sup>。倪敏等<sup>[25]</sup>介绍

了各种神经调节治疗方法通过在脑肠轴的任何水平发生作用, 影响神经活动, 从而争取恢复脑肠神经系统的平衡, 达到治疗功能性胃肠病的目的。也有研究显示通过加强心理护理、精神心理疗法可明显改善FD病人胃电节律紊乱<sup>[26,27]</sup>, 效果优于常规治疗, 所以对于FD患者, 加强心理治疗显得尤为重要。Soo等<sup>[28]</sup>系统评价分析了各种心理干预, 包括心理表演疗法、认知行为疗法、放松疗法、意象引导、催眠疗法对FD患者消化不良症状的改善作用, 结果显示上述治疗可使消化不良症状得到不同程度的改善。

所以我们针对FD发病机制中起着重要作用的心理因素, 研制出通过计算机技术, 将心理治疗与已有明确治疗效果的胃电起搏治疗技术结合在一起, 将二者同步输出, 通过语音提示, 为患者提供一个安静、舒适的环境, 使患者身心放松, 同时根据患者的承受度调节胃电起搏治疗的强度, 使二者起到协同正强化的作用。由于CTPG法是以FD的发病机制的最新研究为根据而研发, 实现了多因素同时、同步治疗, 相当于多位科室专家同时治疗一位患者, 其临床疗效优于单纯单因素治疗, 同时由于其操作简单易掌握, 免去患者多科室多医院求诊, 为患者节省了宝贵的时间及费用, 同时也节约了大量的医疗资源。CTPG法作为治疗FD的一种新方法, 值得临床推广。

### 4 参考文献

- 1 Ohara S, Kawano T, Kusano M, Kouzu T. Survey on the prevalence of GERD and FD based on the Montreal definition and the Rome III criteria among patients presenting with epigastric symptoms in Japan. *J Gastroenterol* 2011; 46: 603-611 [PMID: 21359521 DOI: 10.1007/s00535-011-0382-1]
- 2 杨敏, 房殿春, 龙庆林, 隋建峰, 李前伟, 孙念绪, 甘露. 胃起搏对胃动力紊乱犬胃排空及胃肌电活动的影响. *中华消化杂志* 2003; 23: 267-270
- 3 陈英, 杨春敏, 范勤, 杜斌, 唐合兰, 张洪领, 贾敏, 于妍. 心理语言及穴位刺激和胃电起搏协同改善难治性功能性消化不良的胃电紊乱. *中华保健医学杂志* 2012; 14: 85-87
- 4 吴改玲, 蓝宇. 符合罗马Ⅲ标准FD患者心理测试及自主神经功能观察44例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1473-1477
- 5 Zhang H, Han T, Sun LN, Huang BK, Chen YF, Zheng HC, Qin LP. Regulative effects of essential oil from *Atractylodes lancea* on delayed gastric emptying in stress-induced rats. *Phytomedicine* 2008; 15: 602-611 [PMID: 18430552 DOI: 10.1016/j.phymed.2008.02.005]
- 6 Anand P, Aziz Q, Willert R, van Oudenhove L. Peripheral and central mechanisms of visceral sensitization in man. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 29-46 [PMID: 17280584 DOI: 10.1111/

- j.1365-2982.2006.00873.x]
- 7 Sun Y, Song GQ, Yin J, Lei Y, Chen JD. Effects and mechanisms of gastrointestinal electrical stimulation on slow waves: a systematic canine study. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 297: R1392-R1399 [PMID: 19710395 DOI: 10.1152/ajp-regu.00006.2009]
- 8 杨春敏, 毛高平, 张映辉, 陈英, 张秀荣. 胃电活动与胃的运动. *中华消化杂志* 2001; 21: 434-435
- 9 吴改玲, 蓝宇, 王圻, 闫冰, 张小晋. 胃运动和感觉功能在符合罗马Ⅲ标准的功能性消化不良患者中的特点. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 734-738
- 10 杨敏, 房殿春, 隋建峰, 龙庆林. 胃肠电生理起搏治疗胃肠动力障碍性疾病的临床疗效. *中华消化杂志* 2004; 24: 332-336
- 11 黄伟锋, 张慧, 欧阳守, 卢春敬. 5-HT及电刺激对胃节律紊乱模型新西兰白兔胃电活动的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2486-2491
- 12 Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Dupont P, Geeraerts B, Vos R, Dirix S, Van Laere K, Bormans G, Vanderghinste D, Demyttenaere K, Fischler B, Tack J. Regional brain activity in functional dyspepsia: a H(2)(15)O-PET study on the role of gastric sensitivity and abuse history. *Gastroenterology* 2010; 139: 36-47 [PMID: 20406641 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.015]
- 13 Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Dupont P, Geeraerts B, Vos R, Dirix S, Bormans G, Vanderghinste D, Van Laere K, Demyttenaere K, Fischler B, Tack J. Abnormal regional brain activity during rest and (anticipated) gastric distension in functional dyspepsia and the role of anxiety: a H(2)(15)O-PET study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 913-924 [PMID: 20160711 DOI: 10.1038/ajg.2010.39]
- 14 Grundy D, Al-Chaer ED, Aziz Q, Collins SM, Ke M, Taché Y, Wood JD. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. *Gastroenterology* 2006; 130: 1391-1411 [PMID: 16678554 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.060]
- 15 O'Mahony SM, Hyland NP, Dinan TG, Cryan JF. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; 214: 71-88 [PMID: 20886335 DOI: 10.1007/s00213-010-2010-9]
- 16 Gaman A, Kuo B. Neuromodulatory processes of the brain-gut axis. *Neuromodulation* 2008; 11: 249-259 [PMID: 19844605 DOI: 10.1111/j.1525-1403.2008.00172.x]
- 17 Liu L, Li Q, Sapolsky R, Liao M, Mehta K, Bhargava A, Pasricha PJ. Transient gastric irritation in the neonatal rats leads to changes in hypothalamic CRF expression, depression- and anxiety-like behavior as adults. *PLoS One* 2011; 6: e19498 [PMID: 21589865 DOI: 10.1371/journal.pone.0019498]
- 18 Vandenberghe J, Dupont P, Van Oudenhove L, Bormans G, Demyttenaere K, Fischler B, Geeraerts B, Janssens J, Tack J. Regional cerebral blood flow during gastric balloon distention in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2007; 132: 1684-1693 [PMID: 17484866 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.037]
- 19 Geeraerts B, Van Oudenhove L, Boesmans W, Vos R, Vandenberghe P, Tack J. Influence of acute tryptophan depletion on gastric sensorimotor function in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G228-G235 [PMID: 20884888 DOI: 10.1152/ajpgi.00020.2010.]
- 20 杨春敏, 陈英, 范勤, 张洪领, 唐合兰, 杜斌, 贾敏, 韩全利, 李静. 心理语言、胃电起搏和穴位刺激协同对功能性消化不良患者血浆脑肠肽的影响. *胃肠病学和肝病杂志* 2012; 08: 754-757
- 21 梁列新. 功能性消化不良的心理社会因素研究. *胃肠病学* 2008; 13: 125-127
- 22 曹佳懿, 侯晓华. 功能性消化不良与精神心理因素. *中国实用内科杂志* 2006; 26: 538-540
- 23 Van Oudenhove L, Demyttenaere K, Tack J, Aziz Q. Central nervous system involvement in functional gastrointestinal disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 663-680 [PMID: 15324706 DOI: 10.1016/j.bpg.2004.04.010]
- 24 Van Oudenhove L, Tack J. Is the antidepressant venlafaxine effective for the treatment of functional dyspepsia? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 74-75 [PMID: 19092791 DOI: 10.1038/ncpgasthep1334]
- 25 倪敏, 丁义江, 丁曙晴. 神经调节在功能性胃肠病发病中的作用及其研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2649-2653
- 26 刘怡. 心理干预对功能性消化不良病人的影响. *护理研究* 2007; 21: 3152-3154
- 27 Moser G. Functional gastrointestinal disorders(Article in German). *Wien Med Wochenschr* 2006; 156: 435-440 [PMID: 17041768 DOI: 10.1007/s10354-006-0323-4]
- 28 Soo S, Forman D, Delaney BC. A systematic review of psychological therapies for nonulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1817-1822 [PMID: 15330925 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.30086.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.



# 慢性HBV感染合并胃黏膜病变时胃黏液sIgA的变化及其意义

曹新鲜, 李 佳, 罗亚文, 陈应华, 冉 燕

## ■背景资料

黏膜免疫是抵御病原体及有害物质的第一道免疫防线, 而sIgA是分泌型的胃黏膜保护机制, 在慢性乙肝不同程度的胃黏膜损伤中, 他是否也参与了胃黏膜病变的发生目前尚不清楚, 针对该问题我们进行了相关研究。

曹新鲜, 李佳, 罗亚文, 陈应华, 冉燕, 遵义医学院第一附属医院感染科 贵州省遵义市 563003

贵州省教委科研基金资助项目, 黔教高发[2000]518号

作者贡献分布: 曹新鲜与李佳对此文所作贡献均等; 该课题由李佳设计并获取研究经费, 曹新鲜、李佳、罗亚文、陈应华及冉燕共同完成; 研究过程由曹新鲜、罗亚文、冉燕及陈应华操作完成; 数据分析由曹新鲜、李佳及罗亚文完成; 本论文写作由曹新鲜与李佳完成。

通讯作者: 李佳, 563003, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院第一附属医院感染科. lijia1975@126.com

收稿日期: 2012-10-25 修回日期: 2013-01-07

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Significance of gastric mucosal levels of sIgA in patients with chronic HBV infection and gastric mucosal lesions

Xin-Xian Cao, Jia Li, Ya-Wen Luo, Ying-Hua Chen, Yan Ran

Xin-Xian Cao, Jia Li, Ya-Wen Luo, Ying-Hua Chen, Yan Ran, Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Jia Li, Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. lijia1975@126.com

Received: 2012-10-25 Revised: 2013-01-07

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the significance of gastric mucosal levels of sIgA in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection and gastric mucosal lesions.

**METHODS:** Forty patients with chronic HBV infection but without a previous history of liver disease or gastropathy (including 13 cases with chronic hepatitis B, 14 with cirrhosis, and 13 with chronic severe hepatitis B), 40 patients with chronic gastritis but without a previous history of liver disease and 9 normal controls were included in this study. All subjects underwent electronic gastroscopy to observe the morphology of gastric and duodenal mucosal lesions and take gastric mucosal specimens. The level of sIgA in the gastric mucosa was determined by

radioimmunoassay.

**RESULTS:** According to the McCormick standards, gastric mucosal lesions developed in 80% (32/40) of patients with chronic HBV [46.15% (6/13) of patients with chronic severe hepatitis B] and 77.5% (31/40) of patients with chronic gastritis. Gastric mucosal levels of sIgA were significantly higher in patients with chronic hepatitis B or cirrhosis than in normal controls ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), but were lower in patients with chronic severe hepatitis than in normal controls. Gastric mucosal levels of sIgA had a positive correlation with ALB and PTA ( $r = 0.453$ ,  $0.557$ , both  $P < 0.01$ ), but had no correlation with ALT or TBIL ( $r = 0.008$ ,  $-1.522$ ; both  $P > 0.05$ ). Gastric mucosal levels of sIgA gradually decreased with the increase in the severity of gastric mucosal lesions ( $P < 0.01$ ) and were negatively correlated with the degree of gastric mucosal lesion in patients with chronic liver disease. The levels of sIgA in the gastric mucosa in patients with severe gastric mucosal lesions in the chronic gastritis group were higher than those in other groups, but the difference was not significant among each group ( $F = 1.706$ ,  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Patients with chronic HBV infection often have concurrent gastric mucosal lesions. The decrease in gastric mucosal levels of sIgA may be involved in the development of gastric mucosal lesions in patients with chronic liver disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** HBV infection; Gastric mucosal lesions; Gastric mucosa; sIgA

Cao XX, Li J, Luo YW, Chen YH, Ran Y. Significance of gastric mucosal levels of sIgA in patients with chronic HBV infection and gastric mucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 256-260

## 摘要

**目的:** 探讨sIgA在慢性乙型肝炎病毒(hepatitis

## ■同行评议者

张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

B virus, HBV)感染合并胃黏膜损伤中的变化及意义。

**方法:** 选择慢性HBV感染患者40例, 排除其他肝病及既往胃病史; 慢性胃炎40例, 排除既往肝病史; 正常对照为9例胃镜检查正常体检者。均行电子胃镜检查, 从形态学上了解胃、十二指肠黏膜病变情况, 同时抽取胃黏液, 采用放射免疫法检测sIgA水平。

**结果:** (1)按Mc Cormick标准, 慢性HBV感染组胃黏膜病变占80.0%(32/40), 其中慢重肝的重度胃黏膜病变占46.15%(6/13); 慢性胃炎组胃黏膜病变占77.5%(31/40); (2)在慢性HBV感染组, 肝损伤越重, 胃黏膜病变发生率越高, 随着胃黏膜病变的加重, 胃黏液sIgA水平逐渐降低, 差异有统计学意义( $P<0.01$ ), 并且sIgA水平同胃黏膜病变分度之间呈负相关( $r = -0.516$ ,  $P<0.01$ ); 虽然慢乙肝、肝硬化患者的胃黏液sIgA水平均高于正常组( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), 但随着肝病程度的加重, sIgA水平是呈逐渐降低趋势, 在慢重肝患者甚至低于正常人; 胃黏液sIgA水平还与ALB、PTA呈正相关( $r = 0.453$ ,  $P<0.01$ ;  $r = 0.557$ ,  $P<0.01$ ), 而与ALT、TBIL无相关性( $r = 0.008$ ,  $P>0.05$ ;  $r = -1.522$ ,  $P>0.05$ ); (3)慢性胃炎组重度胃黏膜病变的胃黏液sIgA水平高于其他各组, 但各组之间比较差异无统计学意义( $F = 1.706$ ,  $P>0.05$ )。

**结论:** 慢性HBV感染常伴有胃黏膜病变的发生, 肝损伤越重, 胃黏膜损害程度越重; 慢性HBV感染者胃黏膜病变的发生与多种因素有关, 但胃黏液sIgA作为胃黏膜防御因子, 其水平的下降, 可能参与了慢性肝病胃黏膜病变的形成。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** HBV感染; 胃黏膜病变; 胃黏液; sIgA

曹新鲜, 李佳, 罗亚文, 陈应华, 冉燕. 慢性HBV感染合并胃黏膜病变时胃黏液sIgA的变化及其意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 256-260  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/256.asp>

## 0 引言

慢性肝病常合并胃黏膜病变, 其发病机理尚未完全阐明, 可能是多种因素共同作用的结果。既往我们曾从胃肠激素水平方面进行了研究, 发现胃肠激素代谢紊乱可能参与了慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者胃黏膜病变的发生<sup>[1,2]</sup>。近年来, 分泌型sIgA的研究日益受到重视, 因其在胃肠道黏膜免疫中的重要作用<sup>[3]</sup>,

他是否也参与了HBV感染者胃黏膜病变的发生, 目前尚不清楚。因此我们拟通过了解慢性HBV感染者胃黏膜病变程度与胃黏液sIgA水平之间的关系, 进一步探讨慢性HBV感染合并胃肠黏膜损伤的机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 纳入2006-09/2009-07我科及消化内科收治的慢性HBV感染者及慢性胃炎患者90例, 为统一标准, 使结果更加可靠, 去除了幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性5例、胃十二指肠溃疡2例、合并其他肝病患者3例, 最后符合纳入标准病例80例。慢性HBV感染组40例, 乙型肝炎血清标志物阳性, 均有肝功能损害, 排除其他肝病, 并通过询问病史排除既往胃病史, 其中慢性乙型肝炎13例、肝硬化14例、慢重肝13例, 男38例, 女2例, 平均年龄(41.63岁 $\pm$ 11.10岁。诊断符合2000-09(西安)病毒性肝炎防治方案诊断标准<sup>[4]</sup>); 慢性胃炎组40例, 肝功能正常, 并排除病毒性肝炎及其他肝病, 全部男性, 平均年龄(38.13岁 $\pm$ 9.03岁; 正常对照组9例男性, 平均年龄39.52岁 $\pm$ 10.12岁, 为门诊胃镜检查胃黏膜病变0度的体检者, 无肝炎病史, 肝功能正常, 甲、乙、丙、戊型肝炎标志物阴性。研究对象分为3组, 在年龄、性别等方面没有统计学差异。

**1.2 方法** (1)治疗前行电子胃镜检查, 从形态学上了解胃、十二指肠黏膜病变情况(部分患者进行了病理检查, 符合形态学诊断)。胃黏膜改变按Mc Cormick标准<sup>[5]</sup>分4度。0度: 胃黏膜可见充血水肿或渗出; 轻度: 胃黏膜呈花斑状或蛇皮样外观; 中度: 胃黏膜呈红色斑片状; 重度: 糜烂或出血性胃炎; (2)胃镜检查同时, 取胃窦部活检标本行快速尿素酶试验检测*H. pylori*。并由活检孔插入消毒塑料管, 抽取胃黏液1-2 mL, 于-70℃低温冰箱保存, 采用放射免疫法检测sIgA, 根据自动放免仪 $\gamma$ 计数器程序自动计算出胃黏液sIgA的含量, 试剂购自上海放射免疫分析技术有限公司, 批号: 国药准字S10950066, 严格按说明书操作。慢性HBV感染组于入院次日空腹采集静脉血作丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、凝血功能等检测。

**统计学处理** 研究数据按成组设计要求收集、整理、建立数据库, 采用SPSS15.0软件进行

## ■研究前沿

目前关于肝病方面的研究主要集中在血清sIgA的检测。慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者胃黏液sIgA的变化情况如何, 他是否也参与了慢性HBV感染者胃黏膜病变的发生, 其发生机制如何, 目前尚未见报道。

## ■相关报道

许多学者曾报道血清中也存在sIgA, 在慢性肝炎患者血清sIgA的含量均显著高于正常对照组, 并随肝病的加重而变化。胃液中的sIgA为一局部免疫系统, 有报道胃液sIgA在幽门螺杆菌感染组明显高于非感染组。sIgA的变化除与胃肠道疾病有关外, 还与肝胆疾病的变态反应等有密切关系。

## ■创新盘点

本文比较不同肝损伤情况下胃黏膜病变程度与胃黏液sIgA水平之间的关系,探讨胃肠免疫功能变化是否参与了慢性HBV感染者胃黏膜病变的形成。

统计分析,以mean±SD表示,多组资料比较采用方差分析,组内两两比较用 $q$ 检验。相关性分析采用Spearman相关。检验结果以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同肝损害与胃黏膜病变程度的关系** 所有组均进行了胃镜检查。慢性HBV感染组80%(32/40)有较明显的胃黏膜病变,其中0度8例,轻度14例,中度5例,重度13例。胃黏膜病变发生率分别为:慢乙型肝炎69.23%(9/13),肝硬化78.57%(11/14),慢重肝92.31%(12/13),并且随着肝损害的加重,胃黏膜病变程度也有加重的趋势,尤其以慢重肝组较明显,重度胃黏膜病变占46.15%(6/13),结果如图1。慢性胃炎组仅77.50%(31/40)有较明显的胃黏膜病变,其中0度9例,轻度13例,中度8例,重度10例。

**2.2 慢性HBV感染组胃黏膜病变程度与胃黏液sIgA的关系** 在慢性HBV感染组,肝损伤越重,胃黏膜病变发生率越高,损伤程度也越重。因此,我们对不同程度的慢性乙型肝炎患者同时进行了胃黏膜病变程度与胃黏液sIgA的比较。从表1看到:随着胃黏膜病变加重,胃黏液sIgA呈逐渐降低趋势,差异有统计学意义( $F=4.457$ ,  $P<0.01$ )。重度胃黏膜病变时胃黏液sIgA下降最明显,与0度、轻度比较差异均有显著性( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )。中度胃黏膜病变时胃黏液sIgA与0度比较差异也有统计学意义( $P<0.05$ )。另外,相关性分析显示,胃黏膜病变分度同胃黏液sIgA水平之间呈负相关( $r=-0.516$ ,  $P<0.01$ )。

**2.3 慢性HBV感染组胃黏液sIgA的变化** 慢性HBV感染组胃黏液sIgA水平总体来说高于正常对照组,差异有统计学意义( $F=6.655$ ,  $P<0.01$ )。但是,从表2显示:随着肝脏病情加重,胃黏液sIgA水平呈逐渐下降趋势。尤其慢重肝组胃黏液sIgA的下降最明显,甚至低于正常对照组;并且在6例死亡患者中,有5例sIgA降到最低水平(均为0.0  $\mu\text{g/mL}$ ),与慢性乙型肝炎、肝硬化组比较差异有统计学意义(均 $P<0.01$ )。

**2.4 慢性HBV感染组肝功能变化与胃黏液sIgA水平的关系** 随着肝病程度的加重,肝功能指标中的ALB、PTA明显降低,而TBIL则明显升高。同时,胃黏液sIgA水平却随着肝病的加重呈逐渐降低趋势,在慢重肝组与慢性乙型肝炎、肝硬化比较差异有统计学意义,结果见表3。相关性分析还看到:胃黏液sIgA水平与ALB、PTA呈正

相关( $r=0.453$ ,  $P=0.003$ ,  $r=0.557$ ,  $P=0.000$ ),而与ALT、TBIL无相关性,相关系数分别为(0.008, -1.522)( $P>0.05$ )。

**2.5 慢性HBV感染组与慢性胃炎组之间胃黏液sIgA水平的变化** 在慢性HBV感染组中,随着胃黏膜病变加重,胃黏液sIgA水平呈逐渐降低趋势。而在慢性胃炎组中,0度、轻度、中度胃黏膜病变者胃黏液sIgA水平接近,但重度胃黏膜病变的sIgA水平明显增高,两组结果比较见图2。

## 3 讨论

黏膜免疫是指机体与外界相通的腔道(呼吸道、消化系、泌尿道)黏膜表面的免疫,黏膜免疫在抵御外界病原微生物的侵袭中发挥了重要作用。sIgA是黏膜免疫系统的主要效应分子,是抵御病原体及有害物质的第一道免疫防线,是机体黏膜免疫最重要的抗体<sup>[6]</sup>。他是由黏膜下层浆细胞产生的单体IgA与上皮细胞合成的分泌片段(Secretory component, SC, 分子量80 kDa的糖蛋白)结合而成的,多黏附在黏膜表面,当胃黏膜受到不同程度侵袭时,黏膜便产生大量的sIgA,以抵抗各种病原体的入侵<sup>[7]</sup>。但是,当炎症加重时,上皮细胞内SC的浓度降低,直接影响sIgA的分泌,又使黏膜防御功能减弱。另外,还有学者报道<sup>[8]</sup>,人体内存在聚和IgA(polymer immunoglobulin A, PIgA)的肠肝循环,即入血的PIgA经肝脏重回肠腔,因此肝脏是肠道黏膜免疫系统的组成部分,参与了sIgA的形成、运转及代谢过程。本研究主要是探讨胃肠免疫功能变化是否参与了慢性HBV感染者的胃黏膜损伤。

从慢性HBV感染者的胃镜结果显示,胃黏膜病变发生率为80.0%(32/40),其发生率较以往报道(66.1%)高<sup>[1]</sup>,主要是由于肝硬化、慢重肝病例较多,并且慢重肝组重度胃黏膜病变占46.15%,提示慢性HBV感染者的肝损害与胃黏膜病变程度之间存在平行关系。既往我们的研究表明<sup>[1]</sup>,胃肠激素代谢紊乱可能参与了慢性肝病胃黏膜病变的发生,那么胃液中sIgA作为一局部免疫系统,是分泌型的胃黏膜保护机制,在慢性乙型肝炎不同的胃黏膜损伤中,他是否也参与了胃黏膜病变的发生目前尚不清楚,因此我们进行了胃黏液sIgA的检测。随着胃黏膜病变的加重,胃黏液sIgA呈逐渐降低趋势,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),以重度胃黏膜病变组的下降最明显。同时,胃黏膜病变分度同胃黏液sIgA水平之间呈负相关( $r=-0.516$ ,  $P<0.01$ ),说明肝脏作为



表 1 慢性HBV感染组胃黏膜病变与胃黏液sIgA的关系 (mean ± SD)

胃黏膜病变分度	n	胃黏液sIgA(μg/mL)
0度	8	2.889 ± 2.571
轻度	14	1.584 ± 1.402
中度	5	0.814 ± 1.102
重度	13	0.665 ± 0.865 <sup>bc</sup>
F 值		4.457
P 值		<0.01

<sup>b</sup>P<0.01 vs 0度胃黏膜病变组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 轻度胃黏膜病变组。

表 2 慢性HBV感染者胃黏液sIgA测定结果比较 (mean ± SD)

分组	n	胃黏液sIgA(μg/mL)
正常组	9	0.511 ± 0.408
慢性乙型肝炎	13	2.435 ± 2.369
肝硬化	14	1.466 ± 1.107
慢重肝	13	0.449 ± 0.547 <sup>bd</sup>
F 值		6.655
P 值		<0.01

<sup>b</sup>P<0.01 vs 慢性乙型肝炎组; <sup>d</sup>P<0.01 vs 肝硬化组。

肠道黏膜免疫系统的组成部分,可能参与了sIgA的形成、运转及代谢过程。肝病越重、胃黏膜病变越重,黏膜上皮细胞内分泌片段的浓度也降低,使得黏膜合成sIgA下降,直接影响了sIgA的分泌。而sIgA作为黏膜防御因子可抑制局部炎症,当缺乏或降低时,又易发生慢性或复发性感染<sup>[9]</sup>,加重胃黏膜病变的形成。

另一方面,我们根据慢性HBV感染组中不同程度的肝病患者,进行了胃黏液sIgA的比较,了解肝损伤的程度与胃黏液sIgA之间有无相关性。慢性HBV感染(除慢重肝外)sIgA普遍高于正常人,推测可能是由于HBV随血液经损伤胃黏膜进入胃液,或胃黏膜组织中有乙型肝炎病毒复制<sup>[10,11]</sup>、乙型肝炎抗原抗体复合物在胃黏膜沉积<sup>[12]</sup>,刺激胃黏膜上皮细胞、浆细胞分泌sIgA增加,以清除病原体。但是在慢性HBV感染组,随着肝损害程度的加重,sIgA水平呈逐渐下降趋势,尤其在慢重肝患者胃黏液sIgA含量显著降低,且低于正常人。相关性分析结果也显示:胃黏液sIgA与反应肝脏合成能力及炎症坏死程度的ALB、PTA呈正相关。分析其原因可能为慢重肝时,急性胃黏膜病变等因素导致胃黏膜发生糜烂、出血,上皮细胞、浆细胞遭到破坏,使胃

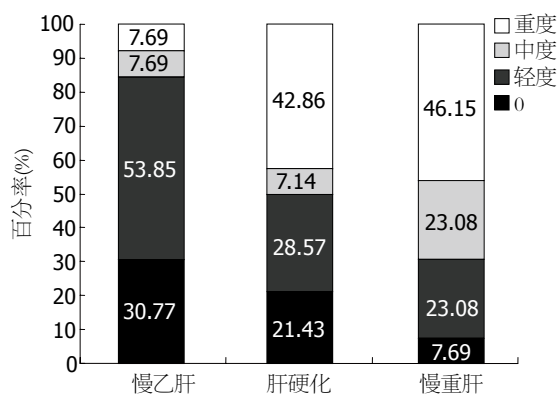


图 1 慢性HBV感染组胃黏膜的病变程度(%)。

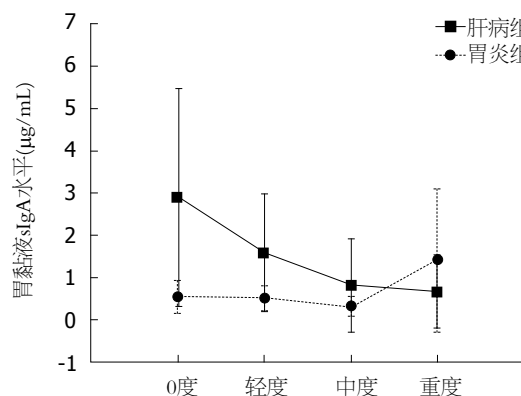


图 2 慢性HBV感染组同慢性胃炎组胃黏液sIgA的变化。

黏膜合成sIgA明显减少,所以低于正常人。

为了解sIgA的下降是因肝病引起,还是胃炎本身引起,我们还对慢性胃炎患者进行了胃黏液sIgA的检测。根据以往报道<sup>[13,14]</sup>胃、十二指肠溃疡及*H. pylori*感染者胃黏液sIgA水平均明显增高,sIgA含量与*H. pylori*密切相关。本次实验为防止干扰因素,去掉了胃、十二指肠溃疡及*H. pylori*感染者。慢性胃炎患者不同胃黏膜病变分度中,轻、中度胃黏膜病变组sIgA水平无明显升高,与0度组接近,但是在重度胃黏膜病变组的sIgA水平却明显高于其他各组。说明慢性胃炎如果没有合并*H. pylori*感染,胃黏液sIgA的变化不大,与以往报道一致<sup>[13,14]</sup>。重度胃黏膜病变组sIgA的升高,推测可能是慢性胃炎患者胃黏膜病变除与*H. pylori*感染有关外,还与饮食因素、胃液pH值、自身免疫,其他如酗酒、服用非甾体抗炎药等导致胃黏膜损害有关,从而刺激胃黏膜上皮细胞、浆细胞分泌sIgA增加,以保护胃黏膜;在慢性HBV感染组中,随着胃黏膜病变加重,胃黏液sIgA水平呈逐渐降低趋势,以重度胃黏膜病变组sIgA水平的下降最明显。说明慢性HBV感染组胃黏膜损害除与胃肠激素代谢紊乱、炎

## ■应用要点

本文的研究发现,慢性肝病越重,胃黏膜病变越重,胃黏液sIgA水平越低,sIgA的变化可能也参与了慢性HBV感染者胃黏膜病变的形成。这有望为临床防治慢性HBV感染合并胃黏膜病变提供新思路。

## ■同行评价

该研究有一定的创新性、实际意义和临床价值;创新点和重点科学问题能够与目的、材料和方法、结果(包括重要数据)和结论相符;文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国和国际胃肠病学临床和基础研究水平。

表 3 慢性HBV感染组肝功能变化与胃黏液sIgA水平的关系 (mean ± SD)

分组	n	sIgA(μg/mL)	丙氨酸氨基转移酶(U/L)	总胆红素(μmol/L)	白蛋白(g/L)	PTA(%)
慢性乙型肝炎	13	2.435 ± 2.369	459.92 ± 391.62	104.67 ± 134.74	38.40 ± 4.46	82.31 ± 17.22
肝硬化	14	1.466 ± 1.107	255.64 ± 233.48	109.30 ± 115.68	34.56 ± 6.67	75.93 ± 14.46
慢重肝	13	0.449 ± 0.547 <sup>b</sup>	483.92 ± 537.65	355.84 ± 188.07 <sup>bd</sup>	29.41 ± 3.54 <sup>bc</sup>	34.54 ± 5.19 <sup>bd</sup>
F值		7.613	1.197	10.293	10.137	77.420
P值		0.002	0.314	0.000	0.000	0.000

<sup>b</sup>P<0.01 vs 慢性乙型肝炎组; <sup>c</sup>P<0.05, <sup>d</sup>P<0.01 vs 肝硬化组。

症介质失控、内毒素血症、门静脉高压等有关外<sup>[15]</sup>,还与肝病导致的胃黏膜严重损害,使sIgA合成及分泌减少有关。

综上所述,我们认为慢性HBV感染引起胃黏液sIgA改变的原因可能为:(1)慢性肝病时,由于肝功能的障碍,胃肠激素代谢发生紊乱,在综合因素作用下,导致胃黏膜病变发生;(2)胃黏膜损害较轻时,可能是由于胃黏膜组织中有乙型肝炎抗原物质作为免疫攻击的靶抗原,从而引起胃黏膜局部发生免疫反应,sIgA为清除病原体而分泌增加;(3)当炎症进展,胃黏膜损害加重,使黏膜上皮细胞、黏膜下层浆细胞受损,IgA、SC合成减少,从而胃黏膜合成、分泌sIgA减少;(4)sIgA的分泌降低反过来又导致了胃黏膜的免疫功能下降,防御因子作用减弱,而攻击因子(病毒、细菌、酸、酶等)作用增强,从而加重了胃黏膜病变。他们之间相辅相成,互为因果,形成恶性循环,使sIgA分泌更加减少。虽然胃黏膜病变的发生与多种因素有关,但胃黏液sIgA作为胃黏膜防御因子,其水平的下降,可能参与了慢性肝病胃黏膜病变的形成。本研究不足之处在于未同时进行胃液pH值的检测比较,尚待扩大样本量、在分组上参照新标准进一步进行研究。

## 4 参考文献

1 李佳,李丽娟,王攀,邱隆敏,罗亚文.慢性肝病胃黏

膜病变与胃泌素、胃动素的关系.中华传染病杂志 2005; 23: 110-112

2 罗亚文,李佳,易学东.肝硬化患者血浆胃泌素、胃动素与门脉高压的关系.临床荟萃 2005; 20: 1047-1048

3 Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. Science 2004; 303: 1662-1665 [PMID: 15016999]

4 中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学分会联合修订.病毒性肝炎防治方案.中华传染病杂志 2001; 19: 56-62

5 McCormick PA, Sankey EA, Cardin F, Dhillon AP, McIntyre N, Burroughs AK. Congestive gastropathy and Helicobacter pylori: an endoscopic and morphometric study. Gut 1991; 32: 351-354 [PMID: 2026332]

6 Woof JM, Kerr MA. The function of immunoglobulin A in immunity. Pathol 2006; 208: 270-282 [DOI: 10.1002/path.1877]

7 付金龙,刘沛.SC结构功能及其临床研究进展.世界华人消化杂志 2009; 17: 293-298

8 檀榕,孙宪涛,张国治.血清sIgA升高在肝胆疾病中的意义.中华消化杂志 1987; 7: 100

9 曾常茜.分泌型IgA在黏膜抗感染中的作用.北华大学学报(自然科学版) 2005; 6: 33-35

10 庞念德,陈安海.慢性乙型肝炎病毒感染者胃黏膜、胃液及血清中乙肝病毒标志物相关性研究.贵州医药 2011; 35: 318-322

11 朱锦生,戴小波.慢性乙型肝炎患者胃液和胃黏膜中HBV DNA检测.临床和实验医学杂志 2009; 8: 71-74

12 甄真,何朝霞,金国华,刘金星,李兵顺.乙型肝炎病毒感染对慢性乙肝、肝硬化患者胃黏膜病变的影响.中国实用内科杂志 2005; 25: 1079

13 孟祥清,马燕,程训民.检测胃液中sIgA诊断HP感染应用价值.实用医技杂志 2005; 12: 2715

14 陈锦芳,周媛.慢性萎缩性胃炎湿热蕴脾证胃黏膜免疫特点研究.光明中医 2010; 25: 437-438

15 徐道振.病毒性肝炎临床实践.第1版.北京:人民卫生出版社,2006: 476-479

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 环氧合酶-2抑制剂联合XELOX方案一线治疗晚期胃癌24例

潘战和, 苏安, 王馨, 吕霞, 蔡清清, 高岩

潘战和, 苏安, 王馨, 吕霞, 厦门大学附属中山医院肿瘤科 福建省厦门市 361004

蔡清清, 高岩, 中山大学附属肿瘤医院化疗科 广东省广州市 510060

潘战和, 硕士, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤的基础和临床研究。  
作者贡献分布: 此课题由潘战和与苏安设计; 研究过程由潘战和、苏安、王馨、吕霞、蔡清清及高岩完成; 数据分析由潘战和与苏安完成; 论文由潘战和完成。

通讯作者: 苏安, 副主任医师, 361004, 福建省厦门市湖滨南路 201-209号, 厦门大学附属中山医院肿瘤科。xmzszl@163.com  
电话: 0592-2292178

收稿日期: 2012-11-09 修回日期: 2012-12-09

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Cyclooxygenase-2 inhibitor combined with capecitabine and oxaliplatin (XELOX) as a first-line therapy for advanced gastric cancer: An analysis of 24 cases

Zhan-He Pan, An Su, Xin Wang, Xia Lv, Qing-Qing Cai, Yan Gao

Zhan-He Pan, An Su, Xin Wang, Xia Lv, Department of Oncology, Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian Province, China

Qing-Qing Cai, Yan Gao, Department of Medical Oncology, Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

Correspondence to: An Su, Associate Chief Physician, Department of Oncology, Zhongshan Hospital, Xiamen University, 201-209 Hubin South Road, Xiamen 361004, Fujian Province, China. xmzszl@163.com

Received: 2012-11-09 Revised: 2012-12-09

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

### Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and toxicity of oxaliplatin combined with capecitabine (XELOX regimen) plus cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor celecoxib in the treatment of advanced gastric cancer (AGC).

**METHODS:** Forty-seven eligible patients were randomly assigned to a trial group and a control group. In the trial group, 24 patients were treated with celecoxib plus the XELOX regimen, while 23 patients in the control group omitted the oral intake of celecoxib. Treatment was repeated every 3 wk.

**RESULTS:** There was no significant difference in the overall response rate (RR) between the trial group and control group (50.0% vs 39.1%,  $P > 0.05$ ). The disease control rate (DCR) was significantly higher in the trial group than in the control group (91.7% vs 65.2%,  $P < 0.05$ ). The percentage of patients with improved quality of life (QOL) was significantly higher in the trial group than in the control group (83.3% vs 56.5%,  $P < 0.05$ ). The median time to progression (mTTP) was significantly longer in the trial group than in the control group (7.2 mo vs 5.7 mo,  $P < 0.05$ ). The median survival time (MST) and one-year overall survival (OS) rate in the trial group were higher than these in the control group, but there was no statistically significant difference between the two groups (MST: 12.5 mo vs 11.3 mo; OS rate: 47.6% vs 41.2%; both  $P > 0.05$ ). The incidence of hand-foot syndrome (HFS) was significantly lower in the trial group than in the control group (12.5% vs 39.1%,  $P < 0.05$ ). Other toxicities were similar between the two groups. No chemotherapy-related death occurred.

**CONCLUSION:** COX-2 inhibitor combined with the XELOX regimen can improve the disease control rate and quality of life, reduce the incidence of hand-foot syndrome, and benefit median time to progression, but not overall survival time, in the treatment of advanced gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Advanced gastric cancer; Celecoxib; Oxaliplatin; Capecitabine; Efficacy

Pan ZH, Su A, Wang X, Lv X, Cai QQ, Gao Y. Cyclooxygenase-2 inhibitor combined with capecitabine and oxaliplatin (XELOX) as a first-line therapy for advanced gastric cancer: An analysis of 24 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 261-265

### 摘要

**目的:** 评价环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂塞来昔布联合XELOX方案治疗晚期胃癌的疗效及不良反应。

### ■背景资料

晚期胃癌预后不良, 化疗可以带来生存获益, 但化疗方案的选择和优化还有待进一步的研究。环氧合酶-2(COX-2)抑制剂塞来昔布可抑制胃癌细胞增殖和血管生成, 是潜在的化疗增敏剂, 和化疗联合有可能提高疗效并改善患者生活质量。

### ■同行评议者

王健生, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科



## ■研发前沿

化疗可以增加晚期胃癌的疗效,改善患者的生存质量,并延长生存期。目前临床用于治疗晚期胃癌的化疗方案较多,但总体疗效仍不令人满意,进一步优化治疗策略是目前临床亟待解决的问题和研究的热点。

**方法:** 将47例符合入组条件的晚期胃癌患者随机分为两组, 试验组24例, 采用XELOX方案联合塞来昔布治疗; 对照组23例, 采用XELOX方案治疗, 不加塞来昔布。每21 d为一周期, 每2周期评价疗效。

**结果:** 试验组和对照组的总有效率(response rate, RR)分别为50.0%(12/24)和39.1%(9/23), 两组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为91.7%(22/24)和65.2%(15/23), 两组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。生活质量改善率分别为83.3%和56.5%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。中位疾病进展时间(median time to progression of disease, mTTP)分别为7.2 mo、5.7 mo, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 中位生存期(median survival time, MST)分别为12.5 mo、11.3 mo, 1年总生存率(Overall survival, OS)分别为47.6%、41.2%, 试验组好于对照组, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。试验组手足综合征发生率(12.5%)较对照组(39.1%)低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 其他不良反应两组相似, 且均无化疗相关性死亡。

**结论:** 环氧合酶-2抑制剂联合XELOX方案治疗晚期胃癌能提高疾病控制率, 改善患者生活质量, 并能降低手足综合征发生率, 同时能延长疾病进展时间, 但未能延长总生存, 值得临床进一步研究。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 晚期胃癌; 塞来昔布; 奥沙利铂; 卡培他滨; 疗效

潘战和, 苏安, 王馨, 吕霞, 蔡清清, 高岩. 环氧合酶-2抑制剂联合XELOX方案一线治疗晚期胃癌24例. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 261-265

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/261.asp>

## ■相关报道

近年研究显示, COX-2抑制剂塞来昔布可抑制胃癌细胞增殖和血管生成, 而且和化疗药联用可以起协同作用, 是潜在的化疗增敏剂。另有研究显示, 塞来昔布在显示抗肿瘤活性的同时可以降低卡培他滨所致的手足综合征的发生率。

## 0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 是严重威胁人民健康的疾病。与欧美日本等西方国家不同, 因观念或条件所限, 我国胃癌在明确诊断时往往已是晚期。晚期胃癌预后不良, 化疗可以带来生存获益, 但化疗方案的选择和优化还有待进一步的研究。国内外研究显示<sup>[1,2]</sup>, 奥沙利铂联合卡培他滨(XELOX方案)治疗晚期胃癌取得不错的疗效, 但仍不令人满意。近年有研究显示, 选择性环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑

制剂塞来昔布可抑制胃癌细胞增殖和血管生成, 而且和化疗药联用可以起协同作用, 是潜在的化疗增敏剂<sup>[3]</sup>。另有研究显示, 塞来昔布在显示抗肿瘤活性的同时可以降低卡培他滨所致的手足综合征的发生率<sup>[4]</sup>。本研究目的在于观察和比较XELOX方案加或不加塞来昔布治疗晚期胃癌的疗效及不良反应。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2009-4/2011-12收治晚期胃癌患者47例, 均经组织病理学或细胞学证实。病例入选标准: 至少有一个可测量病灶; Karnofsky体能评分 $\geq 60$ 分; 预计生存期 $\geq 3$  mo; 既往未接受过化疗的初治患者; 血常规、肝功能和心功能基本正常, 具备化疗条件; 患者自愿接受治疗并签署知情同意书。排除标准: 严重未控制的内外科合并疾病或急性感染; 有其他恶性肿瘤病史; 精神疾病史。47例患者通过抽签随机分为两组, 试验组24例, 对照组23例, 两组患者的临床特征均衡(均 $P>0.05$ , 表1)。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗方案:** 试验组采用XELOX方案加塞来昔布治疗(XELOX-C方案: 卡培他滨2 000 mg/(m<sup>2</sup>·d), 每日分2次口服, d1-14, 奥沙利铂130 mg/(m<sup>2</sup>·d), 静脉点滴, d1; 塞来昔布200 mg, 口服, 2次/d, 连续服用至全部化疗结束), 对照组采用XELOX方案, 与试验组化疗方案相同, 但不给予塞来昔布。每21 d为一周期, 每2周期评价疗效。应用奥沙利铂前30 min常规静脉滴注5-HT<sub>3</sub>受体阻滞剂; 不预防性应用粒细胞集落刺激因子, 如出现Ⅱ度以上的白细胞减少可以使用粒细胞集落刺激因子。

**1.2.2 疗效和不良反应评价标准:** 疗效判定按照实体瘤治疗疗效评价标准RECIST(response evaluation criteria in solid tumors)分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD), 以CR+PR为有效率(response rate, RR), 以CR+PR+SD为疾病控制率(disease control rate, DCR)。生活质量(quality of life, QOL)参照Karnofsky评分, 以治疗后Karnofsky评分增加 $\geq 10$ 分为QOL改善, 增加或降低 $<10$ 分为QOL稳定, 降低 $\geq 10$ 分为QOL降低, 将改善和稳定定义为生活质量获益。不良反应按美国癌症研究所(NCI)化疗毒性分级标准(CTC)进行观察和判断, 分为0-IV级。

表 1 治疗组和对照组临床特征比较(n)

临床病理特征	试验组	对照组
性别		
男	15	13
女	9	10
年龄(岁)		
中位年龄	55	54
年龄范围	22-76	21-74
病理类型		
低分化腺癌	11	10
中分化腺癌	7	8
黏液腺癌	4	3
印戒细胞癌	2	2
转移部位		
腹腔淋巴结转移	13	15
肝脏转移	6	5
盆腔卵巢转移	2	3
锁骨上淋巴结转移	5	4
其他转移	7	5

**统计学方法** 采用SPSS13.0软件包进行统计学分析, 率的比较采用 $\chi^2$ 检验, 生存分析采用log-rank法, 以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 近期客观疗效** 全部47例患者均可评价客观疗效。试验组24例共完成115周期化疗, 平均约4.8周期, RR 50.0%, DCR 91.7%; 对照组23例共完成116周期化疗, 平均约5.0周期, RR 39.1%, DCR 65.2%。试验组较对照组RR提高10.9%, 但差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.561$ ,  $P = 0.454$ ), DCR提高26.5%, 两组间差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.905$ ,  $P = 0.027$ , 表2)。

**2.2 生活质量改善情况** 按Karnofsky评分评定的QOL, 试验组24例患者治疗后QOL总获益率(改善+稳定)83.3%(20/24), 对照组23例患者治疗后QOL总获益率56.5%(13/23), 两组差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.037$ ,  $P = 0.045$ , 表2)。

**2.3 生存情况** 试验组和对照组的中位疾病进展时间(median time to progression of disease, mTTP)分别为7.2 mo和5.7 mo, 差异有统计学意义( $P = 0.047$ )。试验组中位生存期(median survival time, MST)为12.5 mo, 1年生存率47.6%, 对照组MST为11.3 mo, 1年生存率41.2%, 两组差异无统计学意义( $P = 0.507$ )。

**2.4 不良反应** 两组患者的主要不良反应为恶心呕吐、腹泻、骨髓抑制、周围神经毒性、手足

综合征等, 多为 I - II 级, III-IV 级反应少见, 经对症处理后均能好转, 无治疗相关死亡。试验组手足综合征发生率为12.5%(3/24), 较对照组39.1%(9/23)低, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.381$ ,  $P = 0.036$ ), 其他不良反应两组相似, 差异均无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ , 表3)。

## 3 讨论

据2011年发布的全球癌症最新统计数据<sup>[5]</sup>, 胃癌分别为男性第4大肿瘤、女性第5大肿瘤, 且超过70%的新发病例和死亡病例发生在发展中国家, 东亚是发病率最高的地区。尽管目前全世界胃癌发病率总体较前有所下降, 但在我国, 胃癌发病率仍居消化道肿瘤发病之首<sup>[6]</sup>, 且在明确诊断时往往已经是疾病晚期。

化疗是晚期胃癌治疗的主要手段, 研究表明, 胃癌是对化疗相对敏感的肿瘤, 联合化疗可以增加疗效, 改善患者的生存质量, 并延长生存期<sup>[7]</sup>。但目前临床用于治疗晚期胃癌的化疗方案较多, 疗效各有差异, 且尚无全球公认的统一的标准化疗方案。国内外多个研究显示, 奥沙利铂联合卡培他滨(XELOX方案)是治疗晚期胃癌的有效方案。Luo等<sup>[1]</sup>应用XELOX方案一线治疗晚期胃癌, 总有效率42%。Park等<sup>[2,8]</sup>用XELOX方案一线治疗20例进展期胃癌, 结果有2例CR, 11例PR, 无进展生存期为7.5 mo, 此后进行的多中心II期临床研究, 共纳入54例进展期胃癌患者, 采用XELOX方案化疗, 结果RR为63%, 其中3例CR, 31例PR, TTP为5.8 mo, 中位OS为11.9 mo。但总体疗效仍不令人满意, 尚需进一步优化治疗策略。

研究发现<sup>[9,10]</sup>, COX-2在胃癌、大肠癌等恶性肿瘤及其癌前病变中表达率为40%-80%, 肿瘤血管内皮及邻近肿瘤浸润部位均表达COX-2, 而在正常组织中几乎不表达。COX-2可能参与肿瘤的增殖、凋亡、血管生成及侵袭行为等, COX-2已成为治疗和预防肿瘤的一个重要靶点<sup>[11-13]</sup>。研究还发现, 塞来昔布作为选择性环氧合酶-2抑制剂不仅能抑制胃癌细胞增殖、新生血管生成、诱导细胞凋亡, 而且和化疗药联用后可以起协同作用, 能增加化疗药疗效, 是潜在的化疗增敏剂<sup>[3,10]</sup>。Steinbild等<sup>[13]</sup>的研究发现塞来昔布与希罗达联合使肿瘤血供减少, 血管通透性降低, 从而使肿瘤生长及转移能力受到抑制, 从理论上讲, 塞来昔布与希罗达联合, 既直接抗肿瘤, 又抑制肿瘤血管生成, 二者有协同作用。

### ■创新盘点

基于最新的细胞学实验结果, 将应用前景较好的选择性环氧合酶-2抑制剂塞来昔布联合XELOX方案治疗晚期胃癌, 目前在国内外均未见有报道。

### ■应用要点

本研究为进一步优化晚期胃癌的治疗策略提供了一种新的思路, 对指导临床实践有一定的应用前景和实用价值。

## ■名词解释

手足综合征(HFS): 手掌-足底感觉迟钝或化疗引起的肢端红斑, 是一种皮肤毒性, 主要发生于受压区域, 肿瘤病人在接受化疗或分子靶向治疗的过程中可出现, 特征表现为麻木、感觉迟钝、感觉异常、麻刺感、无痛感或疼痛感, 皮肤肿胀或红斑, 脱屑、皸裂、硬结样水泡或严重的疼痛等。

表 2 试验组和对照组疗效和生活质量比较 (*n*)

分组	<i>n</i>	客观疗效						生活质量			
		CR	PR	SD	PD	RR <i>n</i> (%)	DCR	改善	稳定	下降	总获益 <i>n</i> (%)
试验组	24	2	10	10	2	12(50.0)	22(91.7)	11	9	4	20(83.3)
对照组	23	1	8	6	8	9(39.1)	15(65.2)	7	6	10	13(56.5)
$\chi^2$ 值						0.561	4.905				4.037
<i>P</i> 值						0.454	0.027				0.045

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 疾病稳定; PD: 疾病进展; RR: 有效率; DCR: 疾病控制率。

表 3 试验组和对照组毒副反应比较 (*n*)

分组	粒细胞降低	贫血	血小板降低	恶心呕吐	腹泻	手足综合征	神经毒性
试验组( <i>n</i> = 24)							
I级毒性	7	9	4	8	7	2	9
II级毒性	5	2	1	2	2	1	4
III级毒性	2	0	1	1	0	0	0
IV级毒性	0	0	0	0	0	0	0
合计( <i>n</i> , %)	14(58.3)	11(45.8)	6(25.0)	11(45.8)	9(37.5)	3(12.5)	13(54.2)
对照组( <i>n</i> = 23)							
I级毒性	6	8	3	7	5	5	8
II级毒性	4	1	2	3	2	4	3
III级毒性	2	0	0	0	1	0	1
IV级毒性	0	0	0	0	0	0	0
合计( <i>n</i> , %)	12(52.2)	9(39.1)	5(21.7)	10(43.5)	8(34.8)	9(39.1)	12(52.2)
$\chi^2$ 值	0.180	0.216	0.070	0.026	0.038	4.381	0.022
<i>P</i> 值	0.671	0.642	0.792	0.871	0.846	0.036	0.882

另据文献报道<sup>[14,15]</sup>, COX-2的高表达可促进多药耐药(MDR)的发生, 因此抑制COX-2可能是克服化疗多药耐药的途径之一。

本研究显示, XELOX方案加塞来昔布后DCR、QOL和mTTP均较对照组好, 也好于国内外其他单纯采用XELOX方案治疗晚期胃癌的研究结果<sup>[1,2,8]</sup>, 表明塞来昔布联合XELOX方案治疗晚期胃癌可以提高疾病控制率, 改善患者生活质量, 并能延长疾病进展时间, 初步展现了塞来昔布与化疗联合的良好应用前景。但与对照组比较, 试验组并未显示出总生存的差异, 可能与本研究病例数较少有关, 同时也可能与后续的二线或三线治疗措施有关, 尚需进一步扩大病例数进行观察研究。

在不良反应方面, Cahlin等<sup>[12]</sup>的一项回顾性分析研究显示, 塞来昔布联合卡培他滨(Xeloda)治疗晚期结直肠癌与单用卡培他滨相比较, 手足综合征(HFS)发生率分别为12.5%和34.3%, 同时肿瘤缓解率提高(分别为62.5%、22.8%,  $P<0.01$ ), 中位无疾病进展时间延长(分别为6 mo

和3 mo,  $P<0.02$ ), 提示塞来昔布在显示抗肿瘤活性的同时可以降低卡培他滨所致的手足综合征的发生率<sup>[4]</sup>。本研究也显示, 塞来昔布的加入未明显增加不良反应, 同时手足综合征的发生率明显低于对照组, 其他方面的不良反应两组相似, 与Cahlin等的研究结果吻合, 再次提示塞来昔布可能降低手足综合征的发生率。但其作用机制尚不明, 有观点认为基于HFS的病理表现, 考虑是一种炎症反应, 可能和环加氧酶(COX-2)过表达有关, 抑制COX-2则有可能减少HFS的发生率, 值得临床进一步研究证实。

总之, XELOX方案联合COX-2抑制剂塞来昔布治疗晚期胃癌可能进一步提高疾病控制率, 改善患者生活质量, 延长疾病进展时间, 并降低手足综合征发生率, 值得扩大样本量进一步深入研究。

## 4 参考文献

- 1 Luo HY, Xu RH, Wang F, Qiu MZ, Li YH, Li FH, Zhou ZW, Chen XQ. Phase II trial of XELOX as first-line treatment for patients with advanced gas-



- tric cancer. *Chemotherapy* 2010; 56: 94-100 [PMID: 20357440 DOI: 10.1159/000305256]
- 2 Park YH, Lee JL, Ryoo BY, Ryu MH, Yang SH, Kim BS, Shin DB, Chang HM, Kim TW, Yuh YJ, Kang YK. Capecitabine in combination with Oxaliplatin (XELOX) as a first-line therapy for advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 61: 623-629 [PMID: 17522863 DOI: 10.1007/s00280-007-0515-7]
  - 3 Zhu FS, Chen XM, Wang YJ, Zhang X, Feng JX. [Antitumor effects of specific cyclooxygenase inhibitors combined with chemotherapeutic agents on gastric cancer cells in vitro]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2007; 29: 186-188 [PMID: 17649633]
  - 4 Lin E, Morris JS, Ayers GD. Effect of celecoxib on capecitabine-induced hand-foot syndrome and antitumor activity. *Oncology (Williston Park)* 2002; 16: 31-37 [PMID: 12520638]
  - 5 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
  - 6 Zou XM, Wang XS, Li YL, Jin ZX, Piao DX, Li XY, Huang DW, Liu WX, Zhang JG, Zhang GL, Zhang HM, Yu ZG, Zhang J, Fan D, Liu WY, Xue YW, Xu J. [Analysis of clinical characteristics of gastrointestinal cancer in Heilongjiang province, China 1998 to 2007]. *Zhonghua Weichang Waik Zazhi* 2009; 12: 577-580 [PMID: 19921567]
  - 7 Ohtsu A. Chemotherapy for metastatic gastric cancer: past, present, and future. *J Gastroenterol* 2008; 43: 256-264 [PMID: 18458840 DOI: 10.1007/s00535-008-2177-6]
  - 8 Park YH, Kim BS, Ryoo BY, Yang SH. A phase II study of capecitabine plus 3-weekly oxaliplatin as first-line therapy for patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2006; 94: 959-963 [PMID: 16552439 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603046]
  - 9 Saukkonen K, Tomasetto C, Narko K, Rio MC, Ristimäki A. Cyclooxygenase-2 expression and effect of celecoxib in gastric adenomas of trefoil factor 1-deficient mice. *Cancer Res* 2003; 63: 3032-3036 [PMID: 12810622]
  - 10 王俊先, 张开光, 李诚, 李祥春, 王晓秋, 丁敏. COX-2与GCS在胃癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2171-2175
  - 11 Futagami S, Tatsuguchi A, Hiratsuka T, Shindo T, Horie A, Hamamoto T, Ueki N, Kusunoki M, Miyake K, Gudis K, Tsukui T, Sakamoto C. Monocyte chemoattractant protein 1 and CD40 ligation have a synergistic effect on vascular endothelial growth factor production through cyclooxygenase 2 upregulation in gastric cancer. *J Gastroenterol* 2008; 43: 216-224 [PMID: 18373164 DOI: 10.1007/s00535-007-2151-8]
  - 12 Cahlin C, Lönnroth C, Arvidsson A, Nordgren S, Lundholm K. Growth associated proteins in tumor cells and stroma related to disease progression of colon cancer accounting for tumor tissue PGE2 content. *Int J Oncol* 2008; 32: 909-918 [PMID: 18360718]
  - 13 Steinbild S, Arends J, Medinger M, Häring B, Frost A, Dreves J, Unger C, Strecker R, Hennig J, Mross K. Metronomic antiangiogenic therapy with capecitabine and celecoxib in advanced tumor patients--results of a phase II study. *Onkologie* 2007; 30: 629-635 [PMID: 18063875 DOI: 10.1159/000110580]
  - 14 Surowiak P, Materna V, Matkowski R, Szczuraszek K, Kornafel J, Wojnar A, Pudielko M, Dietel M, Denkert C, Zabel M, Lage H. Relationship between the expression of cyclooxygenase 2 and MDR1/P-glycoprotein in invasive breast cancers and their prognostic significance. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R862-R870 [PMID: 16168133 DOI: 10.1186/bcr1313]
  - 15 Patel VA, Dunn MJ, Sorokin A. Regulation of MDR-1 (P-glycoprotein) by cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2002; 277: 38915-38920 [PMID: 12138126 DOI: 10.1074/jbc.M206855200]

#### ■同行评价

本文选题新颖, 将最新细胞学实验结果前景较好的选择性COX-2抑制剂塞来昔布应用于临床研究, 试验设计严密, 结果可靠。

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 高脂血症性急性胰腺炎130例

丁岩冰, 路国涛, 蓝宇, 肖炜明, 阴英, 王玉欣, 乔阿会

## ■背景资料

胆道疾病和饮酒是急性胰腺炎(AP)两大常见病, 而高脂血症也逐渐成为AP的重要病因之一, 被称之为高脂血症性急性胰腺炎(HLAP). HLAP的发病率在我国有升高趋势, 但有关HLAP患者临床特点报道相对较少, 血脂水平、基础疾病等与疾病严重程度关系尚有一定争议。

丁岩冰, 路国涛, 肖炜明, 王玉欣, 乔阿会, 江苏省扬州市第一人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

路国涛, 蓝宇, 阴英, 北京大学第四临床医学院 北京积水潭医院消化内科 北京市 100035

丁岩冰, 博士, 硕士生导师, 主任医师, 主要从事消化系常见基础疾病及内镜诊治方面的研究。

作者贡献分布: 丁岩冰与路国涛对此文所作贡献均等; 此课题由蓝宇、丁岩冰及路国涛设计; 研究过程由路国涛、王玉欣及乔阿会操作完成; 数据分析由蓝宇、丁岩冰、路国涛、肖炜明及阴英完成; 本论文写作由丁岩冰、蓝宇及路国涛完成。

通讯作者: 蓝宇, 主任医师, 教授, 100035, 北京市西城区新街口东街31号, 北京大学第四临床医学院, 北京积水潭医院消化科。lanyu-mail@sohu.com

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-09

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Clinical features of hyperlipidemic acute pancreatitis: An analysis of 130 cases

Yan-Bing Ding, Guo-Tao Lu, Yu Lan, Wei-Ming Xiao, Ying Yin, Yu-Xin Wang A-Hui Qiao

Yan-Bing Ding, Guo-Tao Lu, Wei-Ming Xiao, Yu-Xin Wang, A-Hui Qiao, Department of Gastroenterology, Yangzhou No.1 People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Guo-Tao Lu, Yu Lan, Ying Yin, Department of Gastroenterology, the Fourth Clinical Medical College of Peking University; Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China

Correspondence to: Yu Lan, Professor & Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fourth Clinical Medical College of Peking University; Beijing Jishuitan Hospital, 31 Xijiekou East Road, Xicheng District, Beijing 100035, China. lanyu-mail@sohu.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-09

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To summarize and analyze the clinical features of hyperlipidemic acute pancreatitis (HLAP).

**METHODS:** Clinical data for patients with HLAP treated at our hospital from January 2006 to September 2012 were analyzed retrospectively. The clinical characteristics of HLAP were statistically analyzed. One hundred patients with acute biliary pancreatitis (ABP) were enrolled as controls.

**RESULTS:** A total of 102 HPLA patients (130 onsets) were enrolled in this study, accounting for 17.4 % of all AP patients. Patients with severe HPLA accounted for 23.1% of all HPLA patients. The mean age and percentage of patients with a serum amylase level greater than 3 times the upper limit of normal were significantly lower in HPLA patients than in ABP patients (both  $P < 0.05$ ); however, HPLA patients were more likely to be associated with underlying metabolism syndrome and history of acute pancreatitis (both  $P < 0.05$ ). The percentage of patients with a serum amylase level greater than 3 times the upper limit of normal was lower in HPLA patients with a TG level greater than or equal to 11.30 mmol/L than in HPLA patients with a TG level between 5.65-11.30 mmol/L (23.4% vs 41.5%,  $P < 0.05$ ), but there were no significant differences in the proportion of severe cases (21.7% vs 28.6%,  $P > 0.05$ ), hospitalization time (13.1 d  $\pm$  6.2 d vs 14.4 d  $\pm$  7.9 d,  $P > 0.05$ ), and duration of abdominal pain (2.43 d  $\pm$  1.6 d vs 2.08 d  $\pm$  1.8 d,  $P > 0.05$ ) between HPLA patients with different TG levels.

**CONCLUSION:** Low age of disease onset, male predominance, close relationship with metabolism syndrome, easy to recur, and unobvious increase in serum amylase are main clinical features of HLAP. Serum TG levels do not correlate with the severity of HLAP.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Acute pancreatitis; Hyperlipidemia; Hyperlipidemic acute pancreatitis; Clinical characteristics

Ding YB, Lu GT, Lan Y, Xiao WM, Yin Y, Wang YX, Qiao AH. Clinical features of hyperlipidemic acute pancreatitis: An analysis of 130 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 266-271

## 摘要

**目的:** 总结分析高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemic acute pancreatitis, HLAP)患者的临床特点。

**方法:** 对2006-01/2012-09月住院诊治的HLAP

## ■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

患者进行回顾性分析, 对其临床资料等进行统计分析, 并选择100例胆源性急性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)患者作为对照组进行对比。

**结果:** 共102例患者130次发生HLAP, 占全部急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者的17.4%。重症患者占23.1%。HLAP患者发病年龄、血清淀粉酶 $>3$ 倍正常值比例均低于均高于ABP患者( $P<0.05$ ), 而糖尿病、脂肪肝、既往AP发作史比例均高于ABP组( $P<0.05$ )。甘油三酯(triglyceride, TG) $\geq 11.30$  mmol/L的HLAP患者血清淀粉酶 $>3$ 倍正常值比例低于TG值5.65-11.30 mmol/L的患者(23.4% vs 41.5%,  $P<0.05$ ), 而重症HLAP比例、住院时间、腹痛持续时间无统计学差异( $P>0.05$ )。

**结论:** HLAP患者发病年龄低、男性多见, 多有代谢综合征表现, 具有显著的复发性趋势, 血清淀粉酶增高不明显, TG水平与临床严重程度不相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 急性胰腺炎; 高脂血症; 急性高脂血症性胰腺炎; 临床特点

丁岩冰, 路国涛, 蓝宇, 肖炜明, 阴英, 王玉欣, 乔阿会. 高脂血症性急性胰腺炎130例. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 266-271  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/266.asp>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急重症之一, 胆道疾病和饮酒是两大常见病因, 而高脂血症(hyperlipidemia, HL)也逐渐成为AP的重要病因之一, 被称之为高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemic acute pancreatitis, HLAP)。随着生活方式和环境的改变, HLAP的发病率在我国有升高趋势, 但有关HLAP患者临床特点报道较少, 鉴于此, 本研究对扬州市第一人民医院2006-01/2012-10诊治的130例HLAP患者进行回顾性分析, 探讨其临床特点, 以期进一步提高临床医师对此类疾病的认知程度。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2006-01/2012-09于扬州市第一人民医院住院诊治的130例HLAP患者被纳入研究。HLAP诊断标准: (1)符合《中国急性胰腺炎诊

治指南》的AP诊断标准<sup>[1]</sup>; (2)血清甘油三酯(triglyceride, TG)值 $\geq 11.30$  mmol/L或血清TG值5.65-11.30 mmol/L但血清呈乳状者并排除急性胰腺炎的其他致病因素如胆道结石、Oddi括约肌功能障碍等; (3)血清淀粉酶正常或增高水平 $<3$ 倍正常值的患者, 依据临床腹痛等症状及CT和MRI影像学表现诊断。排除标准: (1)合并胰腺癌; (2)入院72 h内未完善血脂检查。HLAP严重程度诊断标准参考《中国急性胰腺炎诊治指南》标准<sup>[1]</sup>。

**1.2 方法** 通过查阅病历, 记录如下资料: (1)患者的基本资料: 性别、年龄等; (2)血清TG水平; (3)腹痛缓解时间; (4)HLAP患者糖尿病、高血压病等基础疾病状况; (5)住院时间等资料, 将HLAP患者分为TG值 $\geq 11.30$  mmol/L和血清TG值为5.65-11.30 mmol/L但血清呈乳状者两组, 分析比较两组患者的临床特点, 同时选取2009-2010年入院诊治的100例胆源性急性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)患者作为对照组, 将两组患者临床特点进行对比。

**统计学分析** 计数资料间比较采用 $\chi^2$ 检验, 计量资料间采用 $t$ 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。所有数据均在Windows下应用SPSS16.0系统进行统计学处理。

## 2 结果

**2.1 病因构成比** 2006-01/2012-09期间我院共收治AP患者745例, 其中HLAP 102例130次发生, 占AP 17.4%。2006-2012年(2012年截止至09-30)HLAP历年病因构成比依次为15.9%、16.2%、10.4%、15.8%、14.9%、17.3%、28.4%, 2012年HLAP病因构成比明显高于往年( $P<0.05$ , 图1)。

**2.2 基本资料** 130例HLAP男88例, 女42例, 男女比为2.1:1。年龄18-67岁, 平均年龄41.3岁 $\pm 9.7$ 岁。对照组ABP患者男51例, 女49例, 男女比为1:1, 年龄19-92岁, 平均年龄61.9岁 $\pm 15.8$ 岁, 两组患者具体年龄分布见图2。与ABP组相较, HLAP患者平均发病年龄、血清淀粉酶 $>3$ 倍正常值比例均低于ABP组( $P<0.05$ ), 而糖尿病、既往AP发作史、发病前明确知晓高脂血症病史、脂肪肝比例显著高于ABP组( $P<0.05$ , 表1)。

**2.3 疾病严重程度及并发症** 130例HLAP患者中重症30例(23.1%), 轻症100例(77.9%)。其中6例合并肺部感染(4.6%)、4例合并急性呼吸窘

**■ 研发前沿**  
HLAP患者的特殊治疗方式一直是目前国内外临床研究的热点, 多集中于血浆置换、低分子肝素联合小剂量胰岛素等治疗方式对疾病预后的影响, 多见于病例介绍, 缺乏大宗临床随机对照研究证据, 仍需进一步探讨相关治疗的有效性及安全性。



## ■相关报道

Kimura等动物实验结果显示,血清TG水平呈剂量依赖性对AP产生病理损伤,邹晓平等研究提示血TG水平升高与Ranson分值呈正相关,但马应杰等、Balachandra等分析认为HLAP患者TG水平与CT分级、血清淀粉酶水平、APACHE II评分、AP并发症等无相关性。

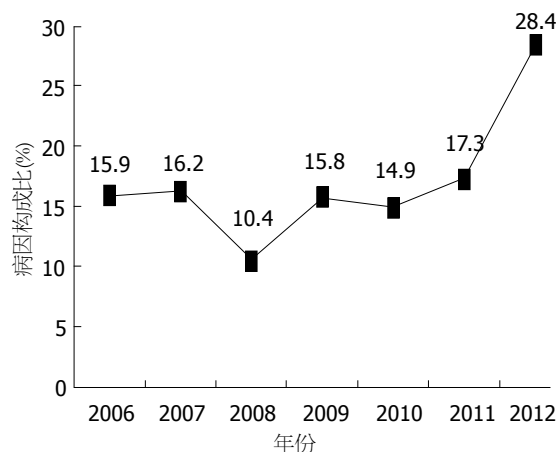


图1 历年HLAP占AP患者病因构成比趋势图。

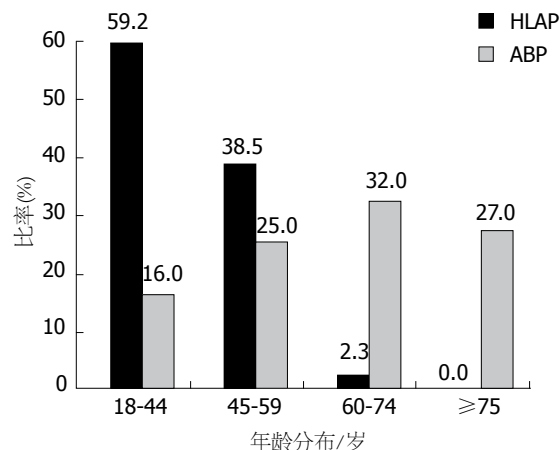


图2 HLAP、ABP患者不同年龄阶段分布图。

表1 HLAP、ABP两组患者临床特点对比n(%)

	HLAP患者	ABP患者	P值
男	88(67.7)	51(51.0)	0.014
平均年龄/岁	41.3 ± 9.7	61.9 ± 15.8	0.000
糖尿病	42(32.3)	12(12.0)	0.001
高血压病	25(19.2)	22(22.0)	0.599
高脂血症	54(41.5)	5(5.0)	0.000
脂肪肝	89(68.4)	12(12.0)	0.000
反复AP发作史	42(32.3)	12(12.0)	0.001
血清淀粉酶>3倍正常值	40(30.8)	95(95.0)	0.000
重症胰腺炎	30(23.1)	26(26.0)	0.232

HLAP: 高脂血症性急性胰腺炎; ABP: 胆源性急性胰腺炎; AP: 急性胰腺炎。

表2 轻型、重型HLAP患者临床特点对比n(%)

	轻型HLAP	重型HLAP	P值
男	70(70.0)	18(60.0)	0.304
平均年龄/岁	41.6 ± 9.6	40.4 ± 10.2	0.550
TG ≥ 11.30 mmol/L	58(58.0)	19(63.3)	0.602
糖尿病	32(32.0)	10(33.3)	0.891
高血压病	20(20.0)	5(16.7)	0.685
脂肪肝	69(69.0)	20(66.7)	0.406
HLAP发作史	33(33.0)	7(23.3)	0.758
血清淀粉酶>3倍正常值	33(33.0)	7(23.3)	0.048
住院时间/d	20.8 ± 9.8	11.5 ± 0.5	0.000

HLAP: 高脂血症性急性胰腺炎; ABP: 胆源性急性胰腺炎; TG: 甘油三酯。

迫综合征(3.1%)、2例合并假性囊肿(1.5%)、1例合并多器官功能衰竭(0.8%)。与轻型HLAP相比,重症HLAP血清淀粉酶>3倍正常值的比例较低( $P<0.05$ )。HLAP严重程度与血TG水平、性别、糖尿病、高血压病、脂肪肝、年龄、既往HLAP发作史等无相关性( $P>0.05$ ,表2)。

**2.4 血脂水平与疾病临床特点关系** 130例HLAP患者中TG值5.65-11.30 mmol/L之间者53例(40.8%), TG值≥11.30 mmol/L者77例(49.2%)。77例TG≥11.30 mmol/L HLAP患者血清淀粉酶>3倍正常值的比率低于TG值5.65-11.30 mmol/L之间的HLAP患者( $P<0.05$ ),而糖尿病患病率较高( $P<0.05$ )。高血压病、既往AP发作史、入院后腹痛持续时间、住院时间等两组间对比无统计学差异( $P>0.05$ ,表3)。

**2.5 治疗及预后** 所有轻症患者入院后均常规予以禁食、胃肠减压、生长抑素、液体复苏、抑酸等治疗,重症患者在上述治疗基础上加用肠

内营养、低分子肝素等治疗,其中2例重症患者行CT引导下腹腔脓肿穿刺引流术,1例重症患者予以低分子肝素联合胰岛素治疗,部分患者病程后期予以贝特类药物降脂治疗。130例患者中死亡1例(0.8%),病因为多器官功能衰竭。无患者进行手术治疗,无患者进行血浆置换治疗。130例患者中出院前TG值均低于5.65 mmol/L。

### 3 讨论

急性胰腺炎病因复杂,有胆道结石、酒精、手术创伤、病毒感染等,自Klatskin等<sup>[2]</sup>于1952年报道第一例高脂血症导致急性胰腺炎反复发作后,高脂血症已成为胆源性和酒精性之后最常见AP诱因。目前认为高脂血症导致AP的发生系由TG所致,而与胆固醇、低密度脂蛋白无关。研究表明,AP患者约12%-38%合并存在高脂血症<sup>[3]</sup>,当TG为5.65-11.30 mmol/L且血清非乳状时或TG为1.70-5.64 mmol/L时,高TG血症不构成

表 3 不同血脂水平患者资料对比 $n(\%)$ 

	TG $\geq 11.30$ mmol/L	5.65 mmol/L $\leq$ TG < 11.30 mmol/L	P值
男	57(74.0)	31(58.5)	0.063
平均年龄/岁	41.0 $\pm$ 9.1	41.8 $\pm$ 10.8	0.633
糖尿病	32(41.6)	10(18.9)	0.007
反复HLAP发作史	24(31.2)	18(34.0)	0.738
高血压病	14(18.2)	11(20.8)	0.715
脂肪肝	50(64.9)	39(73.6)	0.167
痛风	1(1.3)	1(1.9)	0.561
重症胰腺炎	18(28.6)	10(21.7)	0.420
住院时间/d	13.1 $\pm$ 6.2	14.4 $\pm$ 7.9	0.301
血清淀粉酶>3倍正常值	18(23.4)	22(41.5)	0.004
腹痛持续时间/d	2.43 $\pm$ 1.6	2.08 $\pm$ 1.8	2.232
并发症	7(9.1)	4(7.5)	0.800

HLAP: 高脂血症性急性胰腺炎; TG: 甘油三酯。

AP的病因, 而当TG $\geq 11.30$  mmol/L时, 则可能诱发AP<sup>[4]</sup>。目前国内外将血TG $\geq 11.30$  mmol/L或血TG介于5.65-11.30 mmol/L之间但血清呈乳状的AP定义为HLAP。高脂血症导致AP的确切机制目前尚不明确, 研究认为有以下3种作用途径<sup>[5,6]</sup>: (1)直接损伤作用: 在胰腺内以及胰腺周围, 胰脂肪酶可以水解TG为游离脂肪酸, 从而直接对腺泡细胞产生毒性损伤; (2)微循环障碍: 高TG血症导致全身血液粘稠度增高, 形成微循环障碍, 进而导致胰腺炎组织缺血坏死; (3)胰蛋白酶原激活: TG分解产物使得胰蛋白酶原激活加速, 从而加重胰腺腺泡的自身消化和损害。

目前关于HLAP占AP的比例报道不一。Fortson等<sup>[7]</sup>的研究显示, 约1.4%-1.5%的高TG血症患者发生胰腺炎, 而高TG血症在AP病因中占1.3%-3.8%, 希腊学者Athyros等<sup>[8]</sup>调查结果显示6年246例住院AP患者中HLAP占6.9%; Gullo等<sup>[9]</sup>对德国、匈牙利、法国、意大利和希腊等欧洲五国的流行病学调查资料显示1 068例AP中HLAP占2.8%。国外AP中HLAP比例低于国内报道。台湾地区<sup>[10]</sup>曾报道HLAP占AP比例为12.3%, 有学者<sup>[11]</sup>通过综合国内多中心回顾性研究6 223例AP患者中HLAP占12.6%, 南方高于北方, 达14.1%。本组资料显示, HLAP占有AP患者比例17.4%, 与我国既往报道数据相近<sup>[11,12]</sup>, 而2012年HLAP病因构成比显著增高, 提示HLAP患病有增长趋势。

本研究提示, 与ABP患者相比, HLAP患者虽发病年龄较低, 但糖尿病、脂肪肝高于ABP组患者, 与既往研究<sup>[7]</sup>相似, 且血TG $\geq 11.30$

mmol/L组患者糖尿病患病率显著高于血TG值5.65-11.30 mmol/L之间的患者( $P<0.05$ ), 结合患者自身存在高脂血症, 故认为HLAP患者与代谢综合征关系较为密切。需要关注的是HLAP患者发病年龄较低, 且54例(41.5%)患者发病前明确知晓罹患高脂血症病史, 提示此类患者在HLAP发病前未能有效控制血脂水平, 从而导致HLAP发生或反复发生。因此在临床工作中, 需对高脂血症患者进行HLAP疾病知识教育, 强化严格控制血脂水平观念, 尽可能减低HLAP发生或复发。此外, 研究提示, 糖尿病患者AP发生率高于非糖尿病的患者<sup>[13]</sup>, 且AP患者中的糖尿病患者的疾病严重程度、住院时间等亦显著高于非糖尿病患者<sup>[14]</sup>。本研究结果显示HLAP患者糖尿病发病率较高, 同既往研究结果相似<sup>[7]</sup>, 糖尿病与HLAP疾病严重程度及预后无相关性, 考虑同本研究样本量较小相关, 有待于进一步研究。

本组资料提示, 同ABP患者相较, HLAP患者血清淀粉酶>3倍正常值比率较低, 且重症HLAP及TG $\geq 11.30$  mmol/L者尤甚, 临床诊断主要依据腹痛等临床症状及CT和/或MRI等影像学表现, 与既往研究结果<sup>[7]</sup>相似, 此临床现象可能与血液中高TG水平干扰淀粉酶活性测定有关, 血脂水平越高, 干扰愈加严重。因故, 血清淀粉酶显著增高对临床HLAP诊断价值有限, 临床工作中不能仅仅依据淀粉酶正常或增高低于正常值3倍而否定HLAP的存在, 需要及时通过检测血清TG水平及CT等影像学表现进行诊断, 以免造成HLAP患者误诊漏诊。

目前血清TG水平与疾病严重程度相关性

## ■创新盘点

目前关于HLAP的报道日渐增多, 但临床样本量相对较小。本文较为系统地对HLAP患者的自身临床特点进行总结分析, 并与胆源性急性胰腺炎患者对比, 着重分析不同疾病程度、不同血脂水平患者之间临床特点的差异性, 对临床有一定的参考价值。

## ■应用要点

本研究提示血脂水平与HLAP疾病严重程度无直接关系。同ABP患者相较,HLAP患者血清淀粉酶 $>3$ 倍正常值比率较低,且重症HLAP及 $TG \geq 11.30$  mmol/L者尤甚,提示临床工作中不能仅仅依据淀粉酶正常或增高低于正常值3倍而否定HLAP的存在,需要及时通过检测血清TG水平及CT等影像学表现进行诊断,以免造成HLAP患者误诊漏诊。

尚存在争议,各项研究结果不一。Kimura等<sup>[15]</sup>动物实验结果显示,血清TG水平呈剂量依赖性对AP产生病理性损伤,邹晓平等<sup>[16]</sup>研究提示血清TG水平升高与Ranson分值呈正相关,但马应杰等<sup>[17]</sup>、Balachandra等<sup>[18]</sup>分析认为HLAP患者TG水平与CT分级、血清淀粉酶水平、APACHE II评分、AP并发症等无相关性,本研究结果显示 $TG \geq 11.30$  mmol/L血清TG水平与疾病严重程度无相关( $P > 0.05$ ),与马应杰等<sup>[17]</sup>研究结果相似,暂无明确依据提示血清TG水平可以作为评估HLAP严重程度的预测指标。

对于HLAP患者的治疗,除常规予以禁食、胃肠减压、生长抑素、液体复苏、抑酸等治疗外,尚可应用肠内肠外营养、低分子肝素联合胰岛素、血浆置换、降脂治疗等方式治疗。Jain等<sup>[19]</sup>研究提示,长期服用贝特类药物可以稳定血清TG水平,同时有效降低HLAP复发率。而低分子肝素联合胰岛素有效减低HLAP患者TG水平、缓解腹痛症状多见于病例报道<sup>[4,20,21]</sup>,尚缺少多中心随机对照研究,需要警惕的是低分子肝素有导致上消化道出血的风险,对于重症HLAP患者使用低分子肝素,其安全性有待商榷。血浆置换的应用及其临床效应已被临床研究<sup>[22,23]</sup>所证实,但亦有相关研究<sup>[24]</sup>提示血浆置换并未减少HLAP患者的死亡率和并发症率,甚至可能导致胰腺炎病情复杂化、延长住院时间,此外,是否所有患者均需要进行血浆置换、血浆置换的时机、血浆置换的天数等问题都尚需要进一步讨论和研究。肠内肠外营养在AP患者中起到不可或缺的治疗作用,但对于HLAP患者而言,脂肪乳的使用需谨慎,目前认为<sup>[6,25]</sup>血清TG值在1.7-3.4 mmol/L者,可使用脂肪乳,应用过程中同时需检测血清TG水平,必要时停用。

总之,本研究提示,HLAP患者发病年龄低、男性多见,多有糖尿病、脂肪肝等基础病史,具有显著的复发性趋势。血清TG水平与临床严重程度不相关。临床工作中需加强高脂血症患者血脂水平管理,以减少HLAP发病率。

## 4 参考文献

- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 胃肠病学 2004; 9: 110-112
- Klatskin G, Gordon M. Relationship between relapsing pancreatitis and essential hyperlipemia. *Am J Med* 1952; 12: 3-23 [PMID: 14902850 DOI: 10.1016/0002-9343(52)90164-2]
- Toskes PP. Hyperlipidemic pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1990; 19: 783-791 [PMID: 2269517]

- Berger Z, Quera R, Poniachik J, Oksenberg D, Guerrero J. [heparin and insulin treatment of acute pancreatitis caused by hypertriglyceridemia. Experience of 5 cases]. *Rev Med Chil* 2001; 129: 1373-1378 [PMID: 12080874]
- 石小举, 王广义, 刘亚辉, 王英超, 刘凯. 高脂血症性胰腺炎的治疗. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 949-952
- 陈小燕, 李兆申. 急性胰腺炎患者脂肪乳的临床应用. 世界华人消化杂志 2005; 13: 877-879
- Fortson MR, Freedman SN, Webster PD. Clinical assessment of hyperlipidemic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2134-2139 [PMID: 8540502]
- Athyros VG, Gioulema OI, Nikolaidis NL, Vasiliadis TV, Bouloukos VI, Kontopoulos AG, Eugenidis NP. Long-term follow-up of patients with acute hypertriglyceridemia-induced pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 472-475 [PMID: 11907366 DOI: 10.1097/00004836-200204000-00020]
- Gullo L, Migliori M, Oláh A, Farkas G, Levy P, Arvanitakis C, Lankisch P, Beger H. Acute pancreatitis in five European countries: etiology and mortality. *Pancreas* 2002; 24: 223-227 [PMID: 11893928 DOI: 10.1097/00006676-200204000-00003]
- Chang MC, Su CH, Sun MS, Huang SC, Chiu CT, Chen MC, Lee KT, Lin CC, Lin JT. Etiology of acute pancreatitis—a multi-center study in Taiwan. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1655-1657 [PMID: 14571809]
- 急性胰腺炎协作组. 中国6223例急性胰腺炎病因及病死率分析. 胰腺病学 2006; 6: 321-325
- 吴河水, 张磊, 王春友, 黄鹏, 郭兴军, 熊炯妍. 高脂血症性胰腺炎的诊治: 附46例分析. 中国普通外科杂志 2006; 15: 813-815
- Girman CJ, Kou TD, Cai B, Alexander CM, O'Neill EA, Williams-Herman DE, Katz L. Patients with type 2 diabetes mellitus have higher risk for acute pancreatitis compared with those without diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2010; 12: 766-771 [PMID: 20649628 DOI: 10.1111/j.1463-1326.2010.01231.x]
- Shen HN, Chang YH, Chen HF, Lu CL, Li CY. Increased risk of severe acute pancreatitis in patients with diabetes. *Diabet Med* 2012; 29: 1419-1424 [PMID: 22506974 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2012.03680.x]
- Kimura W, Mössner J. Role of hypertriglyceridemia in the pathogenesis of experimental acute pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol* 1996; 20: 177-184 [PMID: 9013278 DOI: 10.1007/BF02803766]
- 钱铖, 刘明东, 邹晓平. 高脂血症性急性胰腺炎的临床特征. 中华胰腺病杂志 2009; 9: 89-91
- 马应杰, 冯素平, 方立峰, 贾克丽, 郭云霞, 曾建生, 付真烈. 高脂血症性急性胰腺炎患者血脂及临床分析. 临床内科杂志 2005; 22: 120-122
- Balachandra S, Virlos IT, King NK, Siriwardana HP, France MW, Siriwardana AK. Hyperlipidaemia and outcome in acute pancreatitis. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 156-159 [PMID: 16451286 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2005.00645.x]
- Jain P, Rai RR, Udawat H, Nijhawan S, Mathur A. Insulin and heparin in treatment of hypertriglyceridemia-induced pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2642-2643 [PMID: 17552020]
- Alagözü H, Cindoruk M, Karakan T, Unal S. Heparin and insulin in the treatment of hypertriglyceridemia-induced severe acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 931-933 [PMID: 16670939 DOI: 10.1007/s10620-005-9006-z]
- Monga A, Arora A, Makkar RP, Gupta AK. Hyper-



- triglyceridemia-induced acute pancreatitis--treatment with heparin and insulin. *Indian J Gastroenterol* 2003; 22: 102-103 [PMID: 12839385]
- 22 Chen JH, Yeh JH, Lai HW, Liao CS. Therapeutic plasma exchange in patients with hyperlipidemic pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2272-2274 [PMID: 15259080]
- 23 Kohli RS, Bleibel W, Shetty A, Dhanjal U. Plasma-pheresis in the treatment of hypertriglyceridemic pancreatitis with ARDS. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 2287-2291 [PMID: 17120148 DOI: 10.1007/s10620-006-9315-x]
- 24 Tsuang W, Navaneethan U, Ruiz L, Palascak JB, Gelrud A. Hypertriglyceridemic pancreatitis: presentation and management. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 984-991 [PMID: 19293788 DOI: 10.1038/ajg.2009.27]
- 25 周亚魁, 史海安, 何跃明, 贺银成, 黄昌洲, 杨先勇, 曹军, 王正元. 重症胰腺炎病人对静脉输注脂肪乳剂耐受性的临床研究. *中华消化杂志* 1999; 19: 35-37

#### ■同行评价

该文为7余年数据的回顾性总结, 数据较详实, 统计无误, 有一定代表性, 对临床诊疗有一定参考价值。

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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

# 胰周动脉超选择插管法灌注自体骨髓干细胞治疗糖尿病患者24例

刘源, 何春水, 刘洋, 张丽峰, 曾伟, 陈秋

## ■背景资料

自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病被认为是具有较好前景的治疗手段。通常认为经胰腺供血动脉将干细胞移植到胰腺是较为理想的移植部位, 但胰腺动脉细小, 变异多, 超选择插管技术耗时、难度大, 能否作为一个常规干细胞移植手段应用到临床, 还需要进一步研究。

刘源, 何春水, 刘洋, 张丽峰, 曾伟, 成都中医药大学附属医院血管外科介入治疗中心 四川省成都市 610072

陈秋, 成都中医药大学附属医院内分泌科 四川省成都市 610072  
作者贡献分布: 刘源与何春水对此文所作贡献均等; 此课题由刘源与何春水设计; 研究过程由刘源、何春水、刘洋、张丽峰、曾伟及陈秋操作完成; 其中陈秋负责临床病例纳入、观察及数据收集; 本论文写作由刘源完成。

通讯作者: 何春水, 教授, 610072, 四川省成都市十二桥路39号, 成都中医药大学附属医院血管外科介入治疗中心。chunshuihe@msn.com

电话: 028-87783959

收稿日期: 2012-11-25 修回日期: 2013-01-10

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Superselective peripancreatic arterial catheterization for infusion of autologous bone stem cells in diabetic patients: An analysis of 24 cases

Yuan Liu, Chun-Shui He, Yang Liu, Li-Feng Zhang, Wei Zeng, Qiu Chen

Yuan Liu, Chun-Shui He, Yang Liu, Li-Feng Zhang, Wei Zeng, Vascular Surgery and Interventional Radiology Center, Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Qiu Chen, Endocrine Department, Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Correspondence to: Chun-Shui He, Professor, Vascular Surgery and Interventional Radiology Center, Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 39 Shierqiao Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. chunshuihe@msn.com

Received: 2012-11-25 Revised: 2013-01-10

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the safety and feasibility of superselective peripancreatic arterial catheterization for infusion of autologous bone marrow stem cells in diabetic patients.

**METHODS:** A total of 24 patients with diabetes mellitus underwent celiac trunk, hepatic artery and splenic artery angiography, and peripancreatic arteries, which origin from these arteries, were carefully evaluated. One of these peripan-

creatic arteries was superselectively catheterized with a coaxial microcatheter. After the microcatheter reached the peripancreatic artery, autologous bone marrow stem cells were slowly injected into the artery transcatheterly. For distorted or small peripancreatic arteries that made catheterization difficult, balloon-assisted infusion of autologous bone marrow stem cells was utilized. Success rate, time required for the procedure and complications were evaluated.

**RESULTS:** Superselective peripancreatic arterial catheterization was successful in 23 of 24 patients, with a success rate of 95.8%. Superselective catheterization of the dorsal pancreatic artery was performed in 7 cases, the great pancreatic artery in 8 cases, the caudal pancreatic artery in 4 cases and the pancreatic artery supplying pancreatic head in 4 cases. The patient with the failed procedure was converted to balloon-assisted infusion of stem cells. Complications such as spasm, perforation, dissection, vascular occlusion and thrombosis were not observed. The time required for the procedure ranged from 25 to 190 min, with a median value of 55 min.

**CONCLUSION:** Superselective peripancreatic arterial catheterization is a safe and feasible method for infusion of autologous bone marrow stem cells in diabetic patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Peripancreatic arterial; Superselective catheterization; Diabetes mellitus; Autologous bone marrow stem cells; Transplant

Liu Y, He CS, Liu Y, Zhang LF, Zeng W, Chen Q. Superselective peripancreatic arterial catheterization for infusion of autologous bone stem cells in diabetic patients: An analysis of 24 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 272-277

## 摘要

**目的:** 探讨在糖尿病患者中采用胰周动脉超

## ■同行评议者

门秀丽, 教授, 河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

选择插管法用于灌注自体骨髓干细胞的安全性、可行性。

**方法:** 对24例糖尿病患者, 首先行腹腔干、肝动脉、脾动脉造影, 仔细观察、评价胰周动脉情况。然后以同轴微导管对目标胰周动脉进一步超选择插管。成功后, 经导管缓慢注入含自体骨髓干细胞的分离液。对于胰周动脉扭曲、细小, 插管困难者, 采用球囊辅助下灌注自体骨髓干细胞的分离液的方法。观察超选择插管成功率、花费时间及相关并发症。

**结果:** 全部24例患者中, 23例成功完成胰周动脉超选择插管, 成功率95.8%。其中, 胰背动脉超选择插管7例, 胰大动脉8例, 胰尾动脉4例, 胰头周围血管4例。1例失败患者, 改行球囊辅助下灌注干细胞治疗。全部患者未出现血管痉挛、穿孔、动脉夹层、血管闭塞、血栓形成等并发症。插管花费时间25-190 min, 中位时间55 min。

**结论:** 本研究初步提示胰周动脉超选择插管是1种注入自体骨髓干细胞安全、可行的方法。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 胰周动脉; 超选择插管; 糖尿病; 自体骨髓干细胞; 移植

刘源, 何春水, 刘洋, 张丽峰, 曾伟, 陈秋. 胰周动脉超选择插管法灌注自体骨髓干细胞治疗糖尿病患者24例. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 272-277

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/272.asp>

## 0 引言

糖尿病已成为严重危害人类健康的主要疾病之一, 传统的口服降糖药和胰岛素治疗不能从根本上治愈糖尿病, 也不能完全阻止其并发症的发生和进展。近年来自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病被认为是具有较好前景的治疗手段<sup>[1-6]</sup>。自体骨髓干细胞在体外培养、分离后移植到体内的部位有肝脏、脾脏、胰腺, 其中胰腺被认为是较好的移植部位, 但供应胰腺的胰周动脉血管细小、迂曲, 介入医师对该类血管插管的经验较少, 插管技术难度较大。本文主要讨论经胰腺周围动脉超选择插管途径灌注自体骨髓干细胞在介入操作上的技术要点及安全性、可行性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2010-3/2011-04, 在我院愿意接受自体

骨髓干细胞移植的糖尿病患者共24例, 男13例, 女11例, 年龄13-62岁, 中位年龄54岁。全部患者中, 1型糖尿病2例, 2型糖尿病22例, 糖尿病病史1-21年, 体质量指数 $18.9-30.1(23.14 \text{ kg/m}^2 \pm 4.42 \text{ kg/m}^2)$ , 治疗前空腹血糖 $8.33 \text{ mmol/L} \pm 2.37 \text{ mmol/L}$ , 糖化血红蛋白(HbA1c)  $8.07\% \pm 2.93\%$ , 空腹胰岛素(fasting serum insulin, FINS)  $5.04 \text{ mIU/L} \pm 2.47 \text{ mIU/L}$ , 餐后2 h(2 h INS)  $19.77 \text{ mIU/mL} \pm 7.96 \text{ mIU/mL}$ 。所有患者均已经接受了胰岛素联合至少一种口服降糖药治疗, 包括二甲双胍、噻唑烷二酮类、磺脲类, 治疗前胰岛素用量为 $43-69 \text{ U/d}(50.6 \text{ U/d} \pm 8.03 \text{ U/d})$ 。术前行心电图、胸片、凝血、生化等检查, 排除绝对禁忌症, 并取得患者知情同意。术前患者口服降糖药物及饮食、运动治疗方案尽可能保持不变; 移植前6-12 h行双腹股沟、大腿、下腹部备皮。

### 1.2 方法

**1.2.1 骨髓血采集与分离:** 患者术前3 d皮下注射集落细胞刺激因子, 刺激骨髓造血细胞。手术当天先在外科无菌手术室接受骨髓穿刺, 多点穿刺双侧髂后上嵴或髂前上棘, 首次抽取骨髓0.5 mL行骨髓学和病原学检测, 继之用10 mL肝素注射器抽取骨髓血100-120 mL, 要求在60 min内完成。将采集的骨髓血送干细胞分离室, 进行骨髓细胞分离、洗涤, 最后用生理盐水稀释单个核细胞悬液至20-30 mL, 进行细胞计数、活性检测。整个操作过程严格实施无菌操作。

**1.2.2 骨髓干细胞移植:** 在自体骨髓干细胞分离、培养工作进行中, 根据实验室进度, 患者在骨髓干细胞培养成功前1 h左右被送往介入手术室进行胰周动脉超选择插管手术, 准备灌注自体骨髓干细胞。血管造影设备为西门子落地式X线C型臂数字化平板探测器心血管造影系统(AXIOM Artis dFA)。患者先经股动脉入路行腹腔干数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA), 造影剂速率4 mL/s, 总量16 mL, 观察脾动脉、肝总动脉走行及分支情况, 并初步观察、评价胰周动脉情况, 包括胰背动脉、胰横动脉、胰大动脉、胰尾动脉等。然后进一步分别行脾动脉和/或肝总动脉造影, 速率4 mL/s, 总量8 mL, 再次仔细确认胰周动脉开口及胰腺染色情况。根据患者胰周动脉起源、管径、走行等特点, 选择管径较粗的胰周动脉作为目标动脉进行超选择插管。超选择插管时, 根据目标血管开口及走行, 适当调整球管投照方向, 使得目标血管开口部位能够清楚显示, 便于操纵导丝

## ■ 研发前沿

微导管超选择插管技术在肝、肺肿瘤性病变及神经介入等方面应用较多, 但由于胰腺血管的特殊性及临床工作中较少用到胰腺动脉超选择插管技术, 介入医师大多缺乏该部位的超选择插管手术操作经验。

## ■ 相关报道

相关研究提示胰腺周围动脉起源较为广泛, 变异多, 走行迂曲, 但主要供血动脉如胰大动脉、胰背动脉、胰横动脉等均可经增强CT或数字减影血管造影(DSA)显示。



### ■创新盘点

本研究介绍了以微导管超选择插管的技术在胰周动脉的具体应用,并提出对于插管失败的患者,可采用球囊辅助的方法移植干细胞。

进入目标血管。通常选用SP微导管(Terumo公司),以同轴方式进行。以微导管插管成功后,以0.5-1.0 mL/s流速、2-3 mL总量进行造影,证实有胰腺实质染色后,固定微导管,经微导管缓慢注入自体骨髓干细胞分离液,然后撤出导管及鞘,结束手术。术后患者平卧休息,并监测生命体征情况。对于胰周动脉扭曲、细小,插管不能成功者,采用球囊辅助下灌注自体骨髓干细胞的分离液的方法。即将7F指引导管送至脾动脉近端,然后沿指引导管送入球囊(6 mm×40 mm),在脾动脉远端阻断脾动脉血流。经指引导管造影显示脾动脉远端阻断,而经脾动脉主干发出的胰周动脉及胰腺实质染色更加浓密。此时在远端球囊阻断情况下,再经指引导管注入自体骨髓干细胞分离液。这样确保干细胞被灌注到胰腺实质内。灌注完毕,抽空球囊,撤出导管系统。

**1.2.3 观察指标:**观察胰周动脉超选择插管的成功率及其花费时间,及其有无操作引起的血管痉挛、穿孔、血栓形成、夹层、闭塞等并发症,观察自体骨髓干细胞灌注中及术后有无不良反应。观察术后3 mo、6 mo患者血HbA1c、FINS及2 h INS变化情况。

## 2 结果

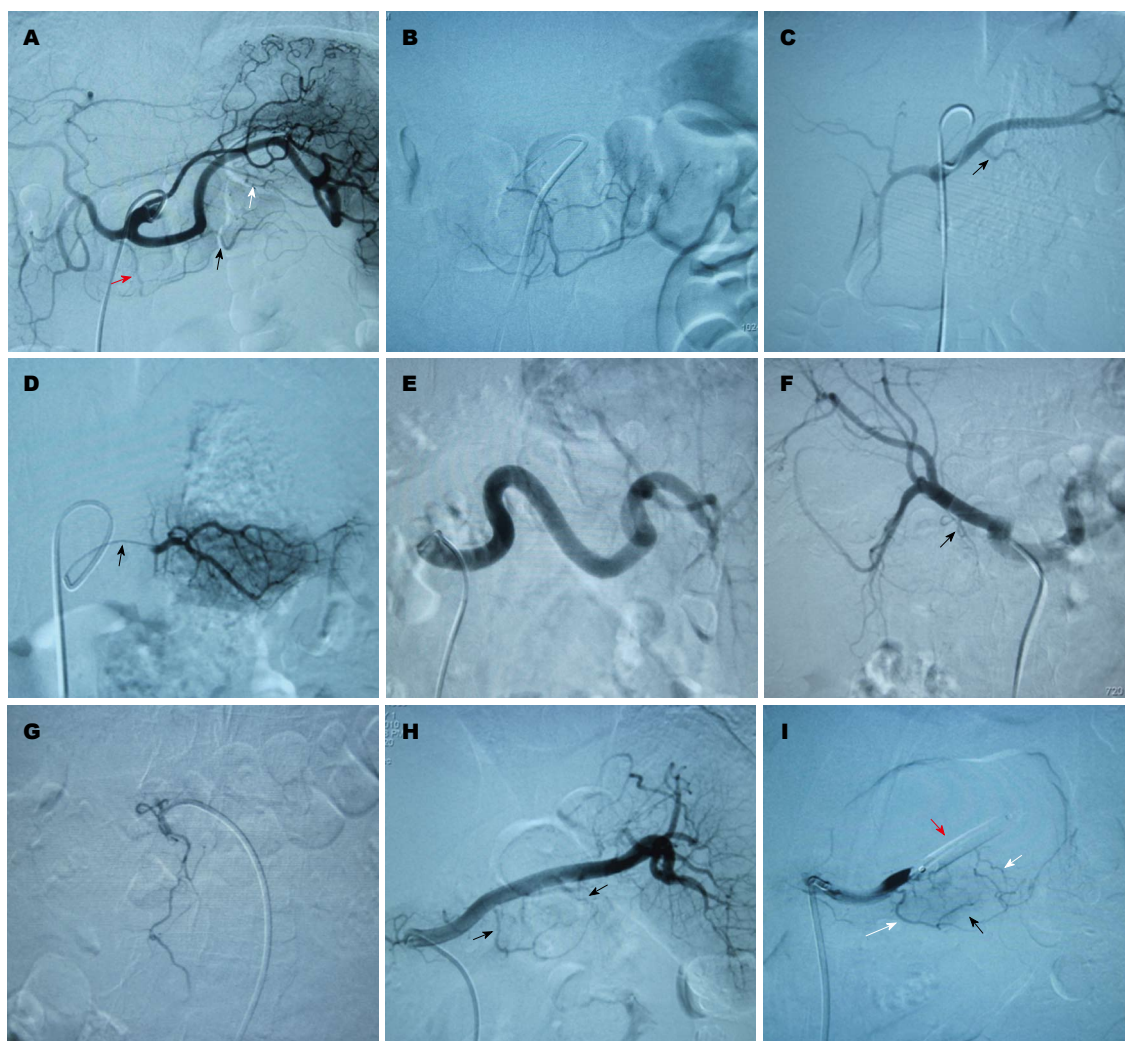
全部24例患者行腹腔干、脾动脉、肝动脉造影检查,胰背动脉显示率54.17%(13/24),胰大动脉显示率91.67%(22/24),胰尾动脉显示率83.33%(20/24)。23例成功进行了胰腺动脉超选择插管灌注自体骨髓干细胞手术,微导管超选择插管成功的血管分别如下:胰背动脉7例,胰大动脉8例,胰尾动脉3例,胰头周围血管4例。插管成功后,超选择造影显示胰腺实质为羽毛状染色,勾画出该节段胰腺轮廓,染色范围、大小与插管动脉的粗细及分支多少一致,少数患者可见该动脉与其他胰周动脉的吻合支显示。插管花费时间25-190 min,中位时间55 min。1例患者因胰周血管迂曲,未能成功插管,在球囊辅助下进行了自体骨髓干细胞灌注。自体骨髓干细胞灌注时间5-10 min,灌注中患者未诉特殊不适。全部患者未观察到严重相关并发症。无血管痉挛、穿孔、血栓形成、夹层、闭塞等并发症出现,(图1)自体骨髓干细胞移植治疗后3 mo、6 mo, HbA1c水平分别为 $7.28\% \pm 2.97\%$ 和 $7.56\% \pm 2.98\%$ , FINS分别为 $6.90 \text{ mIU/L} \pm 3.15 \text{ mIU/L}$

和 $7.40 \text{ mIU/L} \pm 3.33 \text{ mIU/L}$ , 2 h INS分别为 $26.28 \text{ mIU/L} \pm 10.65 \text{ mIU/L}$ 和 $27.29 \text{ mIU/L} \pm 10.59 \text{ mIU/L}$ ,与术前比较,各组指标变化幅度有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

虽然胰岛素治疗在一定程度上能够改善患者的糖代谢紊乱,但并不能有效地防止或逆转糖尿病引起的血管病变及其并发症。自体骨髓干细胞移植是治疗1型或2型糖尿病的一种有效方法,不仅能够纠正糖代谢紊乱,而且还能有效地防止或逆转糖尿病引起的血管病变及其并发症<sup>[7,8]</sup>。自体骨髓干细胞移植主要途径有外周静脉灌注、经胰腺动脉内灌注移植到胰腺,也有学者经肝动脉或门静脉,将干细胞种植到肝脏,也有经脾动脉将干细胞种植到脾脏<sup>[2,5,6,9-11]</sup>。体内或体外细胞培养研究均已证实,骨髓干细胞在胰腺微环境或模拟胰腺微环境下均可诱导分化为胰岛素分泌细胞,植入胰腺局部的骨髓干细胞可刺激周围胰岛细胞的自我修复。有学者提出植入胰腺的骨髓干细胞除了直接分化为胰岛素分泌细胞,还能分化成血管内皮细胞遍布于胰岛周围,分泌一些与生长及分化有关的因子,诱导胰腺血管新生,为胰岛细胞提供了复制信息,促进胰岛细胞自我复制,产生新的 $\beta$ 细胞。基于上述认识,经胰腺动脉将自体骨髓干细胞灌注移植到胰腺组织被认为是较好的移植途径<sup>[2,5,6,12-14]</sup>。

但是,胰腺不同于肝、肺等内脏器官,没有类似于“门”的解剖结构,其供血动脉细小、变异多,并分散起自于管径较粗的脾动脉和/或肝动脉。这一解剖特点使得在血管造影时,二维的图像不能清楚显示胰周动脉在肝或脾动脉的准确的开口部位,容易导致手术医生误判胰腺动脉起源。肝总动脉、脾动脉管径粗大,胰周动脉管径细小,这一解剖特点导致导丝在肝总/脾动脉内不容易探及胰周动脉开口。肝总动脉、脾动脉走行常呈自然的迂曲、蜿蜒,胰周动脉走行与其常呈直角甚至锐角,导致导丝即使超选择进入到了胰周动脉,也不易深入到胰周动脉末端,微导管跟进困难,且容易弹出。而合并动脉粥样硬化或胰腺炎、胰腺萎缩的患者,常有部分胰周动脉闭塞消失或胰周动脉开口的狭窄。再加上临床上需要介入科医师对胰周动脉进行超选择插管、治疗的情况较少,因而大多



### ■应用要点

在临床工作中, 可常规采用微导管超选择插管, 将自体骨髓干细胞经胰腺动脉安全可靠地移植到胰腺组织。胰腺体、尾部是一个较好的干细胞移植部位。该研究也可对胰腺某些富血供肿瘤的介入栓塞治疗有借鉴作用。

图1 胰周动脉及胰腺组织造影表现。A: 患者1, 腹腔干造影显示胰周动脉供应胰腺组织。图中红箭为胰背动脉, 黑箭为胰大动脉, 白箭为胰尾动脉; B: 患者1, 以微导管超选择插管到胰背动脉, 造影显示胰背动脉及其分支和浅淡的胰腺组织染色; C: 患者2, 胰大动脉(箭头)以直角起自脾动脉中段; D: 患者2, 以微导管(箭头)超选择插管成功后, 造影显示胰大动脉分支及胰腺实质浓密的造影剂染色; E: 患者3, 脾动脉造影未见胰大动脉、胰尾动脉分支; F: 患者3, 肝总动脉造影显示胰背动脉(箭头)直角起自肝总动脉中段。微导管未能超选择插管成功; G: 患者3, 以眼镜蛇导管直接勾住胰背动脉开口, 造影显示该动脉分支及胰腺染色; H: 患者4, 脾动脉造影显示脾动脉主干发出数支胰大、胰尾动脉(箭头), 但超选择插管未能成功; I: 患者4, 球囊(红箭)辅助下灌注自体骨髓干细胞分离液。白箭示胰大、胰尾动脉, 黑箭示胰体部染色。

缺乏对这些细小血管超选择插管的经验。基于这些因素, 一般认为胰周动脉选择插管困难, 耗时, 成功率较低<sup>[15,16]</sup>。

通过DSA本组患者胰周动脉显示情况为胰背动脉显示率54.17%(13/24), 胰大动脉显示率91.67%(22/24), 胰尾动脉显示率83.33%(20/24), 而Wu等<sup>[16]</sup>报道在102例糖尿病患者的胰周动脉的DSA及CT血管造影对比中, 50%(51/102)的胰背动脉单独显示, 21.6%(22/102)胰背、胰大动脉同时显示, 15.7%(16/102)胰大动脉单独显示, 胰横动脉显示率为10.8%(11/102), 64层增强CT能够显示95.1%(97/102)的胰腺体尾部的动脉。Lin等<sup>[17]</sup>报道胰背动脉的DSA及CT血管造影的显示率分别为85.7%(36/42)和83.3%(35/42)。

提示通过动脉造影或CT血管成像, 胰腺周围动脉绝大多数能够清晰显示出来, 如果我们在手术操作过程中注意相应技巧, 通常能够成功插管、灌注干细胞。手术操作时, 首先应多角度行腹腔干、脾(肝)动脉造影, 仔细观察胰周动脉分支及开口情况以及胰腺组织染色情况, 选择管径粗细、角度适合的分支作为插管的靶血管。然后根据靶血管的形态, 对微导管、导丝适当塑形。插管时应注意调整球管方向, 根据靶血管的起源作头位和/或足位倾斜, 让靶血管起始部与射线的投照方向成切线位, 操作者能够清楚看到靶血管的起始部位, 并能针对性地调整导丝角度进行插管, 这样则容易成功(图2-5)。必要时控制患者呼吸, 利用患者在吸气或呼气状



### ■名词解释

**骨髓干细胞:**存在于骨髓中的多能干细胞,包括造血干细胞和间充质干细胞。骨髓间充质干细胞在体内或体外特定的诱导条件下,可分化为脂肪、骨、肌肉、肌腱、韧带、神经、肝、心肌、内皮等多种组织细胞,可作为理想的种子细胞用于衰老和病变引起的组织器官损伤修复。

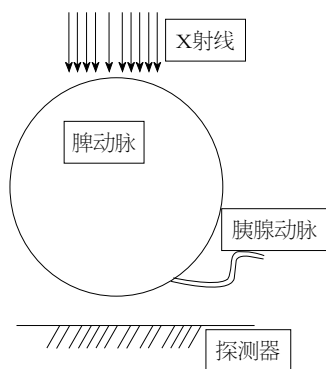


图2 线图显示射线投照方向与动脉开口的关系。血管横断面显示细小的胰腺供血动脉起自粗大的脾动脉约5点钟位置。此时投照位置为正位。

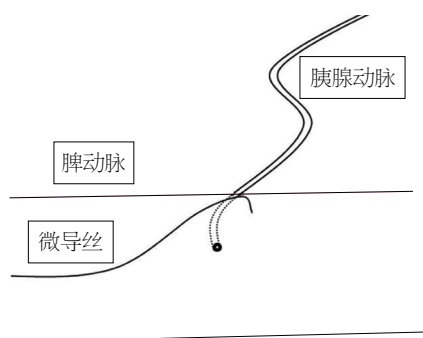


图3 在图2正位角度投照下所得X线图像的示意图。X线二维图像显示该胰腺动脉近端(虚线部分)与脾动脉主干重叠,而让手术医生误认为该动脉起自脾动脉上方侧壁,导致反复操纵导丝尝试,均不能插管成功。而圆圈所在部位才是该胰腺动脉的真正开口位置。

态时,内脏器官相应的下或上位移,使靶血管的走行、角度有所改变,利于导管、导丝通行。如果采用的血管造影系统具有旋转减影或三维血管成像功能,对于插管操作则更为有利。具体操作是先进进行旋转采集,在后处理系统上仔细观察胰周动脉起源、走行情况,并确定适合目标血管及适合的球管投照角度,再按这一角度进行透视下插管。这样手术者能够清楚看到目标血管的走行及起源动脉的情况,能在短时间内插管成功。超选择插管成功后,微导管造影显示该血管供血部分的胰腺组织呈羽毛状染色,即可经导管缓慢注入自体骨髓干细胞液。此时,干细胞即沿血流经该动脉分支漂移、种植于染色部位的胰腺组织内。注射时勿速度过快,否则可导致干细胞返流至上一级动脉分支,并漂移至胰腺以外部位,导致种植于胰腺的干细胞数目减少。

有学者认为胰头组织较为丰满,应首选供应胰头的靶血管进行移植;但我们观察胰头主

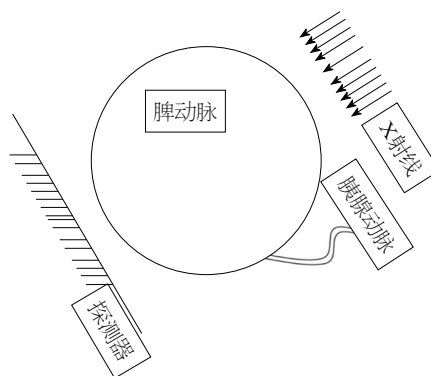


图4 改变投照角度后进行投照。为避免上述情况,应旋转球管,使得投照方向同胰周动脉在脾动脉的开口部位成相切的关系,即切线位投照。

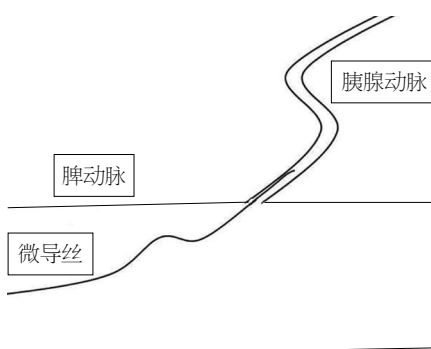


图5 在图4切线位角度投照下所得X线图像的示意图。通过调整投照方向,X线图像就如实地反映了胰周动脉在脾动脉的开口部位,在这样的透视图像引导下,医生得到正确的信息,操纵导丝就能容易地进入胰周动脉。

要由胰十二指肠前、后动脉弓的分支供应,周围侧支吻合过多,干细胞培养液易经过吻合支进入十二指肠、网膜等部位。而胰体、尾部的胰周动脉插管成功后,造影则显示胰腺实质染色明显、确切。在这一部位灌注,能够保证干细胞最终被移植到胰腺组织内。所以在目标血管的选择上应优先考虑选择胰体、尾的血管,在胰体、尾没有合适的目标血管时,再选择胰头的目标血管<sup>[17]</sup>。

如果有些目标血管开口角度不利于微导管进入,微导管反复尝试后不能成功,可直接用眼镜蛇导管前端的弯曲弧度,直接探、挂胰周动脉开口。将导管尖端直接靠在目标动脉开口上,造影往往能直接显示目标血管和胰腺染色。此时妥善固定导管,灌注干细胞,也能确保干细胞能直接种植入胰腺组织。因脾动脉主干近端、中段仅有胰大、胰尾动脉发出,球囊在脾动脉远端阻断血流后,造影证实胰腺组织染色增浓,胰大、胰尾动脉管腔造影剂充盈明显,说明造影剂主要进入了胰腺组织。在球囊阻断脾动脉



情况下灌注自体骨髓干细胞, 也能确保干细胞分离液进入胰腺组织。但球囊辅助法操作较为繁琐, 脾动脉迂曲时, 球囊进入脾动脉也较困难, 且患者花费较高, 故宜作为最后的手段使用。但优点在于干细胞培养液可同时经多支胰周动脉灌注, 种植到较广泛的胰腺组织内。

对于某些有急、慢性胰腺炎病史患者, 可在术前作胰周动脉影像学评价, 了解胰腺形态, 和胰腺组织有无萎缩、破坏, 评价胰腺血供及胰周动脉粗细, 在术前提供更多信息, 推测胰周动脉插管难易程度<sup>[17,18]</sup>。虽然胰周动脉细小, 走行迂曲, 若手术医生掌握一定技巧, 大多能够在较短时间内超选择插管成功, 且风险低并发症少。该技术可以作为一种常规手段用于将自体骨髓干细胞灌注、移植到胰腺组织。但自体骨髓干细胞经该途径进入到胰腺组织后, 其存活、增殖、胰岛素分泌功能等方面还需进一步研究。

#### 4 参考文献

- 宋振顺, 安家泽. 胰腺干细胞及其治疗糖尿病的研究进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1052-1054
- Estrada EJ, Valacchi F, Nicora E, Brieva S, Esteve C, Echevarria L, Froud T, Bernetti K, Cayetano SM, Velazquez O, Alejandro R, Ricordi C. Combined treatment of intrapancreatic autologous bone marrow stem cells and hyperbaric oxygen in type 2 diabetes mellitus. *Cell Transplant* 2008; 17: 1295-1304 [PMID: 19364067 DOI: 10.3727/096368908787648119]
- Gangaram-Panday ST, Faas MM, de Vos P. Towards stem-cell therapy in the endocrine pancreas. *Trends Mol Med* 2007; 13: 164-173 [PMID: 17307397 DOI: 10.1016/j.molmed.2007.02.002]
- Sun Y, Chen L, Hou XG, Hou WK, Dong JJ, Sun L, Tang KX, Wang B, Song J, Li H, Wang KX. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from diabetic patients into insulin-producing cells in vitro. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 771-776 [PMID: 17531117]
- Wang L, Zhao S, Mao H, Zhou L, Wang ZJ, Wang HX. Autologous bone marrow stem cell transplantation for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 3622-3628 [PMID: 22340214]
- Bhansali A, Upreti V, Khandelwal N, Marwaha N, Gupta V, Sachdeva N, Sharma RR, Saluja K, Dutta P, Walia R, Minz R, Bhadada S, Das S, Ramakrishnan S. Efficacy of autologous bone marrow-derived stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 1407-1416 [PMID: 19686048 DOI: 10.1089/scd.2009.0164]
- Liu M, Han ZC. Mesenchymal stem cells: biology and clinical potential in type 1 diabetes therapy. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 1155-1168 [PMID: 18298656 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00288.x]
- Efrat S. Generation of insulin-producing cells from stem cells for cell replacement therapy of type 1 diabetes. *Isr Med Assoc J* 2004; 6: 265-267 [PMID: 15151363]
- 沈山梅, 李莉蓉, 周士海, 冯文焕, 许景艳, 欧阳建, 朱大龙. 自体造血干细胞移植治疗1型糖尿病-附一例报告. 中国糖尿病杂志 2008; 16: 554-556
- 隆敏, 郑宏庭, 童强, 严俊, 段炼, 杨阔峙, 徐梓辉. 自体骨髓干细胞胰腺定向移植治疗糖尿病1例. 第三军医大学学报 2010; 32: 524,532
- 王攀, 吴正蓉, 田景伦, 戚龙. 经脾动脉自体骨髓细胞移植治疗2型糖尿病5例. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 4355-4358
- Xie QP, Huang H, Xu B, Dong X, Gao SL, Zhang B, Wu YL. Human bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into insulin-producing cells upon microenvironmental manipulation in vitro. *Differentiation* 2009; 77: 483-491 [PMID: 19505629 DOI: 10.1016/j.diff.2009.01.001]
- Tang DQ, Cao LZ, Burkhardt BR, Xia CQ, Litherland SA, Atkinson MA, Yang LJ. In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow. *Diabetes* 2004; 53: 1721-1732 [PMID: 15220196 DOI: 10.2337/diabetes.53.7.1721]
- Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B, Thyssen S, Gray DA, Bhatia M. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 763-770 [PMID: 12819790 DOI: 10.1038/nbt841]
- Okahara M, Mori H, Kiyosue H, Yamada Y, Sagara Y, Matsumoto S. Arterial supply to the pancreas; variations and cross-sectional anatomy. *Abdom Imaging* 2010; 35: 134-142 [PMID: 19777288 DOI: 10.1007/s00261-009-9581-0]
- Wu ZX, Yang XZ, Cai JQ, Liao LM, Yang L, Lin YN, Tan JM. Digital subtraction angiography and computed tomography angiography of predominant artery feeding pancreatic body and tail. *Diabetes Technol Ther* 2011; 13: 537-541 [PMID: 21406019 DOI: 10.1089/dia.2010.0173]
- Lin Y, Yang X, Chen Z, Tan J, Zhong Q, Yang L, Wu Z. Demonstration of the dorsal pancreatic artery by CTA to facilitate superselective arterial infusion of stem cells into the pancreas. *Eur J Radiol* 2012; 81: 461-465 [PMID: 21316172 DOI: 10.1016/j.ejrad.2010.12.077]
- 舒健, 赵建农, 张小明, 曾南林, 柳志刚, 翟昭华, 敬宗林, 蹇素. LAVA CE MRA对正常胰周动脉的评价. 临床放射学杂志 2006; 25: 742-745

#### 同行评价

本文对自体骨髓干细胞移植治疗糖尿病提出了一个较新的灌注移植方法, 具有一定的临床应用价值, 值得临床医生阅读。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 经胃造瘘管放置空肠营养管治疗老年上消化道穿孔13例

范学圣, 张 舰, 刘 兵

## ■背景资料

老年消化道穿孔患者, 置入空肠营养管为其术后提供肠内营养, 可改善其术后营养状况, 减少并发症的发生, 减轻患者的痛苦, 方便、安全的置管, 成为快速康复外科研究的重点之一。

范学圣, 张舰, 刘兵, 安徽医科大学附属六安医院普外科四病区 安徽省六安市 237005

范学圣, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由张舰与刘兵设计; 研究过程由范学圣、张舰及刘兵操作完成; 论文写作由范学圣完成。

通讯作者: 范学圣, 237005, 安徽省六安市皖西路21号, 安徽医科大学附属六安医院普外科四病区. doctorfxs@163.com

收稿日期: 2012-10-04 修回日期: 2012-12-31

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Placement of jejunal feeding tubes via a gastrostomy stoma in elderly patients with upper gastrointestinal perforation: An analysis of 13 cases

Xue-Sheng Fan, Jian Zhang, Bing Liu

Xue-Sheng Fan, Jian Zhang, Bing Liu, Department of General Surgery, the Affiliated Liuan Hospital of Anhui Medical University, Liuan 237005, Anhui Province, China  
Correspondence to: Xue-Sheng Fan, Department of General Surgery, the Affiliated Liuan Hospital of Anhui Medical University, 21 Wanxi West Road, Liuan 237005, Anhui Province, China. doctorfxs@163.com

Received: 2012-10-04 Revised: 2012-12-31

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To assess the feasibility and therapeutic value of placement of jejunal feeding tubes via a gastrostomy stoma in elderly patients with upper gastrointestinal perforation.

**METHODS:** Thirty-eight elderly patients with upper gastrointestinal perforation treated at our hospital from February 2008 to July 2012 were divided into two groups, those with a nasogastric tube or nasointestinal tube (group A) and those with a jejunal feeding tube placed via a gastrostomy stoma (group B). The percentages of patients with discomfort in the respiratory tract or gastrointestinal tract and other parameters were compared between the two groups.

**RESULTS:** Group B was significantly different from Group A in the percentages of patients with a fear of intubation or complaints of nasopharyngeal discomfort, serious cough and expectoration, and the incidence of nausea and

vomiting during the period of enteral nutrition (all  $P < 0.05$ ). Albumin and prealbumin levels on day 9 after surgery were significantly higher than those on day 1 (both  $P < 0.05$ ); however, there were no significant differences in albumin and prealbumin levels between the two groups of patients (both  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Placement of jejunal feeding tubes via a gastrostomy stoma has advantages of fewer complications and better tolerance and is an optimal method for elderly patients with upper gastrointestinal perforation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Elderly; Upper gastrointestinal perforation; Enteral nutrition; Gastrostomy; Intubation

Fan XS, Zhang J, Liu B. Placement of jejunal feeding tubes via a gastrostomy stoma in elderly patients with upper gastrointestinal perforation: An analysis of 13 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 278-281

## 摘要

**目的:** 探讨经胃造瘘管放置空肠营养管治疗上消化道穿孔老年患者的可行性及治疗价值。

**方法:** 将我院普外科2008-02/2012-07收治的38例消化道穿孔患者, 根据其肠内营养方式分为2组, A组患者术后采用鼻饲管进行肠内营养, B组患者采用经胃造瘘放置空肠营养管术后予肠内营养。分析比较两组患者术后出现呼吸道、消化道及其他各类不适的比例。

**结果:** B组患者术后排斥引流管心理、鼻咽部不适、异物感、置管营养期间恶心、呕吐、早起(<3 d)下床活动及置管后严重咳嗽、咳痰、合并肺炎等发生率与A组患者比较有明显统计学意义( $P = 0.036$ ); 营养改善方面, 两组手术后第9天与第1天比较白蛋白, 前白蛋白等指标均明显升高( $P = 0.024$ ;  $0.044$ ), 但二者第9天之间比较无明显差异( $P > 0.05$ )。

**结论:** 采用经胃造瘘管置空肠营养管, 术后早

## ■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

期行肠内营养, 患者耐受性好, 并发症低, 尤其适合老年上消化道穿孔患者。

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 老年; 上消化道穿孔; 肠内营养; 胃造瘘术; 置管方式

范学圣, 张颢, 刘兵. 经胃造瘘管放置空肠营养管治疗老年上消化道穿孔13例. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 278-281  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/278.asp

## 0 引言

上消化道穿孔为外科常见急腹症, 特别是对于农村地区老年患者这类特殊人群, 出现上消化道穿孔外科急腹症时, 就诊时间晚, 腹腔污染重, 且常伴有多种慢性基础疾病、不同程度的营养不良、消化、呼吸功能障碍及免疫功能低下<sup>[1]</sup>. 选择常规普通胃管减压、鼻肠管管饲肠内营养, 存在着较多并发症<sup>[2]</sup>. 为减少该类患者术后鼻咽部不适及术后并发症的发生, 维持良好的营养供给, 我科近年来采用经胃造瘘管放置空肠营养管的置管方式治疗上消化道穿孔, 取得了较好的疗效, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2008-02/2012-07我院普外科收治的38例行消化道穿孔患者, 年龄61-78岁, 男28例, 女10例, 术后穿孔处组织活检均证实为溃疡, 其中溃疡类型分布为: I型胃溃疡14例, II型胃溃疡11例, III型胃溃疡4例, 十二指肠球部溃疡8例, 球后溃疡1例, 根据其术后肠内营养方式分为2组, A组25例采用传统鼻饲管进行肠内营养, B组13例经患者同意签署知情同意书后, 采用经胃造瘘管放置空肠营养管进行肠内营养。

### 1.2 方法

**1.2.1 置管方法:** 2组患者溃疡面均采用单纯穿孔修补术, A组患者术前将胃管, 空肠营养管(复尔凯空肠营养管, 管长约130 cm, 直径3.33 mm)一并经鼻腔插入胃内, 术中将空肠营养管远端调整至Treitz韧带下15-20 cm处, 胃管远端调整至幽门处, 行穿孔处修补, 清洗腹腔污染后关腹, 胃管接负压吸引, 空肠营养管备用. B组患者穿孔处修补, 清洗腹腔污染完成后, 于胃体前壁行胃造口, 造瘘管选用21号菌状管, 其蘑菇头调整至幽门处, 空肠营养管经菌状管腹壁外末端5 cm左右侧孔进入菌状管, 再经菌状管蘑菇头侧

表 1 两种置管方式比较

观察项目	A组	B组
<i>n</i>	25	13
排斥引流管心理	25	0
恶心、呕吐	15	3 <sup>a</sup>
腹胀, 腹泻	7	8 <sup>c</sup>
咽部不适, 异物感	25	0
咳嗽、咳痰	14	2 <sup>a</sup>
并发肺炎	6	0
切口感染	4	3 <sup>c</sup>
早起(<3 d)下床活动	6	10 <sup>b</sup>
术后1日胃内引流量(mL)	180 ± 40	200 ± 30 <sup>c</sup>
术后2日胃内引流量(mL)	210 ± 37	190 ± 46 <sup>c</sup>
术后3日胃内引流量(mL)	240 ± 50	260 ± 41 <sup>c</sup>
平均肠内营养使用时间(d)	5 ± 3	9 ± 2 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01, <sup>c</sup>*P*<0.05 vs A组.

壁、胃、十二指肠降部及水平部进入Treitz韧带下15-20 cm处, 空肠营养管及菌状管一并引出体外, 菌状管接负压吸引, 空肠营养管备用。

**1.2.2 肠内营养方式:** 术后24-48 h, 肠鸣音恢复后, 经空肠营养管均匀给予肠内营养, 初为葡萄糖盐溶液1-2 d, 余下不足的能量经静脉输注补充, 逐渐过渡到能全力、能全素及百普素等整蛋白类, 应用至第4天达正氮平衡, 营养液温度保持在38℃-40℃左右. 在6-7 d达全量后停止给静脉内营养. 一般应用7-10 d并逐渐减量过渡到自行进食, 待患者能完全正常进食后即可拔除空肠营养管. A组患者于术后5-6 d拔出胃管, B组患者于术后2-3 wk拔出胃造瘘管。

**1.2.3 观察指标记录:** 记录各组术后咽部不适、咳嗽、肺炎的发生率, 术后感染(切口感染、腹腔脓肿)、吻合口漏. 记录住院时间、胃引流量、肠内营养给予量、肛门排气恢复时间等. 此外, 为比较肠内营养后自身的营养代谢改善状况, 分别测定两组患者术前和术后9 d的各项营养指标。

**统计学处理** 所有数据用SPSS13.0软件处理. 计数资料采用卡方检验, 计量资料采用随机区组方差分析. *P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

两组患者均痊愈出院, 术后腹胀、腹泻、切口感染、胃引流量、肠内营养给予量等方面差异均无统计学意义(*P*>0.05). 而在排斥引流管心理、鼻咽部不适、异物感、置管营养期间恶

## ■ 相关报道

尹路等将胃造口置三腔胃肠管应用于上消化道手术患者, 避免了鼻咽部的刺激, 同时做到了消化道减压, 营养支持, 其并发症低, 患者耐受性好, 适合老年患者。



## ■应用要点

采用经胃造瘘管置空肠营养管,术后早期行肠内营养,患者耐受性好,并发症低,适合老年上消化道穿孔患者。

表 2 两组营养情况对比

项目	A组 (n = 25)			B组 (n = 13)		
	术前	第1天	第9天	术前	第1天	第9天
血红蛋白(g/L)	110.13 ± 11.91	105.00 ± 10.35	112.54 ± 12.06 <sup>a</sup>	112.23 ± 12.13	104.24 ± 11.45	114.34 ± 10.45 <sup>bc</sup>
血清白蛋白(g/L)	34.13 ± 2.61	30.23 ± 3.12	37.22 ± 3.74 <sup>a</sup>	33.11 ± 2.53	31.23 ± 2.31	38.19 ± 3.4 <sup>bc</sup>
前白蛋白(mg/L)	254 ± 43	248 ± 34	257 ± 33 <sup>b</sup>	260 ± 43	249 ± 36	271 ± 30 <sup>bc</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 第1天组; <sup>c</sup> $P > 0.05$  vs A组第9天。

心、呕吐、早起(<3 d)下床活动及置管后严重咳嗽、咳痰合并肺炎等方面, B组具有明显优势( $P < 0.05$ )(表1)。术后第9天与术后第1天比较两组患者营养状况明显改善( $P < 0.05$ ), 而二者第9天之间比较无明显差异( $P > 0.05$ )(表2)。

### 3 讨论

肠内营养支持已经成为外科营养支持治疗中的一项优先选择的基本治疗措施<sup>[3]</sup>。很多研究表明: 肠内营养不仅可以改善病人的营养状况, 在维持内环境的稳定, 减少术后感染, 低蛋白血症等并发症, 缩短住院时间有明显效果<sup>[4]</sup>。我院所在地区的农村留守老人, 消化道穿孔普遍存在就诊时间晚, 腹腔污染重, 而且常伴有多种慢性基础疾病、不同程度的营养不良、消化、呼吸功能障碍及免疫功能低下的特点, 为减少围手术期并发症, 缩短手术时间, 多选择腹腔清洗, 穿孔单纯修补术。而在肠内营养给予方面我们通过由陈强谱等<sup>[5]</sup>创用的经双腔T型管置入肠内营养管及朱新华等<sup>[6]</sup>采用三腔胃肠管在胰十二指肠切除术后行早期肠内营养手术方式得以启发, 在治疗老年上消化道穿孔腹腔污染严重患者时, 选用经胃造瘘管置空肠营养管的营养给予方式, 大大降低了传统胃管的并发症, 更符合现代快速康复外科尽量减少各种导管置入的理念<sup>[7]</sup>, 有利于患者早期下床活动, 促进肠道蠕动, 避免肠粘连, 并能早期进行肠内营养支持, 尽快纠正营养不良<sup>[8]</sup>。

本研究中A组患者经鼻放置胃减压管和空肠营养管, 耐受性差, 鼻咽部不适、异物感明显, 在术后出现咳嗽、咳痰、合并肺炎发生率明显高于B组( $P < 0.05$ ), A组术后因胃管鼻咽部不适, 早起下床活动明显受限( $P < 0.01$ ), 有文献报道经鼻置管可使呼吸系统并发症如肺炎、肺不张发生率增加10倍, 特别是空肠营养管与胃管同时应用时, 耐受性更差<sup>[9]</sup>, 而B组患者无鼻胃管的刺

激, 降低了鼻咽部不适感, 减少了上呼吸道并发症的发生, 同时有利于患者早期下床活动, 促进肠道蠕动, 预防坠积性肺炎, 预防下肢深静脉血栓的形成。B组患者术中胃造口选择在胃体前壁进行, 造瘘口尽量选择远离穿孔部位5 cm以上血运良好的区域进行, 可避免穿孔处炎症侵及造瘘口, 有利于造瘘口与腹壁尽早形成窦道。造瘘管选用21号菌状管, 造瘘管胃腔内一端尽量靠近幽门括约肌, 利于胃腔减压, 及胃液十二指肠液的引流, 而空肠营养管为长约130 cm复尔凯空肠营养管, 经菌状管腹壁外末端5 cm左右侧孔进入菌状管, 可用丝线固定于菌状管上。再经菌状管蘑菇头侧壁、胃、十二指肠降部及水平部进入Treitz韧带下15-20 cm处, 空肠营养管及菌状管一并引出体外, 菌状管接负压吸引, 肠内营养管备用<sup>[10]</sup>。此法可在胃减压的同时进行空肠肠内营养, 采取“双管齐下”, 因菌状管位置低, 较置于胃内的鼻胃管在降低呼吸道感染的同时, 引流更彻底, 效果更好, 能使穿孔胃壁得到更好的“休息”<sup>[11-13]</sup>。本研究的结果表明, A、B两组患者在术后第9天营养状况虽无统计学意义( $P > 0.05$ ), 但较术后第1天均有明显改善( $P < 0.05$ ), 经肠道营养吸收更符合生理、有利于维持肠道黏膜细胞结构与功能完整性, 减少肠内细菌和内毒素异位<sup>[14]</sup>, 防治SIRS和MODS的发生, 减少术后并发症的发生, 提高患者的免疫能力<sup>[15]</sup>。

### 4 参考文献

- 1 杨海健. 老年上消化道穿孔的临床特点与外科治疗. 吉林医学 2010; 31: 5355
- 2 潘跃东, 卢明柱. 造瘘置胃管及空肠营养管在老年胃癌术中的应用. 实用临床医药杂志 2011; 15: 87-88
- 3 黎介寿. 肠内营养—外科临床支持的首选途径. 中国临床营养杂志 2003; 11: 171-172
- 4 李元新, 黎介寿. 肠内营养支持的进展. 江苏临床医学杂志 2002; 6: 90-95
- 5 陈强谱, 欧琨. 肠内营养的管饲技术. 世界华人消化杂志 2000; 8: 1391-1393
- 6 朱新华, 仇毓东, 吴亚夫, 周建新, 江春平, 丁义涛. 三腔胃肠管在胰十二指肠切除术后行早期肠内营养的

- 应用价值. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3026-3030
- 7 江志伟, 李宁, 黎介寿. 快速康复外科的概念及临床意义. 中国实用外科杂志 2007; 27: 131-133
- 8 Wang X, Pan L, Zhang P, Liu X, Wu G, Wang Y, Liu Y, Li N, Li J. Enteral nutrition improves clinical outcome and shortens hospital stay after cancer surgery. *J Invest Surg* 2010; 23: 309-313 [PMID: 21208095]
- 9 林锋, 王志度. 术后早期肠内营养支持在消化道肿瘤患者中的应用. 中华实用外科杂志 2002; 22: 661-662
- 10 郑朝, 旭冯强, 刘骞, 毕建军, 荣维淇, 袁兴华. 经皮空肠营养置管肠内营养应用于全胃切除术胃癌患者的临床研究. 中华普通外科杂志 2012; 27: 495-498
- 11 陈育民, 王绍明, 黄俊伟. 胃癌术后早期肠内营养三种置管方式效果观察. 实用医院临床杂志 2012; 9: 110-112
- 12 尹路, 陈桂明, 钱篱健, 林谋彬, 金艳, 李宏为. 三腔胃肠管在上消化道手术中的应用价值. 肠外与肠内营养 2005; 12: 177-180
- 13 王昆华, 刘为军, 肖乐, 龚昆梅, 郭世奎, 欧阳一鸣, 龙亚新. 双管与三管引流在十二指肠损伤修复中的比较. 中华外科杂志 2012; 50: 471-472
- 14 Kuwabara Y, Takeyama H. [Nutritional support to prevent infectious complications after surgery]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 2010; 111: 348-352 [PMID: 21174709]
- 15 陈洁, 王兴鹏, 刘丕, 吴恺, 于晓峰, 王根生. 持续性早期肠内营养对急性坏死型胰腺炎犬全身炎症反应的影响. 中华急诊医学杂志 2005; 14: 717-721

#### ■同行评价

上消化道穿孔为外科常见的急腹症, 对其营养支持是临床上的重要研究课题. 本文采用经胃造瘘管放置空肠营养管的置管方式治疗上消化道穿孔, 是临床上的一个有益的探索.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 布-加综合症的诊断治疗59例

谢月萍, 杜凡

## ■背景资料

布-加综合征发病率较低, 病因复杂, 临床表现多变且无特异性, 如未得到及时有效的诊治, 患者预后差, 多死于进行性肝功能衰竭。因此, 更好的了解布-加综合征的临床特点并掌握其早期诊断和治疗的方法是决定患者预后的重要因素。

谢月萍, 南宁市第一人民医院老年科 广西壮族自治区南宁市 530022

杜凡, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科 湖北省武汉市 430022

谢月萍, 副主任医师, 主要从事老年消化疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由谢月萍与杜凡共同设计、分析、写作完成。

通讯作者: 杜凡, 主治医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科。

dufan511@yahoo.com

收稿日期: 2012-11-18 修回日期: 2013-01-01

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-01-28

## Diagnosis and treatment of Budd-Chiari syndrome: An analysis of 59 cases

Yue-Ping Xie, Fan Du

Yue-Ping Xie, Department of Geriatrics, the First People's Hospital of Nanning, Nanning 530022, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Fan Du, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Fan Du, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. dufan511@yahoo.com.cn

Received: 2012-11-18 Revised: 2013-01-01

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-01-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinical characteristics of Budd-Chiari syndrome to improve clinical awareness and diagnosis of this disease.

**METHODS:** The clinical data for 59 patients diagnosed with Budd-Chiari syndrome were reviewed retrospectively to analyze patients' clinical symptoms, signs, laboratory examination, iconography examination and treatment.

**RESULTS:** Main clinical manifestations included lower-limb edema (17/59, 28.8%), abdominal distention (15/59, 25.4%), and abdominal distention with lower limb edema (7/59, 11.9%). The rate of diagnosis of Budd-Chiari syndrome by color Doppler vascular ultrasound and angiography was nearly 100%. Of 55 patients undergo-

ing interventional therapy, 23 were cured, 30 had improved condition, and 2 had no significant improvement.

**CONCLUSION:** Clinical manifestations of Budd-Chiari syndrome are complicated, which often leads to misdiagnosis and mistreatment. For patients highly suspected of having this disease, color Doppler vascular examination and venography should be conducted for diagnosis. Early diagnosis and treatment are important for prognosis. Interventional therapy is an effective method for Budd-Chiari syndrome.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Budd-Chiari syndrome; Color Doppler vascular examination; Venography; Interventional operation

Xie YP, Du F. Diagnosis and treatment of Budd-Chiari syndrome: An analysis of 59 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(3): 282-285

## 摘要

**目的:** 分析布-加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)的临床特点, 提供该综合征的诊断治疗经验。

**方法:** 对59例BCS患者进行临床症状、体征、实验室检查、影像学检查及治疗情况进行回顾性分析。

**结果:** 59例患者主要临床表现为双下肢水肿17例, 占28.8%, 腹胀15例, 占25.4%, 腹胀伴双下肢水肿7例, 占11.9%, 彩色多普勒血管超声和血管造影的诊断率可达100%。55例患者行介入治疗, 出院转归治愈23例, 好转30例, 未愈2例。

**结论:** BCS的临床表现繁杂, 极易误诊误治, 对高度怀疑本病者, 应行彩超多普勒血管检查和静脉造影进行确诊, 早期诊断及治疗对预后有良好的影响。介入手术是有效的治疗手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

## ■同行评议者

谭学瑞, 教授, 汕头大学医学院第一附属医院内科



**关键词:** 布-加综合征; 彩色多普勒诊断; 血管造影; 介入治疗

谢月萍, 杜凡. 布-加综合征的诊断治疗59例. 世界华人消化杂志 2013; 21(3): 282-285

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/282.asp>

## 0 引言

布-加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)指由肝静脉和/或下腔静脉狭窄或闭塞所引起的以肝后性门静脉高压和/或下腔静脉高压为特点的临床综合征<sup>[1]</sup>. 患者可以暴发性、急性、亚急性或慢性起病, 出现腹痛、肝脏肿大、顽固性腹水、脾脏肿大、脾功能亢进、静脉曲张、下肢水肿及色素沉着等临床表现, 如未得到及时有效的诊治, 患者预后较差, 多死于肝淤血坏死引起的进行性肝功能衰竭<sup>[2]</sup>. 因BCS发病率低, 病因复杂, 临床表现多变且无特异性, 容易导致误诊误治. 近年来, 随着临床诊疗手段的日益进步, 特别是血管造影和介入治疗术的引入和发展, 使早期得到有效诊治的本病患者预后得到了极大的改善. 因此, 更好的了解BCS的临床特点并掌握其早期诊断和治疗的方法是决定患者预后的非常重要的因素. 为提高临床医师对BCS的认识和诊疗能力, 本研究收集59例BCS患者的临床资料, 对其病史、症状、体征、实验室检查、影像学表现、治疗及预后等情况进行总结和回顾性分析, 现报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2002-02/2006-11华中科技大学同济医学院附属协和医院收治住院的BCS患者59例. 患者均经影像学检查、血管造影确诊, 血管造影中发现肝静脉和/或下腔静脉受压、狭窄或充盈缺损可确诊为BCS<sup>[3]</sup>. 男27例, 女32例; 年龄12-55岁, 平均35.9岁, 其中25-45岁患者最多, 占72.9%; 病程从出现初发症状到确诊时间为1 mo-21年; 主要职业为农民及打工者, 占61.0%.

**1.2 方法** 应用回顾性分析的方法, 对59例BCS患者的临床表现、实验室检查、影像学表现、治疗方法及预后等情况进行总结分析.

## 2 结果

**2.1 临床表现** 患者临床表现无特异性, 多为类似肝硬化失代偿期门脉高压表现, 可分为肝静脉回流障碍和下腔静脉回流障碍两方面. 其中, 以腹胀为主要表现者最多见, 共31例, 占52.5%;

纳差、乏力伴腹痛者4例, 占6.8%; 腹水5例, 占8.5%; 黄疸3例, 占5.1%; 肝肿大11例, 占18.6%; 脾肿大19例, 占32.2%; 同时合并肝脾肿大者4例. 下肢水肿24例, 占40.7%; 并有4例合并胸腹壁静脉曲张, 3例合并下肢静脉曲张、色素沉着. 另外, 共有12例患者合并肝硬化, 占20.3%.

**2.2 实验室检查** 肝功能: 总胆红素、间接胆红素轻-中度升高31例,  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase,  $\gamma$ -GT)轻度升高23例, ALT轻度升高20例, AST轻度升高16例, 凝血酶原时间轻度延长11例, 乙型和丙型肝炎病毒标志物均为阴性.

**2.3 影像学检查** 59例BCS患者分别于血管造影前进行了彩色多普勒血管超声或MRA血管成像(2例)检查. 其中, 彩色多普勒提示BCS 50例, 诊断准确率达到90.9%; 2例行MRA检查者均准确提示BCS诊断.

**2.4 血管造影及介入治疗** 59例患者均进行了血管造影检查和/或介入治疗. 血管造影结果显示各病变血管的临床分型: 其中下腔静脉型最多, 43例, 占72.9%; 肝静脉型7例, 混合型9例. 59例患者中最终有55例患者接受了介入治疗, 其中25例行下腔静脉成形术, 14例行下腔静脉成形+支架置入术, 4例行第二肝门重建+支架置入术, 3例行肝静脉成形术+支架植入术, 9例行下腔静脉+肝静脉成形术, 另外4例因肝癌待排, 患者未行介入治疗.

**2.5 治疗结果** 55例行介入治疗患者中, 出院转归治愈23例, 好转30例, 未愈2例. 其中2例症状反复, 分别于4 mo及5年后再次行下腔静脉+副肝静脉成形术.

## 3 讨论

既往研究报道BCS在世界范围的发病率接近1:100万<sup>[4]</sup>. BCS可见于任何年龄, 有研究表明发病年龄以20-40岁最常见, 发病率男女之比约为1.2-2:1<sup>[5]</sup>, 儿童和老年人少见. 本研究资料表明纳入的59例BCS患者中25-45岁患者最多(72.9%), 与文献报道类似. 但本研究中发现年龄最小的患者为12岁, 故在儿童及青少年中亦不能忽视本病. BCS的发病病因与多种因素有关, 目前病因尚未明确, 常见的病因包括先天性或后天性高凝状态, 如抗凝血酶III缺乏、先天性蛋白C缺乏、蛋白S缺乏、骨髓增生异常、炎症性肠病、抗磷脂综合征等, 炎症反应, 肿瘤, 口服避孕药及怀孕等<sup>[6]</sup>. 由于地理分布的不同, BCS的主要病因也有所相同, 在大多数西方国家,

### ■研究前沿

多普勒彩超目前是诊断BCS的首选工具, 方便易行, 对BCS的诊断确诊率高; 肝静脉和下腔静脉造影术尽管为有创检查, 但被认为是诊断BCS的“金标准”, 并可在诊断的同时行相关介入治疗. 未来应进一步规范BCS的诊断方法和统一分型标准, 以提高早期诊断水平, 而对于BCS的治疗原则和治疗方法应强调个体化, 以提高治疗效果.

### ■相关报道

最新的研究结果显示BCS应得到迅速而准确的诊断和侵入性治疗(包括介入手术和必要时的外科手术), 不同的治疗方法的选择取决于不同的病因、病变部位和临床表现, 大部分患者得到及时有效的治疗, 但也有部分晚期患者需进行肝移植手术.

### ■创新盘点

目前关于BCS的治疗文献报道多见,而关于BCS的临床特点及诊疗方法的文献报道少见。本研究收集59例BCS患者的临床资料,对其病史、症状、体征、实验室检查、影像学表现、治疗及预后等情况进行总结和回顾性分析,并介绍了血管彩超和造影的优缺点及介入治疗的优越性。

### ■应用要点

本文对BCS患者的临床表现、实验室检查、影像学表现、治疗方法及预后等情况进行了总结分析,并介绍了彩超多普勒血管检查和静脉造影可进行确诊,介入手术是有效的治疗手段,对临床诊疗具有参考价值。

BCS的发病常见于血栓形成,而在东方国家则常见于血管蹼的形成<sup>[7]</sup>。

目前多数学者认为BCS包括从肝小静脉到下腔静脉入右心房口处,发生在其中任何部位、任何性质的肝静脉流出道的阻塞<sup>[6,8,9]</sup>。常见的分型方法可将BCS分为4型<sup>[10]</sup>: I型:下腔静脉膜型(不全性、完全性阻塞); II型:下腔静脉节段型(不全性、完全性节段性阻塞); III型:肝静脉型(膜性、节段性阻塞); IV型:下腔静脉合并肝静脉型。本研究59例患者中,以下腔静脉型为主,有43例,占72.9%;肝静脉型7例;混合型9例。

BCS临床表现主要为肝静脉回流受阻,伴或不伴下腔静脉回流受阻,其表现形式多样且无特异性,包括:食欲不振、乏力、恶心、呕吐、腹痛、腹胀、腹水、肝脾肿大、黄疸、消化系统出血、肝昏迷;下肢水肿、胸腹壁及下肢静脉曲张、色素沉着及溃疡等。上述临床表现出现的频率及患者病情的严重程度主要取决于肝静脉和下腔静脉流出道阻塞的程度、速度以及有无侧支循环的形成以缓解肝窦内的压力,而与病程的长短无直接相关性。本研究资料显示59例BCS患者临床表现多样,其中以腹胀、腹水、肝脾肿大、下肢水肿为主,与其他研究结果一致<sup>[11]</sup>。Menon等<sup>[6]</sup>的研究表明,BCS患者实验室检查中血清胆红素和碱性磷酸酶水平有不同程度的升高,而血清白蛋白多有降低。而本研究中肝功能检查以总胆红素及间接胆红素、 $\gamma$ -GT轻度升高为主。因BCS所致的淤血性肝细胞损害,肝功能损害较轻且无特异性表现,故血生化检查对BCS早期诊断帮助不大。

从本研究资料中可见,BCS的临床表现复杂多样,症状体征可同时表现为多系统功能受累,如果临床医生对本病认识不足,极易误诊误治。例如在本研究的病例中,首诊出现的诊断有酒精性肝硬化、肾炎、肝硬化腹水、结核性腹膜炎、门静脉高压等。因此,在临床诊疗中,对于肝脏肿大、伴有腹水,但肝功能损害相对较轻或正常者;脾肿大者;胸腹腰背部浅静脉曲张者;下肢溃疡、皮肤色素沉着或静脉曲张;有门静脉高压症的表现,如腹胀、腹部膨隆、腹水、双下肢浮肿者;对诊断模糊或诊断为不明原因的肝硬化、肾炎、但治疗无效者,均应高度怀疑此病。

随着彩色多普勒超声的广泛应用,BCS的诊断较以往变得简单、可靠及方便。文献表明多普勒彩超目前是诊断BCS的首选工具,方便易

行,对BCS的诊断确诊率可达94%<sup>[12]</sup>。彩超能清晰地显示下腔静脉、肝静脉及交通支的管腔情况,血流方向,血管有无阻塞,阻塞位置等。而肝静脉和下腔静脉造影术尽管为有创检查,但仍被认为是诊断BCS的“金标准”<sup>[13,14]</sup>,他可以确定血管病变程度、病变位置、血栓情况和侧支循环建立和开放情况,且可在造影同时进行球囊导管扩张和内支架植入术。从本研究结果来看,彩色多普勒与血管造影的联合应用,可使BCS的诊断率高达100%。介入治疗成为治疗BCS的首选治疗方法,手术创伤小,诊断造影清晰,可以重复进行,便于多次对比。针对不同部位的阻塞,BCS的介入治疗可分为下腔静脉成形术、肝静脉成形术和副肝静脉成形术,具体又包括球囊扩张和血管内支架植入术两大类。Qiao等<sup>[8]</sup>的研究表明,对于BCS患者行介入治疗是完全有效的治疗方法,且具有良好的远期效果,尤其适用有高风险的外科手术患者。本研究中59例患者中最终有55例患者接受了介入治疗,且预后均良好。

最新的研究显示BCS应得到迅速而准确的诊断和侵入性治疗(包括介入手术和必要时的外科手术治疗),不同的治疗方法的选择取决于不同的病因、病变部位和临床表现,大部分患者得到及时有效的治疗,但也有部分晚期患者需进行肝移植手术<sup>[15]</sup>。因此,认识和了解BCS临床特点,早期诊断成为影响本病预后的重要因素。对不能明确排除BCS的患者,应行多普勒彩超血管检查和静脉造影进行确诊,一旦确诊应根据病情积极考虑进行介入治疗,避免长时间误诊误治,以期改善本病早期接受治疗患者的预后。未来的发展方向,应进一步规范BCS的诊断方法和统一分型标准,以提高早期诊断水平,利于学术交流;而对于BCS的治疗原则和治疗方法应强调个体化,以提高治疗效果<sup>[16]</sup>。

### 4 参考文献

- 1 Ludwig J, Hashimoto E, McGill DB, van Heerden JA. Classification of hepatic venous outflow obstruction: ambiguous terminology of the Budd-Chiari syndrome. *Mayo Clin Proc* 1990; 65: 51-55 [PMID: 2296212 DOI: 10.1016/S0025-6196(12)62109-0]
- 2 Emre A, Kalayci G, Ozden I, Bilge O, Acarli K, Kaymakoglu S, Rozanes I, Okten A, Tekant Y, Alper A, Ariogul O. Mesoatrial shunt in Budd-Chiari syndrome. *Am J Surg* 2000; 179: 304-308 [PMID: 10875991 DOI: 10.1016/S0002-9610(00)00335-4]
- 3 Cho HH, O'Connell JP, Cooney MF, Inchiosa MA. Minimizing tolerance and withdrawal to prolonged pediatric sedation: case report and review of the literature. *J Intensive Care Med* 2007; 22: 173-179 [PMID: 17311111 DOI: 10.1016/S0002-9610(00)00335-4]

- 17569173 DOI: 10.1177/0885066607299556]
- 4 Darwish Murad S, Valla DC, de Groen PC, Zeitoun G, Hopmans JA, Haagsma EB, van Hoek B, Hansen BE, Rosendaal FR, Janssen HL. Determinants of survival and the effect of portosystemic shunting in patients with Budd-Chiari syndrome. *Hepatology* 2004; 39: 500-508 [PMID: 14768004 DOI: 10.1002/hep.20064]
  - 5 Darwish Murad S, Plessier A, Hernandez-Guerra M, Fabris F, Eapen CE, Bahr MJ, Trebicka J, Morard I, Lasser L, Heller J, Hadengue A, Langlet P, Miranda H, Primignani M, Elias E, Leebeek FW, Rosendaal FR, Garcia-Pagan JC, Valla DC, Janssen HL. Etiology, management, and outcome of the Budd-Chiari syndrome. *Ann Intern Med* 2009; 151: 167-175 [PMID: 19652186]
  - 6 Menon KV, Shah V, Kamath PS. The Budd-Chiari syndrome. *N Engl J Med* 2004; 350: 578-585 [PMID: 14762185 DOI: 10.1056/NEJMra020282]
  - 7 Uskudar O, Akdogan M, Sasmaz N, Yilmaz S, Tola M, Sahin B. Etiology and portal vein thrombosis in Budd-Chiari syndrome. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2858-2862 [PMID: 18473410 DOI: 10.3748/wjg.14.2858]
  - 8 Qiao T, Liu CJ, Liu C, Chen K, Zhang XB, Zu MH. Interventional endovascular treatment for Budd-Chiari syndrome with long-term follow-up. *Swiss Med Wkly* 2005; 135: 318-326 [PMID: 16034686]
  - 9 Valla DC. The diagnosis and management of the Budd-Chiari syndrome: consensus and controversies. *Hepatology* 2003; 38: 793-803 [PMID: 14512865]
  - 10 梁扩寰. 肝脏病学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2003; 1111-1115
  - 11 彭涛, 刘玉兰. 布-加综合征64例临床分析. *中华消化杂志* 2007; 27: 774-776
  - 12 曹海根, 王金锐. 实用腹部超声诊断学. 北京: 人民卫生出版社 2006; 509-514
  - 13 Bahar K, Karayalçin S, Kaya M, Cetinkaya H, Bozkaya H, Yurdaydin C. Percutaneous transhepatic venoplasty: an alternative treatment for Budd-Chiari syndrome. *Turk J Gastroenterol* 2002; 13: 83-88 [PMID: 16378282]
  - 14 Boozari B, Bahr MJ, Kubicka S, Klempnauer J, Manns MP, Gebel M. Ultrasonography in patients with Budd-Chiari syndrome: diagnostic signs and prognostic implications. *J Hepatol* 2008; 49: 572-580 [PMID: 18619699 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.04.025.]
  - 15 Ferral H, Behrens G, Lopera J. Budd-Chiari Syndrome. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 199: 737-745 [PMID: 22997363 DOI: 10.2214/AJR.12.9098.]
  - 16 Li CM, Wang ZG, Gu YQ, Yu HX, Chen B, Li Z, Bian C. Management of complex patients with Budd-Chiari syndrome. *Ann Vasc Surg* 2010; 24: 301-307 [PMID: 19900786 DOI: 10.1016/j.avsg.2009.07.013.]

#### ■同行评价

文章的科学性、实践价值、可读性较高, 重点突出, 具有一定的指导价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则 <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为 <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ .  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如  $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》是由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H.pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能写Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d。3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.



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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律

左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/>

[tgxz.pdf](#)。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-8538-1892  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白岚 教授  
南方医院惠侨科

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院

管世鹤 副教授  
安徽医科大学第一附属医院检验科

郭永红 副主任医师  
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郝建宇 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

郝立强 副教授  
上海长海医院普外二科

何向辉 教授  
天津医科大学总医院普通外科

黄恒青 主任医师  
福建省第二人民医院消化内科

黄缘 教授  
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

江建新 副主任医师  
贵阳医学院附属医院肝胆外科

孔静 副教授  
中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

李国威 教授  
西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

李升平 教授  
中山大学肿瘤医院肝胆科

李晓波 教授  
上海交通大学药学院

李永翔 教授  
安徽医科大学第一附属医院普外科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

李增山 副教授  
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

刘宝林 教授  
中国医科大学附属盛京医院

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内镜科

门秀丽 教授  
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

缪应雷 主任医师  
昆明医科大学第一附属医院消化内科

倪润洲 教授  
南通大学附属医院消化内科

彭亮 副主任医师  
中山大学附属第三医院感染科

秦春宏 副主任医师  
南华大学附属第二医院普外科

沈柏用 教授  
瑞金医院肝胆胰外科中心

沈克平 主任医师  
上海中医药大学附属龙华医院

沈薇 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

孙文兵 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆外科西区



百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

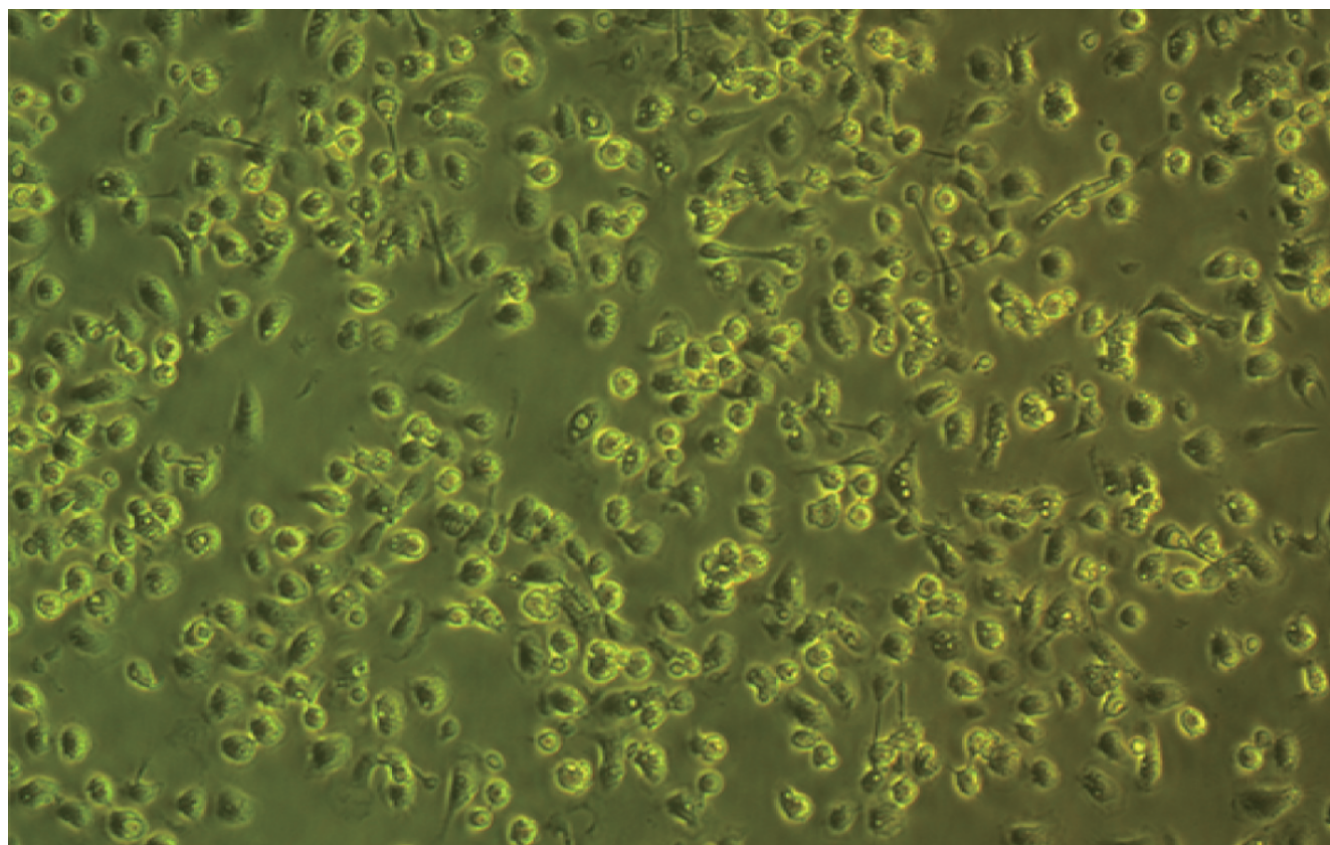


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 2 月 8 日      第 21 卷      第 4 期      (Volume 21 Number 4)**



**4/2013**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授

汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泐副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赓宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年2月8日 第21卷 第4期 (总第408期)

## 基础研究

- 293 常氧与低氧下CagA<sup>+</sup>幽门螺杆菌对人胃癌SGC7901细胞系HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达的影响  
张金花, 冯玉光, 高桂鹏, 陶元勇, 张小茜, 张红梅, 焦建新
- 300 硫化氢对肝纤维化大鼠肝脏 I、III型胶原表达的影响  
赵强, 陈卫刚, 赵瑾, 李睿, 宋丽秀, 任婧, 杨新疆, 郑勇
- 307 大鼠枯否细胞的分离、鉴定以及LPS刺激诱导TNF- $\alpha$ 的表达  
叶长根, 梁冬雨, 赵亮, 于芳芳, 孙水林, 张吉翔, 刘亮明
- 313 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>在实验性溃疡性结肠炎中的作用机制  
李月芹, 叶建新, 邹玲婷, 张光波, 高楠, 陈卫昌
- 320 NUCB2/nesfatin-1在肥胖大鼠胃肠道组织中的表达  
李伟娜, 田宇彬, 魏良洲, 孙桂荣, 张翠萍, 葛银林, 徐珞

## 临床研究

- 327 TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义  
庞霞, 李晟磊, 赵志华, 张红新, 高冬玲
- 332 表皮生长因子及其受体在糜烂胃黏膜中的表达  
郝正魁, 刘希双, 王秀娟

## 文献综述

- 336 TIPS术后支架功能障碍的研究现状  
梁艳平, 唐映梅, 杨晋辉, 尤丽英

## 研究快报

- 341 RASAL1基因启动子甲基化及RAS活性与结肠癌临床病理的关系  
袁纯, 陆枫林, 陈洪

## 临床经验

- 346 HLA-DRB1\*03/04等位基因与广西原发性肝癌家族聚集性的相关性  
马莎莎, 吴继周, 吴健林, 刘芳, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕
- 352 肝叶切除术在胆道再次手术中的应用  
吴军卫, 柴新群, 李 潼, 李锦锦, 孟元普
- 357 MRCP对ERCP胆管插管难度预测的价值  
朱恒, 赵清喜, 孙学国, 王小玮, 鞠辉, 毛涛, 田宇彬
- 362 ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在结肠癌组织中的表达及相关性  
杨万广, 王万鹏, 张谢夫
- 367 局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的疗效评价  
郝永顺, 钱国武, 张云飞, 吴刚, 李向源, 李文才, 赵武干, 赵阳阳



附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	299 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 306 《世界华人消化杂志》出版流程 319 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 326 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 340 《世界华人消化杂志》栏目设置 345 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 351 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 361 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 366 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	叶长根, 梁冬雨, 赵亮, 于芳芳, 孙水林, 张吉翔, 刘亮明. 大鼠枯否细胞的分离、鉴定以及LPS刺激诱导TNF- $\alpha$ 的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 307-312 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/307.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/307.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.307">http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.307</a>
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-02-08

原刊名 新消化病学杂志

### 期刊名称

世界华人消化杂志

### 国际标准连续出版物号

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

### 主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

### 编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### 出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No.90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### 制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

### 特别声明

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

### 定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## February 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 4

<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>293 Effects of CagA<sup>+</sup> <i>Helicobacter pylori</i> infection on expression of HIF-2<math>\alpha</math> and ABCG2 in human gastric cancer cell line SGC7901 under normoxia and hypoxia conditions <i>Zhang JH, Feng YG, Gao GP, Tao YY, Zhang XQ, Zhang HM, Jiao JX</i></p> <p>300 Hydrogen sulfide decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis <i>Zhao Q, Chen WG, Zhao J, Li R, Song LX, Ren Q, Yang XJ, Zheng Y</i></p> <p>307 Rat Kupffer cells: Isolation, identification and LPS-stimulated TNF-<math>\alpha</math> expression and secretion <i>Ye CG, Liang DY, Zhao L, Yu FP, Sun SL, Zhang JX, Liu LM</i></p> <p>313 Mechanisms underlying therapeutic effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> against experimental ulcerative colitis in mice <i>Li YQ, Ye JX, Zou LT, Zhang GB, Gao N, Chen WC</i></p> <p>320 Expression of nucleobindin-2/nesfatin-1 in gastrointestinal tissues of high-fat diet-induced obese rats <i>Li WN, Tian ZB, Wei LZ, Sun GR, Zhang CP, Ge YL, Xu L</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>327 Clinical significance of expression of TGF-<math>\beta</math>1, TIEG1 and stathmin proteins in esophageal squamous cell carcinoma <i>Pang X, Li SL, Zhao ZH, Zhang HX, Gao DL</i></p> <p>332 Expression of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in gastric mucosal erosion <i>Hao ZK, Liu XS, Wang XJ</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>336 Transjugular intrahepatic portosystemic shunt dysfunction <i>Liang YP, Tang YM, Yang JH, You LY</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>341 Clinical significance of RASAL1 promoter methylation and ras activity in colorectal carcinoma <i>Yuan C, Lu FL, Chen H</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>346 Relationship between HLA-DRB1*03/04 alleles and familial clustering of hepatocellular carcinoma in Guangxi <i>Ma SS, Wu JZ, Wu JL, Liu F, Hu DF, Ning QY, Pang Y</i></p> <p>352 Application of hepatic lobectomy in bile duct reoperation <i>Wu JW, Chai XQ, Li T, Li JJ, Meng YP</i></p> <p>357 Role of MRCP in predicting difficulty of bile duct intubation during ERCP <i>Zhu H, Zhao QX, Sun XG, Wang XW, Ju H, Mao T, Tian ZB</i></p> <p>362 Significance of ALDH1A2, MMP2 and E-cadherin expression in colonic cancer <i>Yang WG, Wang WP, Zhang XF</i></p> <p>367 Efficacy of preoperative systemic vein chemotherapy combined with regional intra-arterial chemoembolization in the management of locally advanced rectal cancer <i>Gao YS, Qian GW, Zhang YF, Wu G, Li DY, Li WC, Zhao WG, Zhao YY</i></p>

<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Ye CG, Liang DY, Zhao L, Yu FP, Sun SL, Zhang JX, Liu LM.</i> Rat Kupffer cells: Isolation, identification and LPS-stimulated TNF- $\alpha$ expression and secretion. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(4): 307-312 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/307.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/307.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.307">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.307</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** February 8, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# 常氧与低氧下CagA<sup>+</sup>幽门螺杆菌对人胃癌SGC7901细胞系HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达的影响

张金花, 冯玉光, 高桂鹏, 陶元勇, 张小茜, 张红梅, 焦建新

张金花, 高桂鹏, 潍坊医学院研究生部 山东省潍坊市 261042  
冯玉光, 张小茜, 张红梅, 焦建新, 潍坊医学院附属医院消化内科 山东省潍坊市 261031

陶元勇, 潍坊医学院附属医院检验科 山东省潍坊市 261031

张金花, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的临床和基础研究。  
作者贡献分布: 本课题由冯玉光与张金花设计; 研究过程由张金花、冯玉光、高桂鹏、陶元勇、张小茜、张红梅及焦建新共同完成; 数据分析由张金花、冯玉光及高桂鹏完成; 本论文写作由张金花与冯玉光完成。

通讯作者: 冯玉光, 副教授, 硕士生导师, 261031, 山东省潍坊市虞河路465号, 潍坊医学院附属医院消化内科。

f-yg2008@163.com

电话: 0536-8068912

收稿日期: 2012-12-02 修回日期: 2013-01-14

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Effects of CagA<sup>+</sup> *Helicobacter pylori* infection on expression of HIF-2 $\alpha$ and ABCG2 in human gastric cancer cell line SGC7901 under normoxia and hypoxia conditions

Jin-Hua Zhang, Yu-Guang Feng, Gui-Peng Gao,  
Yuan-Yong Tao, Xiao-Qian Zhang, Hong-Mei Zhang,  
Jian-Xin Jiao

Jin-Hua Zhang, Gui-Peng Gao, Graduate School, Weifang Medical College, Weifang 261042, Shandong Province, China

Yu-Guang Feng, Xiao-Qian Zhang, Hong-Mei Zhang, Jian-Xin Jiao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261031, Shandong Province, China

Yuan-Yong Tao, Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261031, Shandong Province, China

Correspondence to: Yu-Guang Feng, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, 465 Yuhe Road, Weifang 261031, Shandong Province, China. f-yg2008@163.com

Received: 2012-12-02 Revised: 2013-01-14

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of CagA<sup>+</sup> *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) on the expression of HIF-2 $\alpha$  and ABCG2 in human gastric cancer cell line SGC7901 under normoxia and hypoxia conditions to investigate whether *H. pylori* infection and the tumor microenvironment have a syner-

gistic effect in the initiation and development of gastric cancer.

**METHODS:** Gastric mucosal biopsy specimens collected by endoscopy were cultured under microaerophilic conditions and *H. pylori* isolates were identified. CagA<sup>+</sup> *H. pylori* strains were confirmed by PCR. Gastric cancer cell line SGC7901 was co-cultured with a CagA<sup>+</sup> *H. pylori* strain for 48 h under either normoxia or hypoxia condition (cells were divided into a normoxia control group, a hypoxia control group, a normoxia plus CagA<sup>+</sup> *H. pylori* group, and a hypoxia plus CagA<sup>+</sup> *H. pylori* group). Immunocytochemistry was used to detect the expression of HIF-2 $\alpha$  and ABCG2 proteins, and RT-PCR was used to detect the expression of ABCG2 mRNA.

**RESULTS:** Immunocytochemistry results showed that HIF-2 $\alpha$  and ABCG2 proteins were expressed at low levels under normoxia, while both hypoxia and CagA<sup>+</sup> *H. pylori* could significantly induce the expression of HIF-2 $\alpha$  and ABCG2 proteins compared to the normoxia control group (all  $P < 0.01$ ). Compared to the hypoxia control group and normoxia plus CagA<sup>+</sup> *H. pylori* group, the expression of HIF-2 $\alpha$  and ABCG2 proteins was further elevated in the hypoxia plus CagA<sup>+</sup> *H. pylori* group (all  $P < 0.01$ ). There was a positive correlation between the expression of HIF-2 $\alpha$  and that of ABCG2 ( $r = 0.976$ ,  $P < 0.05$ ). Similar results were obtained for ABCG2 mRNA expression by RT-PCR.

**CONCLUSION:** CagA<sup>+</sup> *H. pylori* can stimulate the expression of HIF-2 $\alpha$  and ABCG2 in gastric cancer cells under normoxia condition, and their expression can be further up-regulated under hypoxia condition. CagA<sup>+</sup> *H. pylori* and hypoxia have a synergistic effect on the expression of HIF-2 $\alpha$  and ABCG2, suggesting that CagA<sup>+</sup> *H. pylori* and hypoxia may play an important role in inducing gastric cancer cell de-differentiation and chemotherapy resistance.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*H. pylori*)是胃癌的I类致癌因子, CagA是*H. pylori*的主要毒力因子之一, CagA<sup>+</sup> *H. pylori*菌株与胃癌的关系更密切。低氧微环境是多种实体肿瘤包括胃癌的特征之一, 其通过诱导HIF-2 $\alpha$ 来维持干细胞的表型, 与肿瘤的干细胞化及化疗抵抗有关。*H. pylori*和低氧是胃癌的两种重要环境因子, 可能对胃癌的发生发展起重要的协同作用。

## ■同行评议者

关玉盘, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

## ■研究前沿

随着肿瘤干细胞学说的提出, *H. pylori*致胃癌的干细胞机制研究成为热点。低氧是多种实体肿瘤的特征之一, 但*H. pylori*在胃癌发生发展中的干细胞机制及其与肿瘤微环境低氧是否具有协同作用尚不清楚。

**Key Words:** Gastric cancer cells; *Helicobacter pylori*; Cytotoxin-associated protein A; Hypoxia; ABCG2; Hypoxia inducible factor-2alpha

Zhang JH, Feng YG, Gao GP, Tao YY, Zhang XQ, Zhang HM, Jiao JX. Effects of CagA<sup>+</sup> *Helicobacter pylori* infection on expression of HIF-2α and ABCG2 in human gastric cancer cell line SGC7901 under normoxia and hypoxia conditions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 293-299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/293.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.293>

## 摘要

**目的:** 观察常氧与低氧下CagA<sup>+</sup>幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对人胃癌SGC7901细胞系低氧诱导因子-2α(hypoxia inducible factor-2alpha, HIF-2α)、ABCG2表达的影响, 初步探讨*H. pylori*在胃癌发生发展中的干细胞机制, 及其与肿瘤微环境低氧的协同作用。

**方法:** 内镜下采集胃黏膜标本, 行*H. pylori*培养并鉴定, PCR方法检测*H. pylori* CagA<sup>+</sup>基因。CagA<sup>+</sup> *H. pylori*与胃癌SGC7901细胞于常氧和低氧环境下共培养48 h(分常氧对照组、低氧对照组、常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组、低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组)。免疫细胞化学法检测HIF-2α和ABCG2蛋白的表达, RT-PCR法检测ABCG2 mRNA的表达。

**结果:** 免疫细胞化学结果显示: 常氧下胃癌SGC7901细胞HIF-2α、ABCG2蛋白呈低水平表达, 低氧和CagA<sup>+</sup> *H. pylori*均能显著诱导HIF-2α、ABCG2蛋白表达(与常氧对照组相比, 均 $P<0.01$ ), 与低氧对照组和常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组相比, 低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组表达进一步升高(均 $P<0.01$ )。相关分析显示HIF-2α与ABCG2表达呈正相关( $r = 0.976$ ,  $P<0.05$ )。RT-PCR检测ABCG2 mRNA表达结果与免疫细胞化学一致。

**结论:** CagA<sup>+</sup> *H. pylori*可刺激胃癌细胞HIF-2α、ABCG2表达, 低氧环境下其表达进一步增加, 表明CagA<sup>+</sup> *H. pylori*和低氧对HIF-2α、ABCG2的表达有协同作用。提示CagA<sup>+</sup> *H. pylori*和低氧可能是诱导胃癌细胞干细胞化及化疗抵抗的重要原因。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 胃癌细胞; 幽门螺杆菌; 细胞毒素相关蛋白A; 低氧; ABCG2; 低氧诱导因子-2α

张金花, 冯玉光, 高桂鹏, 陶元勇, 张小茜, 张红梅, 焦建新. 常

氧与低氧下CagA<sup>+</sup>幽门螺杆菌对人胃癌SGC7901细胞系HIF-2α、ABCG2表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 293-299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/293.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.293>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是定植于胃黏膜的一种革兰氏阴性微需氧菌, 目前已确认为胃癌的I类致癌因子, 其长期定植于胃黏膜上皮, 并可进入细胞内生存, 引起胃黏膜的慢性炎症及胃黏膜上皮细胞的基因及表遗传学改变, 经过萎缩、肠化、不典型增生等阶段, 最终导致胃癌的发生, 是人类慢性炎症导致肿瘤的代表模型之一<sup>[1-4]</sup>。细胞毒素相关蛋白A(cytotoxin-associated protein A, CagA)是*H. pylori*最主要毒力因子之一, CagA<sup>+</sup> *H. pylori*菌株与胃癌的关系更密切<sup>[2-5]</sup>。*H. pylori*致胃癌的分子机制取得了很大进展, 但确切机制仍需深入探索。近年来, 随着肿瘤起源于肿瘤干细胞学说的提出, *H. pylori*致胃癌的干细胞机制研究成为热点<sup>[6-9]</sup>。近年来, 肿瘤干细胞学说认为肿瘤起源于正常成体干细胞或成熟体细胞的干细胞化, 是肿瘤发生、发展、侵袭、转移、耐药及复发的根源<sup>[6]</sup>。许多证据已显示肿瘤基因突变、环境因素及表遗传学改变可导致非干细胞的干细胞化<sup>[6]</sup>。多项研究表明<sup>[10-13]</sup>, 在胃癌的发生发展过程中, *H. pylori*可引起多条干细胞通路异常。低氧微环境是多种实体肿瘤包括胃癌的特征之一, 是肿瘤发生发展、浸润转移、放化疗抵抗及复发的重要原因<sup>[14]</sup>。肿瘤低氧与肿瘤干细胞的关系也是近年热点<sup>[15-19]</sup>。研究表明, 低氧通过诱导低氧诱导因子-2α(hypoxia inducible factor-2alpha, HIF-2α)调控相关干细胞信号通路来维持干细胞的表型, 与肿瘤的干细胞化及化疗抵抗有关<sup>[20,21]</sup>。作者推测, *H. pylori*和低氧作为胃癌的两种重要的环境因子, 可能对胃癌的发生发展起重要协同作用。ABCG2是新近发现的ABC半转运体超家族中的成员之一, 具有外排泵的作用, 是肿瘤干细胞的通用分子标志物, 其过表达是肿瘤复发、转移及产生耐药的重要原因<sup>[22-25]</sup>。有研究表明<sup>[24,25]</sup>, ABCG2是HIF-2α的靶基因之一, 可能是低氧下肿瘤干细胞化及化疗抵抗的重要原因。本实验通过常氧与低氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori*与胃癌细胞共培养, 观察常氧与低氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori*对人胃癌SGC7901细胞系HIF-2α、ABCG2表达的影响, 初步探讨*H. pylori*在胃癌发生发展中的

干细胞机制, 及其与肿瘤微环境低氧的协同作用。

## 1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌SGC7901细胞系购自山东省医学科学院; CagA<sup>+</sup>*H. pylori*菌株为本院一例慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜标本培养所得; RPMI 1640培养基购自杭州四季青公司; 哥伦比亚琼脂购自英国Oxoid公司; 微需氧产气袋、厌氧培养罐购自日本三菱公司; 兔抗人ABCG2、HIF-2 $\alpha$ 多克隆抗体、SP-9000免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 细菌基因组DNA提取试剂盒购自北京艾德莱生物科技有限公司; PCR扩增试剂盒、M-MuLV第一链cDNA合成试剂盒购自上海生物技术有限公司等。

### 1.2 方法

1.2.1 细菌培养及鉴定: 内镜下收集快速尿素酶试验阳性患者的胃黏膜组织, 研磨后接种于哥伦比亚血琼脂平板上, 置于厌氧培养罐微需氧条件(80 mL/L CO<sub>2</sub>, 70 mL/L O<sub>2</sub>, 850 mL/L N<sub>2</sub>)、37 °C环境中培养3-5 d, 观察细菌菌落形态、进行革兰染色、并经尿素酶、过氧化氢酶、氧化酶等进行鉴定, PCR检测CagA基因。

1.2.2 细胞培养: 胃癌SGC7901细胞接种于RPMI 1640培养基(含10%小牛血清、青链霉素各100 U/mL), 置于37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>孵箱中常规培养及传代。

1.2.3 RT-PCR检测CagA<sup>+</sup>*H. pylori*对常氧与低氧下胃癌SGC7901细胞ABCG2 mRNA表达的影响: 胃癌SGC7901细胞置37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱内常规培养, 取对数生长期的细胞接种于6孔板中, 待细胞贴壁后换液, 按细菌和细胞100:1的比例将CagA<sup>+</sup>*H. pylori*加入到不含抗生素的培养基中。设常氧对照组、常氧CagA<sup>+</sup>*H. pylori*组、低氧对照组、低氧CagA<sup>+</sup>*H. pylori*组。分别于常氧下或厌氧培养罐(80 mL/L CO<sub>2</sub>, 70 mL/L O<sub>2</sub>, 850 mL/L N<sub>2</sub>)培养48 h收集细胞, TRIzol提取总RNA, 用M-MuLV逆转录酶试剂盒首先将mRNA逆转录成cDNA。取反转录产物2  $\mu$ L进行PCR扩增。引物设计: 扩增ABCG2及 $\beta$ -actin mRNA部分片段的引物, 产物片段分别为311 bp与539 bp, 引物序列如下: ABCG2: 上游5'-GCGACCTGCCAATTTCAA AT-3', 下游5'-AGCCCAGTTGTAGGCTCATCCA-3';  $\beta$ -actin: 上游5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3', 下游5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'。反应

条件: 预变性94 °C 5 min; 变性94 °C 30 s, 退火 $\beta$ -actin 56.5 °C、ABCG2 62 °C 30 s, 延伸72 °C 30 s, 扩增35个循环; 72 °C总延伸10 min; 4 °C保存。1.5%琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。应用Image J图像分析软件计算条带灰度值, 目的条带灰度值分别与相应 $\beta$ -actin灰度值相比, 即为其表达量。

1.2.4 免疫细胞化学SP法检测CagA<sup>+</sup>*H. pylori*对常氧与低氧下胃癌SGC7901细胞HIF-2 $\alpha$ 及ABCG2蛋白表达的影响: 取对数生长期的SGC7901制成2 $\times$ 10<sup>8</sup>/L的细胞悬液, 加入放有盖玻片的6孔板内, 待细胞贴壁后换液, 按细菌和细胞100:1的比例将CagA<sup>+</sup>*H. pylori*加入到不含抗生素的培养基中。设常氧对照组、常氧CagA<sup>+</sup>*H. pylori*组、低氧对照组、低氧CagA<sup>+</sup>*H. pylori*组。分别于常氧下或厌氧培养罐(80 mL/L CO<sub>2</sub>, 70 mL/L O<sub>2</sub>, 850 mL/L N<sub>2</sub>)培养48 h后取出细胞爬片, PBS冲洗, 冷丙酮固定15 min。按SP-9000试剂盒步骤检测HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2。用已知阳性的乳腺癌切片作阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照。结果判定: HIF-2 $\alpha$ 的阳性结果为棕黄色颗粒, 主要位于细胞质, 细胞核中也有少量表达。ABCG2的阳性结果为细胞质内有棕黄色颗粒出现。采用Image pro plus图像分析软件, 检测HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2阳性细胞的平均吸光度(A)值, 以间接反映HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2蛋白的表达量, 并取其均值。

**统计学处理** 定量资料的统计学描述采用mean $\pm$ SD表示, 用统计学软件SPSS18.0进行数据处理。组间比较用 $t$ 检验, 两变量相关性用Pearson线性相关分析,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 细菌鉴定及CagA基因检测 胃黏膜标本经培养、鉴定及CagA基因检测证实为CagA<sup>+</sup>*H. pylori*菌株。

2.2 RT-PCR检测ABCG2 mRNA的表达变化 常氧下胃癌SGC7901细胞ABCG2 mRNA呈低水平表达, 与单纯常氧对照组相比, 单纯低氧或CagA<sup>+</sup>*H. pylori*均能促进其表达, 差异具有统计学意义( $t = 8.1914, 12.318$ , 均 $P<0.01$ ); 与低氧对照组和常氧CagA<sup>+</sup>*H. pylori*组相比, 低氧CagA<sup>+</sup>*H. pylori*组表达进一步升高( $t = 8.889, 10.518$ , 均 $P<0.01$ , 表1, 图1)。

2.3 免疫细胞化学SP法检测HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2蛋白的表达变化 常氧下胃癌SGC7901细胞HIF-

### ■ 相关报道

ABCG2是HIF-2 $\alpha$ 的直接靶基因之一。低氧条件下通过诱导HIF-2 $\alpha$ -ABCG2通路维持肿瘤的干细胞化及化疗抵抗。近年来,*H. pylori*致胃癌的干细胞机制也成为研究的热点。有研究表明,*H. pylori*在胃癌发生发展过程中可引起多条干细胞通路异常。



## ■ 创新盘点

本研究通过探讨常氧与低氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori*对人胃癌SGC7901细胞系HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达的影响,证明CagA<sup>+</sup> *H. pylori*可诱导胃癌细胞HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达,并且CagA<sup>+</sup> *H. pylori*和低氧对HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2的表达有协同作用,提示CagA<sup>+</sup> *H. pylori*和低氧可能是诱导胃癌细胞干细胞化及化疗抵抗的重要原因。

表 1 不同处理组中ABCG2 mRNA及HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2蛋白的表达

分组	ABCG2 mRNA	HIF-2 $\alpha$ 蛋白	ABCG2蛋白
常氧对照组	0.1815 $\pm$ 0.032	0.1572 $\pm$ 0.002	0.2071 $\pm$ 0.005
常氧CagA <sup>+</sup> <i>H. pylori</i> 组	0.4052 $\pm$ 0.025 <sup>d</sup>	0.4369 $\pm$ 0.007 <sup>d</sup>	0.3910 $\pm$ 0.003 <sup>d</sup>
低氧对照组	0.4083 $\pm$ 0.053 <sup>d</sup>	0.4478 $\pm$ 0.008 <sup>d</sup>	0.4075 $\pm$ 0.027 <sup>d</sup>
低氧CagA <sup>+</sup> <i>H. pylori</i> 组	0.7637 $\pm$ 0.072 <sup>bd</sup>	0.6911 $\pm$ 0.015 <sup>bd</sup>	0.7121 $\pm$ 0.040 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组、低氧对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 常氧对照组。

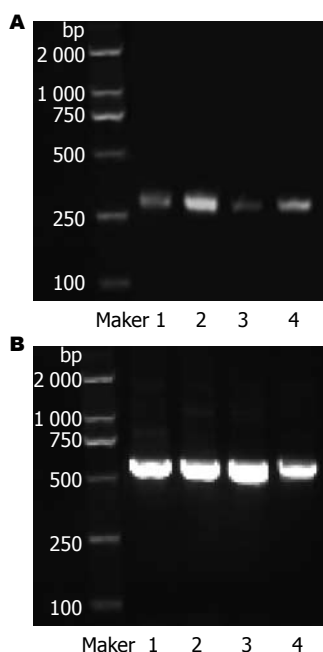


图 1 RT-PCR法检测胃癌SGC7901细胞ABCG2、 $\beta$ -actin mRNA的表达. A: ABCG2; B:  $\beta$ -actin. 1: 低氧对照组; 2: 低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组; 3: 常氧对照组; 4: 常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组。

*H. pylori*最主要毒力因子之一,其通过cag PAI编码的IV型分泌系统(T4SS)进入宿主细胞,被Src蛋白家族酪氨酸激酶酪氨酸磷酸化后与酪氨酸磷酸酶SHP-2结合后,刺激细胞分裂和增殖<sup>[2-4]</sup>,CagA还可诱导胃癌细胞中钙调蛋白基因启动子区去甲基化修饰,从而上调其表达,与胃癌的发生密切相关<sup>[5]</sup>。*H. pylori*与胃癌干细胞关系的研究表明<sup>[6-9,10-13]</sup>,慢性*H. pylori*感染激活多条干细胞相关通路Wnt/ $\beta$ -catenin、Notch、FGF、Hedgehog和BMP表达增加。

肿瘤微环境低氧是多种实体瘤包括胃癌的特征之一,低氧诱导因子家族(hypoxia inducible factors, HIFs)是低氧效应的关键分子。HIFs是一组由结构同源的 $\alpha$ 亚基和共同的 $\beta$ 亚基组成的异源二聚体转录因子,包括HIF-1、HIF-2和HIF-3。其中 $\alpha$ 亚单位在蛋白水平受氧分压的密切调节,低氧下稳定而常氧下迅速被泛素蛋白酶系统降解<sup>[14]</sup>。已有研究证实,低氧是正常干细胞壁龛(niche)的重要特征之一,低氧通过诱导干细胞产生HIFs调控Notch、OCT-4、c-Myc、Nanog和Wnt/ $\beta$ -catenin等多条干细胞信号通路的表达,维持干细胞未分化特征<sup>[15]</sup>。近年研究发现<sup>[16-19]</sup>,低氧不但可以维持肿瘤干细胞的未分化状态,还可以诱导非肿瘤干细胞的去分化,可能是低氧下肿瘤放化疗抵抗和复发的根源。既往对HIF-1 $\alpha$ 与肿瘤的关系研究较多,最近研究发现<sup>[20,21]</sup>,HIF-2 $\alpha$ 与肿瘤干细胞关系更密切。Pietras等<sup>[20]</sup>研究发现,HIF-2 $\alpha$ 能使神经嵴样神经母细胞瘤起始细胞维持在未分化状态。Seidel等<sup>[21]</sup>发现,HIF-2 $\alpha$ 能调节胶质母细胞瘤干细胞表型。ABCG2是ABC转运蛋白超家族成员之一,可外排多种化疗药物,其高表达是肿瘤多药耐药的重要原因之一。研究发现<sup>[22,23]</sup>,多种干细胞均高表达ABCG2,其功能可能与保护干细胞免遭外源及内源毒素的侵害以维持干细胞的稳定性有关。有研究发现<sup>[24,25]</sup>,ABCG2是HIF-2 $\alpha$ 的直接靶基因,可能是低氧诱导肿瘤细胞去分化的原因

2 $\alpha$ 、ABCG2蛋白呈低水平表达,与单纯常氧对照组相比,低氧可显著促进HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达(HIF-2 $\alpha$ :  $t = 78.800$ ; ABCG2:  $t = 16.319$ ; 均 $P < 0.01$ ),CagA<sup>+</sup> *H. pylori*也能显著促进HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达(HIF-2 $\alpha$ :  $t = 85.909$ ; ABCG2:  $t = 70.522$ ; 均 $P < 0.01$ );与低氧对照组和常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组相比,低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组表达进一步升高,具有统计学差异(HIF-2 $\alpha$ :  $t = 32.002$ 、34.339; ABCG2:  $t = 14.113$ 、17.900; 均 $P < 0.01$ )。HIF-2 $\alpha$ 与ABCG2表达呈正相关( $r = 0.976$ ,  $P < 0.05$ ,表1,图2,3)。

## 3 讨论

胃癌是消化系常见的恶性肿瘤之一,*H. pylori*长期感染引起胃黏膜慢性炎症,是胃癌的重要病因之一<sup>[1-4]</sup>。*H. pylori*感染胃上皮细胞后,激活核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、AP-1、PI3K、STAT 3、Wnt/ $\beta$ -catenin和COX-2等肿瘤相关信号通路,*H. pylori*还诱导DNA甲基化和组蛋白乙酰化等表遗传学改变<sup>[2-4]</sup>。CagA蛋白是

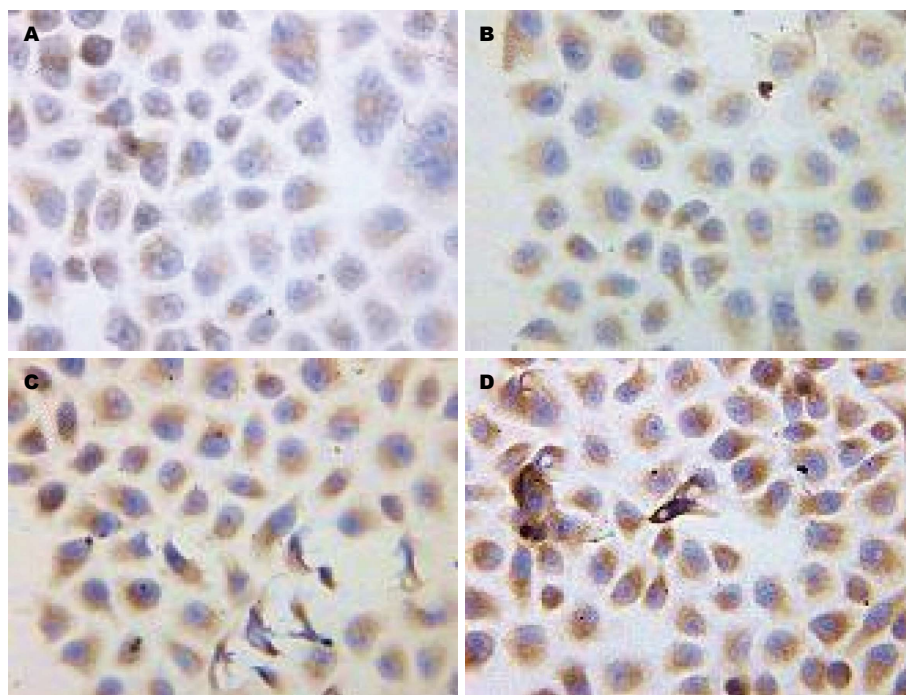


图 2 免疫细胞化学法检测SGC7901细胞HIF-2 $\alpha$ 蛋白的表达( $\times 400$ )。A: 常氧对照组; B: 常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组; C: 低氧对照组; D: 低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组。

#### ■应用要点

本研究结果说明 *H. pylori* 和低氧可能是导致胃癌细胞干细胞化的重要原因, 提示根除 *H. pylori* 在防止胃癌的发生发展、侵袭转移、耐药及复发中具有重要作用, 值得进一步深入研究。

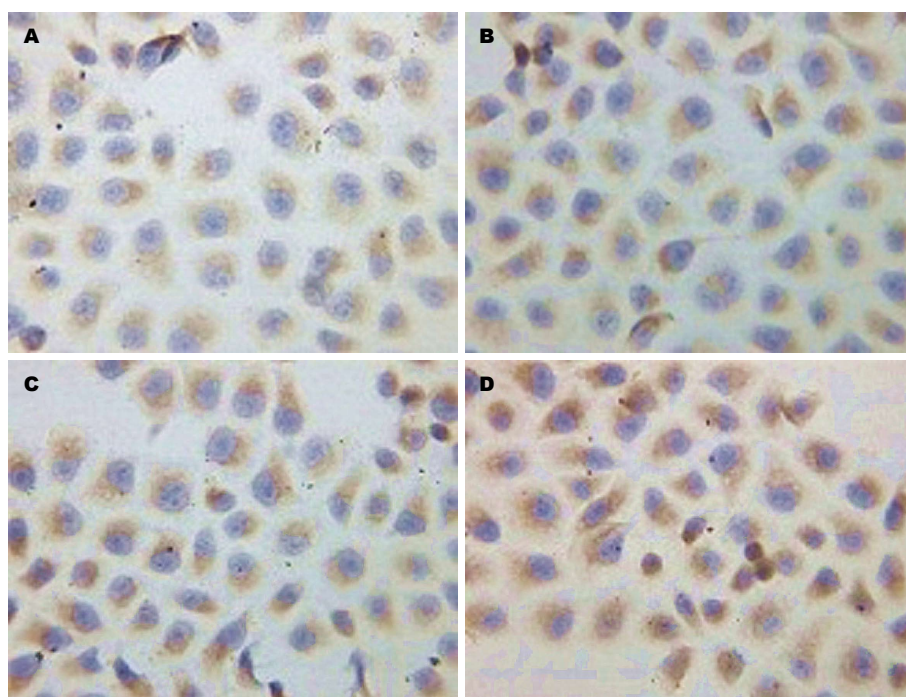


图 3 免疫细胞化学法检测SGC7901细胞ABCG2蛋白的表达( $\times 400$ )。A: 常氧对照组; B: 常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组; C: 低氧对照组; D: 低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori*组。

之一。

本实验通过常氧与低氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 与胃癌细胞共培养, 观察常氧与低氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 对人胃癌SGC7901细胞系HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达的影响。免疫细胞化学结果显示: 常氧下胃癌SGC7901细胞HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2蛋白呈低水平表达, 低氧和CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 均能显著诱导HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2蛋白表达, 与低氧对照组和常氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 组相比, 低氧CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 组表达进一步升高。相关分析显示HIF-2 $\alpha$ 与

ABCG2表达呈正相关。RT-PCR检测各组ABCG2 mRNA表达结果显示与免疫细胞化学结果一致。说明CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 与低氧均可刺激胃癌细胞HIF-2 $\alpha$ 、ABCG2表达, 且二者有协同作用, 提示CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 和低氧可能通过激活HIF-2 $\alpha$ -ABCG2通路诱导胃癌细胞干细胞化及化疗抵抗。先前研究发现<sup>[26]</sup>, *H. pylori* 感染胃黏膜上皮可诱导氧自由基产生, 与胃癌的发生和发展有关。Park等<sup>[27]</sup>进一步研究发现常氧下*H. pylori* 感染胃癌细胞后HIF-1 $\alpha$ 表达增加, 与氧自由基活



## ■同行评价

本文设计合理, 方法得当, 结果可信, 分析条理清晰, 结论具有基础研究和临床研究价值。

性增加平行, 而氧自由基抑制剂则可在抑制氧自由基活性的同时抑制HIF-1 $\alpha$ 的表达。本研究首次发现体外常氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori*可促进胃癌细胞HIF-2 $\alpha$ 蛋白表达, 可能与氧自由基的作用有关, 有待进一步研究证实。该结果与Griffiths等<sup>[28]</sup>的体内研究一致, 其在*H. pylori*致胃癌发生的动物模型中发现HIF-2 $\alpha$ 在*H. pylori*相关性胃炎、肠化、不典型增生、肠型、弥漫型胃癌中均表达增高。几项研究发现<sup>[29-31]</sup>, 在*H. pylori*诱导胃癌过程中, 胃癌干细胞候选标志物Msi-1、CD44、Cytokeratin-7表达增加。本研究首次发现常氧下CagA<sup>+</sup> *H. pylori*与胃癌细胞共培养后干细胞通用标志物ABCG2表达增加, 推测可能是通过HIF-2 $\alpha$ -ABCG2通路促进其表达。本研究结果提示: *H. pylori*通过HIF-2 $\alpha$ -ABCG2途径促进胃癌干细胞化和多药耐药, 并与肿瘤低氧有协同作用, 是*H. pylori*促进胃癌发生发展的机制之一, 值得深入研究。

## 4 参考文献

- Houghton J, Wang TC. Helicobacter pylori and gastric cancer: a new paradigm for inflammation-associated epithelial cancers. *Gastroenterology* 2005; 128: 1567-1578 [PMID: 15887152 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.03.037]
- Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, Sawa H, Miura M, Matsui A, Higashi H, Musashi M, Iwabuchi K, Suzuki M, Yamada G, Azuma T, Hatakeyama M. Transgenic expression of Helicobacter pylori CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 1003-1008 [PMID: 18192401 DOI: 10.1073/pnas.0711183105]
- Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 2007; 133: 659-672 [PMID: 17681184 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.026]
- Ding SZ, Goldberg JB, Hatakeyama M. Helicobacter pylori infection, oncogenic pathways and epigenetic mechanisms in gastric carcinogenesis. *Future Oncol* 2010; 6: 851-862 [PMID: 20465395 DOI: 10.2217/fon.10.37]
- 周建奖, 王妍, 谢渊, 赵艳, 谷颖. 幽门螺杆菌对胃癌细胞中钙调蛋白基因启动子区去甲基化的诱导作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1838-1842
- Wu XZ. Origin of cancer stem cells: the role of self-renewal and differentiation. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 407-414 [PMID: 18043974 DOI: 10.1245/s10434-007-9695-y]
- Pilpilidis I, Kountouras J, Zavos C, Katsinelos P. Upper gastrointestinal carcinogenesis: H. pylori and stem cell cross-talk. *J Surg Res* 2011; 166: 255-264 [PMID: 20452613 DOI: 10.1016/j.jss.2010.02.012]
- Saikawa Y, Fukuda K, Takahashi T, Nakamura R, Takeuchi H, Kitagawa Y. Gastric carcinogenesis and the cancer stem cell hypothesis. *Gastric Cancer* 2010; 13: 11-24 [PMID: 20373071 DOI: 10.1007/s10120-009-0537-4]
- Sell S. Infection, stem cells and cancer signals. *Curr Pharm Biotechnol* 2011; 12: 182-188 [PMID: 21044009 DOI: 10.2174/138920111794295675]
- Katoh M. Dysregulation of stem cell signaling network due to germline mutation, SNP, Helicobacter pylori infection, epigenetic change and genetic alteration in gastric cancer. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 832-839 [PMID: 17568183 DOI: 10.4161/cbt.6.6.4196]
- Martin J, Donnelly JM, Houghton J, Zavros Y. The role of sonic hedgehog reemergence during gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1516-1524 [PMID: 20437100 DOI: 10.1007/s10620-010-1252-z]
- Gnad T, Feoktistova M, Leverkus M, Lendeckel U, Naumann M. Helicobacter pylori-induced activation of beta-catenin involves low density lipoprotein receptor-related protein 6 and Dishevelled. *Mol Cancer* 2010; 9: 31 [PMID: 20137080 DOI: 10.1186/1476-4598-9-31]
- Hung KH, Wu JJ, Yang HB, Su LJ, Sheu BS. Host Wnt/beta-catenin pathway triggered by Helicobacter pylori correlates with regression of gastric intestinal metaplasia after H. pylori eradication. *J Med Microbiol* 2009; 58: 567-576 [PMID: 19369517 DOI: 10.1099/jmm.0.007310-0]
- Bertout JA, Patel SA, Simon MC. The impact of O2 availability on human cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 967-975 [PMID: 18987634 DOI: 10.1038/nrc2540]
- Zhang J, Li L. Stem cell niche: microenvironment and beyond. *J Biol Chem* 2008; 283: 9499-9503 [PMID: 18272517 DOI: 10.1074/jbc.R700043200]
- Heddleston JM, Li Z, Lathia JD, Bao S, Hjelmeland AB, Rich JN. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br J Cancer* 2010; 102: 789-795 [PMID: 20104230 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605551]
- Axelsson H, Fredlund E, Ovenberger M, Landberg G, Pahlman S. Hypoxia-induced dedifferentiation of tumor cells—a mechanism behind heterogeneity and aggressiveness of solid tumors. *Semin Cell Dev Biol* 2005; 16: 554-563 [PMID: 16144692 DOI: 10.1016/j.semcdb.2005.03.007]
- Das B, Tsuchida R, Malkin D, Koren G, Baruchel S, Yeger H. Hypoxia enhances tumor stemness by increasing the invasive and tumorigenic side population fraction. *Stem Cells* 2008; 26: 1818-1830 [PMID: 18467664 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0724]
- Heddleston JM, Li Z, McLendon RE, Hjelmeland AB, Rich JN. The hypoxic microenvironment maintains glioblastoma stem cells and promotes reprogramming towards a cancer stem cell phenotype. *Cell Cycle* 2009; 8: 3274-3284 [PMID: 19770585 DOI: 10.4161/cc.8.20.9701]
- Pietras A, Hansford LM, Johnsson AS, Bridges E, Sjölund J, Gisselsson D, Rehn M, Beckman S, Noguera R, Navarro S, Cammenga J, Fredlund E, Kaplan DR, Pahlman S. HIF-2 $\alpha$  maintains an undifferentiated state in neural crest-like human neuroblastoma tumor-initiating cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 16805-16810 [PMID: 19805377 DOI: 10.1073/pnas.0904606106]
- Seidel S, Garvalov BK, Wirta V, von Stechow L, Schänzer A, Meletis K, Wolter M, Sommerlad D, Henze AT, Nistér M, Reifemberger G, Lundeberg J, Frisén J, Acker T. A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2  $\alpha$ . *Brain* 2010; 133: 983-995 [PMID: 20375133 DOI: 10.1093/brain/awq042]
- Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, Lagutina I, Grosveld GC, Osa-



- wa M, Nakauchi H, Sorrentino BP. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med* 2001; 7: 1028-1034 [PMID: 11533706 DOI: 10.1038/nm0901-1028]
- 23 Scharenberg CW, Harkey MA, Torok-Storb B. The ABCG2 transporter is an efficient Hoechst 33342 efflux pump and is preferentially expressed by immature human hematopoietic progenitors. *Blood* 2002; 99: 507-512 [PMID: 11781231 DOI: 10.1182/blood.V99.2.507]
- 24 Martin CM, Ferdous A, Gallardo T, Humphries C, Sadek H, Caprioli A, Garcia JA, Szweda LI, Garry MG, Garry DJ. Hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  transactivates Abcg2 and promotes cytoprotection in cardiac side population cells. *Circ Res* 2008; 102: 1075-1081 [PMID: 18356544 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.161729]
- 25 Krishnamurthy P, Ross DD, Nakanishi T, Bailey-Dell K, Zhou S, Mercer KE, Sarkadi B, Sorrentino BP, Schuetz JD. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme. *J Biol Chem* 2004; 279: 24218-24225 [PMID: 15044468 DOI: 10.1074/jbc.M313599200]
- 26 Bagchi D, Bhattacharya G, Stohs SJ. Production of reactive oxygen species by gastric cells in association with *Helicobacter pylori*. *Free Radic Res* 1996; 24: 439-450 [PMID: 8804987 DOI: 10.3109/10715769609088043]
- 27 Park JH, Kim TY, Jong HS, Kim TY, Chun YS, Park JW, Lee CT, Jung HC, Kim NK, Bang YJ. Gastric epithelial reactive oxygen species prevent normoxic degradation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in gastric cancer cells. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 433-440 [PMID: 12538497]
- 28 Griffiths EA, Pritchard SA, McGrath SM, Valentine HR, Price PM, Welch IM, West CM. Hypoxia-associated markers in gastric carcinogenesis and HIF-2 $\alpha$  in gastric and gastro-oesophageal cancer prognosis. *Br J Cancer* 2008; 98: 965-973 [PMID: 18283323 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604210]
- 29 Murata H, Tsuji S, Tsujii M, Nakamura T, Fu HY, Eguchi H, Asahi K, Okano H, Kawano S, Hayashi N. *Helicobacter pylori* infection induces candidate stem cell marker Musashi-1 in the human gastric epithelium. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 363-369 [PMID: 17549630 DOI: 10.1007/s10620-007-9858-5]
- 30 Jang BI, Li Y, Graham DY, Cen P. The Role of CD44 in the Pathogenesis, Diagnosis, and Therapy of Gastric Cancer. *Gut Liver* 2011; 5: 397-405 [PMID: 22195236 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.4.397]
- 31 Kirchner T, Müller S, Hattori T, Mukaisyo K, Papadopoulos T, Brabletz T, Jung A. Metaplasia, intraepithelial neoplasia and early cancer of the stomach are related to dedifferentiated epithelial cells defined by cytokeratin-7 expression in gastritis. *Virchows Arch* 2001; 439: 512-522 [PMID: 11710638 DOI: 10.1007/s004280100477]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 硫化氢对肝纤维化大鼠肝脏 I、III 型胶原表达的影响

赵强, 陈卫刚, 赵瑾, 李睿, 宋丽秀, 任嫱, 杨新疆, 郑勇

## ■背景资料

硫化氢( $H_2S$ )是新型的气体信号传导分子,具有多种生物学功能,如抗氧化、抗炎、细胞保护、调节细胞增殖与凋亡等作用。本课题组的前期研究证实其在肝纤维化的发展及门脉高压的调节过程中具有重要的意义。

赵强,任嫱,杨新疆,石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

陈卫刚,李睿,宋丽秀,郑勇,石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

赵瑾,石河子大学医学院第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

赵强,在读硕士,主要从事肝纤维化与门脉高压症的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170402

作者贡献分布: 本课题由赵强、郑勇、陈卫刚、李睿及宋丽秀设计; 研究过程由赵强、赵瑾、任嫱及杨新疆完成; 研究所用试剂由郑勇与陈卫刚提供; 数据分析由赵强完成; 本论文写作由赵强、郑勇及陈卫刚完成。

通讯作者: 郑勇, 教授, 主任医师, 832008, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。zy2850@126.com

收稿日期: 2012-11-14 修回日期: 2012-12-31

接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-02-08

## Hydrogen sulfide decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis

Qiang Zhao, Wei-Gang Chen, Jin Zhao, Rui Li, Li-Xiu Song, Qiang Ren, Xin-Jiang Yang, Yong Zheng

Qiang Zhao, Qiang Ren, Xin-Jiang Yang, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Wei-Gang Chen, Rui Li, Li-Xiu Song, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jin Zhao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170402

Correspondence to: Yong Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medicine of College of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zy2850@126.com

Received: 2012-11-14 Revised: 2012-12-31

Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of hydrogen sulfide on collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis.

**METHODS:** Thirty-two female SD rats were randomly divided into three groups: normal

control group, hepatic fibrosis group, and hydrogen sulfide group. Rats in the hepatic fibrosis group and hydrogen sulfide group were subcutaneously injected with carbon tetrachloride to induce hepatic fibrosis. Rats in the hydrogen sulfide group were intraperitoneally injected with sodium hydrosulfide ( $56 \mu\text{mol/kg}\cdot\text{d}$ ; the donor of hydrogen sulfide). Fibrosis was staged using histopathological methods. The expression of collagen I and collagen III was detected by immunohistochemistry and RT-PCR.

**RESULTS:** Compared to the normal control group, the stage of fibrosis was elevated ( $P < 0.01$ ) and the expression of collagen I and collagen III was increased (both  $P < 0.01$ ) in the hepatic fibrosis group. Compared to the hepatic fibrosis group, the stage of fibrosis declined ( $P < 0.05$ ) and the expression of collagen I and collagen III was decreased (both  $P < 0.01$ ) in the hydrogen sulfide group.

**CONCLUSION:** Hydrogen sulfide can decrease the expression of collagen I and collagen III and inhibit the progression of hepatic fibrosis in rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hydrogen sulfide; Hepatic fibrosis; Rats; Collagen I; Collagen III

Zhao Q, Chen WG, Zhao J, Li R, Song LX, Ren Q, Yang XJ, Zheng Y. Hydrogen sulfide decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 300-306 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/300.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.300>

## 摘要

**目的:** 探讨硫化氢(hydrogen sulfide,  $H_2S$ )对肝纤维化大鼠肝脏 I 型胶原(COL-I)和 III 型胶原(COL-III)的影响。

**方法:** 选择硫化氢钠(sodium hydrosulfide, NaHS)作为 $H_2S$ 的供体, 将32只♀SD大鼠分为3组: 正常组(N组)8只、肝纤维化组(hepatic

## ■同行评议者

杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

fibrosis, HF组)13只、NaHS干预组(S组)11只,采用四氯化碳复合因素法复制肝纤维化模型,S组自造模第6周始给予NaHS 56  $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 腹腔注射12 d, N组和HF组给予同等剂量的生理盐水腹腔注射. 干预结束后, 宰杀大鼠留取肝脏行肝组织病理切片HE染色评价肝纤维化分期, 行Masson染色观察胶原纤维沉积情况, 应用RT-PCR法检测肝脏中COL-I、COL-III mRNA表达, 采用SP免疫组织化学法检测肝脏COL-I、COL-III表达.

**结果:** HF组与N组相比, COL-I、COL-III及其mRNA表达升高(均 $P = 0.000$ ), 与肝纤维化分期结果一致( $P = 0.000$ ); S组与HF组相比, COL-I和COL-III表达降低(均 $P = 0.000$ ); COL-I mRNA表达降低( $P = 0.009$ ), 同时COL-III mRNA表达亦降低( $P = 0.003$ ), 肝纤维化分期下降( $P = 0.047$ ).

**结论:**  $\text{H}_2\text{S}$ 具有降低肝脏 I、III 型胶原表达的作用, 能够延缓肝纤维化的发生发展.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 硫化氢; 肝纤维化; I 型胶原; III 型胶原

赵强, 陈卫刚, 赵瑾, 李睿, 宋丽秀, 任嫄, 杨新疆, 郑勇. 硫化氢对肝纤维化大鼠肝脏 I、III 型胶原表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 300-306 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/300.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.300>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是肝脏对各种慢性刺激进行损伤修复反应时, 以胶原为主的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝内大量沉积的病理过程. 因其发生机制尚未完全明确, 故已成为目前国内外学者研究的热点.

硫化氢(hydrogen sulfide,  $\text{H}_2\text{S}$ )是新近发现的存在于体内的气体信号分子, 具有广泛的生物学效应. 近年来, 国内外学者研究发现 $\text{H}_2\text{S}$ 能缓解心肌纤维化<sup>[1]</sup>、减轻肺内皮细胞屏障损害<sup>[2]</sup>、拮抗神经退行性变<sup>[3]</sup>、改善肾缺血再灌注损伤<sup>[4]</sup>从而在心血管、呼吸、神经、泌尿等多系统疾病中发挥重要的保护作用. 本课题组前期对肝硬化的研究发现: 肝硬化大鼠门静脉血中 $\text{H}_2\text{S}$ 降低, 并且随着肝硬化程度加重逐渐降低<sup>[5]</sup>; 肝硬化时大鼠门静脉压力明显升高, 而给予 $\text{H}_2\text{S}$ 供体-硫氢化钠(sodium hydrosulfide, NaHS)干预后则明显降低<sup>[6]</sup>, 但 $\text{H}_2\text{S}$ 对肝纤维化进程的影响仍不确切.

因此, 本实验复制肝纤维化模型, 通过NaHS的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的 I、III 型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究 $\text{H}_2\text{S}$ 与肝纤维化的关系提供理论基础.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 32只实验大鼠购自新疆医科大学实验动物中心, 均为同期出生、纯种系、SPF级4-5周龄的健康♀SD大鼠, 体质量约180-220 g. NaHS为美国Sigma公司产品; 兔抗大鼠 I 型胶原蛋白多克隆抗体、兔抗大鼠III型胶原蛋白多克隆抗体为美国Abcam公司产品; 免疫组织化学染色SP试剂盒为北京中杉公司产品; DAB显色剂为DAKO公司产品; RNA提取试剂TRIzol为美国Invitrogen公司产品; 逆转录酶试剂盒为美国Fermentas公司产品; 四氯化碳、无水乙醇、胆固醇粉均为国产分析纯. PCR引物由上海生物工程公司合成, COL-I mRNA引物序列<sup>[7]</sup>: Forward: 5'-GGTCCCAAAGGTGCTGATGG-3', Reverse: 5'-GACCAGCCTCACCACGGTCT-3', 扩增长度为182 bp; COL-III mRNA引物序列<sup>[7]</sup>: Forward: 5'-CGAGGTGACAGAGGTGAAAGA-3', Reverse: 5'-AACCCAGTATTCTCCGCTCTT-3', 扩增长度为336 bp; GAPDH引物序列: Forward: 5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTTG-3', Reverse: 5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTTG-3', 扩增长度为496 bp.

### 1.2 方法

**1.2.1 制备模型及实施干预:** 根据本课题组前期实验经验, 采用四氯化碳复合因素法复制肝纤维化大鼠模型. 将32只大鼠随机分为3组: N组(正常对照组)8只, HF组(肝纤维化组)13只和S组(NaHS干预组)11只. 给予HF组和S组大鼠背部皮下注射40%四氯化碳棉籽油溶液, 首剂5 mL/kg体质量, 后每隔4 d注射一次, 剂量为3 mL/kg体质量, 共注射12次; 以100 mL/L乙醇溶液为唯一饮用液体; 前2 wk喂以20%猪油高脂肪饲料, 以后喂以0.5%高胆固醇饲料; N组同期给予相同剂量的生理盐水背部皮下注射, 喂正常复合饲料, 饮清洁饮用水. 自造模第6周开始, S组大鼠给予腹腔注射NaHS溶液[56  $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ], 共注射12 d, 其余两组腹腔注射相同剂量生理盐水.

**1.2.2 标本留取:** 模型复制及干预剂实施结束后, 乙醚麻醉后处死大鼠, 取大鼠肝左叶以10%中性甲醛溶液固定, 其余肝脏投入液氮速冻后置于

### ■ 研发前沿

$\text{H}_2\text{S}$ 能通过其抗氧化、抗炎、细胞保护、抗纤维化等多种生物学作用减轻和保护四氯化碳诱导的肝毒性、肝硬化以及门脉高压症, 这意味着他可能为预防和治疗慢性肝病提供新方向.



## ■相关报道

H<sub>2</sub>S能够增加肺动脉胶原的降解,减少胶原的含量.肝脏中,H<sub>2</sub>S能抑制肝细胞凋亡,亦可抑制肝星状细胞(HSC)的增殖,提示H<sub>2</sub>S能够减少胶原的合成.

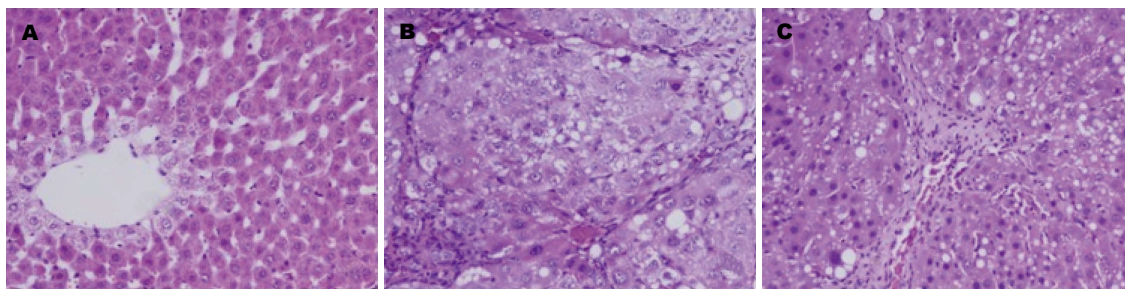


图1 HE染色观察各组大鼠肝纤维化分期( $\times 200$ ). A: N组; B: HF组; C: S组.

-80 °C 备用.

1.2.3 肝组织形态学观察: 石蜡包埋组织制作切片(4  $\mu$ m), 行HE染色观察肝纤维化分期, 分期标准符合《病毒性肝炎防治方案》<sup>[8]</sup>; 行Masson染色观察肝组织胶原沉积情况, 评价标准依照《肝纤维化诊断及疗效评估共识》<sup>[9]</sup>中纤维化半定量评分系统(SSS).

1.2.4 SP免疫组织化学法检测肝组织COL- I、COL-III表达: 石蜡切片常规脱蜡至水; 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>甲醇溶液室温孵育10 min以阻断内源性过氧化物酶; PBS浸洗3遍, 0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)高温修复8 min; 自然冷却至室温后PBS浸洗5 min $\times$ 3次, 滴加适量山羊血清工作液, 37 °C封闭20 min; 甩去多余血清, 滴加COL- I一抗(1:200)或COL-III一抗(1:200), 4 °C过夜. 次日PBS浸洗5 min $\times$ 3次, 滴加生物素化山羊抗兔二抗工作液, 37 °C孵育20 min; PBS浸洗5 min $\times$ 3次, 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 37 °C孵育20 min后PBS浸洗5 min $\times$ 3次. DAB显色, 镜下观察以控制显色时间. 显色满意后, 自来水冲去DAB, 苏木素复染, 0.1%盐酸乙醇分化, 自来水中返蓝, 脱水、透明、中性树脂封片. 选取人正常皮肤组织作为阳性对照; 阴性对照为N组大鼠肝脏, 以滴加PBS代替一抗. COL- I、COL-III结果以细胞外基质着棕黄色为阳性染色. 采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统进行分析, 每张切片随机观察5个高倍视野( $\times 200$ ), 以光密度(A)值代表目的蛋白的表达水平, A值越大则目的蛋白越多, 反之则越少.

1.2.5 RT-PCR法检测肝组织中COL- I mRNA和COL-III mRNA的表达: 使用TRIzol法提取肝脏总RNA, 用紫外分光光度仪行RNA浓度及纯度测定, A<sub>260/280</sub>均在1.9-2.0之间, 说明RNA纯度较高, 并将总RNA调至相同浓度. 使用RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis kit试剂盒将总RNA逆转录为cDNA, 然后进行PCR扩增. COL- I mRNA扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s,

58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min. COL-III mRNA扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min. GAPDH扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min. 反应结束后, PCR产物用2%琼脂糖凝胶进行电泳分析, 采用Quantity one凝胶成像分析系统测定各相应条带的灰度值, 选取GAPDH作为内参照, 以COL- I /GAPDH和COL-III/GAPDH的比值作为目的基因的相对表达水平.

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行分析. 计量资料数据以mean $\pm$ SD表示, 选择单因素方差分析进行均数差异性比较, 多样本两两比较选择Bonferroni法; 肝纤维化分期半定量资料的比较采用多样本比较的秩和检验(Kruskal-Wallis法), 多样本间两两比较时选择Nemenyi法;  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 肝组织形态学观察结果 肝组织HE染色可见(图1): N组肝小叶结构清晰, 小叶内肝细胞无脂肪变性、坏死, 无炎症细胞浸润及纤维组织增生. HF组肝小叶结构紊乱, 纤维组织增生、假小叶形成, 肝细胞变性、坏死明显, 部分细胞可见气球样变, 有大量炎细胞浸润. S组肝组织仍可见假小叶结构, 但部分区假小叶纤维间隔变窄或局灶模糊不清, 肝细胞脂肪变性、坏死较HF组为轻. HF组肝纤维化分期较N组明显升高( $P = 0.000$ ), 给予NaHS干预的S组其肝纤维化分期较HF组降低( $P = 0.047$ ), 差异均具有统计学意义(表1).

肝组织Masson染色可见(图2): N组肝小叶结构完整, 仅中央静脉和汇管区有少量胶原纤维; HF组肝小叶结构破坏, 胶原纤维增多增粗, 呈弥漫分布; S组仍可见部分假小叶结构, 但胶原纤维沉积减少, 纤维间隔纤细菲薄. HF组SSS评分较N组明显升高( $P = 0.000$ ), S组其SSS评分较HF组降低( $P = 0.006$ ), 差异均具有统计学意义(表2).

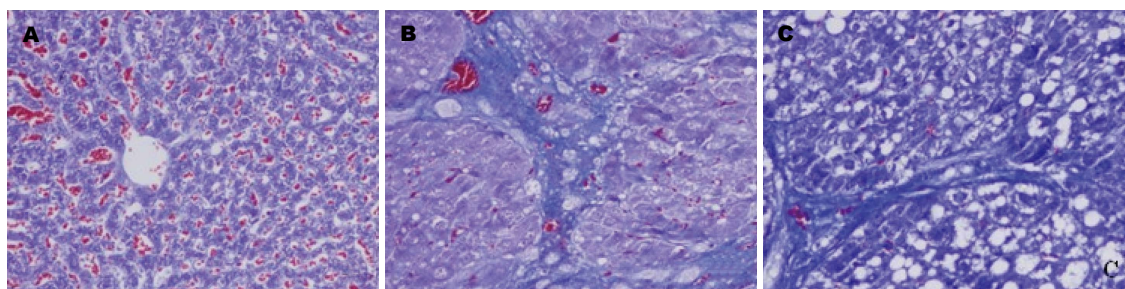


图 2 Masson染色观察各组大鼠肝脏胶原沉积( $\times 200$ )。A: N组; B: HF组; C: S组。

#### ■创新盘点

本研究结果表明  $H_2S$  能够减少肝内 I、III 型胶原表达, 延缓肝纤维化的发展, 这可能与它能够直接或间接地减少胶原合成以及增加胶原降解有关。因此关于  $H_2S$  保护作用详尽机制的研究以及如何将其应用于临床是目前的研究热点。

表 1 各组大鼠肝脏纤维化分期结果 ( $n = 8$ )

分组	肝纤维化分期					平均秩
	0	1	2	3	4	
N组	7	1	0	0	0	5.25
HF组	0	0	0	2	6	20.38 <sup>a</sup>
S组	1	3	3	1	0	11.88 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P = 0.000$  vs N组; <sup>c</sup> $P = 0.047$  vs HF组。

表 2 各组大鼠肝脏SSS评分及COL-I、COL-III表达量 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	SSS评分	COL-I A值	COL-III A值
N组	2.625 $\pm$ 2.264	0.136 $\pm$ 0.020	0.107 $\pm$ 0.019
HF组	23.375 $\pm$ 3.962 <sup>a</sup>	0.384 $\pm$ 0.043 <sup>e</sup>	0.277 $\pm$ 0.025 <sup>e</sup>
S组	17.625 $\pm$ 3.249 <sup>c</sup>	0.300 $\pm$ 0.022 <sup>g</sup>	0.219 $\pm$ 0.016 <sup>g</sup>

<sup>a</sup> $P = 0.000$  vs N组; <sup>c</sup> $P = 0.006$  vs HF组; <sup>e</sup> $P = 0.000$  vs N组; <sup>g</sup> $P = 0.000$  vs HF组。

**2.2 免疫组织化学染色法检测COL-I、COL-III表达** 免疫组织化学染色示: N组肝组织中央静脉、汇管区中可见少量I型(图3)、III型(图4)胶原表达。HF组肝组织I型、III型胶原成条索状或小片状广泛分布, 主要表达于中央静脉、汇管区以及肝窦Disse间隙中, A值均较N组显著升高(均 $P = 0.000$ )。NaHS干预的S组I型、III型胶原表达部位基本同HF组, 但着色面积减少、染色强度降低, 且A值较HF组降低(均 $P = 0.000$ )。差异均具有统计学意义(表2)。

**2.3 肝组织COL-I mRNA和COL-III mRNA的表达** 与N组相比, HF组肝脏COL-I mRNA及COL-III mRNA表达均明显升高(均 $P = 0.000$ ), 而S组肝脏COL-I mRNA及COL-III mRNA表达均较HF组降低(分别 $P = 0.009$ 、 $0.003$ )。差异均具有统计学意义(表3, 图5)。

### 3 讨论

肝硬化是由多种原因引起以肝功能减退、门静

脉高压为主要表现的疾病, 严重影响人们的健康及生活质量, 而且已成为主要的医疗保健负担。目前尚无特效药物能将肝硬化治愈, 但肝纤维化作为各种慢性肝病进展为肝硬化的一个必经阶段, 已被证实是可逆的<sup>[10]</sup>。肝纤维化的发生发展是一个复杂的全身病理生理过程, 涉及多种细胞因子及细胞内信号分子网络。他的特征改变是肝脏内ECM沉积, 发生的主要机制是肝脏内的胶原过度生成、沉着和ECM重分布, 导致ECM合成与降解失衡而引起的。肝纤维化时ECM以胶原蛋白为主, 尤以I、III型胶原蛋白为其主要成分。

$H_2S$ 与CO、NO一样, 具有类似的生物学功能, 在肝纤维化发展过程中起着重要的调节作用。在哺乳动物体内,  $H_2S$ 大部分来源于肝脏, 主要在胱硫醚- $\beta$ -合成酶(CBS)和胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶(CSE)的催化下产生, Kabil等<sup>[11]</sup>发现在肝脏内由CBS催化产生的 $H_2S$ 仅占3%, 而97%的 $H_2S$ 由CSE催化产生。本课题组前期研究表明<sup>[5,6,12]</sup>, 肝



## ■应用要点

本文可为 $H_2S$ 的基础研究提供数据,同时为 $H_2S$ 应用于临床防治肝纤维化提供理论支持。

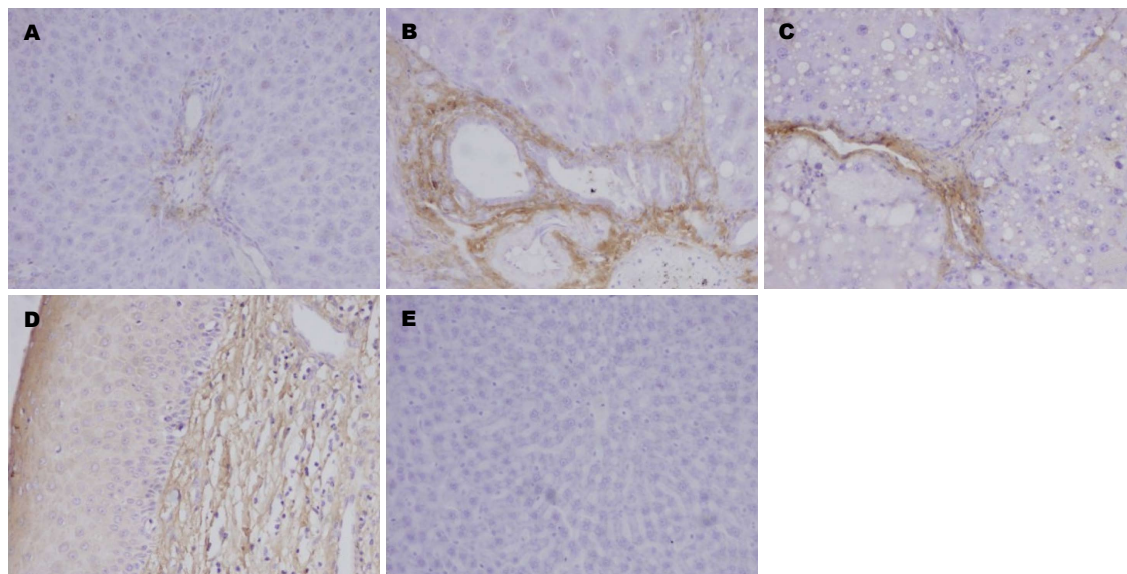


图 3 免疫组织化学法观察大鼠肝脏COL- I 表达(DAB × 200). A: N组; B: HF组; C: S组; D: 阳性对照(人正常皮肤); E: 阴性对照.

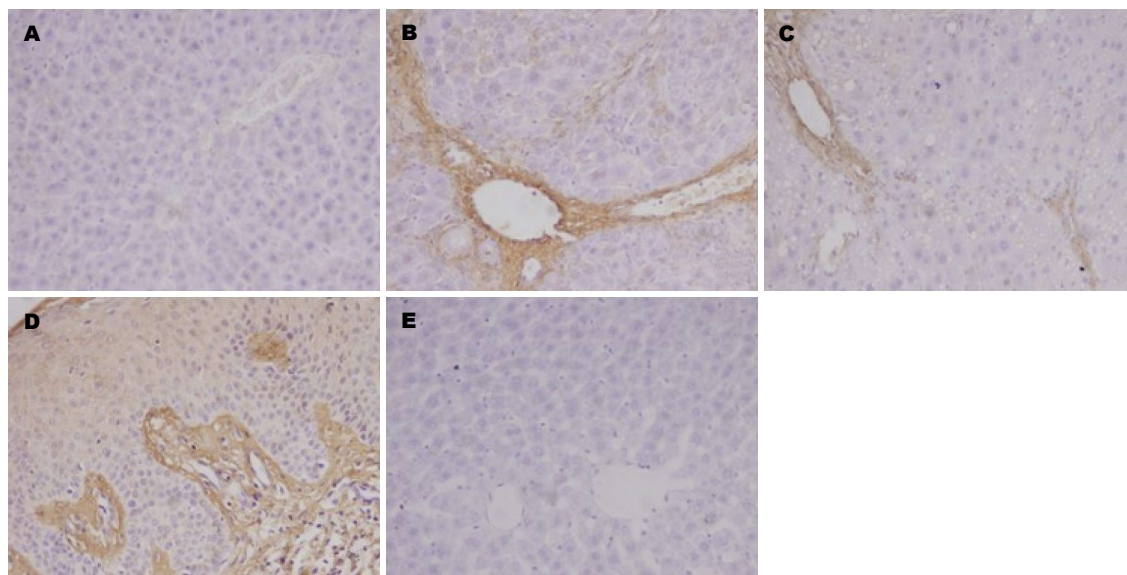


图 4 免疫组织化学法观察大鼠肝脏COL- III 表达(DAB × 200). A: N组; B: HF组; C: S组; D: 阳性对照(人正常皮肤); E: 阴性对照.

硬化大鼠CSE- $H_2S$ 系统表达下调,肝硬化程度越重CSE- $H_2S$ 系统表达下调越明显,给予NaHS后则可改善这一现象,故 $H_2S$ 对肝纤维的发生发展具有延缓作用,并对肝硬化门脉高压具有一定的保护性调节作用。

本实验表明:正常大鼠肝脏内I、III型胶原表达很少,肝纤维化组大鼠肝脏纤维化分期及I、III型胶原的表达较正常组明显升高,说明肝纤维化模型复制成功;肝纤维化大鼠在给予NaHS后肝内I、III型胶原的表达降低,同时从组织病理学观察肝纤维化分期下降,表明 $H_2S$ 能够减少胶原沉积,改善肝脏损害。

肝脏内ECM最主要来源于肝星状细胞(he-

patic stellate cell, HSC)<sup>[13]</sup>,目前认为HSC的活化在肝纤维化发展中起着关键作用,激活的HSC能够转化成肌成纤维母细胞,分泌大量的ECM<sup>[14]</sup>,而 $H_2S$ 发挥其生物学效应的重要机制是参与调控细胞增殖与凋亡和细胞保护作用。肝细胞作为肝脏的主体细胞,当其受损时就能够启动HSC的激活。当 $H_2S$ 缺乏时,肝硬化大鼠肝细胞的凋亡增加,进而促进肝纤维化启动与发生<sup>[15]</sup>。在肝缺血再灌注损伤中,外源性 $H_2S$ 可减轻肝细胞损伤、抑制肝细胞凋亡而发挥保护性作用<sup>[16]</sup>。可见, $H_2S$ 可能通过保护肝细胞间接抑制HSC的激活,而减少胶原的生成。阎继攀等<sup>[17]</sup>报道 $H_2S$ 能够抑制实验性肝纤维化大鼠肝组织内细胞的增殖,



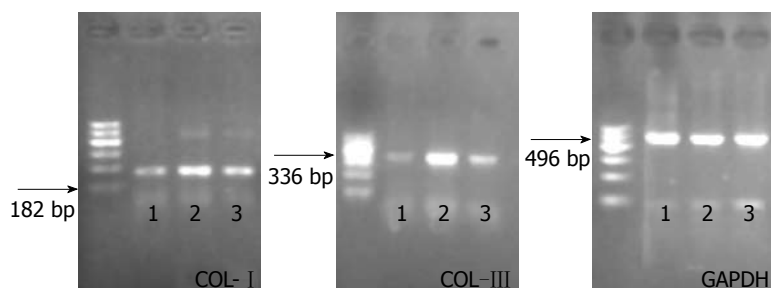


图 5 RT-PCR法检测各组大鼠肝脏 COL- I mRNA、COL- III mRNA的表达。1: N组; 2: HF组; 3: S组。

#### 同行评价

本文设计合理, 数据准确, 结论可靠, 为H<sub>2</sub>S与肝纤维化的进一步研究提供了理论基础, 具有一定的实际意义。

表 3 各组大鼠肝脏COL- I mRNA、COL- III mRNA的表达量 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	COL- I /GAPDH	COL- III /GAPDH
N组	0.419 $\pm$ 0.171	0.311 $\pm$ 0.118
HF组	1.085 $\pm$ 0.114 <sup>a</sup>	0.896 $\pm$ 0.094 <sup>a</sup>
S组	0.874 $\pm$ 0.076 <sup>c</sup>	0.699 $\pm$ 0.089 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P = 0.000$  vs N组; <sup>b</sup> $P = 0.009$  vs HF组; <sup>c</sup> $P = 0.000$  vs N组; <sup>d</sup> $P = 0.003$  vs HF组。

推测最可能是HSC和肝脏门静脉汇管区血管平滑肌细胞。在细胞水平复制肝纤维化模型的研究中, 证实H<sub>2</sub>S能够抑制HSC的增殖, 抑制细胞进入合成期<sup>[18]</sup>。这些说明H<sub>2</sub>S可能直接抑制HSC生成胶原, 对肝纤维起到保护性作用。

肝纤维化的ECM沉积另一原因是ECM的降解减少, 这在肝纤维化后期比ECM生成增多对肝纤维化形成的意义更为突出。ECM降解有赖于基质金属蛋白酶(MMPs), 而基质金属蛋白酶组织抑制因子(TIMPs)可抑制MMPs的活性, TIMPs与MMPs比例失衡对ECM降解和肝纤维化发生发展有着重要的作用<sup>[19]</sup>。H<sub>2</sub>S能够调节TIMPs与MMPs的比例, 他可使高肺血流肺动脉高压大鼠肺动脉MMP-13及TIMP-1的表达增多, 同时以MMP-13/TIMP-1比值升高更加明显, 而使肺动脉I、III型胶原的降解增加<sup>[20]</sup>。

综上所述, H<sub>2</sub>S可能通过减少肝细胞的损伤和凋亡而间接抑制HSC的激活, 或者直接抑制HSC增殖, 使I、III型胶原的合成来源减少; 亦通过增加I、III型胶原的降解, 使ECM的沉积减少。我们的研究表明, H<sub>2</sub>S能够减少肝内I、III型胶原表达, 延缓肝纤维化的进程, 这可能会为防治肝纤维化及肝纤维化的研究提供理论依据。

#### 4 参考文献

- Shi YX, Chen Y, Zhu YZ, Huang GY, Moore PK, Huang SH, Yao T, Zhu YC. Chronic sodium hydrosulfide treatment decreases medial thickening of intramyocardial coronary arterioles, interstitial fibrosis, and ROS production in spontaneously hy-

- pertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H2093-H2100 [PMID: 17630351 DOI: 10.1152/ajpheart.00088.2007]
- Wang T, Wang L, Zaidi SR, Sammani S, Siegler J, Moreno-Vinasco L, Mathew B, Natarajan V, Garcia JG. Hydrogen sulfide attenuates particulate matter-induced human lung endothelial barrier disruption via combined reactive oxygen species scavenging and Akt activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012; 47: 491-496 [PMID: 22592920 DOI: 10.1165/rcmb.2011-0248OC]
- Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell* 2010; 9: 135-146 [PMID: 20041858 DOI: 10.1111/j.1474-9726.2009.00543.x]
- Hunter JP, Hosgood SA, Patel M, Rose R, Read K, Nicholson ML. Effects of hydrogen sulphide in an experimental model of renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 2012; 99: 1665-1671 [PMID: 23132416 DOI: 10.1002/bjs.8956]
- 张宁, 郑勇, 王于理, 李睿, 孙侃, 常向云, 陈卫刚, 赵瑾, 李洪安. 内源性硫化氢在不同时期大鼠肝硬化中的作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 307-311
- 陈卫刚, 郑勇, 宋丽秀, 刘维国, 李文娟, 刘清华, 张宁, 齐翠花. 内源性H<sub>2</sub>S对大鼠实验性肝硬化门脉高压的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 467-471
- Fang HL, Lai JJ, Lin WL, Lin WC. A fermented substance from *Aspergillus phoenicis* reduces liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007; 71: 1154-1161 [PMID: 17485851 DOI: 10.1271/bbb.60604]
- 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- 中华肝脏病学会肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识. *中华肝脏病杂志* 2002; 10: 327-328
- Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2009; 8: 283-291 [PMID: 20009126]
- Kabil O, Vitvitsky V, Xie P, Banerjee R. The quantitative significance of the transsulfuration enzymes for H<sub>2</sub>S production in murine tissues. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 363-372 [PMID: 21254839 DOI: 10.1089/ars.2010.3781]
- 李文娟, 郑勇, 陈卫刚, 刘清华, 张宁, 宋丽秀, 刘维国. 内源性硫化氢对实验性肝硬化门静脉高压调节作用. *中华实用诊断与治疗杂志* 2010; 24: 429-432
- Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: d69-d77 [PMID: 12456323 DOI: 10.2741/887]
- Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut* 2000; 46: 443-446 [PMID: 10716665 DOI: 10.1136/gut.46.4.443]
- 刘浩, 郑勇, 陈卫刚, 赵瑾, 李睿, 张宁, 刘芳, 阎继攀. 内源性硫化氢对肝硬化大鼠肝细胞凋亡的影响. *世界*

- 华人消化杂志 2012; 20: 670-674
- 16 康凯, 姜洪池, 赵鸣雁, 孙学英, 潘尚哈. 胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶/硫化氢系统在大鼠肝脏缺血再灌注损伤中的保护作用. 中华外科杂志 2010; 48: 924-928
- 17 阎继攀, 郑勇, 刘浩, 李睿, 张宁, 齐翠花, 宋丽秀, 陈卫刚. 实验性肝硬化大鼠肝组织中CSE和Ki-67的表达及其意义. 胃肠病学和肝病杂志 2012; 21: 232-235
- 18 阳丹才让, 邓勇, 任利, 王聪, 樊海宁. 硫化氢在大鼠肝

星状细胞氧应激中对 $\alpha$ -SMA与细胞周期影响的实验研究. 现代生物医学进展 2010; 10: 2205-2208

- 19 Prosser CC, Yen RD, Wu J. Molecular therapy for hepatic injury and fibrosis: where are we? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 509-515 [PMID: 16489661]

- 20 李晓惠, 杜军保, 唐朝枢. 硫化氢供体对高肺血流性肺动脉高压大鼠肺动脉胶原含量及代谢的影响. 中国药理学通报 2007; 23: 760-764

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

**第一步 作者提交稿件:** 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成.

# 大鼠枯否细胞的分离、鉴定以及LPS刺激诱导TNF- $\alpha$ 的表达

叶长根, 梁冬雨, 赵亮, 于芳苹, 孙水林, 张吉翔, 刘亮明

叶长根, 梁冬雨, 赵亮, 于芳苹, 刘亮明, 上海交通大学附属  
第一人民医院松江分院 上海市 201600

叶长根, 孙水林, 张吉翔, 南昌大学第二附属医院 江西省南  
昌市 330000

叶长根, 硕士, 主要从事肝衰竭和肝损伤方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070357, 30660066

作者贡献分布: 研究经费、实验设计与论文修改由刘亮明负责;  
叶长根负责实验研究与论文撰写; 梁冬雨、赵亮、于芳苹及孙  
水林参与实验研究; 张吉翔负责实验质量控制.

通讯作者: 刘亮明, 副教授, 201600, 上海市松江区中山中路746  
号, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科.

liuliangming@hotmail.com

电话: 021-67720053

收稿日期: 2012-10-29 修回日期: 2013-01-10

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Rat Kupffer cells: Isolation, identification and LPS-stimulated TNF- $\alpha$ expression and secretion

Chang-Gen Ye, Dong-Yu Liang, Liang Zhao,  
Fang-Ping Yu, Shui-Lin Sun, Ji-Xiang Zhang,  
Liang-Ming Liu

Chang-Gen Ye, Dong-Yu Liang, Liang Zhao, Fang-Ping  
Yu, Liang-Ming Liu, Songjiang Branch Hospital of Shang-  
hai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University,  
Shanghai 201600, China

Chang-Gen Ye, Shui-Lin Sun, Ji-Xiang Zhang, Second  
Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang  
330006, Jingxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of  
China, Nos. 81070357 and 30660066

Correspondence to: Liang-Ming Liu, Associate Professor,  
Department of Hepatology, Songjiang Branch Hospital of  
Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong Uni-  
versity, 746 Zhongshan Middle Road, Songjiang District,  
Shanghai 201600, China. liuliangming@hotmail.com

Received: 2012-10-29 Revised: 2013-01-10

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To isolate, culture and identify rat Kupffer cells, and to investigate the effect of LPS on TNF- $\alpha$  expression and secretion in rat Kupffer cells.

**METHODS:** Rat liver Kupffer cells (KCs) were isolated and purified by means of in situ perfusion, density gradient centrifugation and early

medium change. Isolated cells were identified by ink phagocytosis and ED2 staining test. The expression and secretion of TNF- $\alpha$  was detected by RT-PCR and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**RESULTS:** Rat liver KCs were successfully isolated, purified, and confirmed by ink phagocytosis and ED2 staining test. Compared with non-stimulated KCs, LPS-stimulated cells had a significantly higher level of TNF- $\alpha$  mRNA expression ( $1.10 \pm 0.02$  vs  $0.09 \pm 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). TNF- $\alpha$  protein levels in cell supernatants were also significantly increased in LPS-stimulated cells than in non-stimulated cells ( $487.10$  pg/mL  $\pm 5.56$  pg/mL vs  $39.41$  pg/mL  $\pm 15.30$  pg/mL,  $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** Rat KCs have been successfully isolated and purified by means of in situ perfusion and density gradient centrifugation, and LPS can stimulate the expression and secretion of TNF- $\alpha$ .

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Kupffer cells; Culture; LPS; Tumor necrosis factor- $\alpha$

Ye CG, Liang DY, Zhao L, Yu FP, Sun SL, Zhang JX, Liu LM. Rat Kupffer cells: Isolation, identification and LPS-stimulated TNF- $\alpha$  expression and secretion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 307-312 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/307.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.307>

## 摘要

**目的:** 分离、培养和鉴定枯否细胞, 并探讨LPS刺激对细胞肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )表达和分泌的影响.

**方法:** 采用在体原位灌注、密度梯度离心和早期细胞换液等方法分离纯化大鼠肝枯否细胞(kupffer cell, KC), 并采用墨汁吞噬和ED2染色试验对分离培养的细胞进行鉴定. TNF- $\alpha$

## ■背景资料

枯否细胞(KC)是肝脏最重要的非实质细胞之一, 是机体固有免疫的重要组成部分, 在肝脏炎症反应、缺血再灌注损伤、胆汁淤积性肝损伤等方面发挥着重要作用. 分离及培养高纯度的KC可为免疫炎症肝损伤病理生理机制的研究提供实验和物质基础.

## ■同行评议者

潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心



## ■相关报道

Kitani等报道, 采用密度梯度离心法可获得较高纯度的KC。

表达和分泌采用RT-PCR和酶联免疫技术(enzyme-linked immunosorbent, ELISA)检测。

**结果:** 成功分离和纯化大鼠肝KC, 并经墨汁吞噬和ED2染色试验鉴定证实; LPS刺激KC细胞内TNF- $\alpha$  mRNA的表达较非刺激细胞(PBS处理细胞)显著升高( $1.10 \pm 0.02$  vs  $0.09 \pm 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。另外, LPS刺激较非刺激KC培养上清液TNF- $\alpha$ 蛋白的水平也显著升高( $487.10 \text{ pg/mL} \pm 5.56 \text{ pg/mL}$  vs  $39.41 \text{ pg/mL} \pm 15.30 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.001$ )。

**结论:** 原位灌注和密度梯度离心法能有效分离纯化大鼠KC, LPS刺激可诱导其表达和分泌大量TNF- $\alpha$ 。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 枯否细胞; 培养; 脂多糖; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

叶长根, 梁冬雨, 赵亮, 于芳苹, 孙冰林, 张吉翔, 刘亮明. 大鼠枯否细胞的分离、鉴定以及LPS刺激诱导TNF- $\alpha$ 的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 307-312 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/307.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.307>

## 0 引言

枯否细胞(kupffer cell, KC)是一种非实质性肝细胞, 其数量约占肝细胞总数的15%和体内组织驻留巨噬细胞总数的80%-90%<sup>[1]</sup>。KC被覆于肝窦内壁, 在稳定或生理情况下, 可作为“专业化”的吞噬细胞<sup>[2]</sup>, 以清除衰老的红细胞、免疫复合物和来自门脉循环的肠源性细菌产物<sup>[1]</sup>。在功能上, KC可作为抗原呈递细胞, 参与肝移植免疫, 并通过可溶性介质的表达和分泌, 在固有免疫和宿主防御反应方面起重要作用<sup>[3]</sup>。近年的研究表明, KC参与了各种炎症性肝病<sup>[4-8]</sup>及缺血再灌注肝损伤<sup>[9]</sup>的发病过程。并在胆汁淤积性肝损伤中调节炎性单核吞噬细胞的流入和活化<sup>[10]</sup>。已证实, KC可通过分泌多种前炎细胞因子, 在肝免疫炎症性损伤性疾病(包括急性肝衰竭)的发生发展中起关键作用<sup>[11]</sup>。因此, 本项目拟进行原代大鼠KC的分离、培养和鉴定, 并拟采用LPS刺激, 以观察该细胞对TNF- $\alpha$ 的表达和分泌情况, 以期将来进行急性肝衰竭等肝免疫炎症损伤疾病的病理生理机制研究提供实验和物质基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康♂SD大鼠由上海交通大学附属第一人民医院动物中心提供, 鼠龄5 wk, 体质量

180-200 g。动物合格证号: SYXK(沪)2009-0086, 清洁级饲养。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、链霉菌蛋白酶E和DNase I酶购自美国Sigma公司; IV型胶原酶购自美国Invitrogen公司; RPMI 1640培养基和胎牛血清均购自美国Gibco公司; 青链霉素混合液、HBSS液(无Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>)购自德国Hyclone公司; Percoll细胞分离液购自瑞典Pharmacia公司; 抗CD163 mAb(又名ED2)购自国Santa cruz公司; PCR反应试剂盒购自北京天根公司; Elisa试剂盒购自上海欣博盛公司; 细胞免疫化学试剂盒购自武汉博士德公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物饲养方法:** 实验前, 大鼠置清洁级动物房饲养1 wk, 饲养方法参考文献[12]。动物自由进食和饮水, 每12 h开灯或关灯。环境温度: 20℃-23℃, 湿度: 40%-80%。设施内换气次数为8-15次, 噪声<50 dB, 滤过后空气洁净度10 000级。实验动物的使用符合国家动物保护法。实验前12 h禁食。

**1.2.2 原代枯否细胞分离:** 采用文献[13,14]分离培养大鼠肝枯否细胞并稍加改进。简要操作方法如下: 大鼠采用腹腔内注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉, 同时腹腔注入肝素1 mL。750 mL/L乙醇浸泡消毒, 开腹并显露门静脉。结扎肝上下腔静脉后, 室温下经门静脉缓慢注入D-Hanks'液, 并剪破肝下下腔静脉, 让血液和灌注液自行流出。待肝脏体积膨大各部位颜色逐渐变白后, 改用5% IV型胶原酶消化液(采用HBSS配制)继续灌注消化肝组织。剪取肝脏, 置IV型胶原酶消化液(含0.1%链霉菌蛋白酶E、0.005% DNase I)中, 小心撕碎肝组织, 200目筛网过滤。滤液离心后, 沉淀用不连续Percoll密度梯度离心。小心吸取30% Percoll与60% Percoll液界面间的膜状细胞层。细胞用HBSS液洗涤后, 加入RPMI 1640培养液(含胎牛血清、青霉素和链霉素)重悬。培养1-2 h后, 洗去未贴壁细胞, 即可获得纯化KC。

**1.2.3 细胞鉴定(墨汁吞噬试验):** 在细胞培养液中加入数滴灭菌后的碳素墨水, 6-12 h观察细胞吞噬墨汁的情况<sup>[13]</sup>。

**1.2.4 细胞免疫化学染色:** 按试剂盒操作说明书进行。简要步骤如下: 细胞经福尔马林固定后, 加冰乙酸灭活内源性酶。采用BSA封闭非特异性结合位点。随后, 滴加特异性CD163抗体, 室温孵育1-2 h。TBS洗细胞3次后, 加入生物素化的IgG, 继续室温孵育20 min。细胞经TBS清洗后, 采用BCIP/NBT工作液显色。

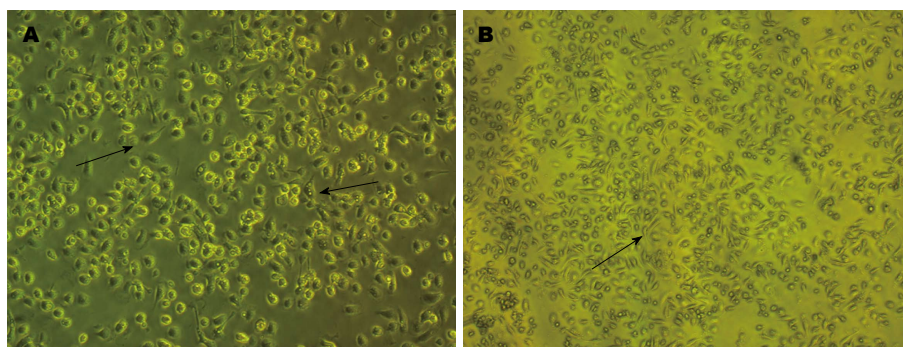


图1 大鼠枯否细胞显微镜下表现: A: 分离后4 h的枯否细胞( $\times 200$ ); B: 分离后4 h的枯否细胞( $\times 100$ ). 图中箭头示枯否细胞伸出伪足。

**■创新盘点**  
采用在体灌注, 一次消化和不连续密度梯度离心方法, 分离获得高纯度的KC; 在此基础上, 进行了LPS刺激实验, 对KC的TNF- $\alpha$ 表达水平进行了检测。

表1 不同基因检测引物序列和产物长度

基因	引物序列5'-3'	产物长度(bp)
TNF- $\alpha$	上游: GGC GTGGAGCTGAGAGATAAC	92
	下游: GGTGTGGGTGAGGAGCACAT	
$\beta$ -actin	上游: TGTTACAGGAAGTCCCTTGCC	101
	下游: AATGCTATCACCTCCCCTGTG	

**1.2.5 细胞LPS刺激方法:** 参考文献[12,15]并稍加以改进。分离纯化的枯否细胞培养4 h后, 洗去未贴壁细胞, 并重新接种于6孔板, 每孔细胞数为 $4 \times 10^6$ 。24 h后, 用磷酸盐缓冲盐水(phosphate buffered saline, PBS)洗细胞3次, 每孔各加入500  $\mu$ L无血清培养液, 并按文献[16]的方法, 在各孔细胞中随机加入LPS(终浓度20  $\mu$ g/mL, 以PBS配制)或PBS液10  $\mu$ L。每种处置方法各3孔细胞。处理6 h后分别收集培养上清液及细胞。

**1.2.6 RT-PCR分析方法:** 用TRIzol处理培养的KC, 以抽提细胞总RNA。抽提方法按说明书进行。2 mg总RNA作为模板用于第一链cDNA的合成。引物设计借助Primer Premier 6.0软件设计, 基因检测引物序列和产物长度见表1。引物由上海生工生物公司合成。TNF- $\alpha$ 基因的反应条件为: 94  $^{\circ}$ C预变性5 min; 94  $^{\circ}$ C 1 min, 51  $^{\circ}$ C 45 s, 72  $^{\circ}$ C 45 s, 共32个循环; 72  $^{\circ}$ C延伸10 min。所得PCR产物经1.5%的琼脂糖凝胶电泳,  $\beta$ -actin作为内参照。电泳结果经BIO-RAD Quantity-One 4.7成像分析软件检测并计算待测基因灰度相对相应 $\beta$ -actin的表达量。

**1.2.7 酶联免疫技术:** 细胞培养上清液TNF- $\alpha$ 测定采用双抗体夹心酶联免疫技术, 按照试剂盒说明书操作进行。简单操作如下: (1)加入样本或标准品(100  $\mu$ L/孔), 36  $^{\circ}$ C孵育90 min; (2)洗板5次, 加入生物素化抗体工作液(100  $\mu$ L/孔), 36  $^{\circ}$ C孵育60 min; (3)洗板5次, 加入酶结合物工作液(100  $\mu$ L/孔), 36  $^{\circ}$ C避光孵育30 min; (4)洗板5次, 加入显色底物(100  $\mu$ L/孔), 36  $^{\circ}$ C避光孵育15 min;

(5)加入终止液(100  $\mu$ L/孔), 混匀后测 $A_{450}$ 值。LPS或PBS处理各取3复孔, 结果取三者均值。

**统计学处理** 结果用mean $\pm$ SD表示, 组间比较采用独立样本 $t$ 检验, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 细胞分离培养结果** 原代分离培养的KC形态可随培养时间延长, 出现明显变化。这一点与原代肝实质细胞有明显不同。初分离的KC镜下呈折光性很强的圆球形, 培养30 min后即逐渐贴壁, 呈扁圆形(图1)。培养4 h的KC已牢固贴壁, 并呈不规则形状, 部分已伸出伪足。随着培养时间的延长, 细胞伸出的伪足会逐渐增多。24 h后, 细胞形态将完全舒展, 大小基本一致, 但形态不规则, 多呈星形、多角形或十字型等。

**2.2 细胞吞噬墨汁后的表现** 由图2可见KC吞噬墨汁后的情况。图中可见细胞胞浆中含有大量被吞噬的墨汁, 将细胞核衬托得更加清晰。这表明我们分离的KC存在正常的吞噬能力。

**2.3 ED2染色结果** 图3为KC免疫细胞化学染色结果。图中可见许多细胞被染成了黄褐色。由于大部分KC表达CD163, 经ED2染色后, 细胞可被染成黄褐色。通过该项染色方法, 可十分准确地将KC鉴定出来。该结果提示我们已成功分离出了原代KC。通过本染色技术, 也可对KC的纯度进行准确评估。在本项实验中, 我们分离的KC纯度均超过90%。这表明, 采用原位灌注加密度梯度离心的方法, 不仅简便而且十分高效的KC分离方法。

## ■应用要点

可应用于肝组织免疫炎症损伤及肝纤维化机制的研究等方面。

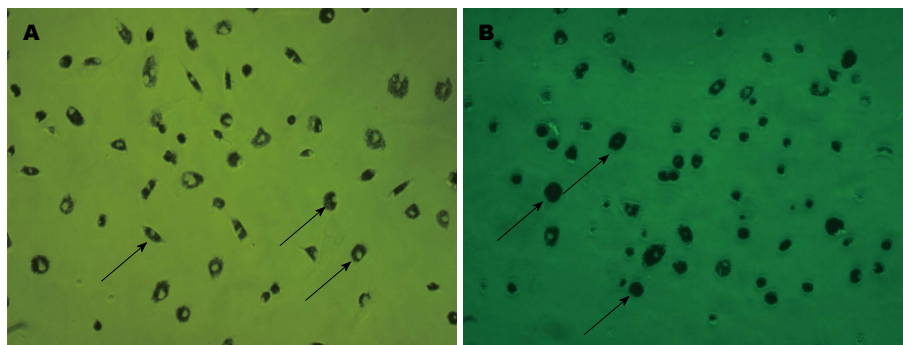


图2 枯否细胞吞噬墨汁后的表现。A: 枯否细胞吞噬墨汁4 h后的表现( $\times 200$ ); B: 枯否细胞吞噬墨汁6 h后的表现( $\times 200$ )。图中箭头示枯否细胞吞噬了大量墨汁。

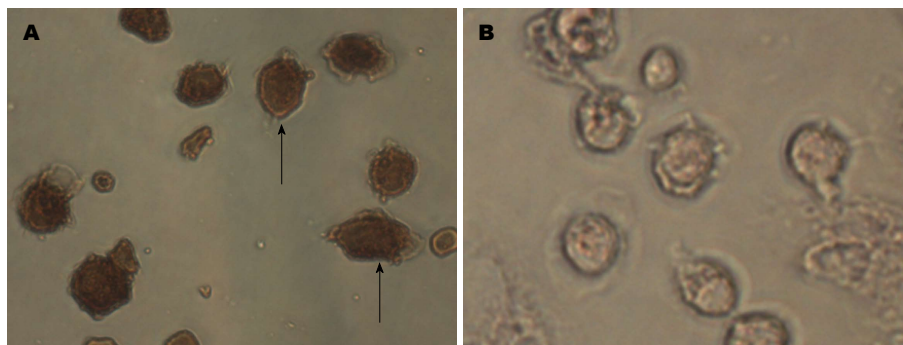


图3 KC免疫细胞化学染色表现(ED2染色)。A: ED2染色( $\times 400$ ), 阳性细胞被染成黄褐色(如箭头所示); B: 阴性对照( $\times 400$ )。

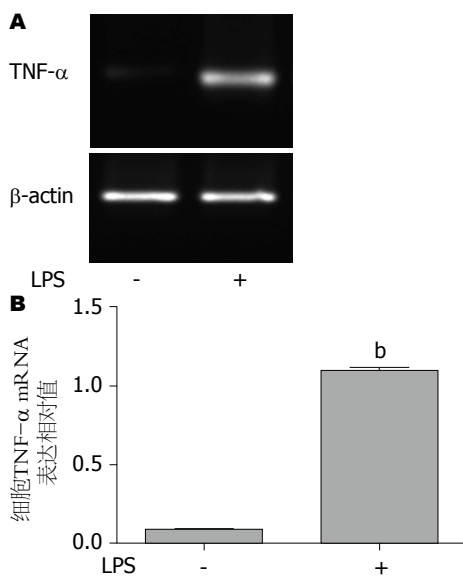


图4 枯否细胞TNF- $\alpha$  mRNA表达情况。A: RT-PCR凝胶电泳图; B: TNF- $\alpha$  mRNA相对表达水平,  $^bP < 0.01$ 。

**2.4 KC前炎细胞因子TNF- $\alpha$  mRNA的表达情况**  
大鼠枯否细胞前炎细胞因子TNF- $\alpha$  mRNA表达结果如图4。LPS刺激后, 枯否细胞TNF- $\alpha$  mRNA的表达显著增高。加入LPS或PBS后, 枯否细胞TNF- $\alpha$  mRNA的相对表达量分别为 $1.10 \pm 0.02$ 和 $0.09 \pm 0.01$ 。经统计学处理, 两组间存在显著统计学差异( $P < 0.001$ )。这说明, LPS可以诱导枯否细胞TNF- $\alpha$  mRNA表达。

**2.5 细胞培养上清液前炎细胞因子TNF- $\alpha$ 蛋白的分泌情况**  
大鼠KC细胞培养上清液中TNF- $\alpha$

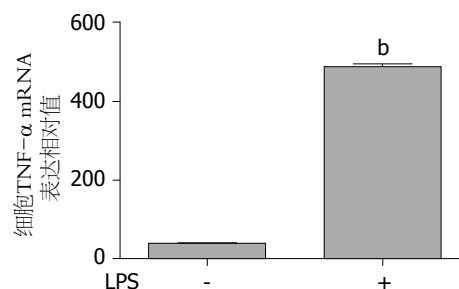


图5 细胞培养上清液TNF- $\alpha$ 蛋白分泌水平,  $^bP < 0.01$ 。

蛋白分泌水平如图5。LPS或PBS刺激细胞后, 其TNF- $\alpha$ 蛋白的分泌水平分别为 $487.10 \text{ pg/mL} \pm 5.56 \text{ pg/mL}$ 和 $39.41 \text{ pg/mL} \pm 15.30 \text{ pg/mL}$ 。经统计学处理, 两组间存在显著性差异( $P < 0.001$ )。这表明, LPS可刺激KC表达和分泌TNF- $\alpha$ 。

### 3 讨论

枯否细胞是机体固有免疫的重要组成部分, 对枯否细胞功能研究显得极其重要。但枯否细胞的提取和培养是一大难题, 提取分离得到高纯度的KC更加困难。目前国内外主要有密度梯度离心法<sup>[17,18]</sup>、离心淘析法<sup>[19]</sup>及流式细胞术<sup>[20,21]</sup>来提取枯否细胞, 但使用得最多的是密度梯度离心法。该方法操作简单、经济实用, 对器械要求也不高。

在本实验中, 我们采用了肝脏在体原位灌注消化法分离KC。该方法需经门静脉插管。在此基础上, 采用PBS反复冲洗肝脏, 以使肝内血液



冲净。因为肝脏内如残留较多血液, 将影响后面的离心纯化, 并可能影响KC贴壁和吞噬作用的发挥。用IV型胶原酶灌注时, 速度宜偏慢, 以使IV型胶原酶充分消化肝组织。将松散的肝组织撕碎后, 可移入培养瓶中振荡消化, 但时间不宜过长, 一般10 min左右即可。时间过长, 可能造成KC消化损毁。DNA酶I的加入, 主要是防止肝细胞破坏后释放大量DNA, 以免形成黏连、聚集的絮状物, 影响细胞的分离效率和产率。在密度梯度离心的过程中, 可采用多种浓度的Percoll细胞分离液, 但以30%和60%两种浓度较佳。密度梯度离心后, 需要十分小心地吸取KC细胞层。培养过程中, KC在30 min内即开始贴壁, 1 h后KC已贴壁牢靠, 而其他细胞贴壁时间相对较长。利用该特点, 可以通过换液, 将其他细胞特别是肝细胞去除, 以获得较高纯度的KC。当然, 在整个过程中, 无菌操作也是十分重要的。

在进行下一步实验之前, 需要对所提取的细胞进行鉴定。我们采用了两种方法对KC进行鉴定, 包括墨汁吞噬试验和ED2染色试验<sup>[22]</sup>。ED2染色对KC的鉴别具有特异性。ED2(又称CD163)是单核吞噬细胞系统细胞膜上的一种跨膜糖蛋白, 其在细胞内的阳性表达是巨噬细胞活化的重要标志<sup>[23]</sup>, 而肝内其他实质和非实质细胞均不表达CD163分子。因此, ED2染色后, KC呈现阳性反应, 而其他细胞均呈阴性反应, 从而能十分有效地将KC与肝内其他细胞区分出来。墨汁吞噬试验主要反映的是KC的吞噬功能。KC是机体内重要的吞噬细胞, 具有吞噬多种异物包括墨汁中的炭素的能力。上述两项试验证实, 我们已获得了高纯度且有良好吞噬功能的KC, 这为下一步细胞学研究提供了实验物质基础。

KC是机体固有免疫的重要组成部分, 炎症或损伤性刺激, 特别是来自肠道内的细菌代谢产物LPS, 可激活KC并使其分泌大量生物活性分子<sup>[24-26]</sup>。在本项研究中, 我们发现, LPS可刺激KC表达和分泌TNF- $\alpha$ 。已知, TNF- $\alpha$ 是KC激活后产生并分泌的最重要的前炎细胞因子之一<sup>[3]</sup>。TNF- $\alpha$ 可诱导肝细胞凋亡和坏死, 并促进PMNs等炎症细胞在炎症损伤部位聚集。在肝损伤动物模型中, TNF- $\alpha$ 升高水平与肝损伤程度呈密切正相关关系<sup>[27-29]</sup>。KC清除后, TNF- $\alpha$ 释放明显减少, 肝细胞损伤显著减轻<sup>[30,31]</sup>。因此, KC在免疫炎症性肝损伤的发病中起着关键作用。以原代KC作为研究对象, 有望能够更加深入地阐明急

性肝损伤或肝衰竭的病理生理机制。我们下一阶段将进一步借助原代KC, 研究LPS对TNF- $\alpha$ 产生和分泌的细胞分子通路的影响, 以期最终达到抑制肝内级联性炎症反应和阻断急性肝损伤发生发展的目的。

#### 4 参考文献

- Vollmar B, Menger MD. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol Rev* 2009; 89: 1269-1339 [PMID: 19789382 DOI: 10.1152/physrev.00027.2008]
- Movita D, Kreeft K, Biesta P, van Oudenaren A, Leenen PJ, Janssen HL, Boonstra A. Kupffer cells express a unique combination of phenotypic and functional characteristics compared with splenic and peritoneal macrophages. *J Leukoc Biol* 2012; 92: 723-733 [PMID: 22685319 DOI: 10.1189/jlb.1111566]
- Huang HF, Zeng Z, Chen MQ. Roles of Kupffer cells in liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1251-1257 [PMID: 22440189]
- Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7413-7420 [PMID: 17167827]
- Roberts RA, Ganey PE, Ju C, Kamendulis LM, Rusyn I, Klaunig JE. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis. *Toxicol Sci* 2007; 96: 2-15 [PMID: 17122412 DOI: 10.1093/toxsci/kfl173]
- Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2002; 65: 166-176 [PMID: 11812920 DOI: 10.1093/toxsci/65.2.166]
- Duwaerts CC, Gehring S, Cheng CW, van Rooijen N, Gregory SH. Contrasting responses of Kupffer cells and inflammatory mononuclear phagocytes to biliary obstruction in a mouse model of cholestatic liver injury. *Liver Int* 2013; 33: 255-265 [PMID: 23240869 DOI: 10.1111/liv.12048]
- Chatterjee S, Ganini D, Tokar EJ, Kumar A, Das S, Corbett J, Kadiiska MB, Waalkes MP, Diehl AM, Mason RP. Leptin is key to peroxynitrite-mediated oxidative stress and Kupffer cell activation in experimental non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2012 Dec 1. [Epub ahead of print] [PMID: 23207144 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.035]
- Kitagawa T, Yokoyama Y, Kokuryo T, Nagino M. Protective effects of branched-chain amino acids on hepatic ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats: a direct attenuation of Kupffer cell activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012 Dec 28. [Epub ahead of print] [PMID: 23275614 DOI: 10.1152/ajpgi.00391.2012]
- Lotowska JM, Sobaniec-Lotowska ME, Lebensztejn DM. The role of Kupffer cells in the morphogenesis of nonalcoholic steatohepatitis - ultrastructural findings. The first report in pediatric patients. *Scand J Gastroenterol* 2012 Dec 27. [Epub ahead of print] [PMID: 23268566 DOI: 10.3109/00365521.2012.746390]
- Yang Q, Shi Y, He J, Chen Z. The evolving story of macrophages in acute liver failure. *Immunol Lett* 2012; 147: 1-9 [PMID: 22820147 DOI: 10.1016/j.imlet.2012.07.002]
- Liu C, Tao Q, Sun M, Wu JZ, Yang W, Jian P, Peng J, Hu Y, Liu C, Liu P. Kupffer cells are associated

#### ■名词解释

固有免疫: 又称非特异性免疫或天然免疫, 是生物体在长期种系进化过程中形成的一系列防御机制。固有免疫在个体出生时就具备, 可产生非特异抗感染免疫和清除体内损伤衰老或畸变的细胞, 并对特异性免疫应答过程也起重要作用; 枯否细胞(KC): 固定于肝血窦内的一群巨噬细胞, 在肝固有免疫应答中起关键作用。

## ■同行评价

本文对研究肝脏免疫及肝纤维化等有一定技术参考意义。

- 13 曾仲, 黄汉飞, 宋飞, 段键. 体外灌注法分离大鼠肝脏 Kupffer 细胞及原代培养. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2550-2554
- 14 Kitani H, Takenouchi T, Sato M, Yoshioka M, Yamanaka N. A simple and efficient method to isolate macrophages from mixed primary cultures of adult liver cells. *J Vis Exp* 2011; 24: 2757 [PMID: 21654622]
- 15 张磊, 黄成, 李俊, 吕雄文, 朱鹏里, 王建青, 李增, 贺晓昕. 大鼠肝星状细胞和枯否细胞的分离与培养方法. 安徽医科大学学报 2007; 42: 692-695
- 16 贡克明, 韩德五, 许瑞玲, 赵元昌. LPS 对体外枯否细胞吞噬功能的影响. 中国病理生理杂志 2003; 19: 795-798
- 17 Liu H, Cao H, Wu ZY. Isolation of Kupffer cells and their suppressive effects on T lymphocyte growth in rat orthotopic liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3133-3136 [PMID: 17589933]
- 18 Hirsch J, Hansen KC, Choi S, Noh J, Hirose R, Roberts JP, Matthey MA, Burlingame AL, Maher JJ, Niemann CU. Warm ischemia-induced alterations in oxidative and inflammatory proteins in hepatic Kupffer cells in rats. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5: 979-986 [PMID: 16500929 DOI: 10.1074/mcp.M500320-MCP200]
- 19 Murthi P, Kalionis B, Ghabrial H, Dunlop ME, Smallwood RA, Sewell RB. Kupffer cell function during the erythrocytic stage of malaria. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 313-318 [PMID: 16460493 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04192.x]
- 20 Tomiyama K, Ikeda A, Ueki S, Nakao A, Stolz DB, Koike Y, Afrazi A, Gandhi C, Tokita D, Geller DA, Murase N. Inhibition of Kupffer cell-mediated early proinflammatory response with carbon monoxide in transplant-induced hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Hepatology* 2008; 48: 1608-1620 [PMID: 18972563 DOI: 10.1002/hep.22482]
- 21 You Q, Cheng L, Kedl RM, Ju C. Mechanism of T cell tolerance induction by murine hepatic Kupffer cells. *Hepatology* 2008; 48: 978-990 [PMID: 18712788 DOI: 10.1002/hep.22395]
- 22 Polfliet MM, Fabriek BO, Daniëls WP, Dijkstra CD, van den Berg TK. The rat macrophage scavenger receptor CD163: expression, regulation and role in inflammatory mediator production. *Immunobiology* 2006; 211: 419-425 [PMID: 16920481 DOI: 10.1016/j.imbio.2006.05.015]
- 23 崔云, 张育才. 可溶性CD163与严重感染及脓毒症的关系研究进展. 中国小儿急救医学 2011; 18: 175-177
- 24 Wu J, Meng Z, Jiang M, Zhang E, Trippler M, Broering R, Bucchi A, Krux F, Dittmer U, Yang D, Roggendorf M, Gerken G, Lu M, Schlaak JF. Toll-like receptor-induced innate immune responses in non-parenchymal liver cells are cell type-specific. *Immunology* 2010; 129: 363-374 [PMID: 19922426 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03179.x]
- 25 Seki E, Tsutsui H, Nakano H, Tsuji N, Hoshino K, Adachi O, Adachi K, Futatsugi S, Kuida K, Takeuchi O, Okamura H, Fujimoto J, Akira S, Nakanishi K. Lipopolysaccharide-induced IL-18 secretion from murine Kupffer cells independently of myeloid differentiation factor 88 that is critically involved in induction of production of IL-12 and IL-1beta. *J Immunol* 2001; 166: 2651-2657 [PMID: 11160328]
- 26 Kinoshita M, Uchida T, Sato A, Nakashima M, Nakashima H, Shono S, Habu Y, Miyazaki H, Hiroi S, Seki S. Characterization of two F4/80-positive Kupffer cell subsets by their function and phenotype in mice. *J Hepatol* 2010; 53: 903-910 [PMID: 20739085 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.04.037]
- 27 Cazanave S, Vadrot N, Tinel M, Berson A, Lettèron P, Larosche I, Descatoire V, Feldmann G, Robin MA, Pessayre D. Ibuprofen administration attenuates serum TNF-alpha levels, hepatic glutathione depletion, hepatic apoptosis and mouse mortality after Fas stimulation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 231: 336-343 [PMID: 18572215 DOI: 10.1016/j.taap.2008.05.010]
- 28 Eipel C, Kidess E, Abshagen K, Leminh K, Menger MD, Burkhardt H, Vollmar B. Antileukoproteinase protects against hepatic inflammation, but not apoptosis in the response of D-galactosamine-sensitized mice to lipopolysaccharide. *Br J Pharmacol* 2007; 151: 406-413 [PMID: 17420780 DOI: 10.1038/sj.bjp.0707230]
- 29 Langdale LA, Hoagland V, Benz W, Riehle KJ, Campbell JS, Liggitt DH, Fausto N. Suppressor of cytokine signaling expression with increasing severity of murine hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Hepatol* 2008; 49: 198-206 [PMID: 18471922 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.03.014]
- 30 Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, Satomi S. Tumor necrosis factor-induced, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfusion rat liver. *Hepatology* 1997; 26: 113-120 [PMID: 9214459 DOI: 10.1002/hep.510260115]
- 31 Owumi SE, Corthals SM, Uwaifo AO, Kamendulis LM, Klaunig JE. Depletion of Kupffer cells modulates ethanol-induced hepatocyte DNA synthesis in C57Bl/6 mice. *Environ Toxicol* 2012 Sep 20. [Epub ahead of print][PMID: 22996800]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>在实验性溃疡性结肠炎中的作用机制

李月芹, 叶建新, 邹玲婷, 张光波, 高楠, 陈卫昌

李月芹, 叶建新, 邹玲婷, 张光波, 高楠, 陈卫昌, 苏州大学附属第一医院消化科 江苏省苏州市 215006

李月芹, 硕士, 主要从事消化系疾病的基础与临床研究.

苏州市卫生局科教兴卫基金资助项目, No. KJXW2011001

作者贡献分布: 本研究由李月芹、叶建新、邹玲婷、张光波、高楠及陈卫昌共同完成.

通讯作者: 陈卫昌, 教授, 博士生导师, 215006, 江苏省苏州市十梓街188号, 苏州大学附属第一医院消化科.

weichangchen@126.com

收稿日期: 2012-12-20 修回日期: 2012-01-13

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Mechanisms underlying therapeutic effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> against experimental ulcerative colitis in mice

Yue-Qin Li, Jian-Xin Ye, Ling-Ting Zou,  
Guang-Bo Zhang, Nan Gao, Wei-Chang Chen

Yue-Qin Li, Jian-Xin Ye, Ling-Ting Zou, Guang-Bo Zhang, Nan Gao, Wei-Chang Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Supported by: the Project of Suzhou City Health Bureau, No. KJXW2011001

Correspondence to: Wei-Chang Chen, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Street, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. weichangchen@126.com

Received: 2012-12-20 Revised: 2012-01-13

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To explore the mechanisms underlying the therapeutic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] against experimental ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Thirty Balb/c mice were randomly assigned to groups A to E: control group, model group, low-, medium-, and high-dose intervention groups. Groups B-E were given 5% DSS solution for seven days to induce UC, while group A was given equal volume of distilled water. On days 1, 3, 5, and 7, groups C-E were intraperitoneally injected with 50, 100 and 200 ng of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, respectively. Disease activity index (DAI) and histopathological score (HPS) were calculated. The protein expression of interferon-γ (IFN-γ), inter-

leukin (IL)-17 and IL-4 in colonic tissues was measured by immunohistochemistry.

**RESULTS:** Compared to the control group, the DAI and HPS were significantly higher in the model group (7.33 ± 1.03 vs 0.33 ± 0.52, 12.00 ± 0.63 vs 0.17 ± 0.41, both *P* < 0.01). Compared to the model group, the DAI (2.83 ± 0.40, 2.83 ± 0.75, 2.33 ± 0.52) and HPS (10.83 ± 0.98, 7.50 ± 0.84, 6.67 ± 0.52) significantly decreased in the three intervention groups (all *P* < 0.01). The expression of IFN-γ and IL-17 was significantly higher in the model group than in the control group (both *P* < 0.01), and was significantly lower in the intervention groups than in the model group (all *P* < 0.01). IL-4 expression was significantly lower in the model group than in the control group (*P* < 0.01), and was significantly higher in the intervention group than in the model group (*P* < 0.01).

**CONCLUSION:** 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> can maintain local immune balance in the colonic mucosa and reduce inflammation in ulcerative colitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>; Ulcerative colitis; Interferon-γ; Interleukin-17; Interleukin-4

Li YQ, Ye JX, Zou LT, Zhang GB, Gao N, Chen WC. Mechanisms underlying therapeutic effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> against experimental ulcerative colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 313-319 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/313.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.313>

## 摘要

**目的:** 探讨1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]在葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)中的作用机制.

**方法:** 将30只Balb/c小鼠按随机数字表分为A-E组: 对照组、UC组及低、中、高剂量1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预组. A组小鼠饮用蒸馏水7 d; B-E组小鼠自由饮用5%DSS溶液7 d以制成UC

## ■背景资料

1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>], 是维生素D的活性形式, 相关研究证实1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>具有调节免疫系统的作用, 认为其可作为一种新型的免疫调节剂, 运用到多种免疫相关性疾病的治疗中. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>作为维生素D受体(VDR)的配体发挥生物效应, VDR属于核受体超家族, 免疫系统的大多数细胞类型中都有VDR存在, 尤其是抗原呈递细胞(APC)和T细胞. 本文针对1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>在溃疡性结肠炎中的应用进行了研究.

## ■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院



## ■ 研发前沿

由于多种细胞内均存在特异性维生素D受体(SVDR),因此 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 对免疫系统的影响是多方面的。

模型. 于造模第1、3、5及7天分别给C-E组小鼠以低、中、高剂量 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (50、100、200 ng/只)腹腔内注射, A-B组予腹腔注射溶药载体无菌大豆油作为对照. 观察指标包括疾病活动指数(disease activity index, DAI)和结肠组织病理学评分(histopathological score, HPS). 于造模第8天, 处死所有小鼠. 应用免疫组织化学方法测定小鼠结肠干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、白介素(interleukin, IL)-17和IL-4蛋白水平的表达.

**结果:** (1)与对照组DAI和HPS相比, 模型组小鼠DAI和HPS明显增高( $7.33 \pm 1.03$  vs  $0.33 \pm 0.52$ ,  $12.00 \pm 0.63$  vs  $0.17 \pm 0.41$ ,  $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 经 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 干预后C-E组DAI( $2.83 \pm 0.40$ 、 $2.83 \pm 0.75$ 、 $2.33 \pm 0.52$ )和HPS( $10.83 \pm 0.98$ 、 $7.50 \pm 0.84$ 、 $6.67 \pm 0.52$ )均有不同程度的下降( $P < 0.01$ ); (2)模型组小鼠结肠IFN- $\gamma$ ( $548.00 \pm 36.25$ )和IL-17( $121.48 \pm 12.34$ )的表达显著高于对照组IFN- $\gamma$ ( $76.68 \pm 14.19$ )和IL-17( $31.89 \pm 4.19$ )( $P < 0.01$ ), 干预组IFN- $\gamma$ ( $252.82 \pm 32.06$ 、 $141.72 \pm 21.07$ 、 $171.70 \pm 17.12$ )和IL-17( $76.86 \pm 4.48$ 、 $47.00 \pm 6.64$ 、 $37.54 \pm 5.36$ )的表达明显低于模型组( $P < 0.01$ ); 模型组IL-4( $49.72 \pm 11.08$ )的表达则显著低于对照组( $89.83 \pm 6.97$ )( $P < 0.01$ ), 干预组IL-4( $127.23 \pm 11.04$ 、 $303.82 \pm 78.14$ 、 $185.31 \pm 19.01$ )的表达明显高于模型组( $P < 0.01$ ).

**结论:**  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 有助于维持结肠黏膜的局部免疫平衡机制, 减轻溃疡性结肠炎的炎症.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>; 溃疡性结肠炎; 干扰素- $\gamma$ ; 白介素17; 白介素4

李月芹, 叶建新, 邹玲婷, 张光波, 高楠, 陈卫昌.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 在实验性溃疡性结肠炎中的作用机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 313-319 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/313.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.313>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病机制尚未完全阐明<sup>[1]</sup>, 目前认为, 可能与一系列的易感基因、环境因素、感染及免疫系统异常的相互作用有关, 换句话说, 即环境因素作用于遗传易感者, 在肠道菌丛(或者目前尚未明确的特异性微生物)的参与下, 启动肠道免疫及非免疫系统, 而且导致的免疫炎症反应表现为过度亢进

和难于自限<sup>[2]</sup>. 而同时, 溃疡性结肠炎的发病率正在上升<sup>[3]</sup>. 近年来研究发现, 当 $1,25$ -二羟维生素D<sub>3</sub>[ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ]缺乏时, Th1细胞活动会增强, 而Th2细胞和调节性T细胞活动减弱, 由此可诱导出Th1优势免疫应答<sup>[4]</sup>, 从而引起自身免疫性疾病的发生. 已有研究证实 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 具有调节免疫系统的作用, 认为其可作为一种新型的免疫调节剂, 运用到类风湿关节炎、多发性硬化症、2型糖尿病等多种免疫相关性疾病的治疗中<sup>[5-12]</sup>. 目前,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 在UC中的研究报道较少, 因此本研究探讨 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 在UC模型中可能的免疫作用机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 30只10-12周龄Balb/c清洁级 $\delta$ 小鼠, 体质量 $25 \text{ g} \pm 3 \text{ g}$ , 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[SCXK(沪)2007-0005]. DSS(MW = 36 000-50 000)购自MP Bio medicals, LLC,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (罗盖全胶囊)为瑞士上海罗氏制药有限公司生产,  $0.25 \text{ } \mu\text{g}/\text{粒}$ , 将 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 液体稀释于无菌大豆油中, 配成浓度为 $1 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$ ( $0.1 \text{ mL}$ 大豆油中含 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$   $0.1 \text{ } \mu\text{g}$ )成品. Rabbit Anti-IFN gamma(mouse, rat)、Rabbit Anti-IL-17(mouse, rat)和Rabbit Anti-IL-4(mouse, rat)均购自北京博奥森生物技术有限公司; GTVision™抗鼠/兔通用型免疫组织化学检测试剂盒[A: HRP标记聚合物(抗兔/鼠); B: DAB缓冲稀释液; C: DAB原液]由Gene Tech (Shanghai) Company limited提供.

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:** 按照Cooper的经典方法, 将30只Balb/c小鼠按随机数字表分为A-E组: 对照组、UC组及低、中、高剂量 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 干预组. 除外对照组, 其余组小鼠自由饮用5%DSS溶液连续7 d, 建立小鼠溃疡性结肠炎模型<sup>[13,14]</sup>. 相关研究采用 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 隔天应用一次, 剂量为 $5 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[15,16]</sup>. 且已有研究证明, 经腹腔注射或者口服给药方式对疾病指标或相关因子的影响程度相似, 无显著性差异<sup>[17,18]</sup>. 因此, 参照Gysemans CA, Fournier C提出的用药剂量和时间, 设定3个剂量组, 于造模第1、3、5及7天分别给3个干预组小鼠以低、中、高剂量 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (50、100、200 ng/只)腹腔内注射<sup>[15,16]</sup>, 对照组与模型组予腹腔注射溶药载体无菌大豆油作为对照. 于造模第8天, 处死所有小鼠, 采集小鼠结肠标本备检.

**1.2.2 DAI与HPS:** 造模过程每日观察小鼠的体质

表 1 5组小鼠的DAI和HPS ( $n = 6$ , mean  $\pm$  SD)

分组	DAI(第7天)	HPS(DC)
对照组	0.33 $\pm$ 0.52	0.17 $\pm$ 0.41
模型组	7.33 $\pm$ 1.03 <sup>b</sup>	12.00 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>
低剂量组	2.83 $\pm$ 0.40 <sup>d</sup>	10.83 $\pm$ 0.98 <sup>d</sup>
中剂量组	2.83 $\pm$ 0.75 <sup>d</sup>	7.50 $\pm$ 0.84 <sup>d</sup>
高剂量组	2.33 $\pm$ 0.52 <sup>d</sup>	6.67 $\pm$ 0.52 <sup>d</sup>

DC: 远端结肠; DAI: 疾病活动指数; HPS: 结肠组织病理学评分.

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组.

量、大便性状和隐血情况, 计算疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分<sup>[14]</sup>. 每只小鼠在远端结肠、中端结肠和近端结肠各取1块组织标本(2 mm  $\times$  10 mm), 常规石蜡包埋、连续4  $\mu$ m病理切片(HE染色), 光镜下按结肠组织病理学评分(histopathological score, HPS)评分评估UC小鼠的结肠黏膜损伤情况<sup>[14]</sup>.

1.2.3 免疫组织化学检测小鼠结肠IFN- $\gamma$ 、IL-17和IL-4蛋白表达: 采集的小鼠结肠组织经包埋、切片、烤片、脱蜡、水化、高温高压抗原修复后, 按试剂说明书步骤进行染色. 用PBS代替一抗作为阴性对照, 用已知阳性组织作为阳性对照. 加一抗工作液50-100  $\mu$ L于组织上, 37  $^{\circ}$ C孵育60 min. 孵育完毕, 用PBS洗3次, 3 min/次. 加A液50-100  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C孵育30 min. 孵育完毕, 用PBS洗3次, 3 min/次. 滴加DAB显色, 用蒸馏水冲洗终止显色. 复染后, 乙醇由低至高浓度逐级脱水, 再入二甲苯, 封片. 镜检, 干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、白介素(interleukin, IL)-17和IL-4为胞浆阳性, 应用Image-pro plus 6.0图像分析软件, IFN- $\gamma$ 、IL-17和IL-4蛋白表达量用累计吸光度(I4)表示.

**统计学处理** 使用统计软件SPSS17.0, Levene法进行方差齐性检验, 应用方差分析, 组间比较用LSD- $t$ (方差齐)或Tamhane(方差不齐), 各组数据以mean  $\pm$  SD表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 DAI与HPS 模型组于第5-7天均出现肉眼黏液血便, 体质量下降明显, 而对照组小鼠大便正常, 体质量增加. 不同剂量的1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预后, 黏液血便、消瘦等症状有不同程度的缓解. 对各组小鼠进行DAI定量评分, 模型组较对照组明显升高( $P < 0.01$ ); 各干预组跟模型组相比差异均

有统计学意义( $P < 0.01$ , 表1). 模型组4只小鼠结肠黏膜可见点状出血灶, 但均未见明显糜烂、溃疡, 2只小鼠黏膜未见明显异常. 其余组小鼠结肠黏膜无明显异常. 与对照组相比, 模型组小鼠光镜下全结肠黏膜出现多灶浅溃疡, 大部分隐窝被完全破坏, 少数残留腺体排列紊乱, 杯状细胞明显减少; 黏膜和黏膜下层广泛存在炎性细胞浸润. 各干预组小鼠结肠黏膜较完整, 隐窝结构基本正常, 炎性细胞少量浸润. HPS评分显示模型组明显高于对照组( $P < 0.01$ ); 各干预组较模型组均有显著下降( $P < 0.01$ , 表1, 图1).

2.2 小鼠结肠IFN- $\gamma$ 、IL-17和IL-4的蛋白表达变化 对照组小鼠结肠结构完整; 上皮及肠腺中可观察到IFN- $\gamma$ 棕黄色阳性颗粒, 免疫反应物均匀分布于胞浆中, 检测IFN- $\gamma$ 在小鼠结肠中的表达为76.68  $\pm$  14.19; 上皮及肠腺中可观察到IL-17少量棕色阳性颗粒, 免疫反应物散在分布于胞浆中, 表达量为31.89  $\pm$  4.19; 上皮及肠腺中可观察到IL-4棕黄色阳性颗粒, 免疫反应物均匀分布于胞浆中, 表达量为89.83  $\pm$  6.97. 模型组小鼠结肠大部分隐窝被破坏; IFN- $\gamma$ 、IL-17的表达量明显升高(548.33  $\pm$  36.25、121.48  $\pm$  12.34); IL-4的表达量下降(49.72  $\pm$  11.08). 经1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>治疗后, 干预组小鼠结肠黏膜基本完整; IFN- $\gamma$ 的表达量显著下降(252.82  $\pm$  32.06、141.72  $\pm$  21.07、171.70  $\pm$  17.12); IL-17的表达量亦下降(76.86  $\pm$  4.48、47.00  $\pm$  6.64、37.54  $\pm$  5.36); IL-4的表达量则显著升高(127.23  $\pm$  11.04、303.82  $\pm$  78.14、185.31  $\pm$  19.01). 这提示UC结肠黏膜中IFN- $\gamma$ 、IL-17的含量增加, IL-4的含量下降; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预后, IFN- $\gamma$ 、IL-17的含量下降, IL-4的含量升高. 各组IFN- $\gamma$ 、IL-17和IL-4的I4值不满足方差齐性, 故采用Tamhane检验(图2).

## 3 讨论

在我国, UC是较常见的消化系疾病和慢性腹泻的主要病因, 并且正逐渐引起消化界的高度关注<sup>[1]</sup>. 继1997年Sartor提出免疫调节异常在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病中占有中心地位的假说发表并被广泛接受后, 越来越多的学者认为IBD是一种自身免疫性疾病. UC患者体内存在免疫功能紊乱, 经1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>治疗后T淋巴细胞在植物凝集素的刺激下, 增殖明显低于正常对照组, 并呈剂量依赖性特点<sup>[19]</sup>. IBD的发病过程中, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>的缺乏较为常见<sup>[20,21]</sup>. Cantorna等<sup>[22]</sup>亦报道了维生

### ■ 相关报道

大多数实验表明, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以抑制T细胞向Th1及Th17分化, 促进及调节调节性T细胞(Treg)向Th2分化.



# 应用要点

对1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>与自身免疫性疾病的相关性进行深入的研究,将为从基因水平认识自身免疫性疾病的发病机制提供重要的线索,并且可为疾病的治疗和预防提供新的途径.

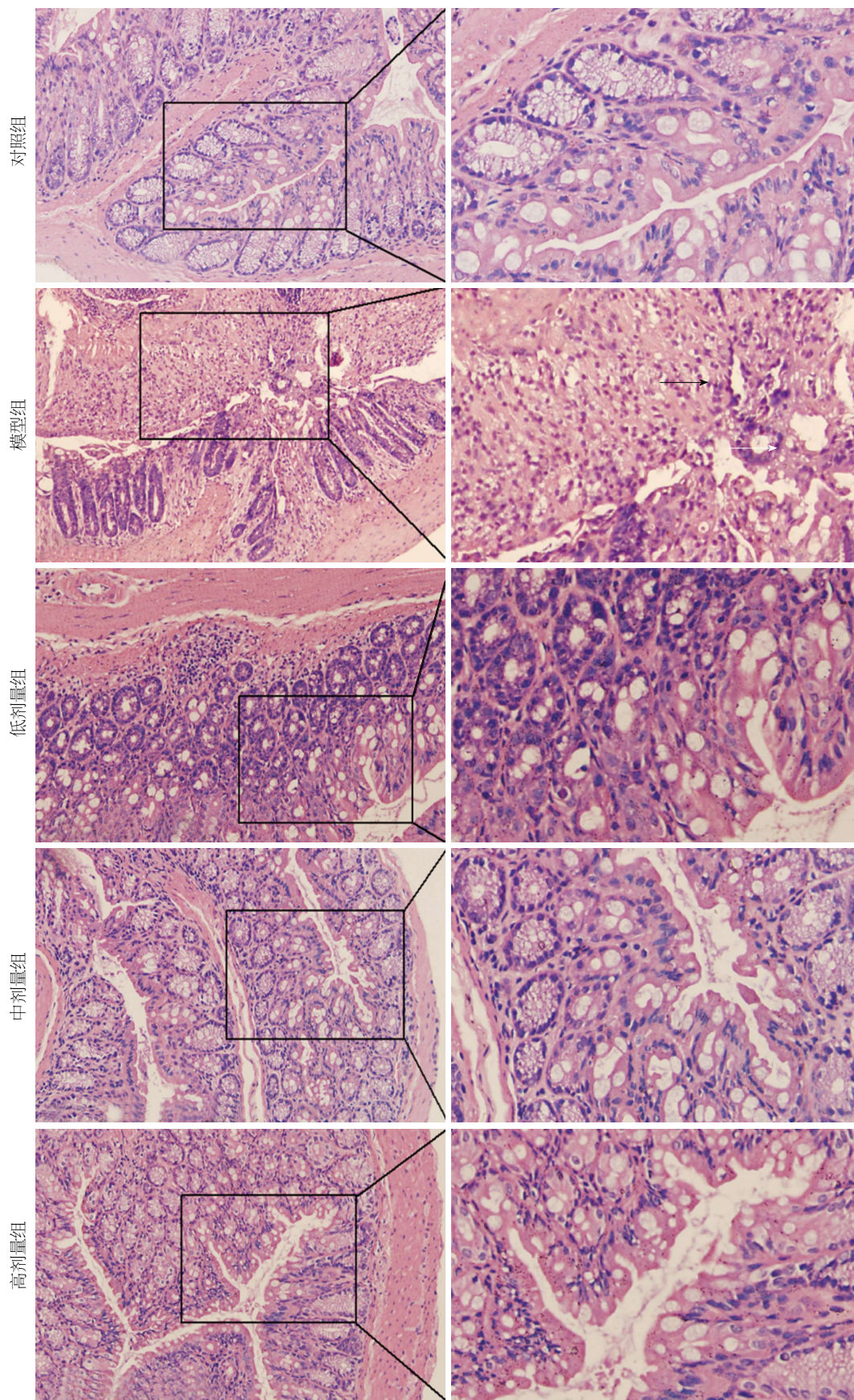


图1 5组小鼠病理图示(×200). 对照组: 结肠结构: 黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层. 模型组: 可见大部分隐窝被完全破坏, 部分病灶可有少许腺体残留(白色箭头); 广泛存在炎性细胞浸润(黑色箭头). 低、中、高剂量组: 结肠黏膜基本完整, 隐窝结构正常且清楚, 少量炎性细胞浸润, 未见明显溃疡.



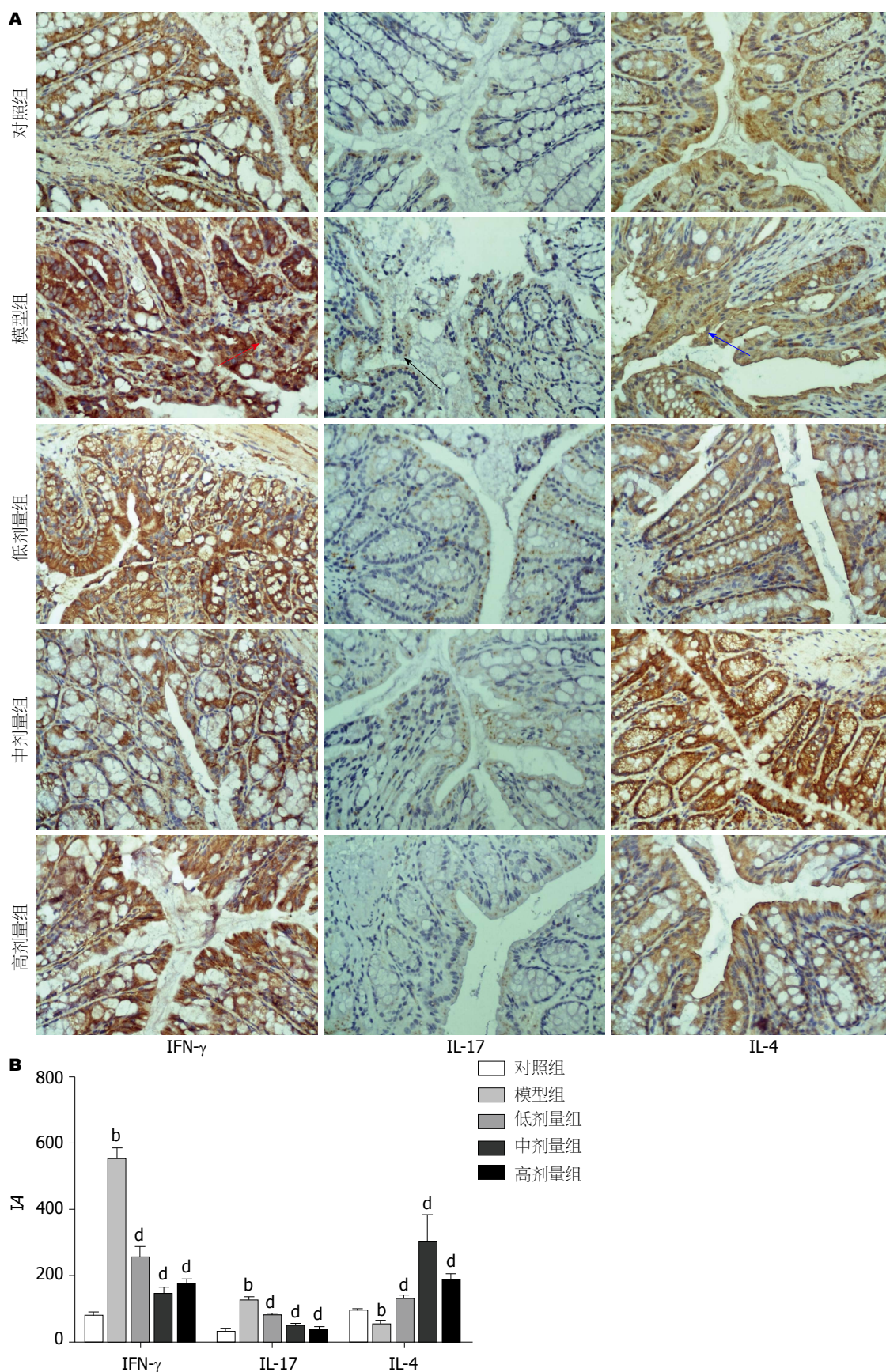


图 2 5组小鼠结肠IFN- $\gamma$ 、IL-17和IL-4的蛋白表达变化。A: 模型组小鼠结肠结构完整; 上皮及肠腺中均可观察到IFN- $\gamma$ 棕黄色阳性颗粒, 免疫反应物均匀分布于胞浆中; 上皮及肠腺中可观察到IL-17少量棕色阳性颗粒, 免疫反应物散在分布于胞浆中; 上皮及肠腺中可观察到IL-4棕黄色阳性颗粒, 免疫反应物均匀分布于胞浆中。Model组小鼠结肠可见大部分隐窝被破坏; IFN- $\gamma$ 的表达量明显升高(红色箭头); IL-17的表达量明显升高(黑色箭头); IL-4的表达量显著下降(蓝色箭头)。三个干预组结肠黏膜基本完整; IFN- $\gamma$ 、IL-17的表达量显著下降; IL-4的表达量显著升高( $\times 400$ )。B: <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组。

#### ■ 名词解释

系统性红斑狼疮(SLE): 是一种具有广泛临床和免疫学异常的自身免疫性疾病, 其病因学尚不明确。遗传对SLE的重要影响已在大量的流行病学研究中得到验证。除了遗传易感因素以外, 环境因素也与自身免疫性疾病的发生发展密切相关, 维生素D可能就是一个重要的环境因素。在光照少的地区, 如北美、北欧地区, 自身免疫性疾病的患病率较高。另外, 维生素D摄入较少也可能是患病原因。SLE患者体内DCs数量及功能的异常改变在其发病及病情进展中具有很重要的作用。



## ■同行评价

本文创新性较强, 结果可靠, 有较高的学术价值。

素D可能的治疗和预防IBD的作用, 敲除IL-10小鼠, 维生素D缺乏会加剧IBD的症状和病情。

由于多种细胞内均存在特异性维生素D受体(specific vitamin D receptor, SVDR), 因此1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>对免疫系统的影响是多方面的。大多数实验表明, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以抑制T细胞向Th1及Th17分化, 促进及调节调节性T细胞(Treg)向Th2分化<sup>[9]</sup>。1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可抑制白介素(interleukin)-12(IL-12)及Th1分泌的IFN-γ、IL-5等相关细胞因子, 而IL-12在Th1的分化过程中起重要作用, 因此1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以抑制Th1细胞的分化, 但也有研究者认为, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>并不能抑制Th1的分化<sup>[23,24]</sup>, 相关研究表明, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可直接作用于T细胞亚型如Th1细胞、Th17细胞等, 下调促炎因子IFN-γ、IL-17等, 同时亦能上调Th2型细胞因子IL-4等<sup>[6,25]</sup>。本实验用1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预UC模型可以缓解UC小鼠的黏液血便、消瘦等症状, 亦能减轻UC小鼠肠黏膜病理学上的炎症改变, 这也提示一定剂量的1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可能对UC小鼠有治疗效应。

研究证实, IFN-γ主要由Th1淋巴细胞产生, 他的免疫调节活性强, 是典型的促炎因子。研究表明, Th17细胞产生的IL-17在炎症性疾病和自身免疫性疾病中起着关键的作用<sup>[26-29]</sup>。而IL-4主要由活化T细胞合成, 可以抑制细胞因子包括IL-1、IL-6等的产生, UC患者的IL-4 mRNA表达及蛋白分泌明显减少, 提示IL-4与UC的发病有关<sup>[17]</sup>。本实验应用免疫组织化学方法测定小鼠病变结肠组织中IFN-γ、IL-17和IL-4蛋白水平的表达, 研究结果提示, UC小鼠结肠组织IFN-γ和IL-17蛋白表达量高于对照组, IL-4的蛋白表达量明显下降, 这与王婷等学者的观点是相符的<sup>[2]</sup>; 经1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预后IFN-γ和IL-17的表达则有不同程度的下降, 而IL-4的表达明显升高。这提示, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>抑制肠道炎症因子IFN-γ和IL-17的表达, 上调抑炎因子IL-4是成立的。

本实验着手UC小鼠模型的免疫机制方面进行了探讨, 发现UC小鼠IFN-γ、IL-17的蛋白表达量均显著升高, 而IL-4的蛋白表达量明显下降, 这提示Th1细胞、Th17细胞在UC中可能是活跃的, Th2反应则被抑制。1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预后IFN-γ和IL-17的表达水平明显下降, IL-4的表达水平显著上升, 这表明1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可以抑制过度的免疫反应, 减少促炎因子的过度表达, 上调抑炎因子, 促进促炎、抑炎因子的平衡, 从而缓解肠道炎症。后续我们将进一步探索

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>对免疫系统的具体作用机制。

## 4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). 中华消化杂志 2007; 27: 545-550
- 2 王婷, 郑长青. 细胞因子在炎症性肠病发病机制中的作用. 世界华人消化杂志 2005; 13: 72-75
- 3 Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Gearry R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfetheriner, Ouyang Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G, 杨钊斌, 杨川华, 钱本余. 2010年世界胃肠病学组织关于炎症性肠病诊断和治疗的实践指南. 胃肠病学 2010; 15: 548-558
- 4 Cantorna MT, Mahon BD. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229: 1136-1142 [PMID: 15564440]
- 5 Baroni E, Biffi M, Benigni F, Monno A, Carlucci D, Carmeliet G, Bouillon R, D'Ambrosio D. VDR-dependent regulation of mast cell maturation mediated by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 250-262 [PMID: 17035339 DOI: 10.1189/jlb.0506322.]
- 6 Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, Walker LS, Lamm DA, Raza K, Sansom DM. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol* 2009; 183: 5458-5467 [PMID: 19843932]
- 7 Yan X, Zhao Y, Pan J, Fang K, Wang Y, Li Z, Chang X. Vitamin D-binding protein (group-specific component) has decreased expression in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2012; 30: 525-533 [PMID: 22704802]
- 8 Cantorna MT, Zhao J, Yang L. Vitamin D, invariant natural killer T-cells and experimental autoimmune disease. *Proc Nutr Soc* 2012; 71: 62-66 [PMID: 21996367 DOI: 10.1017/S0029665111003193.]
- 9 Correale J, Ysraelit MC, Gaitán MI. Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132: 1146-1160 [PMID: 19321461 DOI: 10.1093/brain/awp033.]
- 10 Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med* 2002; 8: 174-179 [PMID: 11927275]
- 11 Xuan Y, Zhao HY, Liu JM. Vitamin D and Type 2 Diabetes. *J Diabetes* 2013 Jan 10. [Epub ahead of print] [PMID: 23302127 DOI: 10.1111/1753-0407.12024]
- 12 Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 60-64 [PMID: 16563470]
- 13 Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993; 69: 238-249 [PMID: 8350599]
- 14 胡仁伟, 欧阳钦, 陈代云. 右旋葡聚糖硫酸钠小鼠溃疡性结肠炎动物模型建立方法探讨. 胃肠病学 2002; 7: 331-334
- 15 Fournier C, Gepner P, Sadouk M, Charreire J. In vivo beneficial effects of cyclosporin A and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the induction of experimental autoimmune thyroiditis. *Clin Immunol Immunopathol* 2002; 84: 1-10

- pathol* 1990; 54: 53-63 [PMID: 2293907]
- 16 Gysemans CA, Cardozo AK, Callewaert H, Giulietti A, Hulshagen L, Bouillon R, Eizirik DL, Mathieu C. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> modulates expression of chemokines and cytokines in pancreatic islets: implications for prevention of diabetes in nonobese diabetic mice. *Endocrinology* 2005; 146: 1956-1964 [PMID: 15637289 DOI: 10.1210/en.2004-1322.]
- 17 Lemire JM, Archer DC. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest* 1991; 87: 1103-1107 [PMID: 1705564 DOI: 10.1172/JCI115072.]
- 18 刘杉. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>干预EAT大鼠Th1细胞活性的研究. 重庆医科大学, 2007
- 19 Stio M, Bonanomi AG, d'Albasio G, Treves C. Suppressive effect of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and its analogues EB 1089 and KH 1060 on T lymphocyte proliferation in active ulcerative colitis. *Biochem Pharmacol* 2001; 61: 365-371
- 20 Ulitsky A, Ananthakrishnan AN, Naik A, Skaros S, Zadornova Y, Binion DG, Issa M. Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 308-316 [PMID: 21527593 DOI: 10.1177/0148607110381267.]
- 21 Chatur S, Chhaya V, Holmes R, Neild P, Kang JY, Pollok RC, Poullis A. Factors associated with vitamin D deficiency in a multicultural inflammatory bowel disease cohort. *Frontline Gastroenterol* 2013; 4: 51-56 [DOI: 10.1136/flgastro-2012-100231]
- 22 Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, and the immune system. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1717S-1720S [PMID: 15585793]
- 23 Chang JH, Cha HR, Lee DS, Seo KY, Kweon MN. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits the differentiation and migration of T(H)17 cells to protect against experimental autoimmune encephalomyelitis. *PLoS One* 2010; 5: e12925 [PMID: 20886077 DOI: 10.1371/journal.pone.0012925]
- 24 Palmer MT, Lee YK, Maynard CL, Oliver JR, Bikle DD, Jetten AM, Weaver CT. Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem* 2011; 286:997-1004 [PMID: 21047796 DOI: 10.1074/jbc.M110.163790]
- 25 Colin EM, Asmawidjaja PS, van Hamburg JP, Mus AM, van Driel M, Hazes JM, van Leeuwen JP, Lubberts E. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> modulates Th17 polarization and interleukin-22 expression by memory T cells from patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 132-142 [PMID: 20039421 DOI: 10.1002/art.25043.]
- 26 Seguin P, Béziat JL, Achard R, Momège B. [Clinical and therapeutic aspects of maxillofacial lesions of Paget's disease]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1988; 89: 80-86 [PMID: 3165548 DOI: 10.1128/MCB.05020-11.]
- 27 Daniel C, Sartory NA, Zahn N, Radeke HH, Stein JM. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 324: 23-33 [PMID: 17911375 DOI: 10.1124/jpet.107.127209.]
- 28 Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat Immunol* 2007; 8: 345-350 [PMID: 17375096 DOI: 10.1038/ni0407-345.]
- 29 Lubberts E. Th17 cytokines and arthritis. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 43-53 [PMID: 20127485 DOI: 10.1007/s00281-009-0189-9.]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。



# NUCB2/nesfatin-1在肥胖大鼠胃肠道组织中的表达

李伟娜, 田字彬, 魏良洲, 孙桂荣, 张翠萍, 葛银林, 徐 璐

## ■背景资料

目前, 肥胖已成为严重影响人类健康的世界公共卫生问题, 各种引起食欲增强或降低的摄食调节肽在肥胖调控过程中具有重要意义. nesfatin-1是新发现的摄食调节肽, 在中枢及外周分布广泛, 具有降低食欲、减少摄食等生理作用.

李伟娜, 田字彬, 魏良洲, 孙桂荣, 张翠萍, 青岛大学医学院附属医院消化内科 山东省青岛市 266003

葛银林, 徐璐, 青岛大学医学院 山东省青岛市 266021

李伟娜, 硕士, 主要从事消化系胃动力方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070305, 30470642

山东省自然科学基金资助项目, No. zr2010hm066

作者贡献分布: 李伟娜与田字彬对本文所作贡献均等; 此课题由李伟娜、田字彬、孙桂荣、魏良洲及徐璐设计; 研究过程、数据分析由李伟娜完成; 研究所用工具由葛银林提供; 论文写作由李伟娜、田字彬及张翠萍完成.

通讯作者: 田字彬, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化内科.

tianzb@qdmh.qd.sd.cn

电话: 0532-82911302

收稿日期: 2012-12-13 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Expression of nucleobindin-2/nesfatin-1 in gastrointestinal tissues of high-fat diet-induced obese rats

Wei-Na Li, Zi-Bin Tian, Liang-Zhou Wei, Gui-Rong Sun, Cui-Ping Zhang, Yin-Lin Ge, Luo Xu

Wei-Na Li, Zi-Bin Tian, Liang-Zhou Wei, Gui-Rong Sun, Cui-Ping Zhang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Yin-Lin Ge, Luo Xu, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070305 and 30470642; the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. zr2010hm066

Correspondence to: Zi-Bin Tian, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdmh.qd.sd.cn

Received: 2012-12-13 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of the NUCB2 gene and NUCB2/nesfatin-1 protein in gastrointestinal tissues of obese and normal rats.

**METHODS:** Thirty male Wistar rats were randomly divided into two groups to be fed a high-fat diet or a normal diet. At the end of eight weeks, gastric, duodenal, small intestinal and colonic tissues were collected to detect the expression of NUCB2 mRNA and NUCB2/nesfa-

tin-1 protein by real-time RT-PCR and immunohistochemistry, respectively.

**RESULTS:** The expression levels of NUCB2 mRNA in gastric, duodenal, and small intestinal tissues of obese rats were 2.02, 1.49 and 1.23 times higher than those in corresponding tissues of normal controls ( $t = 4.256, 3.455, 2.402$ ;  $P = 0.000, 0.002, 0.026$ ), showing a significant positive correlation with Lee's index ( $r = 0.677, 0.561, 0.538$ ;  $P = 0.006, 0.030, 0.039$ ); however, the expression level of NUCB2 mRNA in colonic tissue showed no significant difference between the two groups ( $t = 1.835, P = 0.077$ ). NUCB2/nesfatin-1 protein was localized in the lower 2/3 of gastric mucosal glands, Brunner's glands and Paneth cells of the duodenum, and Paneth cells of the small intestine. The expression level of NUCB2/nesfatin-1 protein in gastric tissues was significantly increased in obese rats compared with normal controls ( $Z = -2.955, P = 0.003$ ), and was positively correlated with Lee's index ( $r = 0.677, P = 0.008$ ). The expression level of NUCB2/nesfatin-1 protein in Paneth cells of the duodenum and small intestine in obese rats significantly decreased compared with normal controls ( $Z = -2.026, -2.648$ ;  $P = 0.043, 0.008$ ), showing a significant negative correlation with Lee's index ( $r = -0.557, -0.617$ ;  $P = 0.031, 0.014$ ).

**CONCLUSION:** NUCB2/nesfatin-1 is widely expressed in gastrointestinal tissues of rats, and the expression of NUCB2 mRNA and NUCB2/nesfatin-1 protein is up-regulated in gastric tissues of obese rats, while NUCB2/nesfatin-1 protein is down-regulated in Paneth cells in obese rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** NUCB2; Nesfatin-1; Obesity; Gastrointestinal tract; Paneth cells

Li WN, Tian ZB, Wei LZ, Sun GR, Zhang CP, Ge YL, Xu L. Expression of nucleobindin-2/nesfatin-1 in gastrointestinal tissues of high-fat diet-induced obese rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 320-326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/320.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.320>

## ■同行评议者

汤华, 研究员, 重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

## 摘要

**目的:** 研究肥胖与正常大鼠胃肠组织NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达。

**方法:** 30只健康♂Wistar大鼠随机均分为高脂高营养性肥胖组和正常对照组, 8 wk后取其胃、十二指肠、小肠、结肠组织, 分别采用实时荧光定量RT-PCR及免疫组织化学的方法检测NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达。

**结果:** (1)肥胖组大鼠胃、十二指肠、小肠NUCB2 mRNA表达量分别是对照组的2.02、1.49、1.23倍( $t = 4.256, P = 0.000; t = 3.455, P = 0.002; t = 2.402, P = 0.026$ ), 且NUCB2 mRNA表达量与大鼠Lee's指数均呈正相关( $r = 0.677, P = 0.006; r = 0.561, P = 0.030; r = 0.538, P = 0.039$ ); 两组大鼠结肠组织NUCB2 mRNA表达差异无统计学意义( $t = 1.835, P = 0.077$ ); (2)两组大鼠胃黏膜中下2/3、十二指肠布氏腺及潘氏细胞、小肠潘氏细胞中均检测到NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达; 肥胖组大鼠胃NUCB2/nesfatin-1蛋白表达较对照组增多( $Z = -2.955, P = 0.003$ ), 表达量与大鼠Lee's指数呈正相关( $r = 0.677, P = 0.008$ ); 肥胖组大鼠十二指肠及小肠潘氏细胞中NUCB2/nesfatin-1蛋白表达较对照组减少( $Z = -2.026, P = 0.043; Z = -2.648, P = 0.008$ ), 表达量与大鼠Lee's指数均呈负相关( $r = -0.557, P = 0.031; r = -0.617, P = 0.014$ )。

**结论:** NUCB2/nesfatin-1在大鼠胃肠道中分布广泛, 肥胖大鼠胃组织NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白表达上调、潘氏细胞NUCB2/nesfatin-1蛋白表达下调。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** NUCB2; Nesfatin-1; 肥胖; 胃肠道; 潘氏细胞

李伟娜, 田宇彬, 魏良洲, 孙桂荣, 张翠萍, 葛银林, 徐璐. NUCB2/nesfatin-1在肥胖大鼠胃肠道组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 320-326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/320.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.320>

## 0 引言

肥胖是由于食欲及胃动力等的异常造成体质量过度增长并引起人体生理、病理改变的慢性代谢性疾病, 严重影响人类健康<sup>[1-4]</sup>. 引起食欲改变的摄食调节肽在肥胖调控过程中具有重要意义. nesfatin-1是Oh-I等近年来新发现的来源于核组蛋白(nucleobindin II, 简称NUCB2)

的厌食肽<sup>[5]</sup>, 在外周, 主要分布于胃、十二指肠、胰腺、小肠、结肠、食管、肝及脂肪组织等<sup>[6-8]</sup>, 外源性给予nesfatin-1可明显降低食欲、减少摄食、减少皮下脂肪, 抑制胃动力及胃酸分泌<sup>[5,9-12]</sup>. 因此推测肥胖与正常大鼠胃肠道中NUCB2/nesfatin-1的表达可能存在差异. 本实验通过分子生物学及免疫组织化学的方法检测正常及肥胖大鼠胃肠组织中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达分布特点, 探讨nesfatin-1对机体体质量及能量平衡的调节, 从而为肥胖的控制和能量失衡相关疾病的诊治提供理论基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 逆转录试剂盒(DRR047A)、荧光染料试剂盒(DRR081A)及引物的设计合成(大连Takara公司); 兔抗大鼠nesfatin-1多克隆抗体(H-003-22, Phoenix Pharmaceuticals); 二步法免疫组织化学检测试剂(PV-6001, 北京中杉金桥生物技术有限公司); 实时荧光定量PCR仪(Rotor Gene 3000, 澳大利亚Corbett Research公司); 紫外分光光度计(NanoDrop 2000c, 美国Thermo公司); 凝胶成像分析系统(美国UVP公司); 多功能真彩色细胞图象分析系统(Image-Pro Plus, 美国Media Cybernetics公司); 显微镜(BX51T-PHD-J11型, 日本Olympus公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物准备:** 30只健康♂Wistar大鼠(青岛市药品检验所提供), 体质量 $110 \pm 10$  g, 适应性饲养3 d后, 随机均分为正常对照组和高脂饮食诱导的肥胖组, 高脂配方为: 100 g基础饲料中加入全脂奶15 g、猪油5 g、鸡蛋黄50 g、黄豆15 g、鱼肝油10滴<sup>[13]</sup>, 大鼠在造模期间自由摄食和饮水, 昼夜周期为12/12 h, 饲喂环境温度 $22 \pm 2$  °C, 相对湿度 $50\% \pm 5\%$ . 每周定期观察大鼠进食量、饮水量, 测定体质量及身长, 8 wk末内眦取血检测甘油三酯, 高脂饮食组大鼠体质量高于对照组20%作为肥胖的标准<sup>[14]</sup>. 所有实验操作均遵循青岛大学动物饲养道德规范指导方针. 肥胖大鼠造模成功后, 经颈椎脱臼处死后快速取其相对固定部位的胃、十二指肠、小肠、结肠组织, 分为2部分: 装至盛有RNA样本保存液的EP管中, 并存入4 °C冰箱以备总RNA的提取, 另一部分浸入10%甲醛固定24 h, 常规石蜡包埋、切片, 以备免疫组织化学实验。

**1.2.2 实时荧光定量RT-PCR检测NUCB2 mRNA**

## ■研究前沿

nesfatin-1在肥胖大鼠胃肠道表达分布的研究较少, 尤其是在小肠组织潘氏细胞中的表达, 其与正常大鼠胃肠道表达差异的原因及其外周的作用机制有待进一步研究。

## ■相关报道

Li等研究表明在高脂饮食介导的肥胖小鼠胃黏膜中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达显著增加; Raman-janeya等实验显示肥胖小鼠及人循环中的nesfatin-1水平升高。

表 1 高脂饲料对大鼠体重、身长、Lee's指数及甘油三酯的影响 (mean  $\pm$  SD)

分组	体质量(g)	身长(cm)	Lee's指数	甘油三酯(mmol/L)
对照组	346.67 $\pm$ 22.17	21.87 $\pm$ 0.52	321.19 $\pm$ 5.89	0.91 $\pm$ 0.14
肥胖组	432.33 $\pm$ 25.42 <sup>b</sup>	22.43 $\pm$ 0.80 <sup>a</sup>	337.23 $\pm$ 10.20 <sup>b</sup>	1.09 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

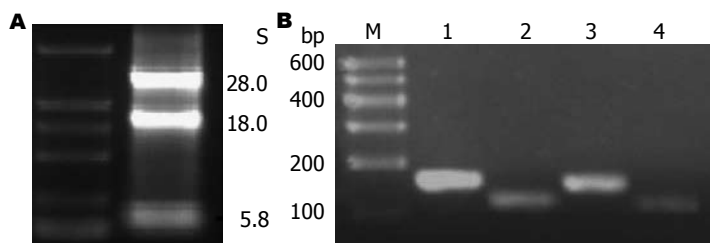


图 1 RNA电泳条带(A)及PCR产物电泳条带(B). M: DNA marker; 1: 正常大鼠胃组织β-actin; 2: 正常大鼠胃组织NUCB2; 3: 肥胖大鼠胃组织β-actin; 4: 肥胖大鼠胃组织NUCB2.

的表达: 按照TRIzol常规方法分别从100 mg胃、十二指肠、小肠、结肠组织中提取总RNA, 于紫外分光光度仪测定RNA浓度及纯度, 并于1%的凝胶进行电泳以鉴定RNA的完整性. 取1 μg总RNA按说明书进行逆转录获取cDNA, 并在Rotor Gene 3000上进行实时荧光定量PCR, 以β-actin为内参照. 引物序列如下: β-actin: 5'-GGAGAT-TACTGCCC TGGCTCCTA-3'(上游); 5'-GACT-CATCGTACTCCTGCTTGCTG-3'(下游), 扩增片段长度为150 bp; NUCB2: 5'-CAGTTTGAA-CACCTGAACCACCA-3'(上游); 5'-TCATGCC-GAGTCCGGTCATA-3'(下游), 扩增片段长度为113 bp. 反应条件: 95 °C预变性30 s, 95 °C变性5 s, 60 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 共40个循环. 每个部位取3个样本重复上述步骤. 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示样本中NUCB2 mRNA的相对表达量.

**1.2.3 免疫组织化学检测NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达:** 大鼠胃、十二指肠、小肠、结肠组织的石蜡切片经脱蜡、水化后, 置于0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)中加热进行抗原修复, 经3%过氧化氢孵育以消除内源性的过氧化物酶, 一抗为1:2 000稀释的兔抗大鼠nesfatin-1多克隆抗体, 同时用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照, 用已知的NUCB2/nesfatin-1阳性表达的下丘脑组织做阳性对照. 滴加山羊抗兔二抗, DAB显色后经苏木素复染, 脱水, 中性树脂封片, 于光学显微镜下观察结果. 在组织切片中, NUCB2/nesfatin-1阳性细胞表现为胞浆染为棕黄色. 结果判断标准: 在40×10的显微镜下, 每张切片随机选取5个互不重叠有代表性的视野, 结果由阳性细胞的百分比和染色强度两方

面确定: (1)按Image-Pro Plus图象分析系统计数阳性细胞的百分比记分: 阳性细胞数<5%为0分, 6%-24%为1分, 25%-49%为2分, 50%-74%为3分, ≥75%为4分; (2)按染色强度记分: 未染色或染色不清为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 深棕色或褐色为3分. 每张切片记分等于以上两项记分的乘积: 0分为阴性(-), 1-3分为弱阳性(+), 4-7分为阳性(++), 8-12分为强阳性(+++).

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计学软件进行数据分析. 计量资料均经正态性及方差齐性检验, 采用两个独立样本均数的 $t$ 检验; 计数资料采用等级秩和检验(Mann-Whitney法); NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白与大鼠Lee's指数的相关性分别采用Pearson及Spearman相关分析;  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 高脂饲料对大鼠各项指标的影响** 肥胖模型组大鼠在造模过程中摄食及饮水量较对照组明显增多, 体质量、身长、Lee's指数[(体质量)/ $1/3 \times 10^3$ /身长(cm)]及甘油三酯均高于对照组( $t = 9.837, P = 0.000; t = 2.307, P = 0.029; t = 5.276, P = 0.000; t = 3.192, P = 0.003$ , 表1).

### 2.2 NUCB2 mRNA在大鼠胃肠道的表达

**2.2.1 总RNA质量的检测:** 各样本总RNA的浓度为200-2 000 ng/μL,  $A_{260/280}$ 的比值为1.8-2.0, 提示RNA样本无蛋白质和DNA污染, 浓度及纯度较理想; 总RNA电泳条带出现核糖体RNA(rRNA)28S、18S及5.8S 3条亮度依次递减的条带, 且28S与18S两条带亮度之比为2:1, 说明提取的RNA较完整(图1A).



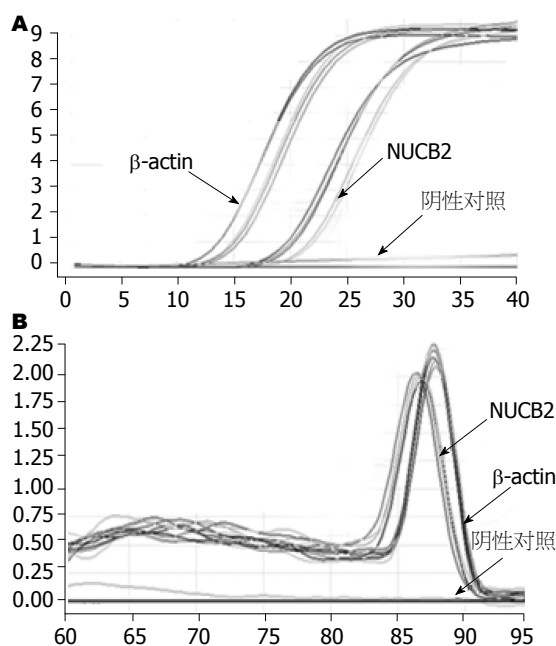


图2 NUCB2 mRNA实时荧光定量扩增曲线(A)和融解曲线(B).

2.2.2 实时荧光定量PCR检测结果: NUCB2/ $\beta$ -actin基因表达阳性的标本, 荧光定量扩增呈现典型的S型曲线, 阴性对照标本则呈不规则波浪线(图2A); 每个扩增产物的融解曲线均为单峰, 提示无非特异性扩增及引物二聚体的形成(图2B). 将PCR产物于1.5%凝胶进行电泳, 提示扩增片段长度与设计一致, 各条带清晰无杂带(图1B). 肥胖组大鼠胃、十二指肠、小肠NUCB2 mRNA的表达量均高于对照组( $t = 4.256, P = 0.000; t = 3.455, P = 0.002; t = 2.402, P = 0.026$ ), 分别是对照组的2.02(0.88-3.69)倍、1.49(0.85-2.60)倍、1.23(0.95-1.60)倍; 两组大鼠结肠NUCB2 mRNA表达差异无统计学意义( $t = 1.835, P = 0.077$ , 图3).

2.2.3 肥胖大鼠胃肠道NUCB2 mRNA表达量与Lee's指数的相关性分析: 以肥胖大鼠Lee's指数为因变量的Pearson相关分析显示, 胃、十二指肠及小肠组织NUCB2 mRNA相对表达量与大鼠Lee's指数均呈正相关( $r = 0.677, P = 0.006; r = 0.561, P = 0.030; r = 0.538, P = 0.039$ ).

### 2.3 NUCB2/nesfatin-1蛋白在大鼠胃肠道的表达

2.3.1 NUCB2/nesfatin-1蛋白在胃组织中的表达: NUCB2/nesfatin-1免疫阳性细胞分布于大鼠胃黏膜中下2/3, 且肥胖组胃NUCB2/nesfatin-1蛋白表达较对照组增多, 差异有统计学意义( $Z = -2.955, P = 0.003$ , 图4A, B).

2.3.2 NUCB2/nesfatin-1蛋白在肠道组织中的表达: 在十二指肠, NUCB2/nesfatin-1免疫阳性细

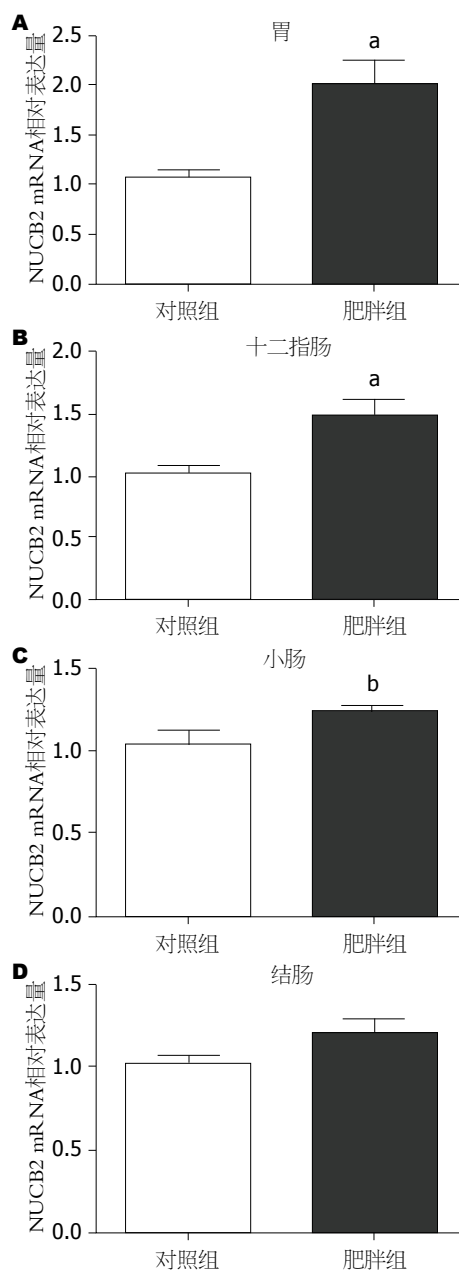


图3 NUCB2 mRNA在正常及肥胖大鼠胃肠道组织中的表达。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组。

胞分布于黏膜下布氏腺(图4E), 两组大鼠布氏腺中NUCB2/nesfatin-1蛋白表达差异无统计学意义( $Z = -0.727, P = 0.467$ ); NUCB2/nesfatin-1蛋白表达于十二指肠及小肠腺窝部的潘氏细胞, 并经连续切片HE染色证实, 肥胖大鼠十二指肠及小肠潘氏细胞数量并未减少( $t = 0.384, P = 0.704; t = 1.047, P = 0.304$ , 图4C, D), 而NUCB2/nesfatin-1蛋白表达量减少( $Z = -2.026, P = 0.043; Z = -2.648, P = 0.008$ , 图4F-I).

2.3.3 肥胖大鼠胃肠道NUCB2/nesfatin-1蛋白表达量与Lee's指数的相关性分析: 以肥胖大鼠Lee's指数为因变量的Spearman等级相关分析显

### ■ 创新盘点

本实验首次在十二指肠及小肠潘氏细胞中检测到NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达, 且在肥胖大鼠体内表达下调, 提示潘氏细胞中的NUCB2/nesfatin-1可能参与摄食、能量调节等过程。

## ■应用要点

本文通过研究正常与肥胖大鼠胃肠道nesfatin-1在基因及蛋白水平的表达差异,为肥胖相关的食欲异常、胃肠动力性疾病的临床诊治提供理论依据。

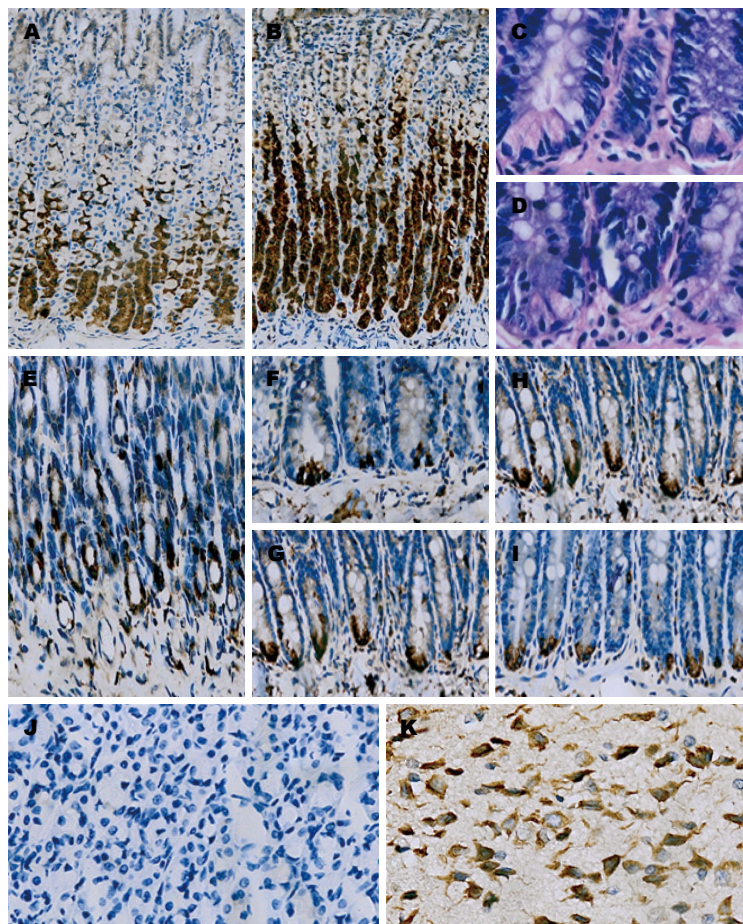


图4 NUCB2/nesfatin-1蛋白在正常及肥胖大鼠胃肠组织中的表达。A: 正常胃(×100); B: 肥胖胃(×100); C: 正常潘氏细胞(HE ×400); D: 肥胖潘氏细胞(HE ×400); E: 布氏腺(×200); F: 正常十二指肠潘氏细胞(×200); G: 肥胖十二指肠潘氏细胞(×200); H: 正常小肠潘氏细胞(×200); I: 肥胖小肠潘氏细胞(×200); J: 结肠阴性对照(×200); K: 下丘脑阳性对照(×200)。

示,胃组织NUCB2/nesfatin-1蛋白表达量与大鼠Lee's指数呈正相关( $r = 0.677, P = 0.008$ );十二指肠及小肠潘氏细胞中NUCB2/nesfatin-1蛋白表达量与大鼠Lee's指数均呈负相关( $r = -0.557, P = 0.031; r = -0.617, P = 0.014$ )。

### 3 讨论

nesfatin-1是新发现的摄食调节肽,由其前体NUCB2在激素原转化酶(prohormone convertases, PC)作用下裂解而来。在中枢,nesfatin-1广泛分布于与摄食调节相关的核团,如室旁核(PVN)、视上核(SON)、弓状核(ARC)及孤束核(NTS)等<sup>[15,16]</sup>。在外周,胃组织中主要分布于黏膜分泌腺内分泌细胞,与Ghrelin共存于X/A样细胞,与组氨酸脱羧酶(HDC)、生长抑素共存于胃黏膜腺底部;在十二指肠,NUCB2/nesfatin-1免疫活性细胞主要分布于布氏腺;另外,胰腺、小肠、结肠、食管、肝等部位也有NUCB2/nesfatin-1的表达<sup>[6,7]</sup>。NUCB2/nesfatin-1在消化系的表达特点提示其可能具有调节摄食、胃肠动力、胃酸分泌及营养物质的消化吸收等作用。

中枢及外周NUCB2/nesfatin-1的表达因代谢状态不同而异:大鼠禁食24 h后,室旁核(PVN)、

视上核(SON)<sup>[17]</sup>以及胃黏膜<sup>[6]</sup>的NUCB2 mRNA的表达均下降,再进食后表达上调。另外,通过等渗泵持续向大鼠脑室内灌注nesfatin-1,可导致长期的摄食减少、体质量减轻,表明NUCB2/nesfatin-1具有慢性、长期调节摄食的作用<sup>[5]</sup>。大鼠脑室内注射nesfatin-1,在引起摄食减少的同时能降低体质量,减少皮下、附睾、肠系膜等部位的脂肪含量<sup>[5]</sup>。神经性厌食症患者血浆中的nesfatin-1水平较低,并与BMI呈正相关<sup>[18]</sup>,提示外周nesfatin-1表达水平受营养状态调节。Ramanjaneya等<sup>[8]</sup>也证实,循环中NUCB2/nesfatin-1的水平与BMI呈正相关,禁食24 h后脂肪细胞NUCB2/nesfatin-1表达减少,高脂饮食小鼠的脂肪组织及循环中的NUCB2/nesfatin-1水平升高,提示外周nesfatin-1可能参与体质量的调节。小鼠脑室内注射nesfatin-1,能降低胃窦部的胃动力指数,延长十二指肠第三期收缩的启动时间<sup>[19]</sup>,nesfatin-1还能抑制正常及肥胖大鼠在体及离体胃平滑肌的收缩,提示其参与胃动力调节<sup>[11,20]</sup>。

本实验证实肥胖大鼠胃组织NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白表达均增加,且与大鼠Lee's指数呈正相关,推测nesfatin-1在胃组织的表达受不同营养状态的调控,高脂饮食介导



的肥胖大鼠营养过度, 由于机体负反馈机制的存在, 使内源性的厌食肽表达上调, 表现出抑制摄食的趋势, 但肥胖大鼠的食欲并无下降, 反而增加, 考虑可能与肥胖大鼠nesfatin-1受体表达下降或敏感性降低有关。因此, 需进一步研究nesfatin-1的受体及其在中枢与外周的表达特点, 从而明确nesfatin-1的作用机制。研究显示, 在高脂饮食介导的肥胖小鼠胃黏膜中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达显著增加, 并受mTOR(哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)信号通路调节<sup>[21]</sup>。而血浆中的nesfatin-1可能来源于胃肠道的内分泌细胞, 高脂饮食的人及小鼠循环中的nesfatin-1升高, 且人血浆nesfatin-1水平与BMI呈正相关<sup>[5,8]</sup>。这与肥胖大鼠胃组织中表达上调的趋势相一致, 从而进一步证实胃组织NUCB2/nesfatin-1作为血浆中的nesfatin-1来源的推测。而NUCB2/nesfatin-1能以双向不饱和方式通过血脑屏障<sup>[22,23]</sup>, 提示外周及中枢产生释放NUCB2/nesfatin-1可能同时具有降低食欲、抑制摄食从而达到调节体质量及能量平衡的作用。

肥胖大鼠十二指肠及小肠NUCB2 mRNA表达上调, 且与大鼠Lee's指数呈正相关, 而免疫组织化学方法并未检测到布氏腺中NUCB2/nesfatin-1蛋白表达上调, 提示nesfatin-1在基因转录水平的调控与胃组织类似, 经负反馈机制使其表达上调, 而在布氏腺中的蛋白翻译并无明显差异, 推测十二指肠中NUCB2/nesfatin-1蛋白可能参与营养物质吸收、肠黏膜保护等, 但并不直接参与体质量及能量平衡的调节。

潘氏细胞内含有防御素、溶菌酶、IgA等, 具有调节肠道菌群、保护肠黏膜等功能, 而防御素、溶菌酶等的表达与炎症性肠病的发生、发展密切相关; 潘氏细胞颗粒的积聚和释放受禁食及摄食的影响, 禁食后颗粒积聚, 再进食可使其颗粒释放<sup>[24-26]</sup>。肥胖大鼠潘氏细胞中的防御素及溶菌酶在基因水平表达上调, 而受翻译拮抗剂的作用使二者在蛋白水平表达下调, 从而推测潘氏细胞分泌颗粒的异常导致肥胖相关疾病的发生<sup>[27]</sup>。本实验首次在十二指肠及小肠潘氏细胞中检测到NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达, 且在肥胖大鼠表达下调, 并与大鼠Lee's指数呈负相关, 提示潘氏细胞中的NUCB2/nesfatin-1可能参与摄食、能量调节等有关, 其详细机制有待进一步研究。

总之, 本实验提示肥胖大鼠外周NUCB2/nesfatin-1表达可能对摄食、能量代谢、胃肠动

力等具有重要调节作用, 为进一步揭示肥胖相关的食欲异常、胃肠动力性疾病及炎症性肠病的发生机制提供了理论依据。

## 4 参考文献

- 1 Djärv T, Wikman A, Nordenstedt H, Johar A, Lagergren J, Lagergren P. Physical activity, obesity and gastroesophageal reflux disease in the general population. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3710-3714 [PMID: 22851863 DOI: 10.3748/wjg.v18.i28.371]
- 2 Chin CC, Kuo YH, Yeh CY, Chen JS, Tang R, Changchien CR, Wang JY, Huang WS. Role of body mass index in colon cancer patients in Taiwan. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4191-4198 [PMID: 22919253 DOI: 10.3748/wjg.v18.i31.4191]
- 3 Atabek ME. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome in obese children. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4445-4446 [PMID: 22110273 DOI: 10.3748/wjg.v17.i39.4445]
- 4 Kim MC, Kim CS, Chung TH, Park HO, Yoo CI. Metabolic syndrome, lifestyle risk factors, and distal colon adenoma: a retrospective cohort study. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4031-4037 [PMID: 22046093 DOI: 10.3748/wjg.v17.i35.4031]
- 5 Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006; 443: 709-712 [PMID: 17036007 DOI: 10.1038/nature05162]
- 6 Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T, Taché Y, Sachs G, Lambrecht NW. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 2009; 150: 232-238 [PMID: 18818289 DOI: 10.1210/en.2008-0747]
- 7 Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, Lin L, Shi RH, Chen JD, Oomura Y. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1735-1741 [PMID: 20380005 DOI: 10.3748/wjg.v16.i14.1735]
- 8 Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE, Tripathi G, Hallschmid M, Patel S, Kern W, Hillhouse EW, Lehnert H, Tan BK, Rande HS. Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology* 2010; 151: 3169-3180 [PMID: 20427481 DOI: 10.1210/en.2009-1358]
- 9 Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K, Nakata M, Yamamoto S, Yoshida N, Eguchi H, Kato I, Inoue K, Satoh T, Okada S, Yamada M, Yada T, Mori M. Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology* 2009; 150: 662-671 [PMID: 19176321 DOI: 10.1210/en.2008-0598]
- 10 Atsuchi K, Asakawa A, Ushikai M, Ataka K, Tsai M, Koyama K, Sato Y, Kato I, Fujimiya M, Inui A. Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *Neuroreport* 2010; 21: 1008-1011 [PMID: 20827224 DOI: 10.1097/WNR.0b013e32833f7b96]
- 11 王百惠, 田字彬, 孙桂荣, 徐璐, 李娜, 魏良洲, 孔心涓. Nesfatin-1对大鼠胃平滑肌收缩活动及胃排空的影响. *中华消化杂志* 2012; 32: 417-419
- 12 Xia ZF, Fritze DM, Li JY, Chai B, Zhang C, Zhang

## 同行评价

本文的先进性和科学性均好, 结果结论可靠。



- W, Mulholland MW. Nesfatin-1 inhibits gastric acid secretion via a central vagal mechanism in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G570-G577 [PMID: 22723266 DOI: 10.1152/ajpgi.00178.2012.]
- 13 咎玉玺, 王天云, 董卫华, 赵长安. 高脂饲料诱发大鼠肥胖模型的实验研究. *现代预防医学* 2008; 35: 3131-3132
  - 14 Chandler PC, Viana JB, Oswald KD, Wauford PK, Boggiano MM. Feeding response to melanocortin agonist predicts preference for and obesity from a high-fat diet. *Physiol Behav* 2005; 85: 221-230 [PMID: 15893778]
  - 15 Foo KS, Brismar H, Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 2008; 156: 563-579 [PMID: 18761059 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.07.054.]
  - 16 Goebel M, Stengel A, Wang L, Lambrecht NW, Taché Y. Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neurosci Lett* 2009; 452: 241-246 [PMID: 19348732 DOI: 10.1016/j.neulet.2009.01.064.]
  - 17 Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sed-bazar U, Yoshida N, Dezaki K, Onaka T, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus co-express oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology* 2008; 149: 1295-1301 [PMID: 18048495 DOI: 10.1210/en.2007-1276]
  - 18 Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Nakahara T, Ushikai M, Haruta I, Koyama K, Amitani M, Harada T, Yasuhara D, Inui A. Plasma nesfatin-1 concentrations in restricting-type anorexia nervosa. *Peptides* 2011; 32: 150-153 [PMID: 20937336 DOI: 10.1016/j.peptides]
  - 19 Tanaka R, Inui A, Asakawa A, Atsuchi K, Ataka K, Fujimiya M. New method of manometric measurement of gastroduodenal motility in conscious mice: effects of ghrelin and Y2 depletion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G1028-G1034 [PMID: 20501433]
  - 20 李娜, 田字彬, 孙桂荣, 魏良洲, 徐璐, 王百惠, 孔心涓, 丁雪丽, 崔铭娟. Nesfatin-1对肥胖大鼠胃排空及胃平滑肌条收缩性的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 631-637
  - 21 Li Z, Xu G, Li Y, Zhao J, Mulholland MW, Zhang W. mTOR-dependent modulation of gastric nesfatin-1/NUCB2. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29: 493-500 [PMID: 22508056 DOI: 10.1159/000338503.]
  - 22 Pan W, Hsueh H, Kastin AJ. Nesfatin-1 crosses the blood-brain barrier without saturation. *Peptides* 2007; 28: 2223-2228 [PMID: 17950952 DOI: 10.1016/j.peptides.2007.09.005.]
  - 23 Price TO, Samson WK, Niehoff ML, Banks WA. Permeability of the blood-brain barrier to a novel satiety molecule nesfatin-1. *Peptides* 2007; 28: 2372-2381 [PMID: 18006117 DOI: 10.1016/j.peptides.2007.10.008.]
  - 24 Thomson AB, Chopra A, Clandinin MT, Freeman H. Recent advances in small bowel diseases: Part I. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3336-3352 [PMID: 22807604 DOI: 10.3748/wjg.v18.i26.3336.]
  - 25 Bevins CL, Salzman NH. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 356-368 [PMID: 21423246 DOI: 10.1038/nrmicro2546.]
  - 26 Grassia R, Bodini P, Dizioli P, Staiano T, Iiritano E, Bianchi G, Buffoli F. Neuroendocrine carcinomas arising in ulcerative colitis: coincidences or possible correlations? *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4193-4195 [PMID: 19725156]
  - 27 Hodin CM, Verdam FJ, Grootjans J, Rensen SS, Verheyen FK, Dejong CH, Buurman WA, Greve JW, Lenaerts K. Reduced Paneth cell antimicrobial protein levels correlate with activation of the unfolded protein response in the gut of obese individuals. *J Pathol* 2011; 225: 276-284 [PMID: 21630271 DOI: 10.1002/path.2917.]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义

庞霞, 李晟磊, 赵志华, 张红新, 高冬玲

庞霞, 李晟磊, 赵志华, 张红新, 高冬玲, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省肿瘤病理重点实验室 河南省郑州市450052

庞霞, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究.

河南省自然科学基金资助项目, No. 112300413215

作者贡献分布: 此课题由高冬玲与庞霞设计; 研究过程由高冬玲、庞霞、李晟磊、赵志华及张红新操作完成; 研究所用试剂及分析工具由高冬玲提供; 数据分析由高冬玲与庞霞完成; 本文写作由高冬玲与庞霞完成.

通讯作者: 高冬玲, 主任技师, 450052, 河南省郑州市大学路40号, 郑州大学第一附属医院病理科, 河南省肿瘤病理重点实验室. gaodlxq@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-18

接受日期: 2013-01-20 在线出版日期: 2013-02-08

## Clinical significance of expression of TGF- $\beta$ 1, TIEG1 and stathmin proteins in esophageal squamous cell carcinoma

Xia Pang, Sheng-Lei Li, Zhi-Hua Zhao, Hong-Xin Zhang, Dong-Ling Gao

Xia Pang, Sheng-Lei Li, Zhi-Hua Zhao, Hong-Xin Zhang, Dong-Ling Gao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Henan Province, No. 112300413215

Correspondence to: Dong-Ling Gao, Chief Technician, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, 40 Daxue Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. gaodlxq@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-18

Accepted: 2013-01-20 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinical significance of expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), transforming growth factor  $\beta$ -inducible early gene 1 (TIEG1) and stathmin in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of TGF- $\beta$ 1, TIEG1 and stathmin in 62 cases of ESCC, 31 cases of tumor-adjacent atypical hyperplasia epithelium and 62 cases of normal esophageal epithelium.

**RESULTS:** The positive rates of TGF- $\beta$ 1 and TIEG1 proteins in normal esophageal epithelium were significantly higher than those in tumor-adjacent atypical hyperplasia epithelium and ESCC [TGF- $\beta$ 1: 62 (100.0) vs 22 (71.0), 41 (66.1),  $P < 0.05$ ]. The expression of stathmin was also noted in ESCC and tumor-adjacent atypical hyperplasia epithelium, but its expression was not as wide as that of TGF- $\beta$ 1 and TIEG1. In normal esophageal epithelium, the expression of stathmin was not detected. Expression of stathmin in ESCC had a negative correlation with TGF- $\beta$ 1 and TIEG1 expression ( $r = -0.609, -0.459$ , both  $P < 0.05$ ). The expression of TGF- $\beta$ 1, TIEG1 and stathmin proteins was closely correlated with clinical grade and lymph node metastasis in ESCC (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** TGF- $\beta$ 1 and TIEG1 may bind to stathmin, down-regulate stathmin expression and inhibit the metastasis of ESCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Esophageal squamous cell carcinoma; Transforming growth factor- $\beta$ 1; Transforming growth factor- $\beta$ 1 inducible early gene 1; Stathmin (OP18); Infiltration; Metastasis; Immunohistochemistry

Pang X, Li SL, Zhao ZH, Zhang HX, Gao DL. Clinical significance of expression of TGF- $\beta$ 1, TIEG1 and stathmin proteins in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 327-331 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/327.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.327>

## 摘要

**目的:** 探讨转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、早期基因1(transforming growth factor  $\beta$ -inducible early gene 1, TIEG1)和Stathmin蛋白在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中的表达及临床意义.

**方法:** 应用免疫组织化学法检测62例ESCC、31例癌旁不典型增生组织及62例正常食管黏膜组织中TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的

## ■背景资料

食管癌是人类常见的恶性肿瘤之一,我国河南省更为常见.食管癌的发生发展及侵袭转移是一个多因素参与的复杂过程,因此研究食管癌发病及转移机制,并寻找新的治疗靶点具有重要的意义.

## ■同行评议者

樊祥山, 副主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院病理科

## ■研发前沿

迄今为止,国内外尚未见食管癌中转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ )、TIEG1和Stathmin的研究报道,故研究TGF- $\beta 1$ 、早期基因1(TIEG1)和Stathmin蛋白在食管癌中的表达,并分析三者表达的相关性,以期为食管癌分子诊断及临床治疗提供理论依据。

## 表达情况.

**结果:**正常食管黏膜组织中TGF- $\beta 1$ 和TIEG1蛋白表达的阳性率显著高于非典型增生组织和食管癌组织[TGF- $\beta 1$ : 62(100.0%) vs 22(71.0%), 41(66.1%),  $P < 0.05$ ]. 食管鳞癌组织和癌旁不典型增生组织中也检测到Stathmin蛋白表达,但较TGF- $\beta 1$ 和TIEG1表达范围窄. 正常食管黏膜组织中未检测到Stathmin的表达. 进一步统计分析表明Stathmin与TGF- $\beta 1$ 、TIEG1在食管鳞癌的表达呈负相关[TGF- $\beta 1$ :  $r = -0.609$ ,  $r = -0.459$ ; TIEG1:  $P < 0.05$ ];高表达Stathmin的病例中TGF- $\beta 1$ 和TIEG1低表达或不表达. 统计结果还表明TGF- $\beta 1$ 、TIEG1和Stathmin蛋白表达与癌的临床分级及淋巴结转移密切相关( $P < 0.05$ ).

**结论:**TGF- $\beta 1$ 和TIEG1蛋白可能结合Stathmin结合位点,负性调节Stathmin蛋白,抑制食管癌的转移.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:**食管肿瘤;鳞状细胞癌;转化生长因子 $\beta 1$ ;早期基因1;Stathmin(OP18);浸润;转移;免疫组织化学

庞霞, 李晟磊, 赵志华, 张红新, 高冬玲. TGF- $\beta 1$ 、TIEG1和Stathmin蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 327-331 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/327.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.327>

## 0 引言

食管癌是人类常见的恶性肿瘤之一,食管癌的形成是一个复杂的过程,其发生、发展存在着多种途径,包括细胞的增殖、凋亡的抑制、肿瘤基质和肿瘤周围血管的形成等多个方面,而这些方面又受到多种因素的调控,其中细胞因子对肿瘤的作用越来越受到关注<sup>[1]</sup>. 目前的研究显示,转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )能够抑制肿瘤细胞的增殖,但又有促进肿瘤生长和浸润的作用<sup>[2]</sup>. TIEG1为TGF- $\beta$ 诱导的早期反应基因,目前研究者认为TIEG1主要的生物学功能是抑制细胞增殖、诱导凋亡,与TGF- $\beta$ 的诱导相似, TIEG1表达水平的降低与乳腺癌、胃癌和胰腺癌等多种肿瘤的发生、发展有关<sup>[3,4]</sup>. Stathmin为一种高度保守的胞质磷酸蛋白,在多种肿瘤细胞中过表达<sup>[5]</sup>. 另有报道显示, TGF- $\beta$ 和TIEG1可以下调Stathmin的表达<sup>[6]</sup>,提示三者在肿瘤的发生发展中可能具有极其重

要的内在联系. 然而,迄今为止,国内外尚未见食管癌中TGF- $\beta 1$ 、TIEG1和Stathmin的研究报道,本研究通过免疫组织化学技术检测食管癌组织、不典型增生组织和正常食管黏膜组织中TGF- $\beta 1$ 、TIEG1和Stathmin蛋白的表达,并分析三者表达的相关性,以期为食管癌分子诊断及临床治疗提供理论依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集河南省安阳市肿瘤医院2006-02-26/2006-03-16食管癌新鲜切除的手术标本62例,其中男36例,女26例,年龄在38-75岁之间,所有患者术前均无化疗、放疗及免疫治疗史. 62例标本分别在无坏死区癌组织、癌旁3 cm以内及远端正常黏膜组织3处取材,经40 g/L甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,连续切片,切片厚度4-6  $\mu\text{m}$ ,分别用于HE和免疫组织化学染色. 经HE染色病理组织学证实,癌灶组织均证实为鳞状细胞癌. 按WHO分类标准(1996)进行组织学分级:高分化15例,中分化25例,低分化22例. 浸润深度:深肌层55例,浅肌层7例. 伴淋巴结转移者20例,无淋巴结转移者42例. 癌旁组织中31例是不典型增生. 远端正常黏膜组织均为正常食管黏膜. 鼠抗人单克隆抗体TGF- $\beta 1$ 、Stathmin工作液及S-P免疫组织化学试剂盒和DAB显色剂均购自北京中杉金桥生物技术开发公司;兔抗人多克隆抗体TIEG1购自美国Santa Cruz公司,稀释倍数为1:300.

**1.2 方法** 采用SP法, DAB显色,苏木素复染. 详细步骤严格按S-P试剂盒说明操作,每批染色均用试剂公司提供的TGF- $\beta 1$ 、TIEG1和Stathmin阳性切片作为阳性对照;用PBS代替一抗作为阴性对照. 由两位病理医师对食管鳞癌、癌旁不典型增生及正常食管黏膜切片进行观察. 每张切片随机取5个( $\times 400$ )高倍视野,每个视野观察细胞数不少于100个. (1)按切片中TGF- $\beta 1$ 、TIEG1和Stathmin染色程度评分:0分,基本不着色;1分,着色呈浅黄色;2分,着色呈棕黄色;3分,着色呈棕褐色; (2)按TGF- $\beta$ 、TIEG1和Stathmin阳性细胞数占同类细胞数的百分比,  $< 30\%$ 为1分,  $30\% - 70\%$ 为2分,  $> 70\%$ 为3分; (3)阳性结果判断:取(1)、(2)两项评分的乘积作为总积分, 0-1分为阴性(-),  $\geq 2$ 分为阳性(+)<sup>[7]</sup>.

**统计学处理** 应用SPSS11.0统计学软件进行数据分析,阳性率的比较采用 $\chi^2$ 检验,相关性检验用Spearman相关分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ .

## ■相关报道

TGF- $\beta 1$ 具有双重性,扮演着肿瘤抑制基因和癌基因的双重角色. TIEG1为TGF- $\beta$ 诱导的早期反应基因,目前研究者认为TIEG1表达水平的降低与乳腺癌、胃癌和胰腺癌等多种肿瘤的发生、发展有关. Stathmin为一种高度保守的胞质磷酸蛋白,在多种肿瘤细胞中过表达.



表 1 食管鳞癌组织、非典型增生及正常黏膜组织中TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白表达  $n(\%)$ 

组织类型	$n$	TGF- $\beta$ 1	$\chi^2$ 值	$P$ 值	TIEG1	$\chi^2$ 值	$P$ 值	Stathmin	$\chi^2$ 值	$P$ 值
正常黏膜上皮	62	62(100.0)			62(100.0)			0(0.0)		
非典型增生	31	22(71.0)	35.578	0.000	19(61.3)	32.593	0.000	5(16.1)	45.550	0.000
鳞癌	62	41(66.1)			48(77.4)			27(43.5)		

表 2 食管癌组织中TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的表达与临床病理学特征的关系  $n(\%)$ 

病理学指标	$n$	TGF- $\beta$ 1	$\chi^2$ 值	$P$ 值	TIEG1	$\chi^2$ 值	$P$ 值	Stathmin	$\chi^2$ 值	$P$ 值
组织学分级										
高分化	15	13(86.7)			14(93.3)			4(26.7)		
中分化	25	18(72.0)	7.638	0.022	19(76.0)	15.639	0.000	8(32.0)	8.653	0.013
低分化	22	10(45.5)			8(36.4)			15(68.2)		
浸润深度										
浅层	7	4(57.1)	0.012	0.913	5(71.4)	0.000	1.000	2(28.6)	0.197	0.657
深层	55	37(67.3)			43(78.2)			25(45.5)		
淋巴结转移										
无	42	32(76.2)	4.574	0.032	38(90.5)	10.487	0.001	12(28.6)	10.066	0.002
有	20	9(45.0)			10(50.0)			15(75.0)		

## 2 结果

**2.1 TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白在食管上皮不同病变中的表达** TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白阳性表达主要位于细胞胞质及胞膜上,呈浅黄色至深黄色(图1A-D)。TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白在正常黏膜组织中棘细胞层表达最强,基底细胞层呈低表达;而在食管癌组织中,TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白在高分化的癌细胞中着色明显。正常食管组织中TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白的表达率高于不典型增生和食管癌的表达率,3组间比较,差异均具有统计学意义(均 $P<0.05$ ,表1)。此外,Stathmin蛋白阳性表达主要位于肿瘤细胞的胞质内,呈棕黄色颗粒(图1E、F)。Stathmin蛋白在食管癌组织中的表达率显著高于不典型增生组织和正常黏膜组织,3组间比较,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ,表1)。

**2.2 TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白表达与食管癌临床病理学特征的关系** 利用SPSS10.0软件分析TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的表达与食管癌临床病理参数之间的关系,结果表明,TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的表达与食管癌的分化程度及淋巴结转移之间均有显著的相关性(均 $P<0.05$ ,表2),提示TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白可能与食管癌的发生发展关系密切。

**2.3 食管癌组织中TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白表达的相关性** TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白表达的相关性结果显示,高表达Stathmin的病

例中TGF- $\beta$ 1和TIEG1低表达或不表达。Stathmin蛋白表达与TGF- $\beta$ 1及TIEG1蛋白表达呈负相关关系,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ,表3)。

## 3 讨论

TGF- $\beta$ 是由2个结构相同或相近多肽生长因子,TGF- $\beta$ 主要通过受体介导的Smad蛋白激活来调控下游基因转录,发挥细胞的增殖和分化及肿瘤发生与进展等生物学功能<sup>[8,9]</sup>。TGF- $\beta$ 诱导的早期反应基因(TGF- $\beta$  inducible early gene, TIEG)最早从人成骨细胞中得到的<sup>[10]</sup>,TIEG1具有Sp1样蛋白家族的典型特征,羧基末端有3个锌指DNA结合元件,能够直接调控其他基因的启动子中富含GC的DNA序列(Sp1样结合位点),从而参与细胞增殖、凋亡、分化和肿瘤形成<sup>[11]</sup>。很多研究者表明,TIEG1基因过表达可以促进TGF- $\beta$ 1诱导Smad2的磷酸化,抑制Smad7基因表达水平,在肿瘤的发生发展中起重要的作用<sup>[12]</sup>。Stathmin(又称OP18)是一种高度保守的细胞内磷酸化蛋白,存在多个Sp1结合位点,并受TIEG1基因直接调控,由于其特有解聚活性,在细胞的增殖和分化及肿瘤发生中有十分重要的作用<sup>[13]</sup>。Stathmin基因在多种恶性肿瘤中高度表达,如白血病、神经胶质瘤、淋巴瘤、前列腺癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、骨肉瘤及消化系统恶性肿瘤<sup>[14-16]</sup>。以上研究提示:TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白

### ■创新盘点

本文首次应用免疫组织化学SP法检测62例ESCC、31例癌旁不典型增生组织及62例正常食管黏膜组织中TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的表达,探讨三者食管癌的发生发展及浸润转移中的作用机制。

## ■应用要点

TGF- $\beta$ 1和TIEG1基因可能结合Stathmin结合位点, 负性调节Stathmin基因, 抑制食管癌增殖. 本实验结果可能为探讨食管癌发病机制, 寻找新的治疗靶点提供了实验依据.

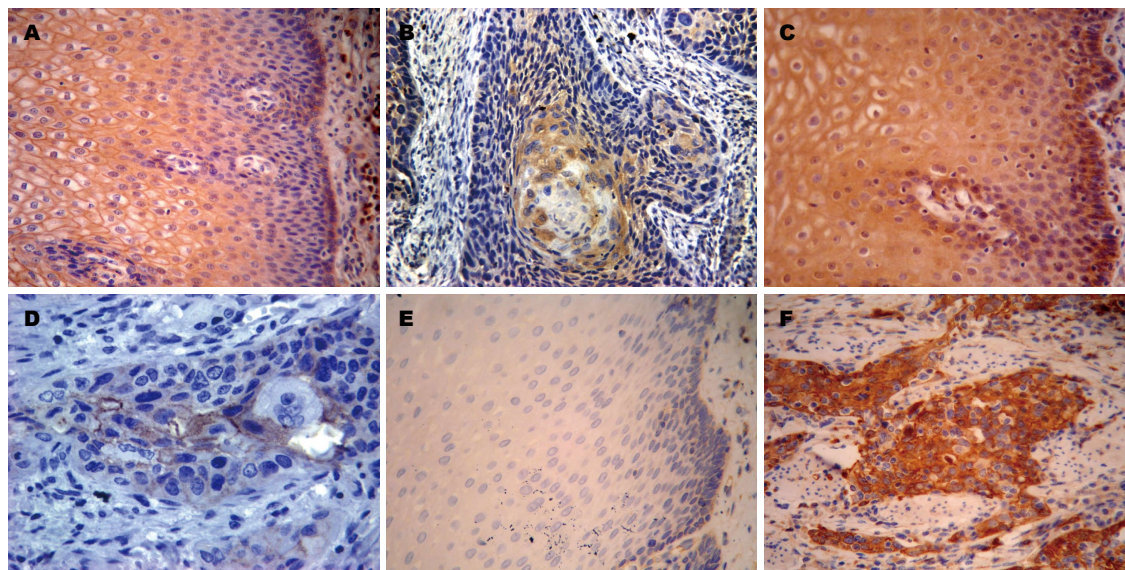


图1 正常食管黏膜及癌组织中TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的表达(SP  $\times$  200). A, B: TGF- $\beta$ 1; C, D: TIEG1; E, F: Stathmin.

表3 食管鳞癌组织中Stathmin与TGF- $\beta$ 1及TIEG1蛋白表达的相关性分析 ( $n$ )

指标	$n$	TGF- $\beta$ 1		$\chi^2$ 值	$P$ 值	TIEG1		$\chi^2$ 值	$P$ 值
		+	-			+	-		
Stathmin									
+	27	9	18	-0.609	0.000	15	12	-0.459	0.000
-	35	32	3			33	2		

的联合检测可能在肿瘤细胞中具有重要的价值.

目前在食管癌研究中, 王辉等<sup>[17]</sup>报道, 48例食管癌病例中仅发现有30例TGF- $\beta$ 1基因的高表达, 而10例正常黏膜组织中都表达; 此外王峰等<sup>[18]</sup>对Stathmin的研究发现, 在75例食管癌患者中Stathmin的表达阳性率为81.3%, 明显高于正常食管黏膜组织; 结果还显示, Stathmin表达与食管癌的分化程度、浸润深度及淋巴结转移均密切相关; 并且研究发现TIEG1表达低与乳腺癌、胃癌和胰腺癌等多种肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[3,4]</sup>. 然而这些研究尚未同时在食管癌中检测TGF- $\beta$ 1、TIEG1和Stathmin蛋白的表达及分析三者可能的关系. 在本实验中发现正常食管黏膜中TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白表达均显著高于癌旁及食管癌, 具有显著性差异(均 $P = 0.000$ ). 提示高表达TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白可能是抑制肿瘤增殖, Stathmin蛋白在食管癌组织中的阳性率为43.5%, 明显高于不典型增生组织和正常黏膜组织中的阳性率(分别为16.1%、0%)( $\chi^2 = 45.550$ ,  $P = 0.000$ ), 提示Stathmin蛋白在食管癌的发生发展中起重要的作用. Jiang等<sup>[6]</sup>利用染色质免疫共沉淀实验发现: TIEG1可能直接结合

Stathmin启动子的Spl样DNA结合位点, 抑制启动子活性, 下调Stathmin的表达. 我们进一步经相关分析表明, 高表达Stathmin的病例中TGF- $\beta$ 1和TIEG1低表达或不表达. Stathmin与TGF- $\beta$ 1和TIEG1蛋白表达均呈负相关关系, 我们假设: TGF- $\beta$ 1和TIEG1基因可能结合Stathmin启动子的Spl样DNA结合位点, 抑制启动子活性, 从而负性调节Stathmin基因, 抑制肿瘤增殖. 此外, 我们进一步分析TGF- $\beta$ 1、TIEG1及Stathmin蛋白的表达与临床病理学参数之间的关系, 发现TGF- $\beta$ 1、TIEG1及Stathmin蛋白与食管癌的分化程度及淋巴结转移之间均有显著的相关性(均 $P < 0.05$ ), 提示TGF- $\beta$ 1、TIEG1及Stathmin蛋白的表达可能与食管癌的浸润转移关系密切.

总之, 肿瘤的发生发展及侵袭转移是一个多因素参与的复杂过程. 本实验研究了TGF- $\beta$ 1、TIEG1及Stathmin蛋白在食管癌中的表达并探讨了三者之间的相关性. 结果提示, TGF- $\beta$ 1、TIEG1及Stathmin蛋白在食管癌的发生发展及转移中起重要的作用, TGF- $\beta$ 1和TIEG1基因可能结合Stathmin结合位点, 负性调节Stathmin基因, 抑制食管癌增殖. 本实验结果可能为探讨食管癌

发病机制, 寻找新的治疗靶点提供实验依据。

#### 4 参考文献

- 1 Lu TY, Li WC, Chen RY, Fan QX, Wang LX, Wang RL, Lu SX, Meng H. Inhibition effects of all trans-retinoic acid on the growth and angiogenesis of esophageal squamous cell carcinoma in nude mice. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 2708-2714 [PMID: 22040429]
- 2 Miyazono K. Molecular mechanisms of transforming growth factor- $\beta$  signaling and disease: The 59th Fujihara International Seminar, 2010. *Cancer Sci* 2011; 102: 1242-1244 [PMID: 21595800 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01806.x]
- 3 Jin W, Chen BB, Li JY, Zhu H, Huang M, Gu SM, Wang QQ, Chen JY, Yu S, Wu J, Shao ZM. TIEG1 inhibits breast cancer invasion and metastasis by inhibition of epidermal growth factor receptor (EGFR) transcription and the EGFR signaling pathway. *Mol Cell Biol* 2012; 32: 50-63 [PMID: 22025675 DOI: 10.1128/MCB.06152-11]
- 4 Antonello D, Moore PS, Zamboni G, Falconi M, Scarpa A. Absence of mutations in the transforming growth factor-beta inducible early gene 1, TIEG1, in pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2002; 183: 179-183 [PMID: 12065093 DOI: 10.1016/S0304-3835(01)00802-3]
- 5 Wang F, Wang LX, He W, Li K, Wang RL, Zhao PR, Fan QX. [Up-regulation of stathmin induces growth arrest of esophageal squamous cell carcinoma EC9706 cell]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2010; 90: 2140-2144 [PMID: 21029632]
- 6 Jiang L, Chen Y, Chan CY, Wang X, Lin L, He ML, Lin MC, Yew DT, Sung JJ, Li JC, Kung HF. Down-regulation of stathmin is required for TGF-beta inducible early gene 1 induced growth inhibition of pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2009; 274: 101-108 [PMID: 18930345 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.09.017]
- 7 陈明勇, 庞霞, 郑湘予, 李晨磊, 赵志华, 张红新, 陈奎生. VEGF-C、VEGFR-3、CD105及CD68蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 578-583
- 8 Watabe T, Miyazono K. Roles of TGF-beta family signaling in stem cell renewal and differentiation. *Cell Res* 2009; 19: 103-115 [PMID: 19114993 DOI: 10.1038/cr.2008.323]
- 9 Kitisin K, Saha T, Blake T, Golestaneh N, Deng M, Kim C, Tang Y, Shetty K, Mishra B, Mishra L. Tgf-Beta signaling in development. *Sci STKE* 2007; 2007: cm1 [PMID: 17699101]
- 10 Subramaniam M, Harris SA, Oursler MJ, Rasmussen K, Riggs BL, Spelsberg TC. Identification of a novel TGF-beta-regulated gene encoding a putative zinc finger protein in human osteoblasts. *Nucleic Acids Res* 1995; 23: 4907-4912 [PMID: 8532536 DOI: 10.1093/nar/23.23.4907]
- 11 Subramaniam M, Hawse JR, Johnsen SA, Spelsberg TC. Role of TIEG1 in biological processes and disease states. *J Cell Biochem* 2007; 102: 539-548 [PMID: 17729309 DOI: 10.1002/jcb.21492]
- 12 Johnsen SA, Subramaniam M, Janknecht R, Spelsberg TC. TGFbeta inducible early gene enhances TGFbeta/Smad-dependent transcriptional responses. *Oncogene* 2002; 21: 5783-5790 [PMID: 12173049 DOI: 10.1038/sj.onc.1205681]
- 13 Missimer JH, Steinmetz MO, van Gunsteren WF, Dolenc J. Influence of 63Ser phosphorylation and dephosphorylation on the structure of the stathmin helical nucleation sequence: a molecular dynamics study. *Biochemistry* 2012; 51: 8455-8463 [PMID: 22978582 DOI: 10.1021/bi300885y]
- 14 Baquero MT, Hanna JA, Neumeister V, Cheng H, Molinaro AM, Harris LN, Rimm DL. Stathmin expression and its relationship to microtubule-associated protein tau and outcome in breast cancer. *Cancer* 2012; 118: 4660-4669 [PMID: 22359235 DOI: 10.1002/cncr.27453]
- 15 Singer S, Malz M, Herpel E, Warth A, Bissinger M, Keith M, Muley T, Meister M, Hoffmann H, Penzel R, Gdynia G, Ehemann V, Schnabel PA, Kuner R, Huber P, Schirmacher P, Breuhahn K. Coordinated expression of stathmin family members by far upstream sequence element-binding protein-1 increases motility in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 2234-2243 [PMID: 19258502 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3338]
- 16 Ghosh R, Gu G, Tillman E, Yuan J, Wang Y, Fazli L, Rennie PS, Kasper S. Increased expression and differential phosphorylation of stathmin may promote prostate cancer progression. *Prostate* 2007; 67: 1038-1052 [PMID: 17455228 DOI: 10.1002/pros.20601]
- 17 王辉, 刘会英, 齐凤英. TGF- $\beta$ 1、p15在食管鳞癌中的表达及其生物学意义. *山东医药* 2006; 46: 4-6
- 18 王峰, 王留兴, 何伟, 朱利楠, 赵培荣, 樊青霞. Stathmin基因在食管鳞癌中的表达及生物学意义. *南方医科大学学报* 2010; 30: 1552-1557

#### 同行评价

本文为探讨食管癌发病机制, 寻找新的治疗靶点提供了重要的参考价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利





## 表皮生长因子及其受体在糜烂胃黏膜中的表达

郝正魁, 刘希双, 王秀娟

### ■背景资料

慢性萎缩性胃炎及胃黏膜糜烂是一种常见的病理现象, 既往研究大多以胃酸、胃蛋白酶等损伤因素较多, 近年来关于表皮生长因子(EGF)及其受体(EGFR)与胃黏膜病变关系受到重视, EGF及EGFR在维护胃黏膜完整性、促进组织修复、防止损伤因子侵袭中起着重要作用。

郝正魁, 刘希双, 青岛大学医学院附属医院内镜诊治科 山东省青岛市 266003

王秀娟, 青岛市第八人民医院消化内科 山东省青岛市 266100

郝正魁, 硕士, 主要从事消化内镜诊治技术工作。

青岛市公共领域科技支撑计划基金资助项目, No. 2012-1-3-2-(3)-nsh

作者贡献分布: 刘希双设计及组织课题; 郝正魁负责病例收集、实验及论文撰写; 刘希双指导论文撰写; 王秀娟协助实验与论文撰写。

通讯作者: 刘希双, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院内镜诊治科。

liuxishuang1@sina.com

电话: 0532-82911525

收稿日期: 2012-11-21 修回日期: 2013-01-06

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

### Expression of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in gastric mucosal erosion

Zheng-Kui Hao, Xi-Shuang Liu, Xiu-Juan Wang

Zheng-Kui Hao, Xi-Shuang Liu, Department of Endoscopy, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China  
Xiu-Juan Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Eighth People's Hospital, Qingdao 266100, Shandong Province, China

Supported by: the Public Science and Technology Program of Qingdao, No. 2012-1-3-2-(3)-nsh

Correspondence to: Xi-Shuang Liu, Professor, Department of Endoscopy, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. liuxishuang1@sina.com

Received: 2012-11-21 Revised: 2013-01-06

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

### Abstract

**AIM:** To detect the expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in antral mucosal erosion, erosion-adjacent gastric mucosa and chronic atrophic gastritis (CAG) and to analyze their significance in the repair of damaged gastric mucosa.

**METHODS:** The expression of EGF and EGFR was detected by immunohistochemistry in 50 cases of CAG with antral mucosal erosion, 40 cases of gastric mucosa 3 cm from mucosal erosion and 40 cases of CAG without mucosal erosion.

**RESULTS:** The positive rates of EGF and EGFR expression in the antral mucosal erosion were 40% and 30%, respectively, which were significantly higher than those in erosion-adjacent gastric mucosa (15%, 10%) and CAG without mucosal erosion (20%, 12.5%) (all  $P < 0.05$ ). There was no statistical significance in the positive rates of EGF and EGFR expression between erosion-adjacent gastric mucosa and CAG without mucosal erosion.

**CONCLUSION:** High expression of EGF and EGFR in damaged gastric mucosa may be important for the repair of gastric mucosa.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Epidermal growth factor; Epidermal growth factor receptor; Gastric mucosa erosion; Chronic atrophic gastritis

Hao ZK, Liu XS, Wang XJ. Expression of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in gastric mucosal erosion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 332-335 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/332.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.332>

### 摘要

**目的:** 观察胃窦黏膜糜烂区与糜烂旁胃黏膜、慢性萎缩性胃炎中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及其受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的表达, 探讨其在胃黏膜损伤修复中的意义。

**方法:** 选择经胃镜及病理确诊的慢性萎缩性胃炎伴胃窦黏膜糜烂患者50例, 距糜烂区3 cm处40例, 无糜烂慢性萎缩性胃炎40例, 采用免疫组织化学染色法测EGF及EGFR的表达。

**结果:** 胃窦黏膜糜烂区EGF、EGFR阳性表达率分别为40%和30%, 明显高于糜烂旁胃黏膜15%和10%及无糜烂慢性萎缩性胃炎20%和12.5%的阳性表达率( $P < 0.05$ ), 有统计学意义, 无糜烂慢性萎缩性胃炎组略高于糜烂旁胃黏膜组, 但无统计学差异。

**结论:** EGF、EGFR在胃黏膜损伤后高表达, 对

### ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

促进胃黏膜修复有着重要意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 表皮生长因子; 表皮生长因子受体; 胃黏膜糜烂; 慢性萎缩性胃炎

郝正魁, 刘希双, 王秀娟. 表皮生长因子及其受体在糜烂胃黏膜中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 332-335 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/332.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.332>

## 0 引言

胃黏膜糜烂是慢性胃炎和胃黏膜损伤的一种常见病理现象, 由外界侵袭因素与胃黏膜自身防御因素失衡导致胃黏膜损伤, 病变深度未超出黏膜肌层。既往研究多以胃酸、胃蛋白酶、胆汁反流、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)等侵袭因素较多, 当胃黏膜防御机制下降时, 上述攻击因子便破坏黏膜保护屏障, 造成胃黏膜损伤。近年来随着消化系免疫作为维护消化系防御系统的提出, 尤其是细胞因子在胃肠道黏膜损伤、发展、修复过程中的作用更受到重视。其中表皮生长因子及其受体与胃黏膜病变关系密切, 研究证实其具有细胞保护、促进组织修复、保护黏膜完整性防御外界损伤因子侵袭、促进溃疡愈合方面起着重要作用<sup>[1,2]</sup>, 既往研究以动物实验为主, 人类活体研究较少。本研究旨在通过观察表皮生长因子及其受体在人活体胃窦黏膜糜烂区与糜烂旁胃黏膜、无糜烂慢性萎缩性胃炎之间表达的差异, 进而探讨其在胃黏膜损伤修复中的意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2011-11/2012-06经我院内镜诊治科胃镜下及病理确诊的50例慢性萎缩性胃炎伴胃窦黏膜多发糜烂患者为实验组, 40例无糜烂慢性萎缩性胃炎患者为对照组, 年龄40-60岁, 无胃癌、胃溃疡、胃大部切除、肝硬化、妊娠等其他并发症, 近1 mo不服用其他治疗胃病药物及其他疾病的药物。病程3 mo-10年不等。免疫组织化学染色试剂盒、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)兔抗人单克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司), 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)兔抗人单克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色方法:** 在胃镜直视下于胃窦黏膜糜烂处取活检组织2-3块, 远离糜烂区3 cm

以上非糜烂区胃窦黏膜组织2-3块, 萎缩性胃炎胃窦黏膜组织2-3块, 10%甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 连续切片, 厚度2  $\mu$ m, 切片进行HE染色及PV6000二步法免疫组织化学染色, 免疫组织化学染色方法及步骤严格按照试剂盒说明进行, 以PBS代替一抗作阴性对照。所有切片在同一实验室、用同一技术、同一批号试剂由经验丰富的技师分批完成。

**1.2.2 评判标准:** 以细胞染色程度及范围做以下评分<sup>[3,4]</sup>: (1)染色程度: 无着色为0分, 细胞浅着色为1分, 深着色为2分; (2)染色范围 切片中阳性细胞着色范围无着色为0分, 着色细胞<1/3为1分, 1/3-2/3为2分, >2/3为3分。两项得分之和 $\geq 3$ 为阳性。

**统计学处理** 采用统计学软件SPSS17.0数据包进行数据分析, EGF和EGFR表达阳性率采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 EGF、EGFR的表达** EGF阳性表达主要表达于黏液细胞及部分壁细胞胞浆中, 部分腺腔有阳性表达。EGFR主要表达于胞浆和胞膜, 以胞膜为主, 部分腺腔有着色。EGF、EGFR在糜烂组胃黏膜中的着色较糜烂旁胃黏膜组及萎缩性胃炎组颜色深(图1)。

**2.2 各组中EGF、EGFR的表达** 糜烂组胃黏膜EGF、EGFR阳性表达率均显著高于糜烂旁及萎缩性胃炎组, 具有统计学意义( $P < 0.05$ , 表1), 萎缩性胃炎EGF、EGFR阳性表达率高于糜烂旁胃黏膜组, 但两者无统计学差异。

## 3 讨论

EGF是一种由53个氨基酸组成的重要的生物活性肽, 由美国著名生物学家Cohen在雌小鼠颌下腺分离出的一种蛋白质, 该因子广泛分布于消化系内, 主要由颌下腺、唾液腺、十二指肠腺分泌<sup>[5]</sup>。EGFR是一种属于酪氨酸蛋白激酶家族的细胞表面受体, 含有1 186个氨基酸残基, 是原癌基因C-erbB的蛋白产物, 分子量为170 kDa, 对EGF具有高度亲和性, 分布于包括胃肠道上皮在内的多种上皮细胞的细胞膜上, 其结构分细胞外区、跨膜区和细胞内区3部分<sup>[6,7]</sup>。EGFR是EGF的特异性受体, 两者结合后产生持续分裂信号转导到细胞内, 引起细胞的代谢、增殖、分化、黏附、迁移等生命现象, 并能抑制胃酸分泌和促进组织、细胞内DNA和RNA以及蛋白质的合成, 在促进胃黏膜修复、保护胃肠道黏膜免受外界攻击因子破坏、维

### ■研究前沿

EGF及EGFR具有广泛的生物学活性。目前的研究大多数集中在其在消化系统肿瘤、溃疡中的表达, 在萎缩性胃炎亦有研究, 并且其在萎缩性胃炎黏膜中过度表达可导致黏膜过度增殖, 从而引起细胞异型性改变导致胃癌的发生。关于这一点众多学者说法不一, 为目前研究热点。胃黏膜糜烂长期不愈合, 是否会进一步癌变, 有待进一步研究。



## ■应用要点

本研究示EGF及EGFR在胃黏膜损伤的修复过程中起着重要作用,在以后药物研发领域,可以研发EGF类似物,在临床治疗胃黏膜损伤时即可以在胃镜直视下喷洒或局部注射也可以静脉应用,从而更好的治疗胃黏膜损伤。

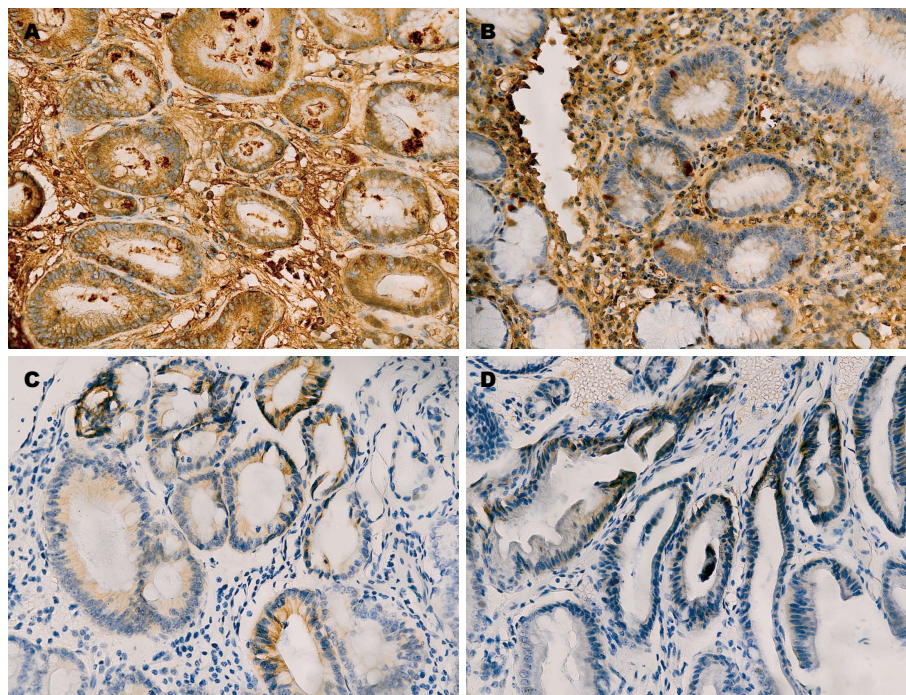


图1 表皮生长因子及其受体免疫组织化学染色结果( $\times 200$ )。A, C: 糜烂胃黏膜; B, D: 糜烂旁胃黏膜。

表1 EGF和EGFR在3组中的阳性表达率比较  $n(\%)$

分组	$n$	EGF		EGFR	
		+	-	+	-
糜烂胃黏膜组	50	20(40)	30	15(30)	35
糜烂旁胃黏膜组	40	6(15)	34	4(10)	36
萎缩性胃炎组	40	8(20)	32	5(12.5)	35
合计	130	34	96	24	106

EGF: 表皮生长因子; EGFR: 表皮生长因子受体。

护胃肠道黏膜完整性方面起着重要作用<sup>[5-9]</sup>。

胃黏膜糜烂与胃溃疡发病及病理特点既有相似性,又各有特点。胃黏膜糜烂长期不愈合,或愈合糜烂交替发生,治疗效果差;而胃溃疡的治疗效果相对较好。研究证实,在胃溃疡的愈合过程中EGF、EGFR起着重要作用,实验证实<sup>[10]</sup>小鼠胃溃疡发生的2-4 d,即有EGF mRNA表达,4 d后EGF呈过度表达。动物实验显示<sup>[11]</sup>大鼠造模3 d胃溃疡形成时,溃疡边缘组织EGF与EGFR的表达明显高于正常组织,6、9、14、21 d阳性细胞表达逐渐增加,28 d阳性细胞数少于21 d,溃疡完全愈合时则下降。资料表明<sup>[12]</sup>,切除颌下腺的大鼠,胃液中EGF含量明显下降,胃黏膜易受到致溃疡因子侵袭,大鼠胃溃疡愈合明显减慢,给予外源性EGF后溃疡愈合速度加快。据报道<sup>[13]</sup>给予外源性EGF能促进胃肠道黏膜生长,鼠皮下微量泵注射EGF后,观察胃十二指肠黏膜增厚,绒毛高度增高。*H. pylori*是胃黏膜损伤的独立因

素,近年来研究<sup>[14,15]</sup>显示*H. pylori*能抑制EGF的分泌,根除*H. pylori*后,血中EGF含量增加,另外*H. pylori* (+)的患者胃窦黏膜的EGF含量明显高于*H. pylori* (-)的患者。胃黏膜损伤后细胞基底膜上的EGFR暴露,腔内的EGF与EGFR结合发挥效应,损伤局部开始修<sup>[16]</sup>。另外动物实验发现<sup>[17]</sup>在大鼠皮肤损伤后早中期EGF与EGFR表达逐渐升高,创面愈合后表达降低,EGF与EGFR在皮肤创伤修复中亦起着重要作用。既往研究证实<sup>[18]</sup>EGF能减轻乙醇对胃黏膜的损伤,外源性EGF对胃黏膜的保护作用,可能通过增加胃黏膜血流量促进黏液分泌保护胃黏膜的。Shimamoto等<sup>[19]</sup>研究发现EGF能促进荷兰猪胃黏膜的黏蛋白及PGF的合成,预先给予EGF处理可防止乙醇对胃黏膜的损伤。近年来发现<sup>[20,21]</sup>许多药物治疗胃溃疡的作用机制可能是通过激活EGF、EGFR系统或促进其表达,从而促进上皮修复、溃疡愈合。由此可得出黏膜损伤后EGF与EGFR表达均增加,无论内源性还是外



源性EGF对保护胃黏膜, 促进黏膜损伤修复均起着重要作用. 本研究显示, EGF与EGFR在糜烂组呈阳性表达, 阳性表达率均明显高于糜烂旁黏膜组及萎缩性胃炎组, 糜烂旁黏膜及萎缩性胃炎组亦有阳性表达, 但两组无统计学意义. 由此推测胃黏膜损伤后通过机体的调节, EGF与EGFR的表达均增加, EGF与EGFR结合促进局部胃黏膜细胞的再生、增殖、分化, 进而促进损伤黏膜修复, 在维护胃黏膜的完整性起着重要作用, 此与以往研究报道一致. 另外本研究亦显示, 不同病变的胃黏膜, EGF与EGFR表达各不相同, 同一机体不同病理状态下的胃黏膜中的表达也具有差异性, 且随着黏膜损伤程度加重, 表达逐步增加.

慢性萎缩性胃炎目前已被列为胃癌的癌前病变之一, 特别是其伴有肠上皮化生或不典型增生时, 更与胃癌的发生关系密切. EGF与EGFR结合可促进黏膜上皮增值, 促进DNA和RNA以及蛋白质的合成, EGF与EGFR的正常表达在慢性萎缩性胃炎及胃溃疡愈合过程中起重要作用. 一旦其过度表达, 可促进细胞过度增殖, 向恶性程度发展. 已有研究证实<sup>[3,22]</sup>EGF与EGFR在慢性萎缩性胃炎伴肠上皮化生及不典型增生中的表达明显高于单纯性慢性萎缩性胃炎, 差别具有统计学意义, 与慢性浅表性胃炎相比EGF与EGFR在慢性萎缩性胃炎中的表达有所增加, 但两者无统计学差异. 既往研究已发现EGF及EGFR的表达与胃癌的生物学行为有一定的相关性, 在胃癌组织中呈高表达. 本研究显示, EGF与EGFR在糜烂胃黏膜组高表达, 显著高于其他两组, 在损伤因素不解除情况下, 胃黏膜糜烂面持续存在, 长期不愈合, 愈合后易复发, EGF及EGFR处于持续高表达状态, 促进细胞不断增殖、分化, 胃黏膜增殖到一定程度是否可发生癌变, 胃黏膜糜烂与胃癌的发生是否具有相关性, 需对患者进一步密切随访动态观察胃黏膜糜烂发展变化, 因此胃黏膜糜烂及慢性萎缩性胃炎的EGF及EGFR的表达应给予高度重视, 对胃黏膜糜烂患者病情随访亦有必要.

#### 4 参考文献

- 1 陈圣兴, 李邦库, 胡乃中, 刘功传. 慢性浅表性胃炎和消化性溃疡患者人表皮生长因子含量的检测意义初探. 临床消化病杂志 2000; 12: 166-167
- 2 叶盛英, 王世玲. 表皮生长因子在消化性溃疡应用方面研究进展. 中国医院药学杂志 2002; 22: 622-623
- 3 孙永红, 孙良华, 黄文波, 乔艳春, 张圆圆. 慢性萎缩性

- 胃炎患者胃黏膜上皮细胞中PCNA、EGF、VEGF的表达及意义. 山东医药 2008; 48: 4-6
- 4 Shimizu M, Saitoh Y, Itoh H. Immunohistochemical staining of Ha-ras oncogene product in normal, benign, and malignant human pancreatic tissues. *Hum Pathol* 1990; 21: 607-612 [PMID: 2161789]
- 5 梅彦, 姒健敏. 表皮生长因子与慢性萎缩性胃炎研究进展. 国外医学·消化系疾病分册 2005; 25: 149-151
- 6 Mendelsohn J. Targeting the epidermal growth factor receptor for cancer therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1S-13S [PMID: 12235219]
- 7 钟艳, 严洁. 表皮生长因子受体与胃黏膜损伤修复的研究进展. 临床研究 2008; 5: 175-177
- 8 Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2958-2970 [PMID: 11595683]
- 9 林寿宁, 张继波, 张建军. 表皮生长因子及其受体与胃溃疡愈合关系. 山西中医 2011; 27: 58-60
- 10 Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ, Ernst H, Drozdowicz D, Pajdo R, Hahn EG. Expression of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha during ulcer healing. Time sequence study. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 6-15 [PMID: 9018760 DOI: 10.3109/00365529709025056]
- 11 刘建平, 卜涛, 白建乐, 侯仙明, 李志更, 韩燕, 宗全和, 陈志强, 牛兵站. EGF、TGF- $\alpha$ 及EGFR在大鼠胃溃疡自愈过程中的表达及意义. 中国药理学通报 2003; 19: 1185-1188
- 12 Tepperman BL, Soper BD. Effect of sialoadenectomy on gastric mucosal integrity and growth in the rat. A time-course study. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 943-949 [PMID: 2166652 DOI: 10.1007/BF01537241]
- 13 Jansen C, Ihse I. Epidermal growth factor induces increased mucosal thickness of the small intestine in mouse. *Eur Surg Res* 1997; 29: 447-454 [PMID: 9405967 DOI: 10.1159/000129556]
- 14 吴杰, 郭秋惠, 李红艳. 消化性溃疡根除幽门螺杆菌前后血中前列腺素E2和表皮生长因子变化的临床研究. 临床消化病杂志 1997; 9: 148-149
- 15 马强, 张方信, 张振书. 幽门螺杆菌相关性胃炎活动性与TNF- $\alpha$ , EGF的相关性. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2190-2192
- 16 何秋兰, 杨拯, 徐艳, 陈建敏, 张晓. 表皮生长因子及其受体在胃溃疡愈合中的作用. 重庆医学 2008; 37: 2239-2242
- 17 陈东明, 牛星燕, 谷庭敏, 王雪. 大鼠皮肤创面愈合过程中内源性EGF、EGFR、TGF $\beta$ 1蛋白和基因的变化. 解剖学杂志 2001; 24: 206-211
- 18 杨春敏, 陈寿波. 表皮生长因子对大鼠胃黏膜的保护作用及机制探讨. 中华消化杂志 1996; 16: 200-203
- 19 Shimamoto C, Hirata I, Umegaki E, Takiuchi H, Hiraike Y, Fujiwara S, Katsu K. Gastric mucosal cell protection by epidermal growth factor in primary monolayer culture of guinea pig gastric mucous cells. *J Gastroenterol* 2003; 38: 727-733 [PMID: 14505125]
- 20 刘建平, 宗全和, 王景然, 韩燕, 李媛媛, 王秀兰, 赵秀丽. 胃喜康对胃溃疡大鼠胃黏膜EGF含量及EGFRmRNA的影响. 中药药理与临床 2004; 20: 30-31
- 21 时昭红, 张介眉, 周慧芳, 杨海芳, 冯云霞, 陈洲. 促愈颗粒对胃溃疡实验大鼠胃黏膜表皮生长因子及其受体表达的影响. 中国中西医结合消化杂志 2007; 15: 25-28
- 22 王莉, 季万胜, 孙良华, 霞爱兰, 高志星, 张红梅. 慢性萎缩性胃炎PCNA、EGFR表达的研究. 潍坊医学院学报 2007; 29: 61-62

#### ■同行评价

本文立意有依据, 研究内容集中, 病例诊断明确, 胃黏膜取材和对照合理, 实验方法规范, 结果可信, 观点明确, 对临床慢性糜烂性胃炎的防治有参考意义.

编辑 翟欢欢 电编 闫晋利



# TIPS术后支架功能障碍的研究现状

梁艳平, 唐映梅, 杨晋辉, 尤丽英

## ■背景资料

经颈静脉肝内门体分流术(TIPS)目前已经成为治疗门脉高压并发症的有效方法,特别是门静脉高压导致的急性食管胃底静脉曲张破裂出血的患者,可以起到立竿见影的止血效果,而维持手术疗效的关键是保持支架通畅。随着手术的日渐成熟和覆膜支架的应用,支架内血栓导致的TIPS功能障碍日益突出,因此术后的抗凝治疗尤为重要。

梁艳平, 唐映梅, 杨晋辉, 尤丽英, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科 云南省肝病中心 云南省昆明市 650101

云南省自然科学基金资助项目, Nos. 2011FB199, 2010CD171

梁艳平, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由梁艳平完成; 唐映梅、杨晋辉及尤丽英审校。

通讯作者: 尤丽英, 主任医师, 650101, 云南省昆明市昆瑞路112号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科云南省肝病中心。 lyp696969@163.com

电话: 0871-5351281-2288

收稿日期: 2012-11-02 修回日期: 2013-01-05

接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-02-08

## Transjugular intrahepatic portosystemic shunt dysfunction

Yan-Ping Liang, Ying-Mei Tang, Jing-Hui Yang, Li-Ying You

Yan-Ping Liang, Ying-Mei Tang, Jing-Hui Yang, Li-Ying You, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Li-Ying You, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 112 Kunrui Road, Kunming 650101, Yunnan Province, China. lyp696969@163.com

Received: 2012-11-02 Revised: 2013-01-05

Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-02-08

## Abstract

Transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) is an effective method for the management of complications of portal hypertension, and it should be considered the first-line treatment for acute hemorrhage due to ruptured esophageal varices caused by portal hypertension. Keeping the stent unobstructed is key to the success of TIPS. Stent thrombosis is one of the main reasons for TIPS dysfunction. There has been no mention of TIPS postoperative anticoagulation in both domestic and foreign anticoagulation guidelines, because the consensus has not been reached yet. This paper reviews recent advances in research of TIPS dysfunction.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Transjugular intrahepatic portosystemic

shunt; Shunt dysfunction; Anticoagulation

Liang YP, Tang YM, Yang JH, You LY. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt dysfunction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 336-340 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/336.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.336>

## 摘要

经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)目前已经成为治疗门脉高压并发症的有效方法,特别是门静脉高压导致的急性食管胃底静脉曲张破裂出血的患者, TIPS应作为一线治疗方案。而维持手术疗效的关键是保持支架通畅。支架内血栓形成是TIPS功能障碍主要原因之一。目前国内外相关的抗凝指南中均未提到TIPS术后抗凝治疗,也没有达成共识。本文就TIPS支架功能障碍作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 经颈静脉肝内门体分流术; 支架功能障碍; 抗凝治疗

梁艳平, 唐映梅, 杨晋辉, 尤丽英. TIPS术后支架功能障碍的研究现状. *世界华人消化杂志* 2013; 21(4): 336-340 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/336.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.336>

## 0 引言

我国是肝病大国,各种肝病最终可能发展为肝硬化甚至肝癌。终末期肝病给患者家庭和社会造成很大的经济负担和社会负担。肝硬化的年发生率17/10万,主要累及20-50岁男性,城市男性50-60岁肝硬化患者的病死率高达112/10万,肝硬化造成门脉高压引起的食管胃底静脉曲张破裂出血是主要死因之一。经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS),目前已经成为治疗门脉高压并发症的有效方法<sup>[1-9]</sup>,特别是门静脉高压导致的急性食管胃底静脉曲张破裂出血的患者优于内镜治疗<sup>[10,11]</sup>, TIPS应作为一线治疗方案<sup>[12]</sup>。而维持

## ■同行评议者

钱林学, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院

手术疗效的关键是保持支架通畅, TIPS术中, 在穿刺过程中对血管造成创伤, 启动凝血机制, 植入的支架为异物等, 血栓形成风险明显增加。支架内血栓形成是TIPS功能障碍主要原因之一, 抗凝治疗是预防和治疗支架内血栓形成的主要方法, 但目前国内外相关的抗凝治疗指南中, 没有明确的提出TIPS术后抗凝方案, 也没有查找到的研究报道。但是随着TIPS术的成熟及推广, 迫切需要对TIPS围手术期及术后患者的抗凝治疗进行研究, 为TIPS患者的抗凝治疗提供更客观的依据。

支架功能障碍是由于TIPS支架或者分流道的闭塞和/或狭窄引起的门静脉系统减压失败导致TIPS术前的症状体征再出现。判断标准以支架狭窄度50%<sup>[13-15]</sup>最为常用, 此外还有肝静脉压力梯度上升至 $>12\text{ mmHg}$ <sup>[15-17]</sup>、TIPS术后门脉高压并发症的复发<sup>[18-21]</sup>等, 如: 静脉曲张破裂出血、腹水或胸腔积液等。临床上, 部分支架再狭窄的患者, 心理负担明显加重, 影响病情发展, 对治疗失去耐心和信心, 患者的生活质量明显受影响。

## 1 TIPS术不同时期影响因素

**1.1 早期狭窄闭塞的因素** 早期支架障碍一般是手术过程中支架释放时未完全支撑肝实质部分分流道、支架释放后扭曲成角<sup>[22,23]</sup>, 可能胆汁渗漏至支架内<sup>[24,25]</sup>, 血液处于高凝状态, 使分流道内急性血栓形成<sup>[23,26]</sup>。手术过程造成血管组织损伤激活外源性凝血途径, 植入支架激活了内源性凝血机制, 造成急性血栓形成。

**1.2 中远期狭窄闭塞的因素** 支架内假性内膜过度增生<sup>[2,23,27-30]</sup>, 分流道损伤后纤维性愈合, 支架内慢性血栓形成等。

## 2 不同术式对支架内血流的影响

TIPS术+断流(胃冠状静脉栓塞术), 理论上, 支架内血流增加, 血栓形成几率降低; 单纯TIPS术, 理论上血栓形成几率高于断流+分流, 但研究结果显示两组不同术式的支架通畅率无统计学差异<sup>[13]</sup>。

## 3 TIPS术支架狭窄的影响因素

**3.1 术前因素** 患者的基本情况, 包括肝功能情况、凝血功能情况、是否脾切除、门静脉血流的特殊性、肝静脉门静脉是否形成血栓、是否合并其他疾病等。

**3.2 术中因素** 手术过程, 涉及到血管穿刺成功率、支架的选择、支架的位置、放置的角度、门静脉左右支的选择、术中肝素的应用等。其中穿刺针在肝内的穿刺对肝脏是一种机械性损伤<sup>[31]</sup>, 血管穿刺成功率越低, 对组织血管的损伤就越高, 外源性凝血途径就越强烈, 血栓形成几率就会越高。TIPS采用覆膜支架可较裸支架明显减少术后分流道狭窄<sup>[14,18,26,32-35]</sup>, Clark等<sup>[26]</sup>在膜支架与裸支架通畅率的研究中, 指出膜支架可以降低支架功能障碍的发生率但对患者的生存率没有影响, 但研究中没有提及术后患者是否服用抗凝药物, 而抗凝药物的应用在TIPS术后占非常重要的地位, 特别是在围手术期。选择性门静脉左支作为门腔静脉分流道, 可以显著降低肝性脑病发生率, 对保护肝功能、提高分流道远期开通率具有重要的临床意义<sup>[36]</sup>。

**3.3 术后因素** 围手术期及术后抗凝治疗。而目前报道的相关文献中, 都没有统一的抗凝方案。Fanelli等<sup>[4]</sup>在门脉海绵样变性导致的门脉高压行TIPS的研究中指出需抗凝保证支架通畅, 并参考肝硬化后TIPS术的抗凝方案, 但文章中没有具体介绍抗凝方案。Eldorrry等<sup>[37]</sup>在布加氏综合征行TIPS的研究中提到术后的抗凝治疗, 低分子肝素24 h或普通肝素6 h后口服华法林, 使国际标准化比率(international normalized ratio, INR)值在2-3之间, 但没有说明不同患者凝血功能不同时肝素和华法林的具体用量及检测指标。国内的研究报道<sup>[38]</sup>, 只涉及到患者的肝功能分级, 没有具体到凝血功能的情况以及患者的裸支架或膜支架不同情况时的抗凝治疗。TIPS术后支架内血栓形成溶栓治疗的个案报道, 没有具体介绍TIPS术后的抗凝方案<sup>[39]</sup>。Siewert等<sup>[40]</sup>的个案报道, 酒精性肝硬化患者TIPS术后抗凝治疗, 随访中支架内血栓形成, 使用氯吡格雷联合低分子肝素加强抗凝治疗, 随访至一年支架保持通畅, 但该个案报道中没提及术后是否先使用低分子肝素治疗。

## 4 TIPS抗凝的现状

2010年AASLD实践指南中关于TIPS治疗门脉高压症, 未提出TIPS术后常规使用抗凝剂的建议<sup>[41]</sup>。2008年美国胸科医师协会(ACCP)的抗凝治疗指南中也没有对TIPS术后的抗凝给予相应建议<sup>[42]</sup>。英国血液学标准委员会血栓与止血分会的第三版《口服抗凝剂指南》<sup>[43]</sup>未就TIPS术后的抗凝问题进行说明。英国血液学标准委员

### ■应用要点

本文从TIPS术过程及支架情况、患者自身情况和术后干预等方面阐述影响支架功能障碍的因素以及术后抗凝治疗面临的问题, 对临床研究TIPS术后支架功能障碍有重要的指导作用。



## ■创新盘点

本文从TIPS术的提出、临床应用到目前日趋成熟,引用大量文献,特别是近年的研究结果以阐述引起支架功能障碍的因素和近年TIPS术后抗凝治疗的现状,提供了大量有价值的信息。

会《肝素使用及监控指南》<sup>[24]</sup>中对腹腔内静脉血栓形成的病人应考虑使用肝素治疗。如果用普通肝素,可以用小剂量,也可以用足以延长活化部分凝血激酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)两倍于正常对照的治疗,如果用低分子肝素,可以给常规预防剂量或治疗剂量<sup>[24]</sup>,但没指出TIPS术后围手术期及随访中支架内血栓形成时肝素的使用情况。

## 5 现有方案来源

5.1 借鉴肺血栓栓塞 相同点: 都是静脉血栓。不同点: 肺栓塞时其患者凝血功能、血小板(platelet, PLT)、白蛋白大多是正常的,目的是以治疗为主,抗凝药物主要是肝素加华法林,时间为3 mo<sup>[44,45]</sup>,伴有癌症、抗心磷脂抗体、凝血酶缺乏或复发的易栓症患者,抗凝治疗至少6 mo,部分患者需要长期抗凝<sup>[45]</sup>,检测INR使其在2-3之间<sup>[46]</sup>。而行TIPS术的患者其凝血功能异常,PLT、白蛋白大多是降低,目的是以预防为主。

5.2 借鉴经皮冠状动脉介入治疗术后抗凝 相同点: 都是血管内支架,都是预防支架狭窄闭塞。不同点: 冠脉支架内形成的血栓为动脉血栓,其患者凝血功能、PLT、白蛋白一般正常,支架位置在动脉血管内,抗凝药物一般是肝素<sup>[23]</sup>加双抗,终身服药<sup>[27,47]</sup>。TIPS术支架内形成的是静脉血栓,患者的凝血功能异常,PLT、白蛋白一般都低于正常值,支架位于静脉血管及肝实质内。

TIPS术后现有的方案: 低分子肝素加硫酸氢氯吡格雷; 低分子肝素加阿司匹林; 低分子肝素加华法林等,而抗凝药物的选择及维持时间,目前没有达成共识。

## 6 肝硬化患者TIPS术抗凝治疗的特殊性

肝硬化患者凝血功能紊乱; 肝功能减退,白蛋白降低,药物与白蛋白结合率降低,药物的代谢受到影响; 同期使用药物的影响(如: 质子泵抑制剂可以延长凝血酶原时间<sup>[48]</sup>,抑酸药可增加抗凝药自尿中排泄,使血药浓度下降); 支架内为静脉血栓<sup>[49]</sup>,但门静脉血流具有自己的特殊性(血液的成分、血流速度等<sup>[50]</sup>); 支架内压力及血流方向等,均可能影响抗凝药物的疗效。

## 7 结论

TIPS术后抗凝治疗借鉴于肺血栓溶栓和PCI术后抗凝治疗,上述患者的肝功、凝血功能一般正常,而肝硬化TIPS术患者的肝功、凝血功能紊乱、术前门静脉血栓情况以及是否合并高风险

血栓形成疾病等均对抗凝药物的选着、剂量、维持时间都有明显的影响,如: PLT、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、INR、APTT哪个或哪几个组合才是抗凝疗效的最佳检测指标; 不同术式(单纯分流、分流+断流术)的各自的抗凝方案是否相同; 裸、覆膜支架的抗凝方案是否有区别等都需相应深入研究。希望多中心合作研究,对于已经行TIPS术的患者需要加强随访,从个体治疗中摸索总结经验,为TIPS围手术期及术后规范化抗凝治疗提供依据。

## 8 参考文献

- 1 Heinzow HS, Lenz P, Köhler M, Reinecke F, Ullerich H, Domschke W, Domagk D, Meister T. Clinical outcome and predictors of survival after TIPS insertion in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5211-5218 [PMID: 23066315]
- 2 Rössle M, Gerbes AL. TIPS for the treatment of refractory ascites, hepatorenal syndrome and hepatic hydrothorax: a critical update. *Gut* 2010; 59: 988-1000 [PMID: 20581246 DOI: 10.1136/gut.2009.193227]
- 3 LaBerge JM, Somberg KA, Lake JR, Gordon RL, Kerlan RK, Ascher NL, Roberts JP, Simor MM, Doherty CA, Hahn J. Two-year outcome following transjugular intrahepatic portosystemic shunt for variceal bleeding: results in 90 patients. *Gastroenterology* 1995; 108: 1143-1151 [PMID: 7698582 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90213-9]
- 4 Fanelli F, Angeloni S, Salvatori FM, Marzano C, Boatta E, Merli M, Rossi P, Attili AF, Ridola L, Cerini F, Riggio O. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt with expanded-polytetrafluoroethylene-covered stents in non-cirrhotic patients with portal cavernoma. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 78-84 [PMID: 20637712 DOI: 10.1016/j.dld.2010.06.001]
- 5 Rössle M, Deibert P, Haag K, Ochs A, Olschewski M, Siegerstetter V, Hauenstein KH, Geiger R, Stiepak C, Keller W, Blum HE. Randomised trial of transjugular-intrahepatic-portosystemic shunt versus endoscopy plus propranolol for prevention of variceal rebleeding. *Lancet* 1997; 349: 1043-1049 [PMID: 9107241 DOI: 10.1016/S0140-6736(96)08189-5]
- 6 Merli M, Salerno F, Riggio O, de Franchis R, Fiaccadori F, Meddi P, Primignani M, Pedretti G, Maggi A, Capocaccia L, Lovaria A, Ugolotti U, Salvatori F, Bezzi M, Rossi P. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus endoscopic sclerotherapy for the prevention of variceal bleeding in cirrhosis: a randomized multicenter trial. Gruppo Italiano Studio TIPS (G.I.S.T.). *Hepatology* 1998; 27: 48-53 [PMID: 9425916 DOI: 10.1002/hep.510270109]
- 7 Ginès P, Uriz J, Calahorra B, Garcia-Tsao G, Kamath PS, Del Arbol LR, Planas R, Bosch J, Arroyo V, Rodés J. Transjugular intrahepatic portosystemic shunting versus paracentesis plus albumin for refractory ascites in cirrhosis. *Gastroenterology* 2002; 123: 1839-1847 [PMID: 12454841 DOI: 10.1053/gast.2002.37073]
- 8 Narahara Y, Kanazawa H, Fukuda T, Matsushita Y, Harimoto H, Kidokoro H, Katakura T, Atsukawa M, Taki Y, Kimura Y, Nakatsuka K, Sakamoto C.

- Transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus paracentesis plus albumin in patients with refractory ascites who have good hepatic and renal function: a prospective randomized trial. *J Gastroenterol* 2011; 46: 78-85 [PMID: 20632194 DOI: 10.1007/s00535-010-0282-9]
- 9 Salerno F, Merli M, Riggio O, Cazzaniga M, Valeriano V, Pozzi M, Nicolini A, Salvatori F. Randomized controlled study of TIPS versus paracentesis plus albumin in cirrhosis with severe ascites. *Hepatology* 2004; 40: 629-635 [PMID: 15349901 DOI: 10.1002/hep.20364]
  - 10 Luca A, D'Amico G, La Galla R, Midiri M, Morabito A, Pagliaro L. TIPS for prevention of recurrent bleeding in patients with cirrhosis: meta-analysis of randomized clinical trials. *Radiology* 1999; 212: 411-421 [PMID: 10429698]
  - 11 Burroughs AK, Vangeli M. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus endoscopic therapy: randomized trials for secondary prophylaxis of variceal bleeding: an updated meta-analysis. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 249-252 [PMID: 11916185 DOI: 10.1080/003655202317284138]
  - 12 徐克, 韩国宏. 正确认识经颈静脉肝内门体分流术治疗肝硬化门静脉高压并发症的地位. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 481-482
  - 13 魏波, 陈爽, 李肖, 唐承薇. 经颈静脉肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞术降低曲张静脉再出血率的研究. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 494-497
  - 14 Bureau C, Garcia-Pagan JC, Otal P, Pomier-Layrargues G, Chabbert V, Cortez C, Perreault P, Péron JM, Abrales JG, Bouchard L, Bilbao JL, Bosch J, Rousseau H, Vinel JP. Improved clinical outcome using polytetrafluoroethylene-coated stents for TIPS: results of a randomized study. *Gastroenterology* 2004; 126: 469-475 [PMID: 14762784 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.016]
  - 15 Pan JJ, Chen C, Geller B, Firpi R, Machicao VI, Caridi JG, Nelson DR, Morelli G. Is sonographic surveillance of polytetrafluoroethylene-covered transjugular intrahepatic portosystemic shunts (TIPS) necessary? A single centre experience comparing both types of stents. *Clin Radiol* 2008; 63: 1142-1148 [PMID: 18774362 DOI: 10.1016/j.crad.2008.04.016]
  - 16 Casado M, Bosch J, García-Pagán JC, Bru C, Bañares R, Bandi JC, Escorsell A, Rodríguez-Láiz JM, Gilabert R, Feu F, Schorlemer C, Echenagusia A, Rodés J. Clinical events after transjugular intrahepatic portosystemic shunt: correlation with hemodynamic findings. *Gastroenterology* 1998; 114: 1296-1303 [PMID: 9609767 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70436-6]
  - 17 Groszmann RJ, Wongcharatrawee S. The hepatic venous pressure gradient: anything worth doing should be done right. *Hepatology* 2004; 39: 280-282 [PMID: 14767976 DOI: 10.1002/hep.20062]
  - 18 Bureau C, Pagan JC, Layrargues GP, Metivier S, Bellot P, Perreault P, Otal P, Abrales JG, Peron JM, Rousseau H, Bosch J, Vinel JP. Patency of stents covered with polytetrafluoroethylene in patients treated by transjugular intrahepatic portosystemic shunts: long-term results of a randomized multicentre study. *Liver Int* 2007; 27: 742-747 [PMID: 17617116 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01522.x]
  - 19 Barrio J, Ripoll C, Bañares R, Echenagusia A, Catalina MV, Camúñez F, Simó G, Santos L. Comparison of transjugular intrahepatic portosystemic shunt dysfunction in PTFE-covered stent-grafts versus bare stents. *Eur J Radiol* 2005; 55: 120-124 [PMID: 15950109 DOI: 10.1016/j.ejrad.2004.10.007]
  - 20 Angeloni S, Merli M, Salvatori FM, De Santis A, Fanelli F, Pepino D, Attili AF, Rossi P, Riggio O. Polytetrafluoroethylene-covered stent grafts for TIPS procedure: 1-year patency and clinical results. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 280-285 [PMID: 15046218 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04056.x]
  - 21 Angermayr B, Cejna M, Koenig F, Karnel F, Hackl F, Gangl A, Peck-Radosavljevic M. Survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt: ePTFE-covered stentgrafts versus bare stents. *Hepatology* 2003; 38: 1043-1050 [PMID: 14512892]
  - 22 Menzel J, Vestring T, Foerster EC, Haag K, Roessle M, Domschke W. Arterio-biliary fistula after transjugular intrahepatic portosystemic shunt: a life-threatening complication of the new technique for therapy of portal hypertension. *Z Gastroenterol* 1995; 33: 255-259 [PMID: 7610693]
  - 23 Cura M, Cura A, Suri R, El-Merhi F, Lopera J, Kroma G. Causes of TIPS dysfunction. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 191: 1751-1757 [PMID: 19020247 DOI: 10.2214/AJR.07.3534]
  - 24 Baglin T, Barrowcliffe TW, Cohen A, Greaves M. Guidelines on the use and monitoring of heparin. *Br J Haematol* 2006; 133: 19-34 [PMID: 16512825 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05953.x]
  - 25 Saxon RR, Mendel-Hartvig J, Corless CL, Rabkin J, Uchida BT, Nishimine K, Keller FS. Bile duct injury as a major cause of stenosis and occlusion in transjugular intrahepatic portosystemic shunts: comparative histopathologic analysis in humans and swine. *J Vasc Interv Radiol* 1996; 7: 487-497 [PMID: 8855524 DOI: 10.1016/S1051-0443(96)70789-3]
  - 26 Clark W, Golkar F, Luberic K, Toomey P, Paul H, Marcadis A, Okpaleke C, Vice M, Hernandez J, Alsina A, Rosemurgy AS. Uncovering the truth about covered stents: is there a difference between covered versus uncovered stents with transjugular intrahepatic portosystemic shunts? *Am J Surg* 2011; 202: 561-564 [PMID: 21944293 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.06.021]
  - 27 Uchida Y, Mori F, Ogawa H, Takagi A, Hagiwara N. Impact of anticoagulant therapy with dual antiplatelet therapy on prognosis after treatment with drug-eluting coronary stents. *J Cardiol* 2010; 55: 362-369 [PMID: 20350510 DOI: 10.1016/j.jcc.2009.12.014]
  - 28 Boyer TD. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt: current status. *Gastroenterology* 2003; 124: 1700-1710 [PMID: 12761727 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00377-9]
  - 29 Rosado B, Kamath PS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunts: an update. *Liver Transpl* 2003; 9: 207-217 [PMID: 12619016 DOI: 10.1053/jlts.2003.50045]
  - 30 van Buuren HR, ter Borg PC. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS): indications and long-term patency. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2003; (239): 100-104 [PMID: 14743891 DOI: 10.1080/00855920310002771]
  - 31 毕向军, 杨冬华, 农玉新, 黄纯焱, 徐明符, 肖玉梅. 经颈静脉肝内门体分流术对肝功能的影响. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 594-595

## 同行评价

本文综述了TIPS术后支架功能障碍的研究现状, 对临床有一定指导意义。

- 32 向谦, 李肖, 张铭光, 唐承薇. 采用覆膜支架经颈静脉肝内门体分流对改善术后分流道狭窄及门静脉高压的系统评价. *中国实用内科杂志* 2008; 28: 190-193
- 33 Han G, Qi X, He C, Yin Z, Wang J, Xia J, Yang Z, Bai M, Meng X, Niu J, Wu K, Fan D. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for portal vein thrombosis with symptomatic portal hypertension in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2011; 54: 78-88 [PMID: 20932597 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.029]
- 34 Riggio O, Angeloni S, Salvatori FM, De Santis A, Cerini F, Farcomeni A, Attili AF, Merli M. Incidence, natural history, and risk factors of hepatic encephalopathy after transjugular intrahepatic portosystemic shunt with polytetrafluoroethylene-covered stent grafts. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2738-2746 [PMID: 18775022 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02102.x]
- 35 Rossi P, Salvatori FM, Fanelli F, Bezzi M, Rossi M, Marcelli G, Pepino D, Riggio O, Passariello R. Polytetrafluoroethylene-covered nitinol stent-graft for transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation: 3-year experience. *Radiology* 2004; 231: 820-830 [PMID: 15118117 DOI: 10.1148/radiol.2313030349]
- 36 褚建国, 陈肇一, 陈学忠, 徐晓明, 徐家兴. 经颈静脉肝内门脉左支-体静脉分流术的临床意义. *空军总医院学报* 2002; 18: 1-4
- 37 Eldorriy A, Barakat E, Abdella H, Abdelhakam S, Shaker M, Hamed A, Sakr M. Outcome of non surgical hepatic decompression procedures in Egyptian patients with Budd-Chiari. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 906-913 [PMID: 21412499 DOI: 10.3748/wjg.v17.i7.906]
- 38 赵洪伟, 刘福全, 岳振东, 王磊. 抗凝药物在预防TIPSS术后分流道狭窄治疗中的临床应用和选择. *实用医学杂志* 2011; 27: 1365-1367
- 39 Dumortier J, Walter T, Guillaud O, Pietu F, Vallin M, Henry L, Pilleul F. Transcatheter local thrombolysis in patients with extensive TIPS thrombosis. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34: 721-725 [PMID: 20934290 DOI:10.1016/j.gcb.2010.07.011]
- 40 Siewert E, Salzmann J, Purucker E, Schürmann K, Matern S. Recurrent thrombotic occlusion of a transjugular intrahepatic portosystemic stent-shunt due to activated protein C resistance. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5064-5067 [PMID: 16124068]
- 41 Boyer TD, Haskal ZJ. The Role of Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt (TIPS) in the Management of Portal Hypertension: update 2009. *Hepatology* 2010; 51: 306 [PMID: 19902484 DOI: 0.1002/hep.23383]
- 42 Kearon C, Kahn SR, Agnelli G, Goldhaber S, Raskob GE, Comerota AJ. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133: 454S-545S [PMID: 18574272]
- 43 Gallus AS, Baker RI, Chong BH, Ockelford PA, Street AM. Consensus guidelines for warfarin therapy. Recommendations from the Australasian Society of Thrombosis and Haemostasis. *Med J Aust* 2000; 172: 600-605 [PMID: 10914107]
- 44 Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, Agnelli G, Galie N, Pruszczyk P, Bengel F, Brady AJ, Ferreira D, Janssens U, Klepetko W, Mayer E, Remy-Jardin M, Bassand JP. Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2008; 29: 2276-2315 [PMID: 18757870 DOI: 10.1093/eurheartj/ehn310]
- 45 中华医学会心血管病学分会肺血管病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会. 急性肺血栓栓塞症诊断治疗中国专家共识. *中华内科杂志* 2010; 49: 74-81
- 46 Palla A, Ribas C, Rossi G, Pepe P, Marconi L, Prandoni P. The clinical course of pulmonary embolism patients anticoagulated for 1 year: results of a prospective, observational, cohort study. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 68-74 [PMID: 19817998 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03647.x]
- 47 Coons JC, Battistone S. 2007 Guideline update for unstable angina/non-ST-segment elevation myocardial infarction: focus on antiplatelet and anticoagulant therapies. *Ann Pharmacother* 2008; 42: 989-1001 [PMID: 18577763 DOI: 10.1345/aph.1L063]
- 48 Jung JW, Kang HR, Kwon JW, Kim TE, Lee SH, Hong KS, Yu KS, Cho SH. The potential inhibitory effect of revaprazan, an acid pump antagonist, on anticoagulation with warfarin. *Tohoku J Exp Med* 2011; 224: 293-300 [PMID: 21799301 DOI: 10.1620/tjem.224.293]
- 49 史旭波, 胡大一. 凝血机制与抗凝治疗新观念. *临床荟萃* 2008; 23: 1597-1599
- 50 徐晤, 祖茂衡, 王志荣, 李国均. 多普勒导丝评价TIPS术门腔分流道血流特点. *医学影像学杂志* 2012; 22: 771-773

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.



# RASAL1基因启动子甲基化及RAS活性与结肠癌临床病理的关系

袁 纯, 陆枫林, 陈 洪

袁纯, 东南大学临床医学院 江苏省南京市 210009  
陆枫林, 陈洪, 东南大学附属中大医院消化科 江苏省南京市 210009  
袁纯, 硕士, 主要从事胃肠道疾病的基础及临床研究.  
江苏省自然科学基金资助项目, No. 2008301  
作者贡献分布: 实验操作、数据整理及论文撰写由袁纯与陆枫林完成; 实验经费由陆枫林提供; 陆枫林审核; 陈洪合作.  
通讯作者: 陆枫林, 教授, 210009, 江苏省南京市鼓楼区丁家桥87号, 东南大学附属中大医院消化科. lufenglinmytutor@163.com  
电话: 025-83262283  
收稿日期: 2012-12-08 修回日期: 2013-01-06  
接受日期: 2013-01-11 在线出版日期: 2013-02-08

## Clinical significance of RASAL1 promoter methylation and ras activity in colorectal carcinoma

Chun Yuan, Feng-Lin Lu, Hong Chen

Chun Yuan, College of Clinical Medicine, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China  
Feng-Lin Lu, Hong Chen, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China  
Supported by: Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. 2008301  
Correspondence to: Feng-Lin Lu, Professor, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Southeast University, 87 Dingjiaqiao, Gulou District, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. lufenglinmytutor@163.com  
Received: 2012-12-08 Revised: 2013-01-06  
Accepted: 2013-01-11 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To detect RASAL1 (ras GTPase-activating-like protein 1) promoter methylation and ras activity in colorectal carcinoma (CRC) and to analyze their correlation with clinical and pathological parameters.

**METHODS:** Methylation-specific PCR (MSP) was used to detect RASAL1 promoter methylation in forty CRC specimens and matched normal colorectal tissue specimens. Co-immunoprecipitation was used to detect ras activity in tumor and normal tissues. The correlation of RASAL1 promoter methylation and ras activity with clinical and pathological parameters

was analyzed.

**RESULTS:** RASAL1 promoter methylation was detected in 67.5% (26/40) of colorectal cancer tissues and in 30% (12/40) of normal tissues, and the positive rate of RASAL1 promoter methylation in tumor tissues was significantly higher than that in normal tissues ( $P = 0.0017$ ). The median ras activity was significantly higher in colorectal cancer tissues than in normal tissues (1.07 vs 0.52,  $P < 0.001$ ). RASAL1 promoter methylation and ras activity were both positively correlated with degree of tumor differentiation, invasion depth, lymph node metastasis, and TNM stage (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** High ras activity is related to RASAL1 promoter methylation, which may play an important role in the oncogenesis of CRC. RASAL1 methylation and ras activity may be novel therapeutic targets for CRC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Ras GTPase-activating-like protein 1; Colorectal cancer; Methylation-specific PCR; Co-Immunoprecipitation; Ras activity

Yuan C, Lu FL, Chen H. Clinical significance of RASAL1 promoter methylation and ras activity in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 341-345  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/341.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.341>

## 摘要

**目的:** 检测RASAL1(ras GTPase-activating-like protein 1)基因甲基化率及RAS活性在结肠癌组织中的表达, 探讨其与临床病理资料间的关系.

**方法:** 以40例结肠癌标本为研究对象, 相应的正常组织标本为对照. 甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)检测RASAL1启动子CpG岛甲基化状态, 免疫共沉淀法检测RAS活性, 分析肿瘤组织中RASAL1

## ■背景资料

我国恶性肿瘤的发生率及死亡率逐年上升, 结肠癌即为3大恶性肿瘤之一, 已严重威胁我国居民健康. 对结肠癌的分子水平的研究成为热点, 有关研究发现与结肠癌相关的抑癌基因RASAL1, 在结肠癌组织中表达下降, 导致RAS蛋白活性增高, 从而激活相应的下游信号通路, 细胞过度增殖分化, 引起肿瘤发生发展.

## ■同行评议者

崔莲花, 副教授, 266021, 山东省青岛市, 青岛大学医学院公共卫生系

## ■研究前沿

RASAL1基因是近期新发现的抑癌基因,可致多种肿瘤的发生,与结肠癌密切相关。引起RASAL1基因表达下调的分子生物学机制成为结肠癌研究的重点及热点,如何干预RASAL1基因功能沉默可能为结肠癌治疗提供新的思路。

基因甲基化率及RAS活性与临床病理参数间的关系。

**结果:** 40例肿瘤组织中有26例检测出RASAL1基因甲基化(26/40, 67.5%), 对照组40例中有12例出现甲基化(12/40, 30%), 肿瘤组织甲基化率明显高于正常组织( $P = 0.0017$ )。肿瘤组织中RAS活性的中位数为1.07, 正常组织中RAS活性的中位数为0.52,  $P < 0.001$ , 差异有统计学意义。结肠癌组织中RASAL1基因的甲基化率、RAS活性与患者肿瘤分化程度、侵袭深度、淋巴结转移、TNM分期有统计学差异(均 $P < 0.05$ )。

**结论:** RASAL1甲基化状态与RAS活性增加有关,可能在结肠癌的发生发展中起重要作用。抑制RASAL1甲基化及RAS活性,可能成为治疗结肠癌的新靶点。

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**关键词:** RASAL1; 结肠癌; 甲基化特异性PCR; 免疫共沉淀; RAS活性

袁纯, 陆枫林, 陈洪. RASAL1基因启动子甲基化及RAS活性与结肠癌临床病理的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 341-345 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/341.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.341>

## 0 引言

恶性肿瘤是当前除心血管疾病外主要死亡原因之一。在美国,结直肠癌在各种癌症中发病率和死亡率均居第3位<sup>[1]</sup>,在我国,结肠癌发病率逐年上升,其病因与饮食、环境密切相关,死亡率居高不下。现代肿瘤学认为肿瘤是由基因点突变、小片段缺失或插入引起的遗传性改变和DNA甲基化等表观遗传学改变而导致的。RASAL1基因是近年发现的参与结肠癌发生发展的新基因<sup>[2]</sup>,目前国外已有研究表明,结肠癌组织中存在RASAL1基因甲基化改变,国内研究只针对RASAL1基因mRNA及RASAL1蛋白进行检测,尚未对导致RASAL1基因表达变化的机制进行研究。本实验拟采用甲基化特异性PCR、免疫共沉淀检测结肠癌组织及正常组织中RASAL1甲基化状态及RAS活性改变,并探讨与结肠癌临床病理指标间的关系,为结肠癌的临床诊断治疗、预后判断提供科学依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-05/2010-05于东南大学附属

中大医院接受外科手术切除的结肠癌患者的结肠癌组织标本40例作为研究组,术前未接受放、化疗或其他针对肿瘤的治疗,肿瘤组织取自肿瘤中心非坏死部位,正常组织为距肿瘤边缘5 cm以上的组织。诊断经术后病理检查证实,并确定病理类型和分化程度。其中男24例,女16例;年龄为40-83岁,平均65.1岁 $\pm$ 12.7岁。癌组织和正常组织标本经4%中性缓冲甲醇固定、石蜡包埋。Taq Mix酶为美国ABI公司产品;DNA提取试剂盒为北京碧云天生物公司产品;Wizard DNA Clean-Up System试剂盒为美国Promega公司产品;PCR引物为上海生工生物技术有限公司合成;RIPA细胞裂解液和聚乙烯二氟(PVDF)膜为英国Whatman公司产品;蛋白提取试剂盒为南京凯基生物公司产品;K-RAS活性检测试剂盒(包含磁珠)为英国Abcam公司;K-RAS一抗(鼠抗人单克隆抗体)为英国Abcam公司;二抗[山羊抗鼠Ig(H+L)-HRP]为晶美生物公司产品。

### 1.2 方法

1.2.1 MSP方法: 石蜡切片,用二甲苯脱蜡,从石蜡包埋组织中提取DNA充分去除二甲苯,按Zymo DNA CpG岛甲基化修饰盒进行亚硫酸氢盐修饰。PCR反应体系: 50  $\mu$ L反应体系: 5 $\times$ 扩增缓冲液10  $\mu$ L, 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L, 4种dNTP各1  $\mu$ L, Taq酶0.25  $\mu$ L, 上下游引物各0.5  $\mu$ L, cDNA 10  $\mu$ L, 余体积以无菌蒸馏水补齐。反应条件: 94  $^{\circ}$ C预变性2 min, 94  $^{\circ}$ C变性30 s, 55  $^{\circ}$ C退火30 s, 72  $^{\circ}$ C 1 min, 40个循环后, 72  $^{\circ}$ C延伸7 min。根据文献, MSP甲基化引物序列为5'-GTGTATTTT-TTTTTTCGTCGTTTC-3'和5'-CAACGAACTCT-TACCGAAACG-3', 非甲基化引物为5'-AATT-TATTAGGAGTTAGTGGTTAT-3'和5'-CACAA-CAAACTCTTACCAAAACA-3', 长度均为221 bp。

PCR判断标准: 甲基化阳性为能扩增出甲基化产物, 包括同时扩增出非甲基化产物; 甲基化阴性为只出现非甲基化条带<sup>[3]</sup>。

1.2.2 免疫共沉淀方法: 磷酸盐缓冲液冲洗后, 按照组织蛋白提取试剂盒的要求提取蛋白, 用Western免疫印记法检测目的蛋白。各条带灰度值结果以有活性的RAS和总RAS灰度值之比表示。

**统计学处理** 应用SPSS18.0统计软件, 定量数据满足正态性的采用mean $\pm$ SD描述, 不满足正态性的采用中位数来描述。两组相关样本采用配对t检验或者配对秩和检验分析。分类资料采用频数描述原始资料, 采用 $\chi^2$ 或者Fisher's精确概率检验进行组间比较, 所有检验均以显著水



图1 结肠癌组织及相应正常组织MSP结果. Marker: 标准; M: 甲基化引物; U: 非甲基化引物; T: 肿瘤组织标本; N: 正常组织标本; 1、2: 病例编号, 1T/1N、2T/2N: 来自同一个病例的肿瘤组织及正常组织.

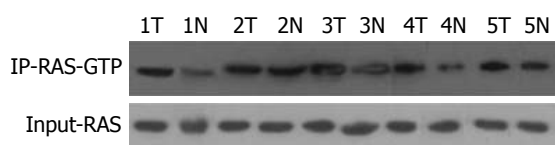


图2 免疫共沉淀测得各标本灰度值. T: 肿瘤组织; N: 正常组织; 1、2、3、4: 标本编号; IP-RAS-GTP: 有活性的RAS蛋白; Input-RAS: 总RAS蛋白.

平 $P < 0.05$ 为具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 MSP检测RASAL1甲基化状态** 根据MSP结果(图1), 40例肿瘤组织中有26例(67.5%)发生RASAL1基因甲基化, 对照组40例正常组织中有12例(30%)正常组织中出现甲基化, 肿瘤组织、正常组织间RASAL1基因甲基化差异有统计学意义( $P = 0.0017$ , 表1).

**2.2 免疫共沉淀检测RAS活性** 根据各标本灰度值(图2), 检测得出肿瘤组织中RAS活性的中位数为1.07, 正常组织中RAS活性的中位数为0.52,  $P < 0.001$ , 差异有统计学意义.

**2.3 RASAL1甲基化状态及RAS活性与临床病理资料间关系** 本组40例结肠癌组织中RASAL1基因的甲基化率、RAS活性与患者肿瘤分化程度、侵袭深度、淋巴结转移、TNM分期有统计学差异(均 $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、肿瘤大小间差异无显著性(均 $P > 0.05$ , 表2).

## 3 讨论

Ras基因是存在于人体多种细胞中的原癌基因, 其编码的Ras蛋白参与细胞的增殖、分化、细胞骨架的构建. Ras蛋白可与GTP、GDP结合, 前者为活化状态, 后者为非活化状态, 调控GTP/GDP间转化的因素主要有Ras GTP酶活化蛋白(GTPase activating protein, Ras GAP)及Ras鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange fac-

表1 RASAL1在不同组织中的甲基化率 ( $n = 40$ )

分组	甲基化	非甲基化	$P$ 值
肿瘤组织	27	13	0.0017
正常组织	12	28	

tor, Ras GEF)<sup>[4]</sup>. 在正常细胞中, RAS蛋白几乎全部和GDP结合, 处于非活化状态, 故细胞呈现正常生长增殖. 当RAS蛋白与GTP结合, 处于活化状态时, 能激活下游信号分子, 从而导致增殖信号过度传入, 细胞增殖失控导致肿瘤发生发展<sup>[5]</sup>. RASAL1是近年新发现的一种抑癌基因, 位于人类第12号染色体(12q24.13), 其编码的RASAL1蛋白是Ras GAP家族一员, 即具有GTP酶活性, 可以水解GTP为GDP, 从而RAS活性降低<sup>[6]</sup>. 研究表明, 肿瘤组织中RASAL1基因表达下降, 主要机制有以下方面: RASAL1基因启动子CpG岛高甲基化、细胞内钙离子调节异常、上游基因PITX1(pituitary homeobox 1)功能缺失, 而RASAL1基因启动子甲基化是该基因表达下调的主要机制<sup>[7]</sup>. RASAL1基因的甲基化与RAS活性的关系即是本课题研究的主要内容.

本课题前期实验<sup>[8]</sup>已证明RASAL1蛋白在结肠癌组织中的表达较正常组织明显下降, RASAL1 mRNA在结肠癌组织中表达较正常组织下降, 与RASAL1蛋白表达正相关, 说明了RASAL1基因对于RASAL1蛋白的调控作用, 验证了文献报道的结肠癌中都存在RASAL1表达下调的情况. 有关研究表明, 肿瘤组织中, RASAL1基因表达下降的主要原因与基因启动子CpG岛甲基化有关<sup>[9,10]</sup>.

本实验采用MSP方法检测组织中基因的甲基化情况, 结果显示肿瘤组织中有27例(67.55%)发生RASAL1基因甲基化, 12例(30%)正常组织中出现甲基化, 肿瘤组织、正常组织间RASAL1基因甲基化差异有统计学意义( $P = 0.0017$ ). 国外文献中, Jin等<sup>[11]</sup>发现在结肠癌细胞中RASAL1基因外显子中存在CpG岛, 并证明肿瘤细胞株存在甲基化现象. Ohta等<sup>[12]</sup>也在结肠癌细胞株RASAL1的CpG岛发现了甲基化位点, 并发生甲基化. 本实验和国外研究相符合, 验证了RASAL1基因甲基化是结肠癌组织中的高频事件. 本研究中有12例正常组织中出现甲基化, 标本经病理证实未发生病理学改变, 考虑原因为基因甲基化是早期分子事件, 早于病理改变分子水平已有表观遗传学的改变. 同时, MSP只需

## ■创新盘点

国内研究只针对RASAL1基因mRNA及RASAL1蛋白进行检测, 尚未对导致RAS-AL1基因表达变化的机制进行研究. 本文深入研究了结肠癌组织中RAS活性及甲基化状态与临床病理资料的关系, 不仅发现RASAL1基因可导致结肠癌发生, 还研究在结肠癌发展过程中基因甲基化状态和RAS活性变化的规律, 有助于临床病情的评估及预后判断.



## ■应用要点

本文检测了RAS-AL1基因甲基化状态及RAS活性在正常结肠组织及结肠癌组织中的表达情况,并分析其与结肠癌组织的临床病理资料间的关系,为研究结肠癌的分子机制提供理论依据,抑制甲基化及RAS活性可成为结肠癌治疗的新靶点。

表 2 40例结肠癌组织中RASAL1甲基化状态及RAS活性与临床病理参数间的比较

临床病理参数	<i>n</i>	甲基化例数( <i>n</i> )	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值	RAS活性	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
性别							
男	24	14	2.2982	0.1295	0.97(0.7,1.65)	-0.4003	0.6889
女	16	13			1.07(0.87,1.19)		
年龄(岁)							
<70	20	11	2.8490	0.0914	0.88(0.65,1.15)	1.6365	0.1017
≥70	20	16			1.16(0.8,1.35)		
大小(cm)							
<4	26	18	0.1014	0.7501	1.09(0.74,1.21)	-0.3545	0.7230
≥4	14	9			0.98(0.77,1.41)		
分化程度							
低	21	18	19.5513	<0.001	1.20(1.12,1.46)	-4.2522	<.0001
高、中	19	9			0.77(0.46,0.81)		
侵袭程度							
T1, T2	25	11	6.8249	0.0090	0.98(0.66,1.19)	1.7321	0.0433
T3, T4	15	11			1.17(0.8,2.02)		
淋巴结转移							
无转移	20	8	13.7892	0.0002	0.80(0.66,1.04)	3.2325	0.0012
有转移	20	19			1.20(1.08,2.01)		
TNM分期							
I、II	16	7	12.2121	0.0005	0.80(0.66,1.04)	-2.3881	0.0169
III、IV	24	20			1.15(0.88,1.73)		

少量的DNA,对CpG岛等位基因甲基化有高敏感性.因此,可通过检测甲基化水平为评价术后复发提供相对早期的分子生物学参考依据.

同时本实验也出现半甲基化情况<sup>[13]</sup>,即肿瘤组织中既有甲基化特异性引物的扩增,又有非甲基化引物的扩增,也称为杂合甲基化.考虑原因有以下几点:(1)Bai等<sup>[14]</sup>认为可能是两个等位基因的异质性有关,即两个等位基因一个甲基化一个非甲基化;(2)可能肿瘤细胞的异质性有关,一部分细胞甲基化,而另一部分非甲基化;(3)肿瘤组织中可能混有炎性细胞或纤维组织.半甲基化也提示这甲基化过程可能是一个量的积累的过程.综上所述,结肠癌组织中RASAL1基因甲基化是一高频事件,是抑癌基因RASAL1表达下调的重要因素,进而激活下游信号通路,引起肿瘤发生发展.因此,检测RASAL1基因甲基化水平对结肠癌的 diagnosis 有积极意义.

免疫共沉淀利用抗原和抗体之间专一作用,研究蛋白质之间相互作用,确定两种蛋白质在生物组织中相互作用<sup>[15]</sup>,可以检测与GTP结合的RAS蛋白的量,根据其占总RAS蛋白的比例,测出RAS活性.本实验中,肿瘤组RAS活性中位数为1.07,正常组RAS活性中位数0.52,差异有统计学意义.表明肿瘤组织中与GTP结合的RAS蛋白

的量占总RAS蛋白的比例高,RAS活性高.与已有的研究表明的肿瘤组织中RASAL1表达下降,即RAS GTP酶活性降低,导致RAS-GTP灭活减少,RAS活性增加的观点符合<sup>[6]</sup>.

Ohta等<sup>[12]</sup>曾收集不同组织学分期的结直肠癌标本,发现RASAL1在结肠早期腺瘤(直径<1 cm)中表达正常,结肠腺癌组织中表达较后期腺瘤(直径>1 cm)降低.这一结果表明,RASAL1表达下降在结直肠癌中早期即发生,并与进展有关系,在结肠癌的发展过程中,RASAL1表达下调频率越高,表明RASAL1的低表达与结肠癌的发展有着密切关系.本实验研究显示,随着患者肿瘤分化程度减低、侵袭程度增加、淋巴转移数增加、TNM分期增大,结肠癌组织中RASAL1甲基化率越高(均 $P<0.05$ ),RAS活性越高(均 $P<0.05$ ).由此可见,RASAL1甲基化及RAS活性与患者疾病进展、TNM分期呈正相关,与患者性别、年龄及肿瘤大小间差异无统计学意义.也验证了RASAL1基因甲基化是引起RASAL1表达下降的重要机制的理论,同时证实了RASAL1表达下降会导致RAS-GTP灭活减少,即RAS活性升高,故RASAL1可作为结肠癌早期诊断的指标,亦可联合其他临床分子生物学指标,行多基因联合检测,以提高灵敏度与特

异性. 同时, 由于肿瘤分化程度、侵袭程度、淋巴转移、TNM分期是结肠癌预后的评估参数, RASAL1也可作为结肠癌预后评估的重要指标, 指导临床治疗方案. 综上所述, RASAL1通过活化GTP酶, 使有活性的RAS-GTP转化为无活性的RAS-GDP, 调控着细胞正常的生长、分化、增殖, 发挥抑癌基因的作用. RASAL1基因发生甲基化后, 功能静默, RASAL1蛋白表达下降, 即RAS-GTP酶活性降低, 导致RAS-GTP灭活减少, 即有活性的RAS增加<sup>[14]</sup>, 因此能激活下游信号通路, 导致肿瘤发生. 甲基化在肿瘤的发展过程中持续存在, 但甲基化的过程也是可逆的, 可通过5-氮杂-2'-脱氧胞苷将其逆转, 称为去甲基化. 甲基化是目前肿瘤研究的重要方向, 抑制甲基化及RAS活性可成为结肠癌诊断治疗的新靶点, 进一步研究去甲基化, 可为肿瘤的治疗提供新的思路.

#### 4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
- 2 Westbrook TF, Martin ES, Schlabach MR, Leng Y, Liang AC, Feng B, Zhao JJ, Roberts TM, Mandel G, Hannon GJ, Depinho RA, Chin L, Elledge SJ. A genetic screen for candidate tumor suppressors identifies REST. *Cell* 2005; 121: 837-848 [PMID: 15960972 DOI: 10.1016/j.cell.2005.03.033]
- 3 Herman JG, Latif F, Weng Y, Lerman MI, Zbar B, Liu S, Samid D, Duan DS, Gnarr JR, Linehan WM. Silencing of the VHL tumor-suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 9700-9704 [PMID: 7937876 DOI: 10.1073/pnas.91.21.9700]
- 4 Vigil D, Cherfils J, Rossman KL, Der CJ. Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy? *Nat Rev Cancer* 2010; 10: 842-857 [PMID: 21102635 DOI: 10.1038/nrc2960]
- 5 Walker SA, Kupzig S, Bouyoucef D, Davies LC, Tsuboi T, Bivona TG, Cozier GE, Lockyer PJ, Buckler A, Rutter GA, Allen MJ, Philips MR, Cullen PJ. Identification of a Ras GTPase-activating protein regulated by receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> oscillations. *EMBO J* 2004; 23: 1749-1760 [PMID: 15057271 DOI: 10.1038/sj.emboj.7600197]
- 6 Györfy B, Schäfer R. Biomarkers downstream of RAS: a search for robust transcriptional targets. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10: 858-868 [PMID: 20718707 DOI: 10.2174/156800910793357916]
- 7 Yashiro M, Nishioka N, Hirakawa K. K-ras mutation influences macroscopic features of gastric carcinoma. *J Surg Res* 2005; 124: 74-78 [PMID: 15734482 DOI: 10.1016/j.jss.2004.09.020]
- 8 Bernards A, Settleman J. Loss of the Ras regulator RASAL1: another route to Ras activation in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2009; 136: 46-48 [PMID: 19041648 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.11.024]
- 9 程桂丹, 陈洪, 陆枫林. 肿瘤相关基因RASAL1在结肠癌中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 488-493
- 10 Aytakin T, Ozaslan M, Cengiz B. Deletion mapping of chromosome region 12q13-24 in colorectal cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 201: 32-38 [PMID: 20633766 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.05.005]
- 11 Jin H, Wang X, Ying J, Wong AH, Cui Y, Srivastava G, Shen ZY, Li EM, Zhang Q, Jin J, Kupzig S, Chan AT, Cullen PJ, Tao Q. Epigenetic silencing of a Ca(2+)-regulated Ras GTPase-activating protein RASAL defines a new mechanism of Ras activation in human cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 12353-12358 [PMID: 17640920 DOI: 10.1073/pnas.0700153104]
- 12 Ohta M, Seto M, Ijichi H, Miyabayashi K, Kudo Y, Mohri D, Asaoka Y, Tada M, Tanaka Y, Ikenoue T, Kanai F, Kawabe T, Omata M. Decreased expression of the RAS-GTPase activating protein RASAL1 is associated with colorectal tumor progression. *Gastroenterology* 2009; 136: 206-216 [PMID: 18992247 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.063]
- 13 Glickman JF, Flynn J, Reich NO. Purification and characterization of recombinant baculovirus-expressed mouse DNA methyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 230: 280-284 [PMID: 9016766 DOI: 10.1006/bbrc.1996.5943]
- 14 Bai T, Tanaka T, Yukawa K, Maeda M, Umesaki N. Reduced expression of death-associated protein kinase in human uterine and ovarian carcinoma cells. *Oncol Rep* 2004; 11: 661-665 [PMID: 14767518]
- 15 Lee C. Coimmunoprecipitation assay. *Methods Mol Biol* 2007; 362: 401-406 [PMID: 17417028 DOI: 10.1007/978-1-59745-257-1\_31]

#### ■同行评价

本文应用甲基化特异性PCR、免疫共沉淀检测结肠癌组织及正常组织中RASAL1甲基化状态及RAS活性改变, 探讨了其临床意义. 可读性较好, 有助于读者了解RASAL1甲基化在结肠癌中的表达以及RASAL1甲基化与RAS活性的关系.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### ●消息●

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变.

# HLA-DRB1\*03/04等位基因与广西原发性肝癌家族聚集性的相关性

马莎莎, 吴继周, 吴健林, 刘芳, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕

## ■背景资料

广西是全国肝癌的高发区, 存在着非常显著的肝癌家庭聚集现象, 其发病是环境因素和遗传因素相互作用的结果, 在众多遗传因素中 HLA 被认为与肝癌的发生、发展有密切关系。

马莎莎, 吴继周, 吴健林, 刘芳, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021

马莎莎, 硕士, 主要从事肝脏病的发病机制及诊疗方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960170

广西卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重200924

作者贡献分布: 此课题由吴继周与马莎莎共同设计; 研究过程和数据由马莎莎、吴健林、刘芳及庞裕操作完成; 研究标本由胡蝶飞与宁秋悦协助提供; 论文写作由马莎莎、吴继周及吴健林共同完成; 由吴继周审核。

通讯作者: 吴继周, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。wjz925@163.com

收稿日期: 2012-12-06 修回日期: 2013-01-09

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Relationship between HLA-DRB1\*03/04 alleles and familial clustering of hepatocellular carcinoma in Guangxi

Sha-Sha Ma, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Fang Liu, Die-Fei Hu, Qiu-Yue Ning, Yu Pang

Sha-Sha Ma, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Fang Liu, Die-Fei Hu, Qiu-Yue Ning, Yu Pang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960170; and the Science Foundation of Health Bureau of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200924

Correspondence to: Ji-Zhou Wu, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wjz925@163.com

Received: 2012-12-06 Revised: 2013-01-09

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between HLA-DRB1\*03/04 alleles and familial clustering of hepatocellular carcinoma (HCC) to identify genes related to susceptibility to HCC in Guangxi, China.

**METHODS:** One hundred and fifty members whose families have had two or more HCC patients were selected as the case group, and 150 members whose families have had only

one HCC case and 150 members from families without any cancer were selected as controls. Peripheral blood samples were collected to extract DNA for testing HLA-DRB1\*03/04 alleles by PCR-SSP.

**RESULTS:** The frequency of the HLA-DRB1\*03/04 alleles were all slightly higher in the case group than those in the two control groups. The difference in HLA-DRB1\*03 allele distribution among the three groups was not statistically significant ( $\chi^2 = 1.074$ ,  $P = 0.584$ ), but the difference in HLA-DRB1\*04 allele distribution was significant ( $\chi^2 = 8.748$ ,  $P = 0.013$ ).

**CONCLUSION:** HLA-DRB1\*04 allele, not HLA-DRB1\*03 allele, might be associated with familial clustering of hepatocellular carcinoma in Guangxi, China.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** HLA-DRB1\*03/04; Allele; Hepatocellular carcinoma; Familial clustering

Ma SS, Wu JZ, Wu JL, Liu F, Hu DF, Ning QY, Pang Y. Relationship between HLA-DRB1\*03/04 alleles and familial clustering of hepatocellular carcinoma in Guangxi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 346-351 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/346.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.346>

## 摘要

**目的:** 探讨HLA-DRB1\*03/04等位基因与广西原发性肝癌家族聚集性的相关性, 为寻找原发性肝癌的遗传易感基因或抗病基因提供线索。

**方法:** 采取性别、年龄±5岁配对方法, 在广西肝癌高发区选取肝癌高发家族成员、肝癌单发家族成员和无癌家族成员各150例作为研究对象, 采集研究对象外周全血提取DNA, 应用PCR-SSP方法对HLA-DRB1\*03/04等位基因进行检测。

**结果:** HLA-DRB1\*03在肝癌高发家族组的表

## ■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科; 肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室



达频率(16.7%)稍高于肝癌单发家族组(12.7%)及无癌家族组(16.0%),该等位基因在3组间的分布无显著性差异( $\chi^2 = 1.074, P = 0.584$ );HLA-DRB1\*04在肝癌高发家族组的表达频率(14.7%)稍高于肝癌单发家族组(5.3%)及无癌家族组(7.3%),其在3组间的分布有显著性差异( $\chi^2 = 8.748, P = 0.013$ ).

**结论:** HLA-DRB1\*04等位基因可能与广西肝癌高发区原发性肝癌的家族聚集性存在相关性;而HLA-DRB1\*03等位基因则与之无明显相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** HLA-DRB1\*03/04; 等位基因; 原发性肝癌; 家族聚集性

马莎莎, 吴继周, 吴健林, 刘芳, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕. HLA-DRB1\*03/04等位基因与广西原发性肝癌家族聚集性的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 346-351 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/346.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.346>

## 0 引言

据我国癌症登记的资料分析结果表明,肝癌的发病率及死亡率均居我国癌症的前4位,严重威胁着人类的健康和生命.广西是全国肝癌的高发区,既往研究发现广西肝癌高发区存在着非常显著的肝癌家庭聚集现象,且肝癌的发生逐渐呈年轻化,使得探索肝癌家族聚集性的危险因素和预测指标显得意义重大.现已证实肝癌的发病是环境因素和遗传因素相互作用的结果,在众多遗传因素中人类主要组织相容性复合体(human leukocyte antigen, HLA)被认为是与遗传密切相关的基因,不仅决定着个体间基因组间的主要差异,而且其高度的多态性与机体的免疫状态密切相关,被认为与肝癌的发生、发展有密切的关系.为了探讨HLA-DRB1等位基因型与广西肝癌家庭聚集性的关系,研究其是否可作为广西肝癌家族聚集性发生的预测指标,本研究采用PCR-SSP技术探讨HLA-DRB1\*03/04等位基因与广西肝癌高发区肝癌家族聚集性之间的相关性.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究选择广西肝癌高发区肝癌高发家族成员150例作为实验组,采取配对方法选择与高发家族成员生活条件、生活环境、生活习

惯以及生活水平相同的同一村屯、相同性别、年龄 $\pm 5$ 岁的肝癌单发家族成员和无癌家族成员各150例作为对照.肝癌高发家族的定义:有血缘关系的家族成员中发生过2例及2例以上的原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)病例(HCC诊断按照第四届全国肝病学术会议修订的肝癌诊断标准)的家族;肝癌单发家族的定义:有血缘关系的家族成员中仅发生过1例HCC病例的家族;无癌家族定义:直系亲属中未发生过任何恶性肿瘤病例的家族.3组研究对象,男90例,女60例,瑶族111例、壮族228例和汉族111例,其中HBsAg阳性为112例(3组分别为36例、42例、34例),HBsAg阴性为338例,丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)抗体均为阴性,肝癌高发家族组、肝癌单发家族组及无癌家族组间年龄、性别、肝功能、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染情况比较,3组间的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ).Premix Taq酶购自Takara公司;引物序列均由上海生工生物工程技术有限公司合成.

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集:**采集受检者空腹时外周静脉血4 mL,分别注入有盖普通无菌干燥管和依地酸二钠(EDTA)管各2 mL,混匀后进行300  $\mu$ L/管分装,并保存于-80  $^{\circ}$ C冰箱中,用于提取外周血白细胞DNA.自凝血离心后留取血清进行乙型肝炎病毒血清学标志物(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb)、肝功能、抗HCV和HBV-DNA的检测.

**1.2.2 DNA提取及质控:**采用美国promega试剂盒严格按照说明书的步骤进行提取,提取后的DNA使用凝胶电泳及紫外分光光度计Nano Drop 2000检测其浓度和纯度,选取DNA纯度: $A_{260/280}$ 值在1.6-1.8之间,电泳条带单一、清晰的样品保存于-20  $^{\circ}$ C待用.

**1.2.3 HLA-DRB1\*03/04等位基因的检测:**(1)引物制备:参照Olerup等<sup>[1]</sup>的文献设计HLA-DRB1\*03/04等位基因特异性引物序列各一对(表1),以人类生长因子(human growth factor, HGF)基因片段作为内参照来检测PCR反应体系是否正常;(2)25  $\mu$ L PCR反应体系的组成: Premix Taq酶12.5  $\mu$ L,引物上下游各0.5  $\mu$ L,内参上下游各0.3  $\mu$ L,8.9  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O,2.0  $\mu$ L DNA模板;(3)PCR反应条件:预变性94  $^{\circ}$ C 3 min,变性94  $^{\circ}$ C 30 s,退火59  $^{\circ}$ C/58  $^{\circ}$ C 40 s,延伸72  $^{\circ}$ C 1 min,进行35个循环,末次延伸72  $^{\circ}$ C 5 min;(4)PCR产

### ■ 相关报道

HLA等位基因的多态性与肝癌、宫颈癌、肾细胞癌、甲状腺乳头状癌及鼻咽癌等的遗传易感性密切相关.

## ■ 创新盘点

本文把肝癌家族中非癌症成员作为研究对象,研究HLA-DRB1等位基因在广西肝癌高发区原发性肝癌的家族聚集中的作用。

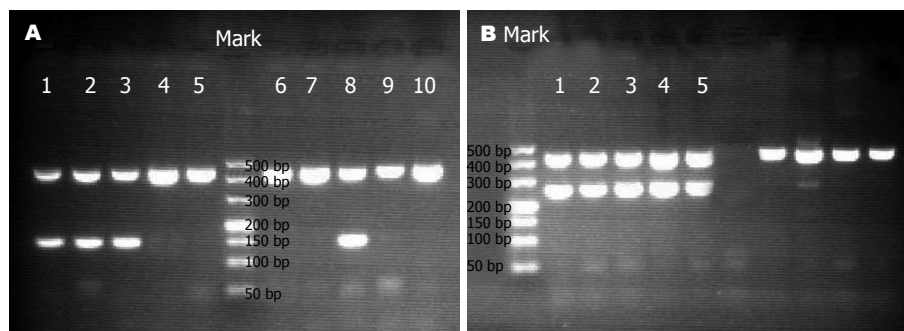


图1 HLA-DRB1\*03/04等位基因的PCR扩增电泳图. A: 泳道1-3、8为DRB1\*03等位基因阳性扩增标本, 4-7、9、10为DRB1\*03等位基因阴性扩增产物, 151 bp的条带为目的条带; B: 1-5为DRB1\*04等位基因阳性扩增标本, 7-10为DRB1\*04等位基因阴性扩增标本, 250 bp的条带为目的条带, 图A、B中432 bp条带为内参照(HGF).

表1 各等位基因特异性引物序列

基因	引物序列5'-3'	长度(bp)	基因长度(bp)
*03	上游TACTTCCATAACCAGGAGGAGA	22	151
	下游TGCAGTAGTTGTCCACCCG	19	
*04	上游GTTTCTTGAGCAGGTAAACA	22	260
	下游CTGCACTGTGAAGCTCTCAC	20	
人类生	上游CAGTGCCTTCCCAACCATTCCCTTA	25	432
长因子	下游ATCCACTCACGGATTCTGTGTGTTC	28	

物的确定: 3%琼脂糖凝胶进行电泳, 在凝胶电泳成像系统上观看结果. 阳性产物送上海生工生物工程技术服务有限公司进行测序, 测序结果与NCBI GeneBank的HLA-DRB1\*03/04等位基因核苷酸序列进行比对(BLAST)相似性达95%-99%, 结合电泳结果确定产物为目的基因片段(图1, 2).

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计学软件进行统计分析, 各组HLA-DRB1\*03/04等位基因频率比较用行×列表 $\chi^2$ 检验, 关联强度用比值比(odds ratio,  $OR = ad/bc$ )反映, 并计算其95%可信区间(95%CI); 统计学显著性检测均为双侧, 检验水准 $\alpha = 0.05$ .

## 2 结果

**2.1 HLA-DRB1\*03/04等位基因的频率表达在各组间的分布及比较** HLA-DRB1\*04等位基因在肝癌高发家族组、肝癌单发家族组及无癌家族组中的阳性率分别为14.7%、5.3%和7.3%, 3组间比较存在显著性差异( $\chi^2 = 8.748$ ,  $P = 0.013$ ), HLA-DRB1\*04等位基因在高发家族组的表达频率显著高于单发家族组及无癌家族组, 其 $OR$ 值分别为3.051和2.172, 而HLA-DRB1\*03等位基因的表达频率在肝癌高发家族组、肝癌单发家族组及无癌家族组中分别为16.7%、12.7%和

16%, 经统计学分析, 3组间HLA-DRB1\*03等位基因的表达频率分布无显著性差异( $\chi^2 = 1.074$ ,  $P = 0.584$ , 表2).

**2.2 HLA-DRB1\*03/04等位基因的表达与HBV感染、民族及性别的相关性** 经统计学分析后HLA-DRB1\*04等位基因与HBV感染、民族及性别均无明显相关性, HLA-DRB1\*03等位基因与HBV感染、性别也均无明显相关性, 但其在壮族、汉族和瑶族中的表达频率分布为15.8%、21.6%和7.2%, 经统计学分析, 3个民族间的表达频率存在显著性差异( $\chi^2 = 9.155$ ,  $P = 0.010$ ), 瑶族人群中HLA-DRB1\*03等位基因的表达率显著低于壮族及汉族人群, 其 $OR$ 值分别为0.414和0.282(表2).

## 3 讨论

HLA基因复合体是迄今所知的人类最具多态性的基因系统, 依据编码分子的不同特性而分成3类基因区, 分别称为I、II、III类基因. 其中II类基因的等位基因的多态性导致了抗原结合槽及提呈抗原肽给T细胞的效率不同而决定着不同个体对免疫应答的差异. 在II类区域中又以HLA-DRB1等位基因多态性最复杂, 且是机体免疫基因(Ir)所在区域, 故与免疫应答关系最为密切, 并与许多疾病的遗传易感性<sup>[2-6]</sup>相关. 迄

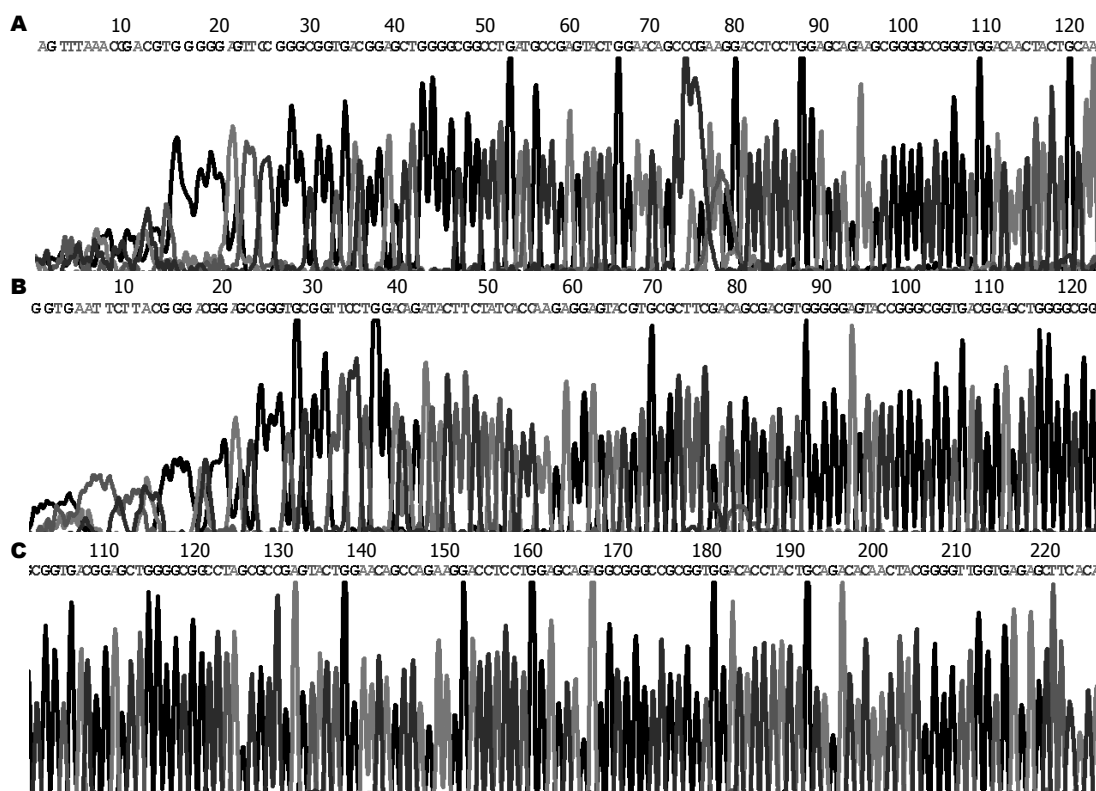


图 2 HLA-DRB1\*03和HLA-DRB1\*04等位基因测序结果. A: HLA-DRB1\*03等位基因; B, C: HLA-DRB1\*04等位基因.

#### 应用要点

本研究通过PCR-SSP技术检测HLA-DRB1等位基因多态性,以期找到肝癌家族聚集的易感基因,进一步研究肝癌高发家庭的高发原因。

今HLA-II类等位基因与肝癌病理以及遗传易感性的关系已有较多的阐明,蒋业贵等<sup>[7]</sup>检测了HLA-DR在肝癌组织中的表达情况,发现肝癌组织表达HLA-DR,而癌旁的非癌组织HLA-DR表达则为阴性,且在肝癌中表达的阳性率随肝癌的分化程度的下降而降低,提示HLA-DR可作为肝癌的发生、发展不同时期的一个标志物。Donaldson等<sup>[8]</sup>对中国肝癌病人HLA-DRB1等位基因进行的研究结果表明DRB1\*1501是中国肝癌发生的危险基因。El-Chennawi等<sup>[9]</sup>对埃及肝癌病人HLA-DRB1等位基因进行的研究表明DRB1\*07、DRB1\*04为埃及肝癌发生的危险因子,而DRB1\*15为保护性因子。罗双艳等<sup>[10]</sup>、黄爱春等<sup>[11]</sup>对广西地区肝癌患者的研究发现DRB1\*07、13、14可能是原发性肝癌的易感基因。Lin等<sup>[12]</sup>进行的Meta分析证实了DRB1\*07、12是所有人原发肝癌的易感基因,而DRB1\*15等位基因可能是亚洲人群肝癌的易感基因。最近也有文献<sup>[13]</sup>证明HLA-DRB1\*14可能是慢性乙型肝炎患者发展为肝癌的危险因素。上述文献均说明HLA-DRB1等位基因与肝癌的发生密切相关,但其与肝癌家庭聚集性的关系如何,在国内外鲜有研究报道。本课题之前进行的实验部分已证明HLA-DRB1的部分常见等位

基因可能与肝癌家族聚集性相关,本实验选择与慢性乙型肝炎易感性<sup>[14-16]</sup>以及与肝癌发生相关的HLA-DRB1\*03、04等位基因进行研究,以观察肝癌高发是因为遗传了对HBV感染的易感性还是遗传了家族本身的某些遗传特质所致。

本研究对HLA-DRB1\*03/04等位基因在高发家族组、单发家族组及无癌家族组中的表达频率进行的分析结果发现,HLA-DRB1\*04等位基因的表达频率在肝癌高发家族成员、肝癌单发家族成员及无癌家族成员分别为14.7%、5.3%和7.3%,经统计学分析,HLA-DRB1\*04表达频率的分布在3组间存在显著性差异( $\chi^2 = 8.748$ ,  $P = 0.013$ ),HLA-DRB1\*04等位基因在高发家族组的表达频率显著高于单发家族组及无癌家族组,其OR值分别为3.051和2.172。研究结果表明,HLA-DRB1\*04等位基因表达的家族成员发生原发肝癌的几率是无HLA-DRB1\*04等位基因表达的家族成员的2.172倍以上。以往的研究<sup>[17]</sup>结果已证明,广西肝癌高发区的肝癌家族聚集性与HBV感染密切相关,但本研究中HLA-DRB1\*03/04等位基因的表达频率在HBV感染者与非HBV感染者间比较均无显著性差异( $\chi^2 = 1.539$ ,  $P = 0.215$ ;  $\chi^2 = 0.006$ ,  $P = 0.938$ ),提示广西肝癌高发区肝癌的家族聚集性可能不是由于



## ■名词解释

肝癌高发家族: 有血缘关系的家族成员中发生过2例及2例以上的原发性肝癌(HCC)病例(HCC诊断按照第四届全国肝病学术会议修订的肝癌诊断标准)的家族。

表 2 各组HLA-DRB1等位基因频率分布比较 %/*n*

分组	<i>n</i>	HLA-DRB1*03	HLA-DRB1*04
实验组			
高发家族组	150	16.7(25/150)	14.7(22/150)
单发家族组	150	12.7(19/150)	5.3(8/150)
无癌家族组	150	16.0(24/150)	7.3(11/150)
$\chi^2$ 值		1.074	8.748
<i>P</i> 值		0.584	0.013 <sup>a</sup>
民族			
壮族	228	15.8 (36/228)	8.3 (19/228)
瑶族	111	7.2 (8/111)	7.2 (8/111)
汉族	111	21.6 (24/111)	12.6 (14/111)
$\chi^2$ 值		9.155	2.296
<i>P</i> 值		0.010 <sup>b</sup>	0.317
HBV感染			
HBV感染者	112	18.8(21/112)	8.9(10/112)
非HBV感染者	338	13.9(47/338)	9.2(31/338)
$\chi^2$ 值		1.539	0.006
<i>P</i> 值		0.215	0.938
性别			
男	270	16.3(44/270)	8.9(24/270)
女	180	13.3(24/180)	9.4(17/180)
$\chi^2$ 值		0.739	0.040
<i>P</i> 值		0.390	0.841

<sup>a</sup>高发家族组与单发家族组间的比较( $\chi^2 = 7.259$ ,  $P = 0.007$ ;  $OR = 3.051$ ; 95%CI: 1.312–7.093); 高发家族组与无癌家族组间的比较( $\chi^2 = 4.120$ ,  $P = 0.042$ ;  $OR = 2.172$ ; 95%CI: 1.013–4.656); <sup>b</sup>瑶族与壮族间的比较( $\chi^2 = 4.868$ ,  $P = 0.027$ ;  $OR = 0.414$ ; 95%CI: 0.186–0.924); 瑶族与汉族间的比较( $\chi^2 = 9.347$ ,  $P = 0.002$ ;  $OR = 0.282$ ; 95%CI: 0.120–0.658)。

HLA-DRB1\*04等位基因造成机体对HBV感染的遗传易感性所致。由此可见, HLA-DRB1\*04等位基因本身可能是导致广西肝癌高发区原发性肝癌家族聚集的危险基因。本研究结果还表明, HLA-DRB1\*03等位基因在肝癌高发家族组、单发家族组及无癌家族组的表达频率分别为16.7%、12.7%和16.0%, 经统计学分析, 其表达频率的分布在3组间均无显著性差异( $\chi^2 = 1.074$ ,  $P = 0.584$ )。提示HLA-DRB1\*03等位基因可能不是广西肝癌家族聚集性的危险因素。对HLA-DRB1\*03/04等位基因在3个民族中的表达频率的进一步分析发现, HLA-DRB1\*03等位基因在壮族、汉族和瑶族中的阳性率分布为15.8%、21.6%和7.2%, 经统计学分析, 3个民族的HLA-DRB1\*03表达频率存在显著性差异( $\chi^2 = 9.155$ ,  $P = 0.010$ )。研究结果显示, 瑶族人群中HLA-DRB1\*03等位基因的表达率显著低于壮族及汉族人群, 其 $OR$ 值分别为0.414和0.282。综合HLA-DRB1\*03等位基因在肝癌高发家族组、单发家

族组及无癌家族组的表达频率分布在3组间均无显著性差异( $\chi^2 = 1.074$ ,  $P = 0.584$ )结果表明, HLA-DRB1\*03等位基因的缺省可能只是广西瑶族人群的遗传特征之一, 与原发性肝癌的遗传易感性无明显相关。

## 4 参考文献

- Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-235 [PMID: 1357775 DOI: 10.1111/j.1399-0039.1992.tb01940.x]
- Xin YN, Lin ZH, Jiang XJ, Zhan SH, Dong QJ, Wang Q, Xuan SY. Specific HLA-DQB1 alleles associated with risk for development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2248-2254 [PMID: 21633537 DOI: 10.3748/wjg.v17.i17.2248]
- Yilmaz E, Çekmen A, Akkuş E, Önal B, Özalp AU, Solok V, Erdoğan E, Eren B. The relationship between human leukocyte antigens (HLA) and renal cell carcinoma. *Bosn J Basic Med Sci* 2010; 10: 282-286 [PMID: 21108609]

- 4 Hu Y, Zhang SH, Huang YG, Zhu H, Shuai CX. [Polymorphism of HLA-DRB1 and -DQB1 alleles among young women with cervical squamous cell carcinoma and its relation with human papillomavirus type 16 infection]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2010; 90: 2193-2197 [PMID: 21029659]
- 5 Amoli MM, Yazdani N, Amiri P, Sayahzadeh F, Haghpanah V, Tavangar SM, Amirzargar A, Ghaffari H, Nikbin B, Larijani B, Mostaan LV, Bazzaz JT. HLA-DR association in papillary thyroid carcinoma. *Dis Markers* 2010; 28: 49-53 [PMID: 20164547 DOI: 10.3233/DMA-2010-0683.]
- 6 Zhao M, Cai H, Li X, Zheng H, Yang X, Fang W, Zhang L, Wei G, Li M, Yao K, Li X. Further evidence for the existence of major susceptibility of nasopharyngeal carcinoma in the region near HLA-A locus in Southern Chinese. *J Transl Med* 2012; 10: 57 [PMID: 22440091 DOI: 10.1186/1479-5876-10-57]
- 7 蒋业贵, 王宇明, 李奇芬. HLA-DR抗原在肝细胞癌中的表达及意义. *免疫学杂志* 2001; 17: 556-561
- 8 Donaldson PT, Ho S, Williams R, Johnson PJ. HLA class II alleles in Chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Liver* 2001; 21: 143-148 [PMID: 11318984]
- 9 El-Chennawi FA, Auf FA, Metwally SS, Mosaad YM, El-Wahab MA, Tawhid ZE. HLA-class II alleles in Egyptian patients with hepatocellular carcinoma. *Immunol Invest* 2008; 37: 661-674 [PMID: 18821214 DOI: 10.1080/08820130802111605]
- 10 罗双艳, 李国坚, 吴健林, 吴继周, 韦颖华, 万裴琦, 黄爱春, 李兰兰. HLA-DRB1\*7及\*13等位基因与原发性肝癌的相关性研究. *中国现代医学杂志* 2010; 20: 2000-2003
- 11 黄爱春, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 韦颖华, 罗双艳, 宁秋悦, 李兰兰. HLA-DRB1\*14和\*15等位基因与肝癌的相关性. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 420-422
- 12 Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, Sun Y, Xuan SY. Association between HLA-DRB1 alleles polymorphism and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 145 [PMID: 21172035 DOI: 10.1186/1471-230X-10-145.]
- 13 Jin YJ, Shim JH, Chung YH, Kim JA, Choi JG, Park WH, Lee D, Lee YS, Kim SE, Kim SH, Yang SH. Relationship of HLA-DRB1 alleles with hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis B patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 420-426 [PMID: 22499074 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318239f9cc.]
- 14 骆峻, 金安娜, 吴旭东, 喻荣彬. 中国人群HLA-DRB1基因多态性与慢性乙型肝炎关系的META分析. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3050-3054
- 15 蒋业贵, 王宇明. 人类白细胞抗原-DRB1\*1001与慢性乙型肝炎重型化密切相关. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 256
- 16 孔建新, 王保龙. 慢性乙型肝炎与HLA-DRB1等位基因的相关性研究. *安徽医学* 2004; 25: 358-360
- 17 吴继周, 汤国园. HBV感染及复制状态在HCC家族聚集性中的作用研究. *广西预防医学* 1997; 3: 264-266

## ■同行评价

本研究有创新性, 首次发现HLA-DRB1\*04等位基因可能与广西肝癌高发区原发性肝癌的家族聚集性存在相关性, 对进一步认识肝癌家族聚集性的遗传易感性以及肝癌的预防、诊治具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部 2012-03-08)。

## 肝叶切除术在胆道再次手术中的应用

吴军卫, 柴新群, 李 潼, 李锦锦, 孟元普

### ■背景资料

胆道再次手术是胆道外科的难题之一, 肝叶切除在胆道再次手术中的应用也相当广泛。术前评估和手术方式的合理选择是减少胆道再次手术次数的关键。特别是磁共振胰胆管成像(MRCP)在胆道再次手术需行肝叶切除患者术前评估中的应用极为重要, 可以帮助术者选择更为合理的手术方式。由于各级医疗单位水平和术者水平不同, 有相当多的胆道再次手术需行肝叶切除的患者因首次胆道手术方式不合理而导致, 因此建立一个相对统一的治疗模式, 作好胆道首次手术尤为重要。

吴军卫, 柴新群, 李潼, 李锦锦, 孟元普, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

吴军卫, 主要从事肝胆疾病的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070059

作者贡献分布: 此论题由柴新群与吴军卫设计; 手术由柴新群、吴军卫及李潼等操作完成; 数据分析由柴新群、李锦锦及孟元普完成; 本论文写作由吴军卫与柴新群完成。

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1227号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。

xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-08

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

### Application of hepatic lobectomy in bile duct reoperation

Jun-Wei Wu, Xin-Qun Chai, Tong Li, Jin-Jin Li, Yuan-Pu Meng

Jun-Wei Wu, Xin-Qun Chai, Tong Li, Jin-Jin Li, Yuan-Pu Meng, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070059

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, 1227 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-08

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the application of hepatic lobectomy in bile duct reoperation and preoperative evaluation and management.

**METHODS:** The clinical data for 105 patients who underwent bile duct reoperation and hepatic lobectomy from November 2005 to February 2012 were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** Left lateral hepatic lobectomy was performed in 69 patients, left hepatectomy in 18 patients, quadrate lobe resection in 8 patients (the Kasai procedure), and partial right lobe resection in 4 patients (including 1 undergoing right hepatectomy). Anatomic hepatectomy of bilateral lobes was implemented in 4 patients, includ-

ing 2 undergoing resection of gallbladder bed for gallbladder carcinoma, 1 undergoing right hepatectomy with left lateral lobectomy and 1 undergoing partial right hepatic lobe resection with left lateral lobectomy. Left medial hepatic resection was performed in 2 patients. Postoperative complications included incision infection, bile leakage, pneumonia, and pleural effusion. One patient died of liver failure perioperatively.

**CONCLUSION:** For recurrence of intrahepatic bile duct stones and/or residual stones, lobes with stones and stenosis should be resected completely in hepatic lobectomy so as to reduce the frequency of biliary tract reoperation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Bile duct reoperation; Hepatic lobectomy; Hepatolithiasis; Cholangiocarcinoma

Wu JW, Chai XQ, Li T, Li JJ, Meng YP. Application of hepatic lobectomy in bile duct reoperation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 352-356 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/352.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.352>

### 摘要

**目的:** 探讨肝叶切除在胆道再次手术中的应用及术前评估与处理。

**方法:** 回顾性分析2005-11/2012-2我院收治的胆道再次手术中行肝叶切除的105例患者的临床资料。

**结果:** 肝左外叶切除69例; 左半肝切除18例; 肝方叶切除8例; 肝右叶部分切除4例, 其中1例为右半肝切除; 双侧肝叶规则性切除4例, 包括2例胆囊床切除, 1例右半肝及左外叶切除, 1例部分肝右叶及左外叶切除; 左内叶切除2例。术后主要并发症: 切口感染、胆漏、肺部感染、胸腔积液。围手术期因肝功能衰竭亡1例。

**结论:** 对于肝内胆管复发和/或残余结石, 应该彻底切除存在胆管结石和狭窄的肝叶或肝段, 努力减少胆道再次手术次数。

### ■同行评议者

陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科



© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 胆道再次手术, 肝叶切除, 肝石病, 胆管癌

吴军卫, 柴新群, 李潼, 李锦锦, 孟元普. 肝叶切除术在胆道再次手术中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 352-356  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/352.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.352>

## 0 引言

随着外科技术的发展, 肝叶切除术在胆道再次手术中的应用越来越广泛, 特别是对于肝内胆管复发和/或残余结石的患者. 但是, 应提高其应用的规范性, 否则不但难以解决根本问题, 反而会造成新的损伤, 导致严重的后果. 本文回顾性分析了本院2005-11/2012-2收治的胆道再次手术中行肝叶切除的105例患者的临床资料, 探讨其手术方式的合理应用及围手术期的术前评估与处理措施, 以提高手术的成功率, 减少胆道再次手术的次数.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集本院胆道再次手术行肝叶切除的患者105例, 男38例, 女67例. 年龄21-80岁, 平均54.6岁±11.4岁. 本次手术距前次手术时间为14 d至39年. 既往1次手术史72例, 2次28例, 3次及以上5例. 临床表现: 腹部不适(腹痛、腹胀)24例, 发热5例, 黄疸5例, 同时有腹部不适和发热36例, 同时有腹部不适和黄疸11例, 同时黄疸和发热3例, Charcot三联征18例, 无症状3例.

**1.2 方法** 对105例患者的临床资料进行回顾性分析, 就再次手术的原因、术前评估、手术方式的选择等进行分析.

## 2 结果

105患者上次手术的原因: 单纯胆囊结石或息肉40例, 胆总管结石或伴胆囊结石40例, 肝内外胆管多发结石20例, 胆管损伤修复3例, 胆总管囊肿2例. 上次手术的方式见表1. 本组患者再次手术的原因: 肝外胆管结石或狭窄并肝左叶结石或萎缩者35例, 胆管癌伴或不伴胆管结石者23例, 肝左叶结石伴脓肿或萎缩者22例, 左右肝内胆管多发结石并胆总管结石11例, 胆道高位损伤并胆道狭窄5例, 肝右叶结石伴脓肿或萎缩者2例, 胆囊癌侵及肝脏2例, 胆总管结石并肝左外叶血管瘤2例, 肝内胆管黏液性囊腺瘤伴胆管阻塞2例(其中1例为良性, 1例为交界性), Caroli病1例. 再次手术的方式见表2. 本组患者同时合并

肝硬化13例, 按Child-Pugh分级, 其中Child A级者10例, Child B级者3例. 术后主要并发症有单纯切口感染5例, 切口感染合并肺部感染1例, 切口感染合并胆漏1例, 胸腔积液4例, 单纯肺部感染1例, 单纯胆漏1例, 胆漏合并肺部感染1例, 围手术期因肝衰竭死亡1例, 并发症发生率为14.7%.

## 3 讨论

**3.1 胆道再次手术时需要行肝叶切除的原因及术前评估** 结合本组资料, 在胆道再次手术中有以下情况需行肝叶切除术: (1)肝内胆管结石残余或复发; (2)肝内或肝门部胆管癌; (3)IVa型及V型先天性胆总管囊肿; (4)高位胆管损伤; (5)合并胆道疾病的肝脏其他良恶性占位.

胆道再次手术一定要做好术前准备工作, 对患者进行全面评估. (1)合并肝硬化的胆道再次手术患者, 要评估患者的肝功能. 有关报道肝功能Child-Pugh分级标准不适合胆道再次手术合并肝硬化门静脉高压症患者的评估要求<sup>[1]</sup>, 因为有些患者由于胆道阻塞, 总胆红素增高很明显, 但是患者的血浆白蛋白、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)在可接受水平, 没有明显腹水和肝性脑病, 同样可以接受手术治疗; (2)对于胆道再次手术的患者一定常规行胆道磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)检查, 以了解病变的部位和范围, 明确可否行肝叶切除及切除范围. 有报道MRCP对梗阻性黄疸部位确诊率达100%, 梗阻原因诊断正确率达95.8%<sup>[2]</sup>. 本组资料中有16例患者因上次手术未行MRCP, 而没有切肝、或切肝不彻底. 本次手术有65例患者行MRCP, 且检查结果均与术中所见相同; (3)关于明显黄疸的患者是否需要术前减黄、多大程度的黄疸需要减黄一直是肝胆外科讨论的热点, 国内外较一致的观点是胆红素>170 μmol/L必须术前减黄<sup>[3]</sup>. 一般严重黄疸的病人对麻醉及手术的耐受力降低, 术中渗血增加, 术后组织愈合不良. 文献报告, 在严重的梗阻性黄疸情况下术后各吻合口愈合不佳, 易发生吻合口漏<sup>[4]</sup>, 易发生肝、肾功衰竭及消化道大出血等严重的术后并发症<sup>[5]</sup>, 且术后并发症及院内病死率增加<sup>[6]</sup>.

### 3.2 肝叶切除在胆道再次手术中的应用

**3.2.1 肝叶切除在再次胆道肝石病中的应用:** 肝内胆管结石残余或复发患者占胆道再次手术须行肝叶切除者的绝大多数, 本组资料因肝石病

### ■相关报道

目前许多报道分析了胆道再次手术的常见原因, 亦提出相应的手术方法. 关键是要把握黄志强院士倡导的“解除狭窄, 清除结石, 矫治畸形, 切除病灶, 通畅引流”的原则, 使首次胆道手术成为“最后一次”手术.

### ■创新盘点

本文重点对胆道再次手术需行肝叶切除的原因进行分类, 并对每种分类下手术方式的合理选择作了重点探讨; 并强调了胆道再次手术合并肝硬化或严重胆管炎患者的术前评估及处理及MRCP在胆道再次手术需行肝叶切除患者中的应用.

## ■应用要点

建立一个相对统一的治疗模式。术前全面评估及选择合理术式可以减少胆道再次手术的次数。

表 1 105例胆道再次手术肝叶切除患者的首次手术方式

首次手术方式	<i>n</i>
胆囊切除术	40
再次胆道探查+T管引流术	21
胆囊切除+胆道探查+T管引流术	19
胆囊切除+胆道探查+胆总管空肠吻合术	11
再次胆道探查+胆总管空肠吻合术	3
胆囊切除+胆道探查+胆总管十二指肠吻合术	3
胆总管修复+T管引流术	3
胆总管囊肿切除+胆总管空肠吻合术	2
胆囊切除+胆道探查+肝左外叶切除术+T管引流术	2
再次胆道探查+肝左叶部分切除+左肝管空肠吻合术	1

表 2 105例胆道再次手术肝叶切除患者的再次手术方式

再次手术方式	<i>n</i>
肝叶切除术+胆道探查术 (肝左外叶切除54例, 左半肝切除 15例, 肝右叶不规则切除3例, 右半肝+左外叶切除1例, 右半肝切除1例)	74
肝叶切除+胆道探查+肝门部胆管(胆总管)空肠吻合术 (肝左外叶切除11例, 肝方叶部分切除例+肝管支撑管引流术5例, 肝方叶部分及肝左叶切除+支架植入3例, 左半肝切除3例, 右叶部分切除+左外叶切除1例)	23
单纯肝左外叶切除术	4
肝左外叶切除+胆道探查+肝左叶胆管空肠吻合术	2
胆囊癌根治术(伴胆囊床切除)	2

行肝叶切除者有70例, 占总数的66.7%, 其中肝左叶切除者66例, 右叶切除者4例, 这是由于肝脏解剖的原因致肝左叶比右叶更易形成结石。由于肝内胆管结石导致胆汁引流不畅, 容易引起胆管内感染, 患者多伴有胆管炎症状: 腹痛、发热寒战, 若有肝外胆管阻塞还伴有黄疸, 所以去除病灶尤为关键。造成肝内胆管结石残余或复发的原因归结起来有以下几点: (1)上次手术前检查未完善, 未发现肝内胆管结石; (2)手术方式选择错误。如肝左内及左外叶均存在结石及狭窄, 只行肝左外叶切除, 本组此类患者2例; 对于肝内胆管结石仅行胆总管切开取石+T管引流或胆肠吻合术, 希望术后胆道镜取净结石, 或结石自然掉落入肠管, 由于肝内胆管狭窄未解除, 结石必然复发; (3)上次手术胆肠吻合口狭窄, 胆汁引流不畅致肝内结石复发。肝叶切除在肝石病的手术适应证如下: (1)区域型肝内胆管结石; (2)弥漫性肝内胆管结石有区域性的毁损病灶, 这些病灶包括: 肝叶或肝段的纤维化或萎缩; 难以取净的多发性结石; 难以纠治的肝管狭窄或囊性扩张; 合并慢性肝脓肿; 合并肝内胆管癌<sup>[7]</sup>。

对于严重的肝硬化门脉高压症、急性化脓性胆管炎和一般状况差者均不宜行肝叶切除术。

对于左肝内胆管结石, 现在一致认为应行规则性的左半肝切除(或加尾叶切除)替代原来的左外叶切除。Sun等<sup>[8]</sup>发现仅切除肝左外叶其残石发生率为22%, 左肝管再狭窄发生率为43%, 而行左半肝切除者残石发生率仅为4%, 且残石均存在于肝外胆管。因为通过肝外胆管及肝断面左肝管残端取石几乎不可能完全清除散布于左内叶胆管结石, 更难以清除左内叶狭窄或扩张的胆管, 术后结石残留或复发难以避免。左半肝切除能够完全切除左肝内结石及狭窄或扩张的胆管, 减少了远期结石复发、胆汁性肝硬化、门脉高压及发生胆管癌的危险性。本组资料有2例患者上次手术因左肝结石行左外叶切除而致左内叶结石残余或复发, 不得已再次行左内叶切除, 其中一例已恶变为胆管癌。一般认为对只存在左肝管结石, 左外叶及左内叶胆管均无结石及狭窄, 且左肝形态正常, 嵌入的结石可以通过胆道探查或胆道重建取出, 所有的胆管狭窄可以不用通过规则性肝叶切除完全清除,

则可不行肝叶切除. 右肝结石的发生率较左肝小, 也建议行规则性右半肝切除<sup>[9]</sup>. 对于分布于双侧肝叶的区域型结石伴相应肝段萎缩或脓肿者, 在预计残肝可以满足机体需要的情况下, 可行双侧肝叶的规则性切除. 对于肝石病, 我们应以黄志强院士倡导的“解除狭窄, 清除结石, 矫治畸形, 切除病灶, 通畅引流”为原则, 又以去除病灶(包括狭窄或扩张的胆管和萎缩或毁损的肝组织)为治疗的核心, 认真负责的做好每一例肝石病手术.

**3.2.2 肝叶切除在再次胆道胆管癌中的应用:**胆管癌在胆道再次手术中也较常见, 肝门部胆管癌或者肝内胆管癌累及肝门部的患者一般均有较严重的黄疸, 行根治术时为彻底切除癌灶也需行相应的肝叶切除. 本组资料中因胆管癌行肝叶切除者有23例, 均为肝内或肝门部胆管癌, 占总数的21.9%. 其发生与上次手术方式有关的原因一般有: 肝石病患者上次手术病灶未完全切除致肝内结石残余或复发、胆肠吻合术后肠液返流致反流性胆管炎和胆总管囊肿上次手术未切除. 若上述病症长期存在, 未行规范治疗均可诱发胆管癌.

一般而言肝内胆管癌及肝门部胆管癌行根治术时均须行肝叶切除. 肝内末梢胆管癌具有最高的手术切除率, 手术方式同肝细胞癌的类似, 即把癌变的肝内胆管所在的肝叶或肝段切除. 然而, 肝门胆管癌一直是肝胆外科非常棘手的问题, 治疗原则以手术切除为主, 最重要的是达到显微镜下的无瘤边缘(R0切除). Bismuth等<sup>[10]</sup>报道9例患者行R0切除术后在长达1-11年的随访期有7例达到无瘤生存, 而10例仅达到肉眼无瘤边缘(R1切除)者均于术后3年内死于肿瘤复发. 对于肝门胆管癌患者存在以下因素可作为手术的相对或绝对禁忌证: (1)癌组织累积双侧二级肝内胆管; (2)癌组织阻塞或包裹门静脉主干; (3)一侧肝叶萎缩同时伴有对侧门静脉的分支的包裹; (4)一侧肝叶萎缩同时伴有对侧二级胆管侵犯; (5)AJCC癌症分级III-IV级; (6)肝硬化伴有门静脉高压; (7)不适合手术的其他合并症<sup>[11]</sup>. 一般认为较为有临床指导意义手术方式的是Bismuth分型. 对于I型可只行局部肿块切除; II型行局部肿块切除+肝尾叶切除, 这是因为肿瘤浸润至左右肝管汇合处时几乎不可避免会侵犯肝尾叶胆管<sup>[12]</sup>, 若肿瘤还侵犯第IV肝段, 还应行肝方叶切除; IIIa型可行局部肿块切除+右半肝或右三叶切除+肝尾叶切除; IIIb型行局

部肿块切除+左半肝或左三叶切除+肝尾叶切除; IV型一般建议行肝移植术. 本组资料有3例IV型肝门胆管癌患者行改良Kasai术式(其手术原理是把肝门部受累肝组织切除使肝内胆管打开, 空肠吻合到被切除肝门部肝组织周围让胆汁流入空肠)也取得了良好的手术效果, 我们先前文章已有报道<sup>[13]</sup>. 国内崔培元等<sup>[14]</sup>亦报道了IV型肝门胆管癌应用Kasai术式取得满意效果. 此外肝门胆管癌的患者一般均有严重的梗阻性黄疸, 我们建议均应术前常规行PTCD减黄, 以防行半肝或扩大的半肝切除后剩余肝脏肝细胞功能较差, 不能代偿机体需要, 发生肝衰.

**3.2.3 肝叶切除在再次胆道胆总管囊肿中的应用:**相当一部分胆总管囊肿患者因上次手术方式不当, 致使肝内囊肿残留, 多因囊肿生长出现压迫症状或感染出现胆管炎症状, 而需再次手术切除囊肿, 究其原因有: (1)对胆总管囊肿分型认识不足, 没有针对不同的分型采取不同的手术方式. 如对于IVa型没有行肝内囊肿所在肝叶的规则性切除; (2)胆总管囊肿仅行单纯囊肿十二指肠或空肠吻合, 囊肿未切除, 胰液、肠液返流仍存在, 导致长期胆管炎、肝内胆管狭窄及结石形成; (3)对于V胆总管囊肿误认为肝囊肿, 仅行“肝囊肿”开窗引流术. 本组有1例IVa型胆总管囊肿患者, 因首次手术仅行肝外囊肿切除致肝内囊肿残留, 于5年后因肝内囊肿化脓而再次行肝叶切除术.

对于IVa型(胆总管囊肿伴肝内胆管囊肿)应行肝外胆管切除+扩张相对严重一侧肝叶切除, 对于不适宜行半肝切除单发肝内囊肿患者, 也可切除覆盖在囊肿表面的少量肝组织, 打开肝内囊肿壁, 行肝管空肠+肝内囊肿空肠吻合术, 这可以避免切除过多的肝组织, 减少创伤. Uru-shihara等<sup>[15]</sup>应用此方法取得良好的效果. 对于V型即Caroli病, 病变局限于某一肝段或一侧病变时, 首选规则性肝段切除或半肝切除, 部分累及双侧肝叶者应通过扩大的半肝切除达到完整切除肝内囊肿获得根治的目的. 对于全肝病变者若伴严重门脉高压症应行肝移植.

**3.2.4 肝叶切除在再次胆道胆管损伤中的应用:**胆管损伤特别是高位胆管损伤再次手术行胆管修复时也需行肝叶切除, 这是因为电刀灼烧伤、反复胆漏、腹腔感染致高位胆管狭窄, 行肝门部胆管整形术后肝外胆管所剩甚少或没有, 行常规胆肠吻合已不可行, 为保证足够大的吻合口, 防止术后肝门空肠吻合口再狭窄, 须切除

#### ■名词解释

胆道再次手术: 指胆道手术后因为并发症、原有疾病未治愈或者再次复发而施行的手术, 不包括其他腹部手术后再次针对胆道疾病所施行的手术.



## ■同行评价

本文选题较好,材料也充实,对临床有一定指导意义。

部分IV或V肝段,暴露肝门部,获得足够大的吻合口,行肝肠吻合,这需要术者具备很高的胆道修复手术经验与技巧。本组资料中有5例为高位胆管损伤患者,均通过Kasai术式取得非常好的手术效果,具体手术程序我们研究小组已作过报道<sup>[13]</sup>。胆道损伤再次手术争议较多的是手术时机的选择,我们认为只要患者无胆管炎和腹腔感染表现,且损伤部位近端胆管扩张,应积极早期实施手术,因为此时手术可以获得正常柔软的胆管,与晚期修复相比死亡率及胆道再狭窄的比例并未增加<sup>[16]</sup>,但可以尽早的解决患者的病痛。国外报道1例因行腹腔镜胆囊切除术时横断了右肝管,致使术后胆漏2 mo,长期的腹腔感染使得患者肝右叶的胆管树弥漫性炎性狭窄,但是肝左叶胆管造影显示良好,采取右半肝切除+左肝管空肠Roux-en-Y吻合术,术后随访5年恢复良好,没有复发胆管炎及胆管结石<sup>[17]</sup>。这说明胆管损伤修复时合理并灵活的运用肝叶切除可以很好的解决患者的病痛,并免受再次手术之苦。

总之,胆道再次手术中肝叶切除应用广泛,肝胆外科医生应针对不同的胆道再次手术原因,按相应手术原则规范行肝叶切除术。对再次胆道手术,一定要精心设计、充分准备,不轻易放弃手术,且努力做好本次手术,力争成功。

## 4 参考文献

- 1 柏立山,柴新群,胡志坚,冯贤松.胆道多次手术同时合并肝硬化门静脉高压症的评估及处理.肝胆外科杂志 2011; 23: 202-204
- 2 柴新群,冯贤松,张寿熙.胆道再次手术的术前评估及处理.世界华人消化杂志 2008; 16: 1128-1131
- 3 李继光.恶性梗阻性黄疸与术前减黄.中国实用外科杂志 2001; 21: 498-502
- 4 Cherqui D, Benoist S, Malassagne B, Humeres R, Rodriguez V, Fagniez PL. Major liver resection for carcinoma in jaundiced patients without preoperative biliary drainage. *Arch Surg* 2000; 135: 302-308 [PMID: 10722032 DOI: 10.1001/archsurg.135.3.302]
- 5 Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Elton RA, Davies GC. Upper gastrointestinal bleeding. A significant complication after surgery for relief of obstructive jaundice. *Ann Surg* 1984; 199: 271-275 [PMID: 6608323 DOI: 10.1097/0000658-198403000-00004]
- 6 Greig JD, Krukowski ZH, Matheson NA. Surgical morbidity and mortality in one hundred and twenty-nine patients with obstructive jaundice. *Br J Surg* 1988; 75: 216-219 [PMID: 3349328 DOI: 10.1002/bjs.1800750309]
- 7 中华医学会外科学分会胆道外科学组.肝胆管结石病诊断治疗指南.中华消化外科杂志 2007; 6: 156-160
- 8 Sun WB, Han BL, Cai JX. The surgical treatment of isolated left-sided hepatolithiasis: a 22-year experience. *Surgery* 2000; 127: 493-497 [PMID: 10819056 DOI: 10.1067/msy.2000.104663]
- 9 Hung CJ, Lin PW. Role of right hepatic lobectomy in the treatment of isolated right-sided hepatolithiasis. *Surgery* 1997; 121: 130-134 [PMID: 9037223 DOI: 10.1016/S0039-6060(97)90281-6]
- 10 Bismuth H, Nakache R, Diamond T. Management strategies in resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 1992; 215: 31-38 [PMID: 1309988 DOI: 10.1097/0000658-199201000-00005]
- 11 Weber SM, DeMatteo RP, Fong Y, Blumgart LH, Jarnagin WR. Staging laparoscopy in patients with extrahepatic biliary carcinoma. Analysis of 100 patients. *Ann Surg* 2002; 235: 392-399 [PMID: 11882761 DOI: 10.1097/0000658-200203000-00011]
- 12 Nimura Y, Hayakawa N, Kamiya J, Kondo S, Shionoya S. Hepatic segmentectomy with caudate lobe resection for bile duct carcinoma of the hepatic hilus. *World J Surg* 1990; 14: 535-543; discussion 544 [PMID: 2166381 DOI: 10.1007/BF01658686]
- 13 Gao JB, Bai LS, Hu ZJ, Wu JW, Chai XQ. Role of Kasai procedure in surgery of hilar bile duct strictures. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4231-4234 [PMID: 22072856 DOI: 10.3748/wjg.v17.i37.4231]
- 14 崔培元,范恒伟,吴维,吴斌全,邱兆磊.Kasai术式在Ⅲ、Ⅳ型肝门胆管癌切除术中应用.肝胆外科杂志 2012; 20: 292-294
- 15 Urushihara N, Fukumoto K, Fukuzawa H, Tani M, Matsuoka T, Suzuki K, Kawashima S, Hasegawa S. Hepaticojunostomy and intrahepatic cystojejunostomy for type IV-A choledochal cyst. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 1753-1756 [PMID: 17923209 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2007.06.012]
- 16 Thomson BN, Parks RW, Madhavan KK, Wigmore SJ, Garden OJ. Early specialist repair of biliary injury. *Br J Surg* 2006; 93: 216-220 [PMID: 16329079 DOI: 10.1002/bjs.5194]
- 17 Ota T, Hirai R, Tsukuda K, Murakami M, Naitou M, Shimizu N. Biliary reconstruction with right hepatic lobectomy due to delayed management of laparoscopic bile duct injuries: a case report. *Acta Med Okayama* 2004; 58: 163-167 [PMID: 15471439]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# MRCP对ERCP胆管插管难度预测的价值

朱恒, 赵清喜, 孙学国, 王小玮, 鞠辉, 毛涛, 田字彬

朱恒, 赵清喜, 孙学国, 王小玮, 鞠辉, 毛涛, 田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003

朱恒, 在读硕士, 主要从事胆胰疾病的研究。

**作者贡献分布:** 朱恒与赵清喜对此文所作贡献均等; 此课题由朱恒与赵清喜设计; 研究过程由朱恒、孙学国、毛涛及鞠辉操作完成; 研究所用工具由赵清喜与田字彬提供; 数据分析由朱恒与王小玮操作完成; 论文写作由朱恒、赵清喜及王小玮完成。

**通讯作者:** 赵清喜, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市市南区江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科。

qxzhao007@163.com

电话: 0532-82911304

收稿日期: 2012-12-20 修回日期: 2013-01-17

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Role of MRCP in predicting difficulty of bile duct intubation during ERCP

Heng Zhu, Qing-Xi Zhao, Xue-Guo Sun, Xiao-Wei Wang, Hui Ju, Tao Mao, Zi-Bin Tian

Heng Zhu, Qing-Xi Zhao, Xue-Guo Sun, Xiao-Wei Wang, Hui Ju, Tao Mao, Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China

**Correspondence to:** Qing-Xi Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. qxzhao007@163.com

Received: 2012-12-20 Revised: 2013-01-17

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the value of some anatomical indexes on MRCP images in the prediction of difficulty of bile duct intubation during ERCP.

**METHODS:** Clinical data for 93 patients who had undergone MRCP before ERCP treatment from November 2011 to June 2012 at the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College were retrospectively analyzed. The patients were classified into two groups, group A ( $n = 30$ ), in which bile duct intubation during ERCP was difficult, and group B ( $n = 60$ ), in which bile duct intubation was easy. Five main indexes, including common bile duct diameter, pancreatic duct diameter, separation angle between the common bile duct and the pancreatic duct, the distance between the duodenal wall and the con-

fluence of the common bile duct and the pancreatic duct, and the distance between the openings of the common bile duct and the pancreatic duct in the duodenum, were measured on MRCP images and compared between the two groups to find indexes which can forecast difficulty of bile duct intubation during ERCP.

**RESULTS:** The success rate of ERCP was 98.92%. There were significant differences between the two groups in the common bile duct diameter and separation angle between the common bile duct and the pancreatic duct ( $4.48 \pm 1.27$  vs  $6.73 \pm 2.32$ ;  $25.89 \pm 14.40$  vs  $43.37 \pm 24.88$ , both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** MRCP may be helpful to predict difficulty of bile duct intubation during ERCP and to choose the best treatment for patients with biliary tract disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Magnetic resonance cholangiopancreatography; Pancreaticobiliary disease; Pancreatobiliary tract anatomy; Difficult intubation

Zhu H, Zhao QX, Sun XG, Wang XW, Ju H, Mao T, Tian ZB. Role of MRCP in predicting difficulty of bile duct intubation during ERCP. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 357-361 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/357.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.357>

## 摘要

**目的:** 探讨磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)对内镜下逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)胆管插管难度预测的价值。

**方法:** 采用回顾性分析方法, 收集93例术前行MRCP检查的ERCP患者, 根据ERCP胆管插管难易程度将患者分为ERCP胆管插管困难组(A组, 30例)和非困难组(B组, 63例)。对两组患者MRCP图像上相关解剖学指标(包括胆总管直径、胰管直径、胆胰管汇合角度、胆

## ■背景资料

磁共振胰胆管成像(MRCP)是一种无创性胆道造影技术, 能够获得一幅完整的胆道树图像, 更清晰地显示胆道和胰管的病变等情况。内镜下逆行胰胆管造影术(ERCP)能够直接发现病灶、取材活检、行胆道造影或进行取石、放置支架等治疗。胆胰管汇合处的解剖结构对ERCP中胆管插管的成败有重要影响。

## ■同行评议者

陈钟, 教授, 南通大学附属医院普外科, 南通大学肝胆外科研究所

## ■研发前沿

在临床上寻找一种客观、方便、实用、准确率高的预测方法以便清楚了解患者胆胰系统解剖结构特点、在术前预测ERCP胆管插管难易程度,从而制定最佳治疗方案、将患者的痛苦降低到最小限度、提高ERCP的成功率。

胰管汇合点与十二指肠内壁间距、胆胰管末端间距)进行观察和测量,比较分析两组患者MRCP图像上述解剖指标数据的差别,探讨其对ERCP胆管插管难度预测的价值。

**结果:** ERCP胆管插管成功率为98.92%。两组患者MRCP上胆总管直径、胆胰管汇合角度存在差异( $4.48 \pm 1.27$  vs  $6.73 \pm 2.32$ ;  $25.89 \pm 14.40$  vs  $43.37 \pm 24.88$ ,  $P < 0.05$ ),而两组患者性别、年龄、胰管直径、胆胰管汇合点与十二指肠内壁间距、胆胰管末端间距的差异无统计学意义。ERCP胆管插管难度与MRCP图像上胆总管直径、胆胰管汇合角度有相关性( $P < 0.05$ ),而与胰管直径、胆胰管汇合点与十二指肠内壁间距、胆胰管末端间距无相关性。

**结论:** ERCP术前常规行MRCP检查对判定ERCP胆管插管难易程度有一定指导意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 内镜下逆行胆胰管造影术; 磁共振胰胆管成像; 胆胰疾病; 胆胰管解剖; 困难插管

朱恒, 赵清喜, 孙学国, 王小玮, 鞠辉, 毛涛, 田宇彬. MRCP对ERCP胆管插管难度预测的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 357-361 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/357>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.357>

## 0 引言

内镜下逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是由McCune等<sup>[1]</sup>在1968年首次提出的,他为胆胰疾病的诊断和治疗开辟了一条崭新的道路<sup>[2]</sup>。通过提高技术、改良器械等,磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)胆管插管成功率在90%以上,但仍有患者因胆胰系统尤其胆胰管汇合部位的诸多解剖变异情况如胆管狭窄等会使ERCP常规胆管插管失败<sup>[3]</sup>,因此胆胰管汇合处的解剖结构对ERCP胆管插管难度和ERCP的成败均可能有重要影响。MRCP是一种非侵入性的胆胰管成像技术,他可以直观地显示胆胰管系统的解剖结构,具有安全、无创、快捷、图像清晰等特点<sup>[4]</sup>。本研究通过测量比较MRCP图像上相关解剖学指标的差别,来探讨其对ERCP胆管插管难易程度的预测价值。

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-11/2012-06青岛大学医学院

附属医院收治的术前行MRCP检查的ERCP患者93例,其中男51例,女42例,男女比例为1.21:1.00,年龄36-86( $61.94 \pm 13.32$ )岁。该临床资料入选标准为:有胆胰系统疾病而住院行ERCP的患者;排除标准为:(1)有ERCP和MRCP禁忌证者;(2)既往因手术、外伤等原因导致胆胰系统解剖结构改变者,如既往行ERCP、EST者;(3)因病变导致壶腹部解剖结构改变者,如胆总管结石嵌顿在胆胰管开口处、壶腹部恶性肿瘤侵及十二指肠乳头处等。本研究将ERCP操作中十二指肠乳头处胆管插管时间或总插管次数作为量化ERCP胆管插管难易程度的指标。

将十二指肠镜到达乳头处至胆总管插管成功所用时间记为ERCP插管时间。所有ERCP操作者均为同一人,采用切开刀/导管、导丝插管,每例均全程录像,术后回放记录。不能顺利进入胆管,反复尝试5次以上或插管操作>15 min视为困难胆管插管<sup>[5]</sup>,即归为困难组,反之归为非困难组。根据上述标准将患者分为ERCP胆管插管困难组(A组)和非困难组(B组)。A组30例,包括男19例、女11例,平均年龄( $59.50 \pm 13.30$ )岁,诊断为胆总管结石14例(其中9例合并十二指肠降部憩室)、胆总管狭窄11例、肝管狭窄5例。B组63例,包括男32例、女31例,平均年龄( $63.10 \pm 13.49$ )岁,诊断为胆总管结石36例(其中2例合并十二指肠降部憩室)、胆总管狭窄14例、肝管狭窄9例、胆管扩张4例。

MRCP使用Siemens Sonata 3.0T超导MR扫描仪;ERCP使用日本Olympus JF 240或TJF 240型十二指肠镜、Olympus KD-211Q-0720型切开刀以及黄色斑马导丝、导管等。MRCP和ERCP均分别由同一操作者完成,且2人均均为高年资医生。

## 1.2 方法

1.2.1 MRCP及图像上相关解剖指标测量:所有患者在ERCP前2-7 d行MRCP检查,并对图像上胆胰系统相关解剖指标进行测量记录,测量方法分述如下:(1)胆总管直径:距胆总管显影末端1 cm处胆总管直径;(2)胰管直径:距胰管显影末端1 cm处胰管直径;(3)胆胰管汇合角度:胆总管起始端到显影近段1 cm处连线与胰管起始端到显影近段1 cm处连线之间夹角;(4)胆胰管汇合点与十二指肠内壁间距:指胆胰管汇合处到十二指肠降段内侧壁的距离,若胆胰管恰好汇合于十二指肠内侧壁,该指标记为0 mm;(5)胆管末端和胰管末端间距:简称为胆胰管末端间距,指胆胰管两者末端之间的距离,若胆胰管末端

## ■相关报道

相关研究结果显示,MRCP对胆胰系统疾病如胆管结石、胆胰管扩张和解剖变异等具有高敏感性和高特异性。



表 1 MRCP图像上相关解剖指标测量情况 (mean ± SD)

指标	A组	B组	P值
性别 <sup>1</sup>	1.40 ± 0.52	1.48 ± 0.51	0.702
年龄(岁)	59.50 ± 13.30	61.94 ± 13.32	0.492
胆总管直径(mm)	4.48 ± 1.27	6.73 ± 2.32	0.008
胰管直径(mm)	2.27 ± 0.47	2.60 ± 0.71	0.188
胆胰管汇合点与十二指肠 肠内壁间距(mm)	4.19 ± 5.45	2.57 ± 4.92	0.415
胆胰管末端间距(mm)	0.87 ± 1.85	0.59 ± 1.50	0.657
胆胰管汇合角度(度)	25.89 ± 14.40	43.37 ± 24.88	0.049

<sup>1</sup>参数先予以赋值再进行统计学处理: 性别(男 = 1, 女 = 2)。

表 2 Logistic回归分析结果

影响因素	B	SE	Wald	Exp(B)	95% CI for Exp(B)	P值
胆总管直径(X <sub>1</sub> )	1.699	0.848	4.017	5.469	1.038 - 28.807	0.045
胰胆管汇合角度(X <sub>5</sub> )	0.434	0.220	3.899	1.543	1.003 - 2.373	0.048

汇合于一点, 该指标记为0 mm。

1.2.2 ERCP: 所有患者术前均签署ERCP知情同意书。ERCP术前禁饮食至少8 h, 术前30 min口服10%盐酸利多卡因胶浆20 mL, 并建立一条留置针静脉通道。术前15 min常规静脉注射地西泮(安定)5-10 mg、山莨菪碱(6-542)10 mg, 肌肉注射杜冷丁50 mg。造影剂为碘普罗胺(优维显)。术中持续吸氧, 并行持续心率、血氧饱和度监护。对于ERCP插管困难患者主要采用以下3种方法完成胆管插管<sup>[6,7]</sup>: (1)导丝先占据胰管再行胆管插管; (2)乳头括约肌预切开后插管; (3)先置放胰管支架后行胆管插管。

**统计学处理** 应用SPSS17.0统计软件包进行统计学处理, 计量资料用mean ± SD表示, 进行t检验和Logistic回归分析,  $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

ERCP胆管插管成功率为98.92%(A组中1人因插管困难而放弃进一步ERCP诊治)。A、B两组的性别、年龄以及MRCP图像上相关指标测量情况(表1): A组和B组相比得出, 胆总管直径、胆胰管汇合角度两方面的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。而在性别、年龄、胆胰管汇合点与十二指肠内壁间距、胆胰管末端间距等方面无显著性差异。进行Logistic回归分析, 自变量为MRCP图像上所测的5个上述指标(记为

$X_1$ - $X_5$ ), 因变量为ERCP胆管插管难度, 得出以下结果(表2): ERCP胆管插管难度与胆总管直径、胆胰管汇合角度相关( $P < 0.05$ ), 而与胰管直径、胆胰管汇合点与十二指肠内壁间距、胆胰管末端间距无相关性。术前MRCP对ERCP胆管插管难易程度的回归方程为:  $\text{Logit } P = -7.635 + 1.699X_1 + 0.434X_5$ 。

## 3 讨论

随着内镜微创治疗技术的进步, ERCP发展成为较为成熟的微创介入技术, 是临床治疗胆胰疾病的重要手段。对于有经验的操作者来讲, 经乳头胆管插管成功率在95%以上, 缓解梗阻性黄疸成功率在85%以上<sup>[8]</sup>。ERCP具有手术创伤小、痛苦少、患者易耐受、恢复快等优点。ERCP胆管插管难易程度高低与多方面因素有关, 除了手术设备的优劣、操作者水平高低等因素外, 主要与胆胰系统解剖结构相关。

虽然ERCP手法不断改良、器械不断进步, 但是即使在大型医疗机构仍然存在部分困难插管的患者, 仍有5%-10%的患者ERCP选择性胆管插管失败<sup>[9-14]</sup>。即便最终插管造影成功, 可能因反复插管导致十二指肠乳头处水肿痉挛、导丝多次入胰管导致术后高淀粉酶血症或胰腺炎等<sup>[15]</sup>, 从而给患者带来极大危害。

所以在临床上寻找一种客观、方便、实用、准确率高的预测方法以便清楚了解患者胆

### ■创新盘点

随着磁共振内镜的应用、MRCP与MR其他技术如血管成像的联合应用, MRCP必将成为胆胰系统疾病的一项重要影像学检查方法, 但是MRCP预测ERCP胆管插管难易程度并未见文献报道。正由于目前临床上能较为清晰准确获得胆胰管解剖结构且速度最快、痛苦最小的检查当属MRCP。因此, 作者推测ERCP术前常规行MRCP检查对ERCP操作难度可能有一定预测价值, 从而为患者制订最佳治疗方案有一定积极意义。

## ■应用要点

术前常规行MRCP检查,根据MRCP检查结果及测量相关解剖指标如胆总管直径、胆胰管汇合角度等对预测ERCP胆管插管难易程度有一定的指导意义,值得临床上推广应用。

胰系统解剖结构特点、在术前预测ERCP胆管插管难易程度,从而制定最佳治疗方案、将患者的痛苦降低到最小限度、提高ERCP成功率是临床医生亟待解决的问题。

到目前为止,B超检查是检查胆道系统疾病尤其是胆石病较为主要的影像学检查方法<sup>[16]</sup>,超声检查对于胆囊结石有较高确诊率,但由于肠腔气体干扰、较小结石无法产生声影等因素的存在,对于胆总管结石尤其胆总管下端结石诊断率低<sup>[17]</sup>。CT也是胆道系统重要的影像学检查方法,但是由于很大部分胆道系统结石密度与胆汁密度接近,加之CT仅提供横断面图像,无法得到胆道系统的整体图像,同时由于断层原因可能会导致漏检,CT诊断结石的准确率仅为50%-90%<sup>[18]</sup>。由于以上检查各自缺陷的存在,往往无法获得胆胰系统尤其胆道系统较完整较全面的信息。MRCP检查由于可以显示胆胰管走行和汇合部解剖结构<sup>[19]</sup>,则恰好避免了上述检查的弊端。

MRCP最早于20世纪90年代初由Wallner等<sup>[20]</sup>首先提出,目前为临床较为常用的磁共振水成像技术之一。MRCP无需任何口服和静脉造影剂,利用胆汁中水分有极高的质子密度呈现长T2弛豫而胆道周围组织为短T2弛豫的特点即可获得胆胰系统的直接图像,经进一步处理如多平面重建、旋转、分割等可得到较理想的三维胆胰系统图像<sup>[21]</sup>。同时MRCP也不受电离辐射影响,可用于所有病人,因此,它是一种新型的、安全的检查手段。相关研究<sup>[22,23]</sup>结果显示,MRCP对胆胰系统疾病如胆管结石、胆胰管扩张和解剖变异等具有高敏感性和高特异性。而且随着磁共振内镜的应用、MRCP与MR其他技术如血管成像的联合应用,MRCP必将成为胆胰系统疾病的一项重要影像学检查方法,但是MRCP预测ERCP胆管插管难易程度并未见相关文献报道。正由于目前临床上能较为清晰准确获得胆胰管解剖结构且速度最快、痛苦最小的检查当属MRCP。因此,作者推测ERCP术前常规行MRCP检查对ERCP胆管插管难度可能有一定预测价值,从而为患者制订最佳诊疗方案有一定积极意义。

本研究发现,ERCP胆管插管难易程度与性别、年龄、胆胰管汇合点与十二指肠内壁上缘、胆胰管末端间距等无相关性,而与患者胆总管直径、胆胰管汇合角度两方面相关联。胆总管直径越小、胆胰管汇合角度越小,导致

ERCP胆管插管越困难,此时ERCP术前应与患者和家属做好充分沟通、反复交代ERCP的风险性,同时操作时应更加小心谨慎,不易强行ERCP,以避免不必要的术后并发症甚至死亡。另外,对于明显导致ERCP胆管插管困难的因素如壶腹部结石嵌顿等不在本研究范围内,而且由于本研究样本量较小,如增大样本量,有可能得出相似结论或者新结论,此有待进一步研究和发现。

总之,术前常规行MRCP检查对预测ERCP胆管插管难易程度有一定的指导意义,值得临床上推广应用。另外,目前临床上诊断胆胰疾病,MRCP尚不能完全取代诊断性ERCP。若患者超声检查提示异常,一般可先做MRCP检查,如能诊断明确则行进一步相应治疗;若无法明确诊断,则可以根据MRCP检查结果及测量相关解剖指标如胆总管直径、胆胰管汇合角度等来预测ERCP胆管插管难易程度,从而可为患者制定最优良、最合理的诊治方案,尽可能避免ERCP失败或术后胰腺炎等并发症发生,进一步提高胆胰系统疾病的诊断治疗水平。

## 4 参考文献

- 1 McCune WS. ERCP at thirty years: an interview with Dr. William S. McCune (1909-1998). *Gastrointest Endosc* 1998; 48: 643-644 [PMID: 9852462 DOI: 10.1016/S0016-5107(98)70054-9]
- 2 李兆申. 中国ERCP研究现状. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 446-448
- 3 贾国法, 朱良松, 王美玲, 李祥兵, 王秀侠, 单红, 吴丽颖. 几种乳头预切开方法在ERCP胆管插管困难时的选择应用. *中华消化内镜杂志* 2007; 24: 209-212
- 4 万苹, 郭强, 范红, 李娅琳. MRCP对胆胰疾病的诊断价值. *医学综述* 2005; 11: 285-287
- 5 Kaffes AJ, Sriram PVJ, 赵萌. 内镜下胆管插管困难时十二指肠乳头括约肌预切开的早期应用: 一项传统技术与改良技术比较的前瞻性研究. *世界核心医学期刊文摘(胃肠病学分册)* 2006; 2: 38-39
- 6 唐采白, 胡兵, 郭召军. 导丝技术在ERCP操作中的应用技巧. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1027-1029
- 7 侯森林, 高永平, 乔娜, 乔占英, 康建省, 张立超. 导丝在降低逆行胰胆管造影并发症中的意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3347-3350
- 8 中华医学会消化内镜分会ERCP学组. 内镜下逆行胆胰管造影术(ERCP)诊治指南(2010版). *中国继续医学教育* 2010; 6: 1-20
- 9 王庆, 秦明放, 勾承月, 李宁, 王震宇, 邹富胜. 经内镜乳头括约肌预切开术在困难ERCP中的应用. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1782-1784
- 10 邹永军, 曹杰, 张晓云, 张丽荣, 王波, 禹佳. 胆胰间膈小切口在困难胆道插管中的临床应用. *中国实用医药* 2011; 6: 34-35
- 11 Schwacha H, Allgaier HP, Deibert P, Olschewski M, Allgaier U, Blum HE. A sphincterotome-based technique for selective transpapillary common bile duct cannulation. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 387-391

- [PMID: 10968855 DOI: 10.1067/mge.2000.107909]
- 12 Lee TH, Park do H, Park JY, Kim EO, Lee YS, Park JH, Lee SH, Chung IK, Kim HS, Park SH, Kim SJ. Can wire-guided cannulation prevent post-ERCP pancreatitis? A prospective randomized trial. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 444-449 [PMID: 19007927 DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.064]
- 13 Lo SK. Intramural incision during ERCP: turning a complication into a positive experience? *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 634-635 [PMID: 18279863 DOI: 10.1016/j.gie.2007.08.045]
- 14 陈凤媛, 陈世耀. 内镜逆行胰胆管造影术中选择性胆管插管困难的循证处理. *中国循证医学杂志* 2010; 10: 1345-1349
- 15 朱季军, 朱美玲, 刘加宁, 蔡奉娟, 黄红梅. 经内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎的高危因素分析及防治. *中国医药导刊* 2011; 13: 2048-2052
- 16 苏东路, 韦景秋. 超声对胆石症的诊断价值. *中国实用医药* 2010; 5: 73-74
- 17 兰莉, 戴珂珂, 胡元平, 李建策, 陈斌, 吴琪, 赵亮, 梅丽. 磁共振胰胆管成像与B超检查诊断胆系结石的对照研究. *实用医学杂志* 2008; 24: 3393-3394
- 18 孟令辉. 腹部CT、B超与核磁共振胆管成像检查诊断肝外胆管结石分析. *中国医药指南* 2012; 10: 226-227
- 19 周伏强, 付飞先. MSCT和MRCP常规MR在胆道梗阻中的应用对比研究. *中国CT和MRI杂志* 2010; 8: 37-40
- 20 Wallner BK, Schumacher KA, Weidenmaier W, Friedrich JM. Dilated biliary tract: evaluation with MR cholangiography with a T2-weighted contrast-enhanced fast sequence. *Radiology* 1991; 181: 805-808 [PMID: 1947101]
- 21 彭卫军, 周康荣, 陈财忠, 王炳生, 刘厚宝. 磁共振胆道造影在胆道梗阻定位和定性诊断中的价值. *中华放射学杂志* 1997; 31: 668-672
- 22 Maurea S, Caleo O, Mollica C, Imbriaco M, Mainenti PP, Palumbo C, Mancini M, Camera L, Salvatore M. Comparative diagnostic evaluation with MR cholangiopancreatography, ultrasonography and CT in patients with pancreatobiliary disease. *Radiol Med* 2009; 114: 390-402 [PMID: 19266258 DOI: 10.1007/s11547-009-0374-x]
- 23 Shanmugam V, Beattie GC, Yule SR, Reid W, Loudon MA. Is magnetic resonance cholangiopancreatography the new gold standard in biliary imaging? *Br J Radiol* 2005; 78: 888-893 [PMID: 16177010 DOI: 10.1259/bjr/51075444]

## ■同行评价

本文通过测量的方法研究MRCP的预测价值, 有一定的临床指导意义。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## ● 消息 ●

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部 2012-01-01)



# ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在结肠癌组织中的表达及相关性

杨万广, 王万鹏, 张谢夫

## ■背景资料

研究结果显示: ALDH1与肿瘤的发生、发展密切相关。ALDH1A2是催化视黄醛氧化成维甲酸的關鍵酶, 维甲酸与维甲酸受体(RAR)以及维甲酸X受体(RXR)通过配体结合区域结合, 直接作用于靶基因, 调节不同靶基因的表达, 进而调控正常和肿瘤细胞的生长和分化。

杨万广, 王万鹏, 郑州大学第一附属医院急诊外科 河南省郑州市 450052

张谢夫, 郑州大学第一附属医院胃肠外科 河南省郑州市 450052

杨万广, 副教授, 副主任医师, 主要从事胃肠肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由杨万广与张谢夫设计; 实验检测分析由杨万广与王万鹏操作完成; 论文写作由杨万广与王万鹏完成。

通讯作者: 张谢夫, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院胃肠外科。kfywg@eyou.com  
收稿日期: 2012-12-08 修回日期: 2013-01-07

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Significance of ALDH1A2, MMP2 and E-cadherin expression in colonic cancer

Wan-Guang Yang, Wan-Peng Wang, Xie-Fu Zhang

Wan-Guang Yang, Wan-Peng Wang, Department of Emergency Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China  
Xie-Fu Zhang, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Xie-Fu Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. kfywg@eyou.com

Received: 2012-12-08 Revised: 2013-01-07

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of ALDH1A2, E-cadherin and MMP2 in colonic cancer and to analyze their clinical significance.

**METHODS:** RT-PCR, Western blot and immunohistochemistry were used to examine the expression and distribution of ALDH1A2, E-cadherin and MMP2 in 52 surgically resected specimens of colonic cancer and matched tumor-adjacent colonic mucosal tissue. The correlations among them and their relationship to the clinicopathologic characteristics of colonic cancer were analyzed.

**RESULTS:** The positive rates of ALDH1A2 and E-cadherin in tumor-adjacent colonic mucosal tissue were 67.31% and 90.38%, respectively,

which were significantly higher than that in colonic cancer tissue. The positive rate of MMP2 in colonic cancer was 86.54%, significantly higher than that in tumor-adjacent colonic mucosal ( $P < 0.05$ ). RT-PCR and Western blot analyses revealed similar results. There were significant correlations among ALDH1A2, MMP2 and E-cadherin expression in colorectal carcinoma.

**CONCLUSION:** Expression of ALDH1A2 and E-cadherin in colonic cancer is lower than in tumor-adjacent colonic mucosal tissue, while MMP2 expression in colonic cancer is higher than that in tumor-adjacent colonic mucosal tissue. ALDH1A2 expression was correlated with MMP2 and E-cadherin expression in colonic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** ALDH1A2; MMP2; E-cadherin; Colonic cancer

Yang WG, Wang WP, Zhang XF. Significance of ALDH1A2, MMP2 and E-cadherin expression in colonic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 362-366  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/362.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i4.362>

## 摘要

**目的:** 研究结肠癌组织中ALDH1A2、E-cadherin和MMP2的表达及与临床病理特征之间的关系。

**方法:** 应用免疫组织化学SP法、逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)、免疫印迹(Western blot)检测52例结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、E-cadherin和MMP2蛋白的表达, 分析其间的相关性以及肿瘤临床病理特征之间的关系。

**结果:** 免疫组织化学测定显示ALDH1A2在52例结肠癌癌旁组织阳性率为67.31%; E-cadherin在52例结肠癌癌旁组织阳性率为90.38%; 癌旁组织ALDH1A2、E-cadherin的表达率高于癌组织。MMP2在52例结肠癌组织

## ■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

中阳性率占86.54%, 高于癌旁组织( $P<0.05$ ). 逆转录-PCR及免疫印迹技术显示同样结果. ALDH1A2、MMP2及E-cadherin在结肠癌中的表达具有相关性.

**结论:** 结肠癌中ALDH1A2、E-cadherin表达低于癌旁组织, MMP2表达高于癌旁组织, ALDH1A2、MMP2及E-cadherin三者密切相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** ALDH1A2; 金属基质蛋白酶2; 上皮钙黏蛋白; 结肠癌

杨万广, 王万鹏, 张谢夫. ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在结肠癌组织中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(4): 362-366 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/362.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.362>

## 0 引言

ALDH1A2是乙醛脱氢酶家族中17个基因之一, 乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH1)是负责各种细胞内醛氧化羧酸的细胞质酶<sup>[1]</sup>. 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是一类具有降解细胞外基质和基底膜能力的蛋白水解酶, 在肿瘤细胞突破基底膜屏障而浸润转移中起重要作用. 上皮钙黏蛋白(E-cadherin)是介导上皮细胞间黏附的主要黏附分子, 主要介导同质性细胞黏附. 本研究中, 我们利用免疫组织化学、RT-PCR法及免疫印迹技术测定ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在人结肠癌及癌旁组织中mRNA及蛋白的表达, 探讨其与结肠癌病理分期的相关性.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ALDH1A2、MMP2和E-cadherin抗体购自Santa cruz公司; 免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 逆转录和PCR扩增试剂盒均购自北京全式金生物公司. 病理标本来自2008-2009我院病理科存档52例结肠癌术后的石蜡标本, 男、女各半, 经病理诊断证实, 并且术前未经化疗、放疗, 术后均给予以化疗为主的综合治疗, 并有完整的随访资料. 组织标本从2009-09/2010-04在我院手术治疗, 且经病理诊断为结肠癌的患者中选取.

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学法:** 免疫组织化学SP染色按说明书进行, 采用双评分半定量积分法, 对ALDH1A2、MMP2和E-cadherin的IHC结果进行

分析. 以出现棕黄色或棕色颗粒的细胞作为阳性细胞, ALDH1A2、MMP2阳性部位在细胞浆, E-cadherin的阳性部位在胞膜, 部分细胞浆也呈阳性.

**1.2.2 逆转录-PCR法测定结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin mRNA的表达:** 采用用TRIzol提取组织中mRNA; 反转录成cDNA, 反应条件为离心、混匀后42℃孵育30 min, 然后85℃加热5 min用来灭活逆转录酶. 取2 μL进行后续扩增, 其余-84℃保存. PCR扩增目的基因(ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin); 扩增结束后, 产物经1.5%(w/v)琼脂糖凝胶溶液电泳, 当溴酚蓝电泳至适当位置, 在紫外灯下观察结果和拍照.

**1.2.3 Western blot检测组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin蛋白的表达:** 组织标本冰上匀浆充分裂解, 取20 μg蛋白样品于10%SDS-PAGE电泳分离并转膜. 膜在室温下封闭1 h, 4℃一抗孵育过夜. 辣根过氧化物酶标记二抗室温下孵育1 h. ECL试剂检测蛋白条带. 将胶片扫描后用Bandscan5.0软件进行灰度分析.

**统计学处理** 所有数据采用mean±SD表示, 多均数的比较采用方差分析.  $P<0.05$ 表示有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 免疫组织化学测定ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在结肠癌及癌旁组织中的表达** ALDH1A2、MMP2表达于细胞胞浆, 呈淡黄至棕黄、棕褐色. ALDH1A2在52例结肠癌癌旁中35例阳性表达, 17例阴性表达, 阳性率占67.31%. MMP2在52例结肠癌组织中45例阳性表达, 7例阴性表达, 阳性率占86.54%. E-cadherin表达于细胞胞膜/浆, 呈淡黄至棕黄、棕褐色. E-cadherin在52例结肠癌癌旁中47例阳性表达, 5例阴性表达, 阳性率占90.38%. 差异均有统计学意义(表1). RT-PCR测定结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin mRNA的表达: RT-PCR结果显示ALDH1A2 mRNA含量在癌旁组织中高于结肠癌; MMP2 mRNA含量在癌组织中高于癌旁组织; E-cadherin mRNA含量在癌旁组织中高于结肠癌, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ , 表2, 图1). Western blot测定结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin蛋白的表达: 免疫印迹结果显示ALDH1A2蛋白含量在癌旁组织中高于结肠癌; MMP2蛋白含量在癌组织中高

### ■研究前沿

本文最先利用免疫组织化学技术、逆转录-PCR技术及免疫印迹技术测定人结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP2和E-cadherin mRNA及蛋白的表达情况, 探讨ALDH1A2在体内对结肠癌的影响, 以期找到ALDH1A2在结肠癌中的作用机制.

## ■相关报道

Dahiya发现13-cis-RA除了能抑制人前列腺癌细胞株LNCaP生长、使其裸鼠致瘤性及软琼脂克隆形成能力下降外,还能使IV型胶原酶的活性下降50%。RA使胃癌细胞株MKN45H对基底膜胶(Matrigel)的黏附能力下降,明胶酶的分泌能力降低。以上研究显示ALDH1A2催化生成的维甲酸具有抑制肿瘤细胞生长、增殖、侵袭转移及黏附的作用。

表 1 ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin在结肠癌及癌旁组织中的表达 ( $n = 52$ )

分组	阴性 (-)	阳性 (+)	阳性 (++)	阳性 (+++)	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	$P$ 值
ALDH1A2							
结肠癌组织	32	13	6	1	38.46	5.34	<0.05
癌旁组织	17	13	10	12	67.31		
E-cadherin							
结肠癌组织	37	11	3	1	28.85	9.47	<0.05
癌旁组织	5	17	22	8	90.38		
MMP2表达强度							
结肠癌组织	7	7	25	13	86.54	7.19	<0.05
癌旁组织	35	10	5	2	32.69		

表 2 结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin mRNA及蛋白的表达 (mean  $\pm$  SD)

	ALDH1A2	MMP2	E-cadherin
RT-PCR			
结肠癌	0.136 $\pm$ 0.021	0.529 $\pm$ 0.063	0.159 $\pm$ 0.022
癌旁组织	0.675 $\pm$ 0.074 <sup>a</sup>	0.172 $\pm$ 0.024 <sup>a</sup>	0.572 $\pm$ 0.077 <sup>a</sup>
Wb			
结肠癌	0.094 $\pm$ 0.013	0.634 $\pm$ 0.068	0.115 $\pm$ 0.014
癌旁组织	0.528 $\pm$ 0.065 <sup>a</sup>	0.325 $\pm$ 0.043 <sup>a</sup>	0.483 $\pm$ 0.068 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 结肠癌组织。

表 3 ALDH1A2与MMP2在结肠癌组织中表达的相互关系 ( $n$ )

ALDH1A2	MMP-2		Kappa	$P$ 值
	阳性	阴性		
阳性	14	6	0.532	<0.05
阴性	31	1		

表 4 ALDH1A2与E-cadherin在结肠癌组织中表达的相互关系 ( $n$ )

ALDH1A2	E-cadherin		Kappa	$P$ 值
	阳性	阴性		
阳性	12	8	0.532	<0.05
阴性	3	29		

于癌旁组织; E-cadherin蛋白含量在癌旁组织中高于结肠癌, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ , 表5, 图2)。

2.2 ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在大肠癌组织中表达的相关性 ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在大肠癌组织中表达的相互关系分别见表3-5。表中显示的相互关系三者具有密切相关性( $P < 0.05$ )。

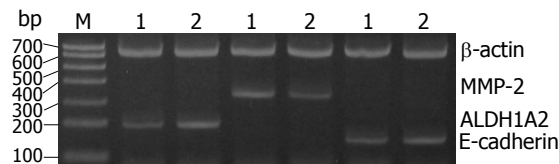


图 1 结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin mRNA的表达。

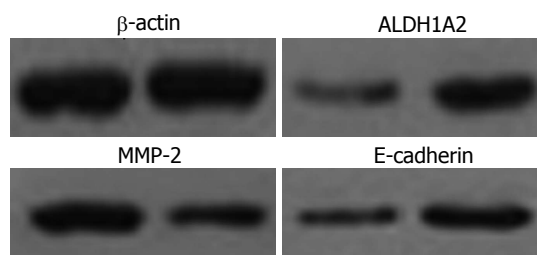


图 2 结肠癌及癌旁组织中ALDH1A2、MMP-2、E-cadherin的表达。

## 3 讨论

结肠癌患者5年生存率近十年来徘徊在50%左右。在西方国家进展也差别不大<sup>[1]</sup>。日本结肠癌术后5年生存率60年代是45%, 到80年代上升的78%<sup>[2]</sup>。ALDH是负责各种细胞内醛氧化羧酸的细胞质酶<sup>[3]</sup>。到目前为止, 已经发现17种ALDH



表 5 MMP2与E-cadherin在结肠癌组织中表达的相互关系(n)

ALDH1A2	MMP-2		Kappa	P值
	阳性	阴性		
阳性	13	32	0.646	<0.05
阴性	2	5		

的亚型。2010年宾夕法尼亚大学Deng等<sup>[4]</sup>发现, ALDH1在正常人体组织的表达和分布差异显著。正常组织细胞中, 维生素A代谢的中间产物为视黄醛, ALDH1A2不可逆氧化视黄醛为维甲酸<sup>[5]</sup>。ALDH1A2是催化视黄醛的氧化成维甲酸的关键酶<sup>[6]</sup>, 维甲酸正常的生理浓度很低, 与维甲酸受体(retinoic acid receptor, RAR)和维甲酸X受体(retinoic X receptora, RXR)通过配体结合区域结合, 直接作用于靶基因, 调节不同靶基因的表达, 进而调控正常和肿瘤细胞的生长和分化<sup>[7-9]</sup>。Dahiya等<sup>[10]</sup>发现ALDH1A2催化生成的维甲酸具有抑制肿瘤细胞生长、增殖、侵袭转移及黏附的作用。RA使胃癌细胞株MKN45H对基底膜胶(Matrigel)的黏附能力下降, 明胶酶的分泌能力降低<sup>[11,12]</sup>, 也有研究证明该基因可能参与癌细胞增殖的负性调控<sup>[13]</sup>。本研究发现, 在结肠癌旁组织中, ALDH1A2表达于细胞胞浆, 并证明癌旁组织中ALDH1A2酶高表达, 而结肠癌组织中低表达。这一结果证实ALDH1A2与结肠癌的生物行为相关。

肿瘤转移的前提是突破原位基底膜屏障迁移入血或远处器官, 黏附是肿瘤迁徙和转移的始动因素<sup>[14]</sup>。而MMP在肿瘤细胞突破基底膜屏障而浸润、转移中起重要作用。本研究中结果表明: MMP2表达于细胞胞浆, MMP2蛋白在癌组织远高于癌旁组织。这一结果证实了MMP2蛋白可能影响了结肠癌的生物行为。本研究还证实E-cadherin在癌组织中表达高于对照组, 这一结果也与国内的研究结果一致<sup>[15]</sup>, 表明E-cadherin表达减弱是肿瘤细胞低分化的重要因素。

我们对ALDH1A2、MMP2及E-cadherin在结肠癌中的表达进行了相关系分析, 结果显示ALDH1A2与MMP2及E-cadherin具有密切的相关性。我们可以设想ALDH1A2在癌组织中的低表达可能导致ATRA合成的减少, 进而通过MMP2的高表达来水解结肠癌细胞浸润扩散过程中的一道天然屏障-基底膜, 导致结肠癌细胞侵袭转移能力大大加强, 同时结肠癌中E-cad-

herin的低表达, 细胞间黏附力下降, 肿瘤细胞易于从肿瘤团块上脱落下来, 进入浸润转移进程, 为我们进一步的研究奠定了基础。

#### 4 参考文献

- Li HY, Ge X, Huang GM, Li KY, Zhao JQ, Yu XM, Bi WS, Wang YL. GSTP1, ERCC1 and ERCC2 polymorphisms, expression and clinical outcome of oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer in Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3465-3469 [PMID: 22994779]
- Wen F, Zhou Y, Wang W, Hu QC, Liu YT, Zhang PF, Du ZD, Dai J, Li Q. Ca/Mg infusions for the prevention of oxaliplatin-related neurotoxicity in patients with colorectal cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2013; 24: 171-178 [PMID: 22898039 DOI: 10.1093/annonc/mds211]
- Vasiliou V, Nebert DW. Analysis and update of the human aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene family. *Hum Genomics* 2005; 2: 138-143 [PMID: 16004729]
- Deng S, Yang X, Lassus H, Liang S, Kaur S, Ye Q, Li C, Wang LP, Roby KF, Orsulic S, Connolly DC, Zhang Y, Montone K, Bützow R, Coukos G, Zhang L. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One* 2010; 5: e10277 [PMID: 20422001 DOI: 10.1371/journal.pone.0010277]
- Xiao T, Shoeb M, Siddiqui MS, Zhang M, Ramana KV, Srivastava SK, Vasiliou V, Ansari NH. Molecular cloning and oxidative modification of human lens ALDH1A1: implication in impaired detoxification of lipid aldehydes. *J Toxicol Environ Health A* 2009; 72: 577-584 [PMID: 19296407 DOI: 10.1080/15287390802706371]
- Seritrukul P, Samarut E, Lama TT, Gibert Y, Laudet V, Jackman WR. Retinoic acid expands the evolutionarily reduced dentition of zebrafish. *FASEB J* 2012; 26: 5014-5024 [PMID: 22942074 DOI: 10.1096/fj.12-209304]
- Yanagawa Y, Chen JC, Hsu LC, Yoshida A. The transcriptional regulation of human aldehyde dehydrogenase I gene. The structural and functional analysis of the promoter. *J Biol Chem* 1995; 270: 17521-17527 [PMID: 7615557 DOI: 10.1074/jbc.270.29.17521]
- Patel M, Lu L, Zander DS, Sreerama L, Coco D, Moreb JS. ALDH1A1 and ALDH3A1 expression in lung cancers: correlation with histologic type and potential precursors. *Lung Cancer* 2008; 59: 340-349 [PMID: 17920722 DOI: 10.1016/j.lungcan.2007.08.033]
- Huang EH, Hynes MJ, Zhang T, Ginestier C, Dontu G, Appelman H, Fields JZ, Wicha MS, Boman BM. Aldehyde dehydrogenase 1 is a marker for normal and malignant human colonic stem cells (SC) and tracks SC overpopulation during colon tumorigenesis. *Cancer Res* 2009; 69: 3382-3389 [PMID: 19336570 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4418]
- Dahiya A, Thavendiranathan P, Thomas JD, Flamm SD. Apical hypertrophic cardiomyopathy with and without aneurysm. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 1709 [PMID: 23079118 DOI: 10.1016/j.jacc.2012.05.055]
- Chang B, Liu G, Xue F, Rosen DG, Xiao L, Wang X, Liu J. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Mod Pathol* 2009; 22: 817-823 [PMID: 19329942]

#### ■创新盘点

经检索查新发现国内有ALDH1A2基因影响膀胱癌细胞株的生物行为研究, 但均未涉及ALDH1A2基因在结肠癌组织中的表达。通过本研究结果, 可以设想ALDH1A2在癌组织中的低表达可能导致ATRA合成的减少, 进而影响到MMP2及E-cadherin的表达, 通过上调MMP2的表达来水解结肠癌细胞浸润扩散过程中的一道天然屏障-基底膜, 导致结肠癌细胞侵袭转移能力大大加强, 同时下调结肠癌中E-cadherin的表达, 引起细胞间黏附力下降, 使结肠癌细胞易于从肿瘤团块上脱落下来, 进入浸润转移进程。

## ■同行评价

本文实验设计科学、合理,数据完整,分析问题逻辑性强,结合临床工作,有一定的指导意义。

- 12 Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Iovino F, Tarpin C, Diebel M, Esterni B, Houvenaeghel G, Extra JM, Bertucci F, Jacquemier J, Xerri L, Dontu G, Stassi G, Xiao Y, Barsky SH, Birnbaum D, Viens P, Wicha MS. Aldehyde dehydrogenase 1-positive cancer stem cells mediate metastasis and poor clinical outcome in inflammatory breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 45-55 [PMID: 20028757 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1630]
- 13 杨万广, 张谢夫, 张善峰. ALDH1A2基因过表达对结肠癌LoVo细胞增殖、侵袭及黏附能力的影响. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 1747-1749
- 14 许天文, 陈道达, 陈剑英, 郑勇斌, 连彦军. 血管内皮生长因子C在大肠癌中的表达及其与淋巴结转移的关系. *中华实验外科杂志* 2005; 22: 598-599
- 15 肖胜军, 张小玲, 容明智, 方宇, 曾思恩. 转录辅抑制因子CtBP1与其靶基因E-cadherin在结肠腺癌中的表达. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3756-3759

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

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

# 局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的疗效评价

郜永顺, 钱国武, 张云飞, 吴刚, 李甸源, 李文才, 赵武干, 赵阳阳

郜永顺, 钱国武, 张云飞, 郑州大学第一附属医院胃肠外科 河南省郑州市 450052

吴刚, 郑州大学第一附属医院介入科 河南省郑州市 450052  
李甸源, 郑州大学第一附属医院放疗科 河南省郑州市 450052

李文才, 赵武干, 赵阳阳, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省郑州市 450052

作者贡献分布: 此课题设计、文章修改与审阅由郜永顺完成; 材料整理由钱国武与张云飞完成; 数据分析与文章起草由钱国武完成; 研究过程由所有作者共同完成。

通讯作者: 郜永顺, 副教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院胃肠外科. gaoy999@yahoo.com.cn  
电话: 0371-67967131

收稿日期: 2012-12-12 修回日期: 2013-01-10

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-08

## Efficacy of preoperative systemic vein chemotherapy combined with regional intra-arterial chemoembolization in the management of locally advanced rectal cancer

Yong-Shun Gao, Guo-Wu Qian, Yun-Fei Zhang, Gang Wu, Dian-Yuan Li, Wen-Cai Li, Wu-Gan Zhao, Yang-Yang Zhao

Yong-Shun Gao, Guo-Wu Qian, Yun-Fei Zhang, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Gang Wu, Department of Interventional Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Dian-Yuan Li, Department of Radiotherapy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Wen-Cai Li, Wu-Gan Zhao, Yang-Yang Zhao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Yong-Shun Gao, Associate Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. gaoy999@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-12 Revised: 2013-01-10

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effectiveness and safety of preoperative systemic vein chemotherapy combined with regional intra-arterial chemoembo-

lization in the management of locally advanced rectal cancer.

**METHODS:** Clinical data for 320 patients with locally advanced rectal cancer treated at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2008 to July 2012 were retrospective. The patients were divided into two groups, patients who received preoperative systemic vein chemotherapy combined with regional intra-arterial chemoembolization (group A,  $n = 148$ ) and those who received preoperative radiotherapy combined with chemotherapy (group B,  $n = 172$ ). All cases involved in this study were treated with neoadjuvant therapy followed by anterior resection 3 to 4 weeks later. The overall effective rate, the incidence of adverse reactions and postoperative complications were compared between the two groups.

**RESULTS:** All patients had surgical specimens eligible for histopathological assessment. The overall satisfaction rate was significantly higher in group A than in group B (57.6% vs 44.8%,  $P < 0.05$ ). The incidence of adverse reactions (except nausea) and postoperative complications such as anastomotic leakage, intestinal obstruction and poor wound healing were all lower in group A than in group B (all  $P < 0.05$ ), while the incidence of nausea was higher in group A ( $\chi^2 = 31.16$ ,  $P < 0.001$ ). There was no perioperative mortality related to neoadjuvant therapy in both groups.

**CONCLUSION:** Preoperative systemic vein chemotherapy combined with regional intra-arterial chemoembolization is associated with better efficacy and fewer adverse reactions and postoperative complications in the management of locally advanced rectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Rectal neoplasms; Chemoradiotherapy; Neoadjuvant therapy; Chemotherapy; Cancer; Regional perfusion

## ■背景资料

目前, 对局部进展期直肠癌的新辅助治疗可有效实现肿瘤降期, 提高R0切除率、手术保肛率, 降低局部复发率, 受到广泛重视和认可, 但缺乏统一的治疗方案, 不同方案的疗效也参差不齐。

## ■同行评议者

高泽立, 副教授, 周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院



## ■ 研发前沿

术前放化疗已成为局部进展期直肠癌综合治疗标准模式,但未能提高其5年总生存率和无病生存率,且增加了治疗的不良反应和术后并发症发生的危险性;如何提高临床疗效,降低治疗的不良反应和术后并发症成为肿瘤外科医生关注的焦点。

Gao YS, Qian GW, Zhang YF, Wu G, Li DY, Li WC, Zhao WG, Zhao YY. Efficacy of preoperative systemic vein chemotherapy combined with regional intra-arterial chemoembolization in the management of locally advanced rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(4): 367-372 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/367.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.367>

## 摘要

**目的:** 评价局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的有效性和安全性。

**方法:** 对郑州大学第一附属医院自2008-01/2012-07收治的320例接受新辅助治疗后行经腹手术切除的局部进展期直肠癌的临床资料进行回顾性分析。其中术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞者148例(A组),术前放疗+化疗者组172例(B组),休息3-4 wk后手术。比较分析两组术后组织病理学疗效、不良反应发生率及术后并发症发生率。

**结果:** 所有术后标本组织病理学评估均有效, A组的疗效满意率高于B组(60.81% vs 45.35%,  $P < 0.05$ ); 不良反应(除外恶心反应)和术后吻合口瘘、肠梗阻及切口愈合不良等并发症发生率均低于B组(均 $P < 0.05$ ), 而恶心反应发生率高于B组( $\chi^2 = 31.16$ ,  $P < 0.001$ ); 两组均无新辅助治疗相关死亡病例。

**结论:** 局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗并栓塞的疗效确切,可降低不良反应、术后并发症发生率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 直肠肿瘤; 放化疗; 新辅助疗法; 化学疗法; 肿瘤; 局部灌注

邵永顺, 钱国武, 张云飞, 吴刚, 李甸源, 李文才, 赵武干, 赵阳阳. 局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的疗效评价. *世界华人消化杂志* 2013; 21(4): 367-372 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/367.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i4.367>

## 0 引言

目前, 对局部进展期直肠癌的新辅助治疗受到广泛重视和认可, 但缺乏统一的治疗方案, 不同方案的疗效也参差不齐。我们回顾分析2008-01/2012-07我院收治的320例术前接受全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞和放疗联合化疗后行经腹手术切除的局部进展期直肠癌的临

床资料, 比较两者术后组织病理学疗效、不良反应及术后并发症发生率, 评价其有效性和安全性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2008-01/2012-07郑州大学第一附属医院收治的经病理证实的接受新辅助治疗的局部进展期直肠癌患者404例, 剔除84例未行肿瘤切除手术及行经腹会阴联合切除术(Mile's术)(其中43例未行手术, 18例行Hartmann术, 23例行Mile's术), 余320例作为研究对象。其中术前接受全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞者148例(A组), 术前接受放疗+化疗者组172例(B组), 两组患者一般临床资料均具有可比性(表1)。所有入组患者行新辅助治疗前影像学检查提示无远处转移; 经直肠腔内超声、CT或MRI提示: 肿瘤浸润程度为T3-4期; 行肠镜或直肠指诊提示: 肿瘤下缘距肛门缘 $< 12$  cm; Karnofsky评分 $\geq 70$ ; 治疗前血常规、肝肾功能正常, 无严重心、肺疾病, 无肠梗阻、大出血表现; 既往未接受过放疗或化疗; 无碘剂及化疗药物过敏史; 本研究经我院道德伦理委员会批准。患者接受新辅助治疗前均知情同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** A组行全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞: 氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 5-FU)370 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注3 h, 1-5 d; 亚叶酸钙(leucovorin, LV)30 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注3 h, 1-5 d; 于6 d行区域动脉灌注化疗栓塞, 采用Seldinger法经右侧股动脉插管, 经肠系膜下动脉行超选择至直肠上动脉或经双侧髂内动脉行超选择性直肠中、下动脉, 采用DSA技术进行动脉造影, 根据肿瘤供血动脉迂曲、紊乱血管团的特点定位后, 将奥沙利铂(Oxaliplatin, OXA)25 mg溶解于280 mmol/L葡萄糖100 mL中, 注入肿瘤直肠上动脉, 或分别以2/3-3/4、1/4-1/3量注入直肠中、下动脉的肿瘤富血供侧和乏血供侧, 然后以OXA 25mg与40%碘化油乳化液共10 mL进行栓塞, 栓塞程度以肿瘤直肠动脉主干呈残根状未再见异常染色为止(图1); 每间隔2 wk重复, 2周期为1个疗程。B组行放疗+化疗: 放疗第1天与化疗第1天同步; 放疗方案为: 放疗总剂量为50 Gy, 2 Gy/次, 5次/周, 共25次, 为1个周期; 采用常规二维放疗技术, 照射野为: 包括直肠原发病灶及盆腔淋巴引流区域, 上界: L5-S1; 下界: 肿瘤下缘3 cm; 左右界超出骨盆缘外1 cm。化疗方案(FOLFOX4)为: OXA 85 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注2 h, 1 d, LV 200 mg/m<sup>2</sup>, 静脉

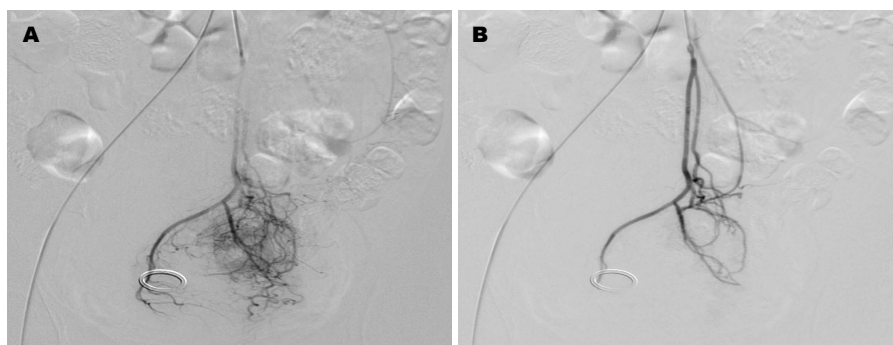


图 1 肠系膜下动脉造影化疗+栓塞前后变化. A: 化疗+栓塞前; B: 化疗+栓塞后.

■相关报道  
术前区域动脉灌注化疗可提高局部进展期直肠癌的手术切除率、降低术后复发、转移的发生率, 提高患者远期疗效, 联合栓塞治疗可进一步提高疗效, 越来越受到重视和推广.

表 1 两组患者一般临床资料 (n)

临床资料	n	男/女	年龄/岁	T分期		N分期			TNM分期		病理组织学类型 <sup>a</sup>				
				T3	T4	N0	N1	N2	II	III	1	2	3	4	5
A组	148	96/52	58 ± 14	42	106	64	40	44	31	117	9	28	76	16	19
B组	172	104/68	56 ± 15	51	121	80	44	48	40	132	11	24	95	18	24
t或χ <sup>2</sup> 值		0.657	0.672		0.063		0.344		0.246				1.526		
P值		0.418	0.502		0.803		0.842		0.620				0.822		

<sup>a</sup>1: 高分化腺癌; 2: 中分化腺癌; 3: 低分化腺癌; 4: 黏液腺癌; 5: 印戒细胞癌.

滴注2 h, 1 d、2 d, 5-FU 400 mg/m<sup>2</sup>, iv, 1 d、2 d, 5-FU 600 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注22 h, 1 d、2 d; 每间隔2 wk重复一次; 以1周期放疗+3周期化疗为1个疗程. 每疗程新辅助治疗结束后2 wk行CT评价其疗效, 按RECIST标准(2009年1.1版), 以靶病灶直径之和与基线水平对比的变化情况, 分为完全缓解(complete remission, CR): 全部肿瘤病灶消失; 部分缓解(partial remission, PR): 肿瘤病灶缩小30%以上; 疾病进展(progressive disease, PD): 肿瘤病灶增加至少20%或出现新的病灶; 疾病稳定(stable disease, SD): 介于PR和PD之间. 以CR+ PR为治疗有效. 治疗有效者, 如能手术切除则行手术治疗, 不能手术切除则继续原治疗方案; 呈SD者, 如能手术切除则行手术治疗, 如不能手术切除则根据病情继续原治疗方案或改行其他治疗; 呈PD者立即停止治疗, 改行其他治疗; 所有患者均于新辅助治疗结束后3-4 wk依据全直肠系膜切除原则行直肠癌根治术, 术中根据肿瘤浸润程度决定手术方式.

1.2.2 术后组织病理学评定: 参照胃癌化疗组织学疗效评定标准分为: 0级: 无效, 未见癌细胞和组织因治疗引起的变性坏死损害; I级: 轻效, 其中 I 1级为最轻效, 变性的癌细胞在1/3以下, I 2级为轻效, 1/3-2/3的癌细胞发生变性坏死和溶解; II级: 轻显效, 2/3以上的癌细胞发生变性、坏死和溶解; III级: 显效, 癌细胞全部变

性、坏死、溶解或消失, 有时可见癌组织为肉芽组织或纤维组织所代替. 以 I 级及以上为治疗有效, II级及以上为疗效满意.

1.2.3 不良反应: 按美国国家癌症研究所(NCI)通用不良反应术语标准(4.0版)分为1-5级, 记录其级别最高的不良反应. 1、2级反应为低级反应, 3、4级反应为严重反应. 低级反应时, 给予对症处理后继续原治疗方案; 严重反应时, 应立即停止相关治疗, 待降至1级以下时, 适当降低药物剂量并重新开始治疗.

1.2.4 术后并发症: 吻合口瘘、肠梗阻、切口愈合不良.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计分析, 连续性变量资料采用mean±SD表示, 应用Student's t检验; 分类资料采用率比较, 应用χ<sup>2</sup>检验; 以P<0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 组织病理学评估 两组所有手术标本病理学评估均有效, A组疗效满意率高于B组, 其疗效满意率分别是60.81%和45.35%, 其差异均有统计学意义(P<0.05, 表2).

2.2 不良反应 A组不良反应均为低级反应(1、2级), 而B组出现较多严重反应(3、4级), A组不良反应发生率(除外恶性反应)均明显低于B组, 恶心反应高于B组, 两组均无治疗相关死亡

## ■创新盘点

本研究将细胞周期特异性药物(5-FU)和细胞周期非特异性药物(OXA),分别经静脉、动脉联合、序贯用药,在多个环节上杀灭肿瘤细胞;同时对肿瘤滋养血管进行化疗栓塞,有效断绝了肿瘤的血供,提高了肿瘤部位药物浓度,延长药物与肿瘤的接触时间,显著提高临床疗效。

表 2 两组患者术后组织病理学评定(n)

组织病理学评定 <sup>a</sup>	n	0	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	II	III
A组	148	0	18	40	68	22
B组	172	0	37	57	58	20
$\chi^2$ 值		8.681				
P值		0.034				

<sup>a</sup>0级:无效; I<sub>1</sub>级:最轻效; I<sub>2</sub>级:轻效; II级:轻显效; III级:显效。



图 2 全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞前后CT变化。A: 化疗+栓塞前; B: 化疗+栓塞后。

病例,其不良反应发生的差异有统计学意义(均 $P<0.05$ ,表3)。

2.3 术后并发症 A、B组两组发生吻合口瘘、肠梗阻、切口愈合不良的情况分别为5例(3.38%) vs 20例(11.63%), ( $\chi^2 = 7.517$ ,  $P = 0.006$ ); 4例(2.70%) vs 16例(9.30%), ( $\chi^2 = 5.913$ ,  $P = 0.015$ ); 7例(4.73%) vs 21例(12.21%), ( $\chi^2 = 5.574$ ,  $P = 0.018$ ),其差异均有统计学意义。

典型病例:女,36岁,因“左下腹痛伴左下肢水肿20 d余”入院,行CT检查提示:左侧盆腔囊实性占位,与左侧髂血管关系密切(图2A)。行电子肠镜示:距肛门缘10-15 cm可见一环状狭窄,黏膜表面糜烂、坏死,内镜尚可通过。取病理活检诊断:(直肠)中分化腺癌。给予2个疗程全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞后,复查CT提示肿瘤较前明显缩小,与左侧髂血管和左侧盆腔侧壁组织之间可见明显脂肪间隙(图2B),行“直肠癌根治性切除术”,术后剖开标本见直肠肠腔局部环形缩窄,黏膜坏死、瘢痕样改变,而肿瘤滋养血管直肠支供血以外的直肠黏膜是正常的(图3)。术后病理镜下见坏死断裂达肠壁肌层,肌层间可见大量炎性细胞浸润,未见癌细胞(图4)。

### 3 讨论

局部进展期直肠癌术前放化疗可降低肿瘤分期,提高R0切除率、手术保肛率,降低局部复发率<sup>[1]</sup>,

已成为其综合治疗标准模式<sup>[2]</sup>,但未能提高其5年总生存率和无病生存率<sup>[3]</sup>,且增加了术后吻合口瘘、肠梗阻、切口愈合不良等并发症和不良反应发生率的危险性<sup>[2,4]</sup>。Swellengrebel等<sup>[5]</sup>报道:放化疗导致直肠癌术后吻合口瘘发生率高达27.6%。Ceelen等<sup>[6]</sup>报道:术前放化疗的3、4级不良反应发生率高达14.9%。为降低这些不良反应的发生,Garcia-Aguilar等<sup>[7]</sup>通过减少放化疗的剂量,实现了降低不良反应的目的,但同时也降低了临床疗效。

术前区域动脉灌注化疗可提高局部进展期直肠癌的手术切除率、降低术后复发、转移的发生率,提高患者远期疗效,联合栓塞治疗可进一步提高疗效,越来越受到重视和推广<sup>[8-11]</sup>。鉴于此,我们对局部进展期直肠癌术A组和B组对比性研究,结果表明:全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的疗效明显占优势。两组所有手术病理标本组织病理学评估均有效,A组的疗效满意率高于B组( $\chi^2 = 8.681$ ,  $P<0.05$ );A组的不良反应(除外恶心反应)均低于B组(均 $P<0.05$ ),并表现出较少的3、4级反应,恶心反应发生率高于B组( $P<0.05$ ),但多为一过性的低级反应(1、2级),给予止吐药物后可逐渐缓解,患者均可耐受;A组术后吻合口瘘、肠梗阻及切口愈合不良的发生率均较B组明显降低(均 $P<0.05$ )。其优势在于:我们采用了动静脉联合给药并化疗栓塞的治疗方法。5-FU为细胞周期特异性药物,对癌细胞的



表 3 两组患者急性不良反应发生情况 (n)

不良反应	A 组						B 组						$\chi^2$ 值	P值
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5		
白细胞减少	56	64	28	0	0	0	28	48	56	36	4	0	51.96	<0.001
粒细胞减少	52	72	24	0	0	0	12	52	64	40	4	0	87.70	<0.001
血小板减少	130	13	5	0	0	0	133	20	11	6	2	0	10.03	0.040
恶心	4	120	24	0	0	0	16	64	80	12	0	0	31.16	<0.001
呕吐	132	16	0	0	0	0	112	24	20	12	4	0	29.76	<0.001
腹泻	140	8	0	0	0	0	132	12	16	8	4	0	21.65	<0.001
皮肤/黏膜	88	48	12	0	0	0	64	36	32	24	16	0	35.40	<0.001
疲惫	124	24	0	0	0	0	96	76	0	0	0	0	28.97	<0.001
感觉异常	132	16	0	0	0	0	12	120	40	0	0	0	5.147	0.023
浅表静脉炎	132	16	0	0	0	0	16	104	52	0	0	0	7.60	0.006

# 应用要点

本研究对比观察局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞和术前放疗+化疗的术后组织病理学疗效、不良反应发生率及术后并发症发生率,结果表明:全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的疗效明显占优势,应用于临床安全、有效,可作为一种新的新辅助治疗方案。

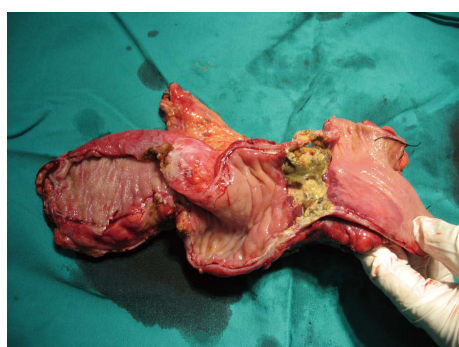


图 3 全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞后手术切除之直肠癌标本。

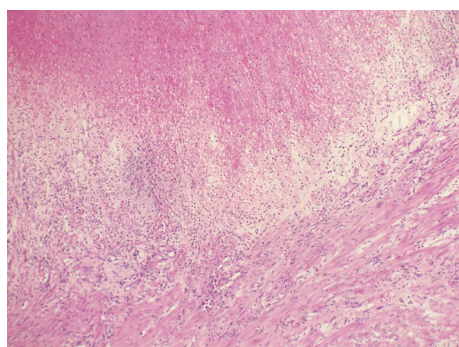


图 4 病理提示坏死断裂达肠壁肌层,肌层间可见大量炎性细胞浸润,未见癌细胞(苏木精-伊红染色×100)。

杀伤作用具有时间依赖性,我们将其静脉滴注。OXA为细胞周期非特异性药物,其药物浓度是影响对肿瘤细胞杀伤作用的主要原因,我们通过动脉介入途径将化疗药物直接作用于肿瘤,可使其于肿瘤边缘药物浓度是全身化疗的9-68倍<sup>[12]</sup>,同时由于药物的首过效应,可显著提高药物对肿瘤细胞的杀灭作用。这种动静联合、序贯用药的治疗方案,可有效抑制肿瘤细胞的增殖、在多个环节上杀灭肿瘤细胞<sup>[13]</sup>。术前肿瘤

周围的各级血管未受到损伤,区域动脉灌注化疗可使高浓度化疗药物直接接触肿瘤滋养动脉血管,抑制血管内皮生长因子表达水平,减少新生血管的形成,降低微血管密度<sup>[14]</sup>,促使肿瘤滋养血管发生变性、坏死、纤维化增生;同时,对肿瘤滋养血管进行化疗栓塞,有效阻断了肿瘤的血供,提高了肿瘤部位药物浓度,延长药物与肿瘤的接触时间,造成肿瘤的缺血、坏死<sup>[15]</sup>。区域动脉灌注化疗药物经肝脏代谢后进入体循环系统,大大降低药物对全身的不良反应<sup>[16]</sup>。超选择性区域动脉灌注化疗栓塞直接作用于肿瘤滋养血管直肠支,引起直肠动脉供血区直肠黏膜出现糜烂、坏死、瘢痕样改变,而肿瘤滋养血管直肠支供血以外的直肠黏膜是正常的,有效提高了对靶病灶的治疗效果,减少了对周围组织、器官的影响。不但提高了肿瘤治疗效果,而且降低了不良反应和术后吻合口瘘、肠梗阻及切口愈合不良等并发症发生率。

然而,局部进展期直肠癌术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞还存在一些其他不良反应和并发症发生的可能性:在造影剂及化疗药物短时间注入动脉有引起恶心、呕吐、肝肾功能损害的可能,动脉灌注化疗栓塞后肿瘤细胞坏死引起发热、疼痛等不适,但这些症状较轻,给予对症处理后可逐渐消失。由于直肠上动脉与乙状结肠动脉最下一支之间一般无吻合<sup>[17]</sup>,需仔细分辨直肠肿瘤滋养血管进行超选择动脉灌注化疗栓塞,以预防肠管缺血坏死。股动脉穿刺拔管后需局部压迫、右下肢制动,预防局部血肿的形成;观察患者肢体浅表血管搏动,有无肢体麻木、背痛等症状,发现血栓形成和栓塞及时给予处理;本研究中所有患者均未发生肠坏

# 名词解释

新辅助治疗:又称术前辅助治疗,是恶性肿瘤患者在手术治疗前采用的一些治疗方法。主要有新辅助化疗、新辅助放疗、新辅助放化疗等。

### ■同行评价

本文密切结合肿瘤治疗的热点,选题得当,实验设计合理,文笔流畅,统计分析正确,参考文献较新,值得广大临床医师及肿瘤科医师阅读。

死和肢体血栓栓塞并发症。

术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞对局部进展期直肠癌疗效确切,可有效降低不良反应、术后并发症发生率。另外,有文献[11]报告:区域动脉灌注化疗药物经门静脉直接进入肝脏,可杀灭临床、亚临床的肝转移灶,预防门脉系统引起的肝转移,提高生存率;但术前全身静脉联合区域动脉灌注化疗栓塞的远期疗效、总生存率、无病生存率是否更优于放化疗,尚需进一步观察。

### 4 参考文献

- Vonk DT, Hazard LJ. Do all locally advanced rectal cancers require radiation? A review of literature in the modern era. *J Gastrointest Oncol* 2010; 1: 45-54 [PMID: 22811804 DOI: 10.3978/j.issn.2078-]
- Pucciarelli S, Del Bianco P, Efficace F, Serpentine S, Capirci C, De Paoli A, Amato A, Cuicchi D, Nitti D. Patient-reported outcomes after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: a multicenter prospective observational study. *Ann Surg* 2011; 253: 71-77 [PMID: 21135694 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181fcb856]
- Bonnetain F, Bosset JF, Gerard JP, Calais G, Conroy T, Mineur L, Bouché O, Maingon P, Chapet O, Radosevic-Jelic L, Methy N, Collette L. What is the clinical benefit of preoperative chemoradiotherapy with 5FU/leucovorin for T3-4 rectal cancer in a pooled analysis of EORTC 22921 and FFCD 9203 trials: surrogacy in question? *Eur J Cancer* 2012; 48: 1781-1790 [PMID: 22507892 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.03.016]
- Kerr SF, Norton S, Glynne-Jones R. Delaying surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer may reduce postoperative morbidity without compromising prognosis. *Br J Surg* 2008; 95: 1534-1540 [PMID: 18942057 DOI: 10.1002/bjs.6377]
- Swelengrebel HA, Marijnen CA, Verwaal VJ, Vincent A, Heuff G, Gerhards MF, van Geloven AA, van Tets WF, Verheij M, Cats A. Toxicity and complications of preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Br J Surg* 2011; 98: 418-426 [PMID: 21254020 DOI: 10.1002/bjs.7315]
- Ceelen W, Fierens K, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2009; 124: 2966-2972 [PMID: 19253365 DOI: 10.1002/ijc.24247]
- Garcia-Aguilar J, Shi Q, Thomas CR, Chan E, Cataldo P, Marcet J, Medich D, Pigazzi A, Oommen S, Posner MC. A phase II trial of neoadjuvant chemoradiation and local excision for T2N0 rectal cancer: preliminary results of the ACOSOG Z6041 trial. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 384-391 [PMID: 21755378 DOI: 10.1245/s10434-011-1933-7]
- 唐云强, 谭志明, 王嘉康, 汤日杰, 王俊, 赵宏宇, 麦聪, 张相良, 崔书中. 术前区域动脉灌注化疗治疗进展期低位直肠癌的临床研究. *南方医科大学学报* 2008; 28: 1247-1248, 1253
- 夏泽锋, 袁野, 陶凯雄, 韩高雄, 帅晓明, 蔡开琳, 王继亮, 杜寒松, 邓美洲, 王国斌. 结直肠癌术前区域动脉灌注化疗疗效的组织学评价. *中华普通外科杂志* 2010; 25: 353-356
- 袁建华. 结直肠癌术前区域动脉灌注化疗的临床价值. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 497-499
- Xu J, Zhong Y, Weixin N, Xinyu Q, Yanhan L, Li R, Jianhua W, Zhiping Y, Jiemin C. Preoperative hepatic and regional arterial chemotherapy in the prevention of liver metastasis after colorectal cancer surgery. *Ann Surg* 2007; 245: 583-590 [PMID: 17414607]
- Maurer CA, Borner MM, Läufer J, Friess H, Z'graggen K, Triller J, Büchler MW. Celiac axis infusion chemotherapy in advanced nonresectable pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* 1998; 23: 181-186 [PMID: 9629517]
- 王革芳, 程永德. 动脉灌注化疗的药物选择原则. *介入放射学杂志* 2009; 10: 797-800
- 王荣江, 邵四海, 石麒麟, 赵红星, 郑银元, 李辉, 陈晓农. 化疗栓塞对膀胱肿瘤新生血管生成及血管内皮细胞生长因子表达的影响. *中华泌尿外科杂志* 2008; 29: 470-474
- 王平, 崔彦, 李成林, 吉敏, 周立艳, 赵燕, 段育忠. 结直肠癌肝转移新辅助化疗疗效分析. *中华肝胆外科杂志* 2009; 15: 898-901
- 李国立, 范朝刚, 鲍阳, 姜军, 李宁, 黎介寿. 动静脉结合给药的FLEEOX方案对以淋巴结转移为主晚期胃癌的新辅助化疗. *中华外科杂志* 2009; 47: 1171-1174
- 张启瑜. 钱礼腹部外科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 435-435

编辑 李军亮 电编 闫晋利



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal, OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group, BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV



RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H.pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能写Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d。3.56 ± 0.27 pg/mL应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.



《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjd.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-8538-1892

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白岚 教授  
南方医科大学南方医院惠侨科

蔡开琳 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

管世鹤 副教授  
安徽医科大学第一附属医院检验科

郭永红 副主任医师  
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

郝立强 副教授  
上海长海医院普外二科

何向辉 教授  
天津医科大学总医院普通外科

黄恒青 主任医师  
福建省第二人民医院消化内科

黄缘 教授  
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

江建新 副主任医师  
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

孔静 副教授  
中国医科大学附属盛京医院普外科

李升平 教授  
中山大学肿瘤医院肝胆科

李晓波 教授  
上海交通大学药学院

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

刘宝林 教授  
中国医科大学附属盛京医院

刘杰民 副主任医师  
苏州大学附属第一医院介入科

门秀丽 教授  
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭亮 副主任医师  
中山大学附属第三医院感染病学

秦春宏 副主任医师  
南华大学附属第二医院普外科

沈柏用 副教授  
瑞金医院肝胆胰外科中心

孙文兵 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤静 主管药师  
上海交通大学附属第一人民医院

王道荣 主任医师  
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王蔚虹 教授  
北京大学第一医院消化内科

杨薇 副教授  
南华大学附属第一医院

袁红霞 研究员  
天津中医药大学

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

郑鹏远 教授  
郑州大学第二附属医院消化科

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普通外科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章:





百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

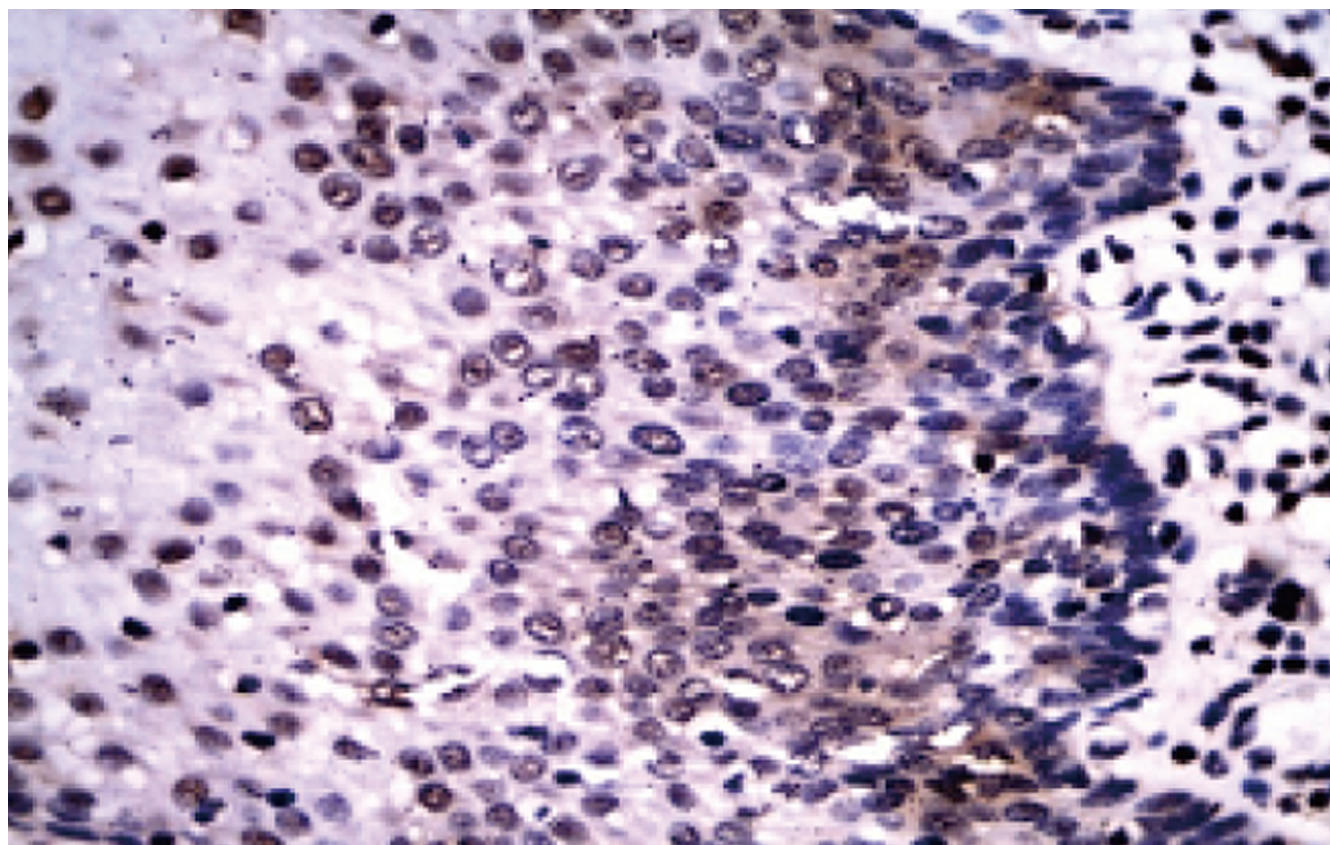


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 2 月 18 日      第 21 卷      第 5 期      (Volume 21 Number 5)**



**5/2013**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪刚教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授

汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泐副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年2月18日 第21卷 第5期 (总第409期)

## 述 评

- 373 肿瘤干细胞相关信号通路与食管鳞癌的研究进展  
沐雨, 李苏宜

## 基础 研究

- 381 利培酮抑制结肠癌细胞株SW480生长的作用机制  
金永民, 韩哲洙, 孙红花, 崔海, 金文彪, 沈雄虎, 朴龙镇

## 临 床 研 究

- 386 HLA-I类抗原及内质网分子伴侣表达下调与新疆哈萨克族食管鳞癌的关系  
郑峰, 李德生, 居来提·安尼瓦尔, 张力为, 伊力亚尔·夏合丁
- 392 肠易激综合征血循环microRNA的表达谱  
熊青, 徐龙, 李强, 李慧敏, 姜婷, 汪安江, 刘丕, 吕农华
- 397 Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌组织中的表达及意义  
邹艳芳, 田永, 徐 峰

## 文 献 综 述

- 403 嗜酸性粒细胞性食管炎  
潘小萍, 王雯
- 409 SPARC蛋白及其在胃癌中的研究进展  
王小霞, 杨明, 张艳桥
- 415 乙型肝炎病毒相关性肝癌抗病毒治疗的现状  
王文欢, 曹建彪
- 421 大型动物实验性肝纤维化及肝硬化模型的研究进展  
郭若涵, 白彬
- 427 非麦胶肠病性麦胶敏感的研究进展  
孟捷, 谢春娥, 李军祥
- 434 促结肠动力药物治疗慢性便秘的研究进展  
吴霜, 孙桂东, 陈玉根, 吴本升, 杨柏霖

## 研 究 快 报

- 440 小柴胡汤对消化不良模型大鼠胃动素和胃泌素的影响  
郁保生, 石晓理, 张国山, 吕瑶

## 临 床 经 验

- 445 奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗小儿食管反流性哮喘84例  
周庆华, 邱其武
- 448 组织结构声学定量技术在肝脏弥漫性病变中的应用价值  
王云忠, 王学梅, 李银燕, 欧国成
- 454 难治性远端溃疡性结肠炎的临床表现和治疗  
汪玉兰, 李鹏, 刘朋伟



附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	380 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 391 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 402 《世界华人消化杂志》正文要求 414 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 420 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 426 《世界华人消化杂志》栏目设置 433 《世界华人消化杂志》参考文献要求 439 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 453 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 458 2012年度《世界华人消化杂志》发文情况
封面故事	郑峰, 李德生, 居来提·安尼瓦尔, 张力为, 伊力亚尔·夏合丁. HLA- I 类抗原及内质网分子伴侣表达下调与新疆哈萨克族食管鳞癌的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 386-391 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/386.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/386.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.386">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.386</a>
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核 编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-02-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No.90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## February 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 5

<b>EDITORIAL</b>	373 Advances in research of signaling pathways associated with cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma <i>Mu Y, Li SY</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	381 Mechanisms underlying risperidone-mediated inhibition of cell proliferation in human colon cancer cell line SW480 <i>Jin YM, Han ZZ, Sun HH, Cui H, Jin WB, Shen XH, Piao LZ</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	386 Association of down-regulated expression of HLA- I antigen and endoplasmic reticulum molecular chaperones with clinicopathological features of esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang Kazakh patients <i>Zheng F, Li DS, Juret Anwer, Zhang LW, Ilyar Sheyhidin</i> 392 Expression profile of circulating microRNAs in patients with irritable bowel syndrome <i>Xiong Q, Xu L, Li Q, Li HM, Lou T, Wang AJ, Liu P, Lv NH</i> 397 Significance of expression of Bmi-1 and Mel-18 in colorectal carcinoma <i>Zou YF, Tian Y, Xu F</i>
<b>REVIEW</b>	403 Eosinophilic esophagitis <i>Pan XP, Wang W</i> 409 Progress in understanding role of SPARC protein in gastric cancer <i>Wang XX, Yang M, Zhang YQ</i> 415 Antiviral therapy for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma <i>Wang WH, Cao JB</i> 421 Advances in development of large animal models of liver fibrosis and cirrhosis <i>Guo RH, Bai B</i> 427 Advances in research of non-coeliac gluten sensitivity <i>Meng J, Xie CE, Li JX</i> 434 Colonic motility-promoting agents for treatment of chronic constipation <i>Wu S, Sun GD, Chen YG, Wu BS, Yang BL</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	440 Treatment with Xiaochaihu decoction increases serum levels of motilin and gastrin in rats with dyspepsia <i>Yu BS, Shi XL, Zhang GS, Lv Y</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	445 Omeprazole combined with becotide spray for gastroesophageal reflux asthma in children: An analysis of 84 cases <i>Zhou QH, Qiu QW</i> 448 Diagnostic value of acoustic structure quantification technology in diffuse liver diseases <i>Wang YZ, Wang XM, Li YY, Ou GC</i> 454 Refractory distal ulcerative colitis: Clinical manifestations and treatment <i>Wang YL, Li J, Liu PW</i>

<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Zheng F, Li DS, Juret Anwer, Zhang LW, Ilyar Sheyhidin.</i> Association of down-regulated expression of HLA- I antigen and endoplasmic reticulum molecular chaperones with clinicopathological features of esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang Kazakh patients. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(5): 386-391 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/386.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/386.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.386">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.386</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

**Indexed/Abstracted by** Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** February 18, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 311006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International  
Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,

Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# 肿瘤干细胞相关信号通路与食管鳞癌的研究进展

沐雨, 李苏宜

沐雨, 李苏宜, 东南大学附属中大医院肿瘤科 江苏省南京市 210009

李苏宜, 博士, 教授, 主任医师, 主要从事晚期食管癌内科临床及应用型基础研究工作.

南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK 11060

作者贡献分布: 本文由沐雨完成综述, 李苏宜审校.

通讯作者: 李苏宜, 教授, 210009, 江苏省南京市丁家桥87号, 东南大学附属中大医院肿瘤科. lkisuyi@cscsco.org.cn

电话: 025-83272338

收稿日期: 2012-12-12 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-01-30 在线出版日期: 2013-02-18

## Advances in research of signaling pathways associated with cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma

Yu Mu, Su-Yi Li

Yu Mu, Su-Yi Li, Department of Oncology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Department Program of Nanjing, No. YKK 11060

Correspondence to: Su-Yi Li, Professor, Department of Oncology, Zhongda Hospital, Southeast University, 87 Dingjiaqiao, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. lkisuyi@cscsco.org.cn

Received: 2012-12-12 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-01-30 Published online: 2013-02-18

## Abstract

The discovery of cancer stem cells has led to a better understanding of mechanisms underlying the occurrence, development and metastasis of cancer. Three signaling pathways, Wnt, PIP3, and Hedgehog, play an important role in self-renewal and differentiation of stem cells. Once abnormalities occur in these signaling pathways, cancer stem cells will present aberrant differentiation and unlimited proliferation and eventually develop into tumors. Although there is still controversy over the existence of stem cells in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), more and more evidence suggests that the above three signaling pathways are important in promoting the differentiation of esophageal epithelial cells, accelerating the progression of ESCC and causing radiotherapy and chemotherapy resistance.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Cancer stem cells; Esophageal squamous cell carcinoma; Signaling pathway

Mu Y, Li SY. Advances in research of signaling pathways associated with cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 373-380 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/373.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.373>

## 摘要

由于肿瘤干细胞的发现, 人们对肿瘤发生、发展、转移机制有了进一步了解. Wnt/ $\beta$ -catenin、PIP3、Hedgehog等信号通路对肿瘤干细胞自我更新与分化起重要作用, 一旦信号通路发生异常, 即可促肿瘤干细胞异常分化和无限增殖. 虽不能完全确定食管鳞癌存在肿瘤干细胞, 但越来越多证据提示, 这3条肿瘤干细胞信号通路促食管上皮组织不良分化、食管癌发生发展进程甚至放化疗抵抗.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 肿瘤干细胞; 食管鳞癌; 信号转导

沐雨, 李苏宜. 肿瘤干细胞相关信号通路与食管鳞癌的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 373-380 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/373.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.373>

## 0 引言

1959年, Makino等<sup>[1]</sup>首次提出肿瘤干细胞假说, 并指出肿瘤可能由肿瘤干细胞产生. 2001年, 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)概念被正式提出. CSCs是存在于肿瘤组织中少量具有无限增殖和不定向分化潜能细胞群体, 是形成不同分化程度肿瘤细胞和肿瘤细胞不断生长、转移的根源. 肿瘤组织具干细胞特性细胞不足5%, 但决定肿瘤发生、侵袭、转移、播散和对放化疗敏感性. 研究表明, 肿瘤干细胞受Wnt<sup>[2-6]</sup>、PIP3<sup>[7-12]</sup>、Hedgehog<sup>[13-16]</sup>等信号调节途径调控, 不同肿瘤发生发展过程均发挥重要作用. 越来越多证据提

## ■背景资料

食管癌是我国的高发肿瘤, 具有发病率高、死亡率高等特点. 我国食管癌病理类型以食管鳞状细胞癌(ESCC)为主. 越来越多的研究提示ESCC存在肿瘤干细胞, 并且受到肿瘤干细胞相关信号通路的调节, 与其不良生物学行为及药物耐受等密切相关.

## ■同行评议者

杜祥, 教授, 主任医师, 上海复旦大学附属肿瘤医院; 程英升, 教授, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

## ■ 研发前沿

西方人对于肿瘤干细胞相关信号通路Wnt、PI3、Hedgehog等在食管腺癌及Barrett食管中发挥的重要调控作用进行了很多研究。借鉴西方的研究经验,许多中国学者结合中国国情认真地开展了一系列肿瘤干细胞相关信号通路与ESCC关系的系统研究。

示,这3条肿瘤干细胞信号通路促食管上皮组织不良分化、食管癌发生发展进程甚至放化疗抵抗。现就这3条信号转导通路与食管癌干细胞及食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的关系进行综述。

## 1 食管上皮干细胞与食管鳞癌干细胞

由于肿瘤发生是正常细胞至少4-7次突变累积的过程,只有干细胞有足够长寿命累积多次突变形成CSCs引发肿瘤,倾向认为CSCs起源于成体组织干细胞<sup>[17]</sup>。食管上皮干细胞主要分布区是基层层的乳头间基底层(the interpapillary basal layer, IBL),这些细胞体内呈现增殖极不活跃以及分裂不对称、体外培养具较强克隆形成能力特点及最幼稚分化表型<sup>[18]</sup>。Okumura等<sup>[19]</sup>研究证明,食管上皮干细胞呈低亲和性神经营养受体p75NTR阳性,具增殖、自我更新及多向分化能力。而越来越多的研究提示p75NTR更是ESCC的CSCs表面标志,Okumura等<sup>[20]</sup>免疫组织化学法检测中高分化食管癌组织p75NTR阳性表达细胞分布在肿瘤侵袭性边缘1-2层,低分化食管癌组织呈弥散分布。Huang等<sup>[21]</sup>将ESCC细胞于无血清培养液(SFM)中培养和标记p75NTR,证实其能在SFM中悬浮生长并形成细胞球,p75NTR<sup>+</sup>细胞在细胞球中比例较普通培养细胞系中高。高全力等<sup>[22]</sup>同样以p75NTR<sup>+</sup>为富集标志建立细胞系并证实了其成瘤作用。目前,研究用ESCC的CSCs常以从ESCC细胞系中予以侧群细胞分选、表面标志分选或无血清培养基培养等方法获得,实验室多采用p75NTR作为分选ESCC干细胞的表面标志<sup>[21,22]</sup>。Podoplanin是一种跨膜糖蛋白<sup>[23]</sup>,主要表达于生长中和成熟的淋巴管内皮细胞表面,袁世发等<sup>[24]</sup>发现Podoplanin在食管肿瘤内淋巴管细胞也有表达。人类乙醛脱氢酶1(aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)基因表达存在于细胞质,其基因克隆和定位在9q21染色体,ALDH1在干细胞中表达增高,维持干细胞特性和干细胞分化,国内学者采用基因芯片检测具有干细胞特性的食管癌细胞株ALDH1各亚型均表达上调<sup>[25]</sup>。

## 2 Wnt信号通路

Wnt信号转导通路在进化上高度保守,在胚胎发育、细胞繁殖及凋亡等生命过程中发挥重要作用,其功能异常与肿瘤发生、发展有关。 $\beta$ -连环素( $\beta$ -catenin)稳定是经典Wnt信号通路核

心,正常成熟细胞 $\beta$ -catenin水平低,Wnt信号通路处于关闭状态。当肿瘤干细胞处于活化状态时 $\beta$ -catenin降解障碍,胞质内游离 $\beta$ -catenin增多并与TCF/LEF-1结合进入细胞核,激活下游靶基因c-myc、cyclin D1转录,而促多种肿瘤发生及发展: $\beta$ -catenin水平失控致结肠直肠癌等发生<sup>[2]</sup>,Wnt通路对乳腺干细胞转化和维持稳态起重要作用<sup>[3]</sup>,乳腺癌Wnt通路状态与CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>/Lin<sup>-</sup>细胞转移密切关系<sup>[4]</sup>,Wnt通路持续异常激活是引发间皮瘤、鼻咽癌重要机制<sup>[5,6]</sup>。ESCC组织Wnt信号通路在2000年被人首次关注,de Castro等<sup>[26]</sup>等免疫组织化学检测39例ESCC组织,发现 $\beta$ -连环蛋白表达与p53、E-钙黏蛋白、Bcl-2和Ki-67表达相关。所有被检测到 $\beta$ -catenin的表达均定位于细胞膜,常呈异构形态。其中7例也表达于细胞质和细胞核中,且这7个肿瘤分别定位在食管上部(3)或中部(4)三分之一。所有标本都表达Bcl-2,而其中仅1例表达p53。本文认为表达 $\beta$ -catenin的组织可能是ESCC中一个特异性表现亚型。

食管上皮分化过程与Wnt通路有关<sup>[27,28]</sup>,ESCC发生发展与Wnt信号通路异常是否有关?Brown等<sup>[29]</sup>检测食管癌细胞系中常见易位断点,发现大量为Wnt信号通路作用点,提示Wnt通路在食管癌中可能活化。Salahshor等<sup>[30]</sup>检测30例ESCC标本Wnt信号重要成员发现,许多下游基因或蛋白异常表达和/或局部富集,包括糖原合成酶激酶- $\alpha/\beta$ (34%),AXIN2(48%), $\alpha$ -连环素(31%),MYC(73%),cyclin D1(46%),并且有13%标本呈 $\beta$ -catenin胞核积聚,60%标本表现E-cadherin胞核积聚。彭辉等<sup>[31]</sup>应用组织芯片检测ESCC组织样本Wnt信号通路4种主要蛋白,APC和E-cadherin阳性率分别69.6%、19.6%,均低于各自正常组(98.0%、96.3%, $P<0.01$ ), $\beta$ -catenin和cyclin D1在ESCC的异常表达率分别为65.5%和70.9%,均高于各自正常组(1.2%、0.8%, $P<0.01$ )。2009年,Huang等<sup>[32]</sup>检测具有肿瘤干细胞样作用ESCC侧群细胞发现,Wnt信号通路相关基因FZD10、PTGS2、KLF5上调。以上证据提示,ESCC发生发展与Wnt信号通路异常有关, $\beta$ -catenin胞核中积累可能是ESCC发生关键步骤<sup>[33]</sup>。

体外研究结论较一致:Wnt信号通路异常活化促ESCC细胞株分化增值,抑制该通路某些节点可有效阻止ESCC不良生物学行为。Taniguchi等<sup>[34]</sup>在mRNA水平与正常细胞系比较,食管癌细胞系Wnt抑制因子-1(Wnt inhibitor-1, WIF-1)

有73.7%(14/19)表达下调. 以基因修饰手法改变ESCC细胞株TE1的WIF-1表达状态后, 可有效转变其集落形成、细胞增殖、非停泊性生长等多种生物学行为. Chai等<sup>[35]</sup>发现生长相关基因CCN1可通过整合素 $\alpha 11$ 诱导ESCC细胞癌中 $\beta$ -catenin重分布, 而 $\beta$ -catenin核异位又可诱导CCN1进一步升高, 两者相互作用在诱导ESCC发生过程中起重要作用. Mizushima等<sup>[36]</sup>在可提供Wnt家族成员Wnt-1环境介质中培养ESCC细胞株, 检测到胞质内 $\beta$ -catenin集聚. Zhou等<sup>[37]</sup>发现, ESCC的Wnt/ $\beta$ -catenin通路活化带动下游垂体瘤转化基因(PTTG)过表达, 在肿瘤发生过程起重要作用. Wang等<sup>[38]</sup>使用硝普钠和siRNA抑制 $\beta$ -catenin, 不仅 $\beta$ -catenin被抑制, 其下游c-myc和cyclin D1也被抑制, 诱导细胞周期阻滞或细胞凋亡.

Wnt信号调节因子以启动子甲基化为失活方式, 去甲基化干预措施可抑制ESCC细胞株生长. Huang等<sup>[39]</sup>在ESCC患者中检测到启动子甲基化(86%, 56/70)和调控Wnt信号通路的序列特异性单链DNA结合蛋白2(SSBP2)下调. 在原本不表达SSBP2的ESCC细胞系TE1中引入SSBP2, 则细胞株明显活力下降和生长抑制. Meng等<sup>[40]</sup>等在ESCC细胞系EC9706对另一Wnt信号通路调节因子卷曲蛋白1(SFRP1)研究取得相似结果: 甲基化事件在ESCC中较无瘤组织多, 且启动子甲基化和组蛋白乙酰化可能联合作用调节其表达. Li等<sup>[41]</sup>发现ESCC中对抗Wnt信号通路蛋白Wnt5A由CpG岛甲基化引发沉默. Chan等<sup>[42]</sup>在12/19 ESCC细胞系检测到WIF-1下调或沉默(甲基化), 27%(25/92)原发肿瘤灶检测到WIF-1甲基化状态, 体外以去甲基化药物地西他滨干预抑制Wnt信号通路观察到明显肿瘤抑制作用. 另一些可通过或者至少是部分通过Wnt信号通路在ESCC成瘤过程中起调节作用的节点蛋白还包括: SOX17<sup>[43]</sup>、PREM5<sup>[44]</sup>、DKK1<sup>[45,46]</sup>、Wnt2<sup>[47]</sup>、TP63 P2启动子<sup>[48]</sup>等.

研究还发现Wnt信号通路某些关键基因与ESCC预后及放疗敏感性有关. Li等<sup>[49]</sup>免疫组织化学检测121例标本, Axin蛋白表达与食管癌浸润深度( $P = 0.033$ )呈负相关. 单因素分析显示Axin蛋白表达降低、淋巴结转移和远处转移是显著预后不良因素. 多变量分析Axin降低是不良预后指标( $P = 0.005$ ). DKK1<sup>[50]</sup>、WISP-1<sup>[51]</sup>及WIF-1<sup>[52]</sup>等异常表达可能是根治性术后食管癌患者不良预后指标. 研究发现, 干扰素诱导跨膜

蛋白-1(interferon induced transmembrane protein 1, IFITM1)<sup>[53]</sup>与食管癌细胞顺铂敏感性有关, LEF1和 $\beta$ -catenin<sup>[54]</sup>是导致食管癌细胞放疗无效重要基因.

### 3 PIP3信号通路

PTEN基因是第10号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因, 由多功能磷酸酶编码抑癌基因, 具磷酸酯酶活性和调节细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡及抑制其生长、侵袭转移等功能, 主要由3条途径共同完成: FAK、MAPK和PI3K(PTEN/PI3K/Akt). 其中主要通过PTEN/PI3K/Akt信号通路: 生长因子与细胞表面相应受体结合后, 激活细胞内3-磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase, PI3K), 后者与丝-苏氨酸激酶(serine-threonine kinase, Akt)或蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)结合, 激活PKB, 使细胞从G<sub>1</sub>期进入S期, 促细胞增生, 避免细胞凋亡发生. PTEN编码蛋白对抗PI3K, 阻止PI3K调控生长因子信号转导通路, 使细胞停滞于G<sub>1</sub>期, 诱导肿瘤细胞凋亡.

PTEN基因失活与肿瘤发生关系密切, 方式有突变、缺失、甲基化等, 以突变为主, PTEN基因在肿瘤干细胞中的失活可促进肿瘤的发生, 在多种肿瘤如恶性神经胶质瘤<sup>[7]</sup>、前列腺癌<sup>[8]</sup>、子宫内膜癌<sup>[9]</sup>、卵巢癌<sup>[10]</sup>、胃癌<sup>[11]</sup>、恶性黑色素瘤<sup>[12]</sup>中均已证实存在. 2008年, Chang等<sup>[55]</sup>免疫组织化学检测64例原发ESCC及其癌旁正常上皮组织, 癌组织中PTEN蛋白表达阳性率和染色等级均显著低于正常组织( $P < 0.001$ ). ESCC的PTEN表达与肿瘤分化程度( $P = 0.001$ ), 浸润深度( $P = 0.015$ )和pTNM分期( $P = 0.048$ )均有关, PTEN阳性患者5年生存率82%, 而PTEN阴性患者仅39%( $P = 0.0019$ ). Zhang等<sup>[56]</sup>对PTEN通路下游PI3K蛋白对比检测发现在ESCC中表达阳性率为86.8%, 显著高于正常食管黏膜组织(10.0%,  $P < 0.001$ ), 且与分化程度、浸润深度、临床分期呈正相关. Ge等<sup>[57]</sup>对中国河北省某高发病率地区基因测序发现, PTEN IVS4<sup>+/+</sup>纯合子可能在食管癌的发展起到一定保护作用. Ma等<sup>[58]</sup>PCR法检测226例ESCC和226例无瘤病例, 发现具PTEN rs2735343变异基因型预示食管癌风险显著增高, 既有PTEN rs2735343变异又有P53 Arg72Pro多态性或吸烟, 则患病风险出现指数级叠加.

Hou等<sup>[59]</sup>从人胎盘组织和ESCC细胞分别对野生型和突变型PTEN基因进行克隆, 体外研究

### ■ 相关报道

中国食管鳞癌样本量大为研究提供了便利条件, 从大样本的检测发现相关信号通路关键节点蛋白表达量的变化, 到完整的体外干预和体内诱导, 从基础实验室数据得出推论, 到临床上证实某些新的相关标志物可预测复发预后或放化疗抵抗. 对于食管鳞癌, 我们对食管鳞癌的了解正日趋深入.



## ■创新盘点

食管鳞癌中肿瘤干细胞的研究还有很大的空间,而肿瘤干细胞的相关信号通路在ESCC中经大量研究证实也可发挥重要作用。本文近年来对这一领域发表的文章进行总结,有针对性地选取Wnt、PI3K、Hedgehog 3条通路简要阐述其在ESCC中对易发性、生物学行为等的影响。

示EC9706细胞增殖可被野生型PTEN基因明显抑制,而不能被突变型PTEN基因抑制;体内研究示野生型PTEN基因可抑制裸鼠体内移植瘤的生长,诱导细胞凋亡,并提高EC9706细胞对顺铂敏感性。Li等<sup>[60]</sup>从ESCC标本中富集SP细胞,发现其更强化疗抗性和繁殖功能,体内实验证实其更强致瘤性,该群细胞具有干细胞功能,后续研究表明PI3K通路对此侧群细胞发挥重要调控作用。另有RhoE<sup>[61]</sup>、PKC $\epsilon$ <sup>[62]</sup>、CRT<sup>[63]</sup>、Id-1<sup>[64]</sup>等多种蛋白被证实可在体内和分子水平通过PI3K途径增强ESCC细胞抗失巢凋亡。

针对PTEN基因及其相关蛋白干预性研究结果较为一致,提示其可有效改变ESCC组织细胞的不良生物学行为。ESCC标本乳酸脱氢酶(LDHA)升高,LDHA沉默则可降低AKT活化<sup>[65]</sup>,PIM-1<sup>[66]</sup>降低Akt磷酸化水平。TC21通过PI3K信号通路,增强食管癌细胞耐药性,降低对顺铂敏感性,siRNA介导TC21下调增加癌细胞对顺铂<sup>[67]</sup>和放疗<sup>[68]</sup>敏感性。过表达PI3K-C2 $\beta$ 的Eca109细胞耐受顺铂细胞毒作用,抑制Eca109细胞PI3K-C2 $\beta$ 表达则显著增强顺铂诱导的细胞凋亡<sup>[69]</sup>。最新研究<sup>[70]</sup>表明,cyclin B1过表达可依赖Bcl-2蛋白调控的内在凋亡途径,并通过PI3K信号通路衰减顺铂或紫杉醇诱导的ESCC细胞凋亡。

以上研究提示,在其他肿瘤干细胞中发挥重要作用的PI3K通路,在ESCC的发生发展、转移播散和放化疗敏感性等方面也在发挥关键调控效能。

## 4 Hedgehog信号通路

Hedgehog(HH)基因于1980年由Nusslein-Vollhard和Wieschaus在研究果蝇基因突变时发现。果蝇只有一种HH基因,而脊椎动物至少发现3种同源基因: Sonic hedgehog(SHH)、Indian hedgehog(IHH)和Desert hedgehog(DHH),分别编码3种相应蛋白: SHH、IHH和DHH。由这3种HH同源基因及下游相关分子组成Hedgehog信号通路,在哺乳动物胚胎发育和组织发生过程中,影响着细胞间识别、增殖及命运等众多生理过程。Hedgehog信号通路主要由配体Hedgehog、跨膜蛋白受体patched(Ptch)和smoothened(Smo)以及下游的转录因子Gli(Gli1、Gli2和Gli3)级联构成。HH信号通路与肿瘤干细胞的关系最早在髓母细胞瘤<sup>[13]</sup>中被证实,现在发现, Hedgehog信号通路异常可调节肿瘤干细胞,与脑病神经瘤<sup>[14]</sup>、基底细胞癌<sup>[15]</sup>、肺癌<sup>[16]</sup>等多种肿瘤形成有关。

Berman等<sup>[71]</sup>将来源于食管、胃、胆、胰腺和结肠癌的细胞系进行培养,使用RT-PCR检测其SHH和IHH的mRNA水平,97%细胞系同时表达两者mRNA。Ptch和Gli作为HH信号活性的指示,同时在多数肿瘤细胞系表达。Mori等<sup>[72]</sup>采用免疫组织化学法检测发现,ESCC组织标本Gli-1蛋白表达与肿瘤浸润深度和阳性淋巴结转移密切相关;体外研究,Gli-1在31种食管癌细胞系中存在高表达,Gli-1基因和蛋白表达水平是反映Hedgehog信号通路活性可靠指标。为进一步验证Hedgehog通路ESCC扮演角色,Yang等<sup>[73]</sup>采用PCR和原位杂交互为印证的方法检测一系列Hedgehog下游作用靶基因,证实其下游基因HIP、PDGFR $\alpha$ 、SMO和SUFU基因在ESCC呈高表达。2012年,Yang等<sup>[74]</sup>发现PTCH1表达是Hedgehog信号通路最可靠生物标志物,通过检测PTCH1发现Hedgehog信号通路活化是食管癌发生发展早期分子事件,食管腺癌和食管鳞癌均有一定发生率。

Hedgehog信号通路一些蛋白或下游信号,如Gli-1阳性<sup>[75]</sup>、BMI1阳性<sup>[76]</sup>等与新辅助放疗后食管鳞癌患者的早期复发及预后不良明显相关,其平均DFS、平均OS等显示显著差异,提示Hedgehog通路激活参与促恶性肿瘤CRT后再生和发展。Zhu等<sup>[77]</sup>对100例新辅助放疗ESCC活检标本进行PTCH1和GLI-1检测,发现分别76%和72%标本表达升高,PTCH1和GLI-1表达与肿瘤大小、局部进展和对放化疗反应程度显著相关。单因素分析显示,高PTCH1和GLI-1表达与局部复发快,DFS和OS差有关,而多变量分析显示PTCH1和GLI-1分别为独立预后因素。

## 5 其他信号通路及信号通路交叉作用

ESCC最常见遗传病变是p53基因突变和EGFR过表达,Notch信号通路与两者负调控均有关,且与Wnt通路相互影响<sup>[78]</sup>。Isohata等<sup>[79]</sup>指出,未分化食管上皮细胞和大多数ESCC细胞共表达Hedgehog和EMT信号基因,首次提出Hedgehog信号和EMT具有交叉作用。PTK6<sup>[80]</sup>可降低Akt和GSK3 $\beta$ 磷酸化,而激活 $\beta$ -catenin。Wei等<sup>[81]</sup>发现HH靶基因高表达与Akt活化有关。对GLI1或P-AKT的表达与食管癌标本的临床病理特征之间的关系的分析发现: GLI1的表达与淋巴管浸润( $P = 0.016$ ),血管侵犯( $P = 0.006$ )和预后差( $P = 0.003$ )有关,而P-AKT的表达与血管侵犯( $P = 0.031$ )和预后差( $P = 0.031$ )有关。TE-1和TE-10细

胞系体外研究, PIP3途径在表皮生长因子、Gβγ及N-Shh刺激下在HH信号通路中发挥重要作用, Shh通路可在PIP3和MAPK协同作用促食管癌细胞存活和增殖。He等<sup>[82]</sup>还发现HH通路可通过sFRP-1作用抑制Wnt信号通路。

## 6 结论

现有研究证据提示, 肿瘤干细胞信号通路传导信号Wnt/β-catenin、PIP3、Hedgehog有效调控了ESCC的发生发展过程以及放化疗敏感性等生物学行为。根据肿瘤干细胞相关信号通路转导通路机制研究线索, 揭示ESCC发病及发展机制, 成功发掘ESCC分子标志物, 针对不同亚型ESCC基因表达、侵袭转移、药物敏感和预后差异, 为ESCC的临床分子分型诊断与针对性根治提供新的研究方向, 因此进一步深入研究ESCC肿瘤干细胞相关信号通路转导机制十分必要。

## 7 参考文献

- Makino S. The role of tumor stem-cells in regrowth of the tumor following drastic applications. *Acta Unio Int Contra Cancrum* 1959; 15: 196-198 [PMID: 14420161]
- Longo KA, Wright WS, Kang S, Gerin I, Chiang SH, Lucas PC, Opp MR, MacDougald OA. Wnt10b inhibits development of white and brown adipose tissues. *J Biol Chem* 2004; 279: 35503-35509 [PMID: 15190075 DOI: 10.1074/jbc.M402937200]
- Boras-Granic K, Wysolmerski JJ. Wnt signaling in breast organogenesis. *Organogenesis* 2008; 4: 116-122 [PMID: 19279723 DOI: 10.4161/org.4.2.5858]
- Curtin JC, Lorenzi MV. Drug discovery approaches to target Wnt signaling in cancer stem cells. *Oncotarget* 2010; 1: 563-577 [PMID: 21317452]
- Batra S, Shi Y, Kuchenbecker KM, He B, Reguart N, Mikami I, You L, Xu Z, Lin YC, Clément G, Jablons DM. Wnt inhibitory factor-1, a Wnt antagonist, is silenced by promoter hypermethylation in malignant pleural mesothelioma. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342: 1228-1232 [PMID: 16516163 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.02.084]
- Lin YC, You L, Xu Z, He B, Mikami I, Thung E, Chou J, Kuchenbecker K, Kim J, Raz D, Yang CT, Chen JK, Jablons DM. Wnt signaling activation and WIF-1 silencing in nasopharyngeal cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341: 635-640 [PMID: 16427602 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.12.220]
- Tian XX, Zhang YG, Du J, Fang WG, Ng HK, Zheng J. Effects of cotransfection of antisense-EGFR and wild-type PTEN cDNA on human glioblastoma cells. *Neuropathology* 2006; 26: 178-187 [PMID: 16771172 DOI: 10.1111/j.1440-1789.2006.00679.x]
- Davies MA, Kim SJ, Parikh NU, Dong Z, Bucana CD, Gallick GE. Adenoviral-mediated expression of MMAC/PTEN inhibits proliferation and metastasis of human prostate cancer cells. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1904-1914 [PMID: 12060635]
- Sakurada A, Hamada H, Fukushige S, Yokoyama T, Yoshinaga K, Furukawa T, Sato S, Yajima A, Sato M, Fujimura S, Horii A. Adenovirus-mediated delivery of the PTEN gene inhibits cell growth by induction of apoptosis in endometrial cancer. *Int J Oncol* 1999; 15: 1069-1074 [PMID: 10568810]
- Minaguchi T, Mori T, Kanamori Y, Matsushima M, Yoshikawa H, Taketani Y, Nakamura Y. Growth suppression of human ovarian cancer cells by adenovirus-mediated transfer of the PTEN gene. *Cancer Res* 1999; 59: 6063-6067 [PMID: 10626791]
- Hang Y, Zheng YC, Cao Y, Li QS, Sui YJ. Suppression of gastric cancer growth by adenovirus-mediated transfer of the PTEN gene. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2224-2229 [PMID: 15818730]
- Stewart AL, Mhashilkar AM, Yang XH, Ekmekcioglu S, Saito Y, Sieger K, Schrock R, Onishi E, Swanson X, Mumm JB, Zumstein L, Watson GJ, Snary D, Roth JA, Grimm EA, Ramesh R, Chada S. PI3 kinase blockade by Ad-PTEN inhibits invasion and induces apoptosis in RGP and metastatic melanoma cells. *Mol Med* 2002; 8: 451-461 [PMID: 12435856]
- Berman DM, Karhadkar SS, Hallahan AR, Pritchard JI, Eberhart CG, Watkins DN, Chen JK, Cooper MK, Taipale J, Olson JM, Beachy PA. Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade. *Science* 2002; 297: 1559-1561 [PMID: 12202832 DOI: 10.1126/science.1073733]
- Kenney AM, Cole MD, Rowitch DH. Nmyc upregulation by sonic hedgehog signaling promotes proliferation in developing cerebellar granule neuron precursors. *Development* 2003; 130: 15-28 [PMID: 12441288 DOI: 10.1242/dev.00182]
- Roop D, Toftgård R. Hedgehog in Wnterland. *Nat Genet* 2008; 40: 1040-1041 [PMID: 19165916 DOI: 10.1038/ng0908-1040 DOI: 10.1038/ng0908-1040]
- Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, Wang B, Beachy PA, Baylin SB. Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* 2003; 422: 313-317 [PMID: 12629553 DOI: 10.1038/nature01493]
- Sell S. On the stem cell origin of cancer. *Am J Pathol* 2010; 176: 2584-2594 [PMID: 20431026 DOI: 10.2353/ajpath.2010.091064]
- Seery JP. Stem cells of the esophageal epithelium. *J Cell Sci* 2002; 115: 1783-1789 [PMID: 11956310]
- Okumura T, Shimada Y, Imamura M, Yasumoto S. Neurotrophin receptor p75(NTR) characterizes human esophageal keratinocyte stem cells in vitro. *Oncogene* 2003; 22: 4017-4026 [PMID: 12821936 DOI: 10.1038/sj.onc.1206525]
- Okumura T, Tsunoda S, Mori Y, Ito T, Kikuchi K, Wang TC, Yasumoto S, Shimada Y. The biological role of the low-affinity p75 neurotrophin receptor in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5096-5103 [PMID: 16951226 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2852]
- Huang SD, Yuan Y, Liu XH, Gong DJ, Bai CG, Wang F, Luo JH, Xu ZY. Self-renewal and chemotherapy resistance of p75NTR positive cells in esophageal squamous cell carcinomas. *BMC Cancer* 2009; 9: 9 [PMID: 19134212 DOI: 10.1186/1471-2407-9-9]
- 高全立. 肿瘤干细胞的分离鉴定. 郑州大学, 2009
- Breiteneder-Geleff S, Matsui K, Soleiman A, Merauer P, Poczewski H, Kalt R, Schaffner G, Kerjaschki D. Podoplanin, novel 43-kd membrane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in pu-

## ■应用要点

本文阐述了对肿瘤干细胞发挥重要调控作用的信号通路与食管鳞癌的密切关系, 为未来诊治食管鳞癌、选择综合治疗方案等提供了新的思路。

## ■同行评价

本文内容新颖, 观点清晰, 条理分明, 对肿瘤干细胞相关信号通路及ESCC的研究进行很好的概括总结。

- romycin nephrosis. *Am J Pathol* 1997; 151: 1141-1152 [PMID: 9327748]
- 24 袁世发, 同李平, 丰帆, 张洪伟. 食管癌组织podo-  
planin的表达及其临床意义. *细胞与分子免疫学杂志*  
2011; 27: 435-437
- 25 苏华芳, 万秋燕, 邹燕, 张力, 李海英, 景钊, 吴式琇. 具  
干细胞特性食管癌耐放射细胞株基因表达分析. *肿瘤  
学杂志* 2010; 16: 40-45
- 26 de Castro J, Gamallo C, Palacios J, Moreno-Bueno  
G, Rodríguez N, Feliu J, González-Barón M. beta-  
catenin expression pattern in primary oesophageal  
squamous cell carcinoma. Relationship with clinico-  
pathologic features and clinical outcome. *Virchows  
Arch* 2000; 437: 599-604 [PMID: 11193470 DOI:  
10.1007/s004280000266]
- 27 Woo J, Miletich I, Kim BM, Sharpe PT, Shivdasani  
RA. Barx1-mediated inhibition of Wnt signaling in  
the mouse thoracic foregut controls tracheo-esoph-  
ageal septation and epithelial differentiation. *PLoS  
One* 2011; 6: e22493 [PMID: 21799872 DOI: 10.1371/  
journal.pone.0022493]
- 28 Chen H, Li J, Li H, Hu Y, Tevebaugh W, Yamamoto  
M, Que J, Chen X. Transcript profiling identifies dy-  
namic gene expression patterns and an important  
role for Nrf2/Keap1 pathway in the developing  
mouse esophagus. *PLoS One* 2012; 7: e36504 [PMID:  
22567161 DOI: 10.1371/journal.pone.0036504]
- 29 Brown J, Bothma H, Veale R, Willem P. Genomic  
imbalances in esophageal carcinoma cell lines in-  
volve Wnt pathway genes. *World J Gastroenterol*  
2011; 17: 2909-2923 [PMID: 21734802 DOI: 10.3748/  
wjg.v17.i24.2909]
- 30 Salahshor S, Naidoo R, Serra S, Shih W, Tsao MS,  
Chetty R, Woodgett JR. Frequent accumulation  
of nuclear E-cadherin and alterations in the Wnt  
signaling pathway in esophageal squamous cell  
carcinomas. *Mod Pathol* 2008; 21: 271-281 [PMID:  
18084253 DOI: 10.1038/modpathol.3800990]
- 31 彭辉, 钟雪云, 刘坤平, 李素梅. 应用组织芯片检测食  
管鳞状细胞癌中APC、 $\beta$ -catenin、E-cadherin和cyc-  
cline D1的表达及其意义. *癌症* 2009; 28: 38-41
- 32 Huang D, Gao Q, Guo L, Zhang C, Jiang W, Li H,  
Wang J, Han X, Shi Y, Lu SH. Isolation and iden-  
tification of cancer stem-like cells in esophageal  
carcinoma cell lines. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 465-473  
[PMID: 18680391 DOI: 10.1089/scd.2008.0033]
- 33 Ren HZ, Wang JS, Pan GQ, Lv H, Wen JF, Luo GQ,  
Wang KS, Zhang PF. Comparative proteomic analy-  
sis of beta-catenin-mediated malignant progres-  
sion of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis  
Esophagus* 2010; 23: 175-184 [PMID: 19664078 DOI:  
10.1111/j.1442-2050.2009.01001.x]
- 34 Taniguchi H, Yamamoto H, Hirata T, Miyamoto N,  
Oki M, Nosho K, Adachi Y, Endo T, Imai K, Shino-  
mura Y. Frequent epigenetic inactivation of Wnt in-  
hibitory factor-1 in human gastrointestinal cancers.  
*Oncogene* 2005; 24: 7946-7952 [PMID: 16007117 DOI:  
10.1038/sj.onc.1208910]
- 35 Chai J, Modak C, Ouyang Y, Wu SY, Jamal MM.  
CCN1 Induces  $\beta$ -Catenin Translocation in Esopha-  
geal Squamous Cell Carcinoma through Integrin  
 $\alpha 11$ . *ISRN Gastroenterol* 2012; 2012: 207235 [PMID:  
22701179 DOI: 10.5402/2012/207235]
- 36 Mizushima T, Nakagawa H, Kamberov YG, Wilder  
EL, Klein PS, Rustgi AK. Wnt-1 but not epidermal  
growth factor induces beta-catenin/T-cell factor-  
dependent transcription in esophageal cancer cells.  
*Cancer Res* 2002; 62: 277-282 [PMID: 11782388]
- 37 Zhou C, Liu S, Zhou X, Xue L, Quan L, Lu N,  
Zhang G, Bai J, Wang Y, Liu Z, Zhan Q, Zhu H, Xu  
N. Overexpression of human pituitary tumor trans-  
forming gene (hPTTG), is regulated by beta-catenin  
/TCF pathway in human esophageal squamous cell  
carcinoma. *Int J Cancer* 2005; 113: 891-898 [PMID:  
15514942]
- 38 Wang W, Xue L, Liu H, Wang P, Xu P, Cai Y. Aber-  
rant changes of Wnt2/beta-catenin signaling path-  
way induced by sodium nitroprusside in human  
esophageal squamous cell carcinoma cell lines. *Can-  
cer Invest* 2010; 28: 230-241 [PMID: 19857041 DOI:  
10.3109/07357900903095698]
- 39 Huang Y, Chang X, Lee J, Cho YG, Zhong X, Park  
IS, Liu JW, Califano JA, Ratovitski EA, Sidransky D,  
Kim MS. Cigarette smoke induces promoter meth-  
ylation of single-stranded DNA-binding protein 2  
in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int  
J Cancer* 2011; 128: 2261-2273 [PMID: 20658532 DOI:  
10.1002/ijc.25569]
- 40 Meng Y, Wang QG, Wang JX, Zhu ST, Jiao Y, Li  
P, Zhang ST. Epigenetic inactivation of the SFRP1  
gene in esophageal squamous cell carcinoma. *Dig  
Dis Sci* 2011; 56: 3195-3203 [PMID: 21567192 DOI:  
10.1007/s10620-011-1734-7]
- 41 Li J, Ying J, Fan Y, Wu L, Ying Y, Chan AT, Sriv-  
astava G, Tao Q. WNT5A antagonizes WNT/  
 $\beta$ -catenin signaling and is frequently silenced by  
promoter CpG methylation in esophageal squa-  
mous cell carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2010; 10:  
617-624 [PMID: 20603606]
- 42 Chan SL, Cui Y, van Hasselt A, Li H, Srivastava G,  
Jin H, Ng KM, Wang Y, Lee KY, Tsao GS, Zhong S,  
Robertson KD, Rha SY, Chan AT, Tao Q. The tumor  
suppressor Wnt inhibitory factor 1 is frequently  
methylated in nasopharyngeal and esophageal carci-  
nomas. *Lab Invest* 2007; 87: 644-650 [PMID: 17384664]
- 43 Jia Y, Yang Y, Zhan Q, Brock MV, Zheng X, Yu Y,  
Herman JG, Guo M. Inhibition of SOX17 by mi-  
croRNA 141 and methylation activates the WNT  
signaling pathway in esophageal cancer. *J Mol  
Diagn* 2012; 14: 577-585 [PMID: 22921431 DOI:  
10.1016/j.jmoldx.2012.06.004]
- 44 Shu XS, Geng H, Li L, Ying J, Ma C, Wang Y, Poon  
FF, Wang X, Ying Y, Yeo W, Srivastava G, Tsao  
SW, Yu J, Sung JJ, Huang S, Chan AT, Tao Q. The  
epigenetic modifier PRDM5 functions as a tumor  
suppressor through modulating WNT/ $\beta$ -catenin  
signaling and is frequently silenced in multiple  
tumors. *PLoS One* 2011; 6: e27346 [PMID: 22087297  
DOI: 10.1371/journal.pone.0027346]
- 45 Li S, Qin X, Liu B, Sun L, Zhang X, Li Z, Shan B,  
You J, Zhou Q. Dickkopf-1 is involved in invasive  
growth of esophageal cancer cells. *J Mol Histol*  
2011; 42: 491-498 [PMID: 21909757 DOI: 10.1007/  
s10735-011-9347-1]
- 46 Sato N, Yamabuki T, Takano A, Koinuma J, Aragaki  
M, Masuda K, Ishikawa N, Kohno N, Ito H, Mi-  
yamoto M, Nakayama H, Miyagi Y, Tsuchiya E,  
Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Wnt inhibitor  
Dickkopf-1 as a target for passive cancer immu-  
notherapy. *Cancer Res* 2010; 70: 5326-5336 [PMID:  
20551066 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3879]
- 47 Fu L, Zhang C, Zhang LY, Dong SS, Lu LH, Chen J,  
Dai Y, Li Y, Kong KL, Kwong DL, Guan XY. Wnt2  
secreted by tumour fibroblasts promotes tumour



- progression in oesophageal cancer by activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signalling pathway. *Gut* 2011; 60: 1635-1643 [PMID: 21672941 DOI: 10.1136/gut.2011.241638]
- 48 Ruptier C, De Gasp  ris A, Ansieau S, Granjon A, Tani  re P, Lafosse I, Shi H, Petitjean A, Taranchon-Clermont E, Tribollet V, Voeltzel T, Scoazec JY, Maguer-Satta V, Puisieux A, Hainaut P, Cavard C, Caron de Fromentel C. TP63 P2 promoter functional analysis identifies  $\beta$ -catenin as a key regulator of  $\Delta$ Np63 expression. *Oncogene* 2011; 30: 4656-4665 [PMID: 21643019 DOI: 10.1038/onc.2011.171]
  - 49 Li AF, Hsu PK, Tzao C, Wang YC, Hung IC, Huang MH, Hsu HS. Reduced axin protein expression is associated with a poor prognosis in patients with squamous cell carcinoma of esophagus. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2486-2493 [PMID: 19582507 DOI: 10.1245/s10434-009-0593-3]
  - 50 Makino T, Yamasaki M, Takemasa I, Takeno A, Nakamura Y, Miyata H, Takiguchi S, Fujiwara Y, Matsuura N, Mori M, Doki Y. Dickkopf-1 expression as a marker for predicting clinical outcome in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2058-2064 [PMID: 19408050 DOI: 10.1245/s10434-009-0476-7]
  - 51 Nagai Y, Watanabe M, Ishikawa S, Karashima R, Kurashige J, Iwagami S, Iwatsuki M, Baba Y, Imamura Y, Hayashi N, Baba H. Clinical significance of Wnt-induced secreted protein-1 (WISP-1/CCN4) in esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2011; 31: 991-997 [PMID: 21498727]
  - 52 Liu JB, Qiang FL, Dong J, Cai J, Zhou SH, Shi MX, Chen KP, Hu ZB. Plasma DNA methylation of Wnt antagonists predicts recurrence of esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4917-4921 [PMID: 22171134 DOI: 10.3748/wjg.v17.i44.4917]
  - 53 Fumoto S, Shimokuni T, Tanimoto K, Hiyama K, Otani K, Ohtaki M, Hihara J, Yoshida K, Hiyama E, Noguchi T, Nishiyama M. Selection of a novel drug-response predictor in esophageal cancer: a novel screening method using microarray and identification of IFITM1 as a potent marker gene of CDDP response. *Int J Oncol* 2008; 32: 413-423 [PMID: 18202764]
  - 54 Li HZ, Gao XS, Xiong W, Zhao J, Zhang H, Zhou DM. Identification of differentially expressed genes related to radioresistance of human esophageal cancer cells. *Chin J Cancer* 2010; 29: 882-888 [PMID: 20868558]
  - 55 Chang D, Wang TY, Li HC, Wei JC, Song JX. Prognostic significance of PTEN expression in esophageal squamous cell carcinoma from Linzhou City, a high incidence area of northern China. *Dis Esophagus* 2007; 20: 491-496 [PMID: 17958724]
  - 56 Zhang Y, Liu YP, Du K, Wang H, Wang XL. [Expression and clinical significance of PI3K in esophageal squamous cell carcinoma]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2011; 33: 594-598 [PMID: 22325219]
  - 57 Ge H, Cao YY, Chen LQ, Wang YM, Chen ZF, Wen DG, Zhang XF, Guo W, Wang N, Li Y, Zhang JH. PTEN polymorphisms and the risk of esophageal carcinoma and gastric cardiac carcinoma in a high incidence region of China. *Dis Esophagus* 2008; 21: 409-415 [PMID: 19125794 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00786.x]
  - 58 Ma J, Zhang J, Ning T, Chen Z, Xu C. Association of genetic polymorphisms in MDM2, PTEN and P53 with risk of esophageal squamous cell carcinoma. *J Hum Genet* 2012; 57: 261-264 [PMID: 22336889 DOI: 10.1038/jhg.2012.15]
  - 59 Hou G, Lu Z, Liu M, Liu H, Xue L. Mutational analysis of the PTEN gene and its effects in esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1315-1322 [PMID: 21116717 DOI: 10.1007/s10620-010-1474-0]
  - 60 Li H, Gao Q, Guo L, Lu SH. The PTEN/PI3K/Akt pathway regulates stem-like cells in primary esophageal carcinoma cells. *Cancer Biol Ther* 2011; 11: 950-958 [PMID: 21467840]
  - 61 Zhao H, Yang J, Fan T, Li S, Ren X. RhoE functions as a tumor suppressor in esophageal squamous cell carcinoma and modulates the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway. *Tumour Biol* 2012; 33: 1363-1374 [PMID: 22477709 DOI: 10.1007/s13277-012-0384-5]
  - 62 Liu SG, Wang BS, Jiang YY, Zhang TT, Shi ZZ, Yang Y, Yang YL, Wang XC, Lin DC, Zhang Y, Yang H, Cai Y, Zhan QM, Wang MR. Atypical protein kinase C $\alpha$  (PKC $\alpha$ ) promotes metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by enhancing resistance to Anoikis via PKC $\alpha$ -SKP2-AKT pathway. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 390-402 [PMID: 21310827 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0359]
  - 63 Du XL, Yang H, Liu SG, Luo ML, Hao JJ, Zhang Y, Lin DC, Xu X, Cai Y, Zhan QM, Wang MR. Calreticulin promotes cell motility and enhances resistance to anoikis through STAT3-CTTN-Akt pathway in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2009; 28: 3714-3722 [PMID: 19684620 DOI: 10.1038/onc.2009.237]
  - 64 Li B, Tsao SW, Li YY, Wang X, Ling MT, Wong YC, He QY, Cheung AL. Id-1 promotes tumorigenicity and metastasis of human esophageal cancer cells through activation of PI3K/AKT signaling pathway. *Int J Cancer* 2009; 125: 2576-2585 [PMID: 19551863 DOI: 10.1002/ijc.24675]
  - 65 Yao F, Zhao T, Zhong C, Zhu J, Zhao H. LDHA is necessary for the tumorigenicity of esophageal squamous cell carcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34: 25-31 [PMID: 22961700]
  - 66 Li S, Xi Y, Zhang H, Wang Y, Wang X, Liu H, Chen K. A pivotal role for Pim-1 kinase in esophageal squamous cell carcinoma involving cell apoptosis induced by reducing Akt phosphorylation. *Oncol Rep* 2010; 24: 997-1004 [PMID: 20811681]
  - 67 Hasan R, Chauhan SS, Sharma R, Ralhan R. siRNA-mediated downregulation of TC21 sensitizes esophageal cancer cells to cisplatin. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4127-4135 [PMID: 22919244 DOI: 10.3748/wjg.v18.i31.4127]
  - 68 Huang S, Li XQ, Chen X, Che SM, Chen W, Zhang XZ. Inhibition of microRNA-21 increases radio-sensitivity of esophageal cancer cells through phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 activation. *Dis Esophagus* 2012 Sep 7. [Epub ahead of print] [PMID: 22958183 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2012.01389.x]
  - 69 Liu Z, Sun C, Zhang Y, Ji Z, Yang G. Phosphatidylinositol 3-kinase-C2 $\beta$  inhibits cisplatin-mediated apoptosis via the Akt pathway in oesophageal squamous cell carcinoma. *J Int Med Res* 2011; 39: 1319-1332 [PMID: 21986133]
  - 70 Ou Y, Ma L, Ma L, Huang Z, Zhou W, Zhao C, Zhang B, Song Y, Yu C, Zhan Q. Overexpression of cyclin B1 antagonizes chemotherapeutic-induced

- apoptosis through PTEN/Akt pathway in human esophageal squamous cell carcinoma cells. *Cancer Biol Ther* 2013; 14: 45-55 [PMID: 23114644 DOI: 10.4161/cbt.22627]
- 71 Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425: 846-851 [PMID: 14520411]
  - 72 Mori Y, Okumura T, Tsunoda S, Sakai Y, Shimada Y. Gli-1 expression is associated with lymph node metastasis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2006; 70: 378-389 [PMID: 17179732]
  - 73 Yang L, Bian Y, Huang S, Ma X, Zhang C, Su X, Chen ZJ, Xie J, Zhang H. Identification of signature genes for detecting hedgehog pathway activation in esophageal cancer. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 387-391 [PMID: 21210262 DOI: 10.1007/s12253-010-9337-8]
  - 74 Yang L, Wang LS, Chen XL, Gatalica Z, Qiu S, Liu Z, Stoner G, Zhang H, Weiss H, Xie J. Hedgehog signaling activation in the development of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of esophagus. *Int J Biochem Mol Biol* 2012; 3: 46-57 [PMID: 22509480]
  - 75 Yoshikawa R, Nakano Y, Tao L, Koishi K, Matsumoto T, Sasako M, Tsujimura T, Hashimoto-Tamaoki T, Fujiwara Y. Hedgehog signal activation in oesophageal cancer patients undergoing neoadjuvant chemoradiotherapy. *Br J Cancer* 2008; 98: 1670-1674 [PMID: 18475300 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604361]
  - 76 Yoshikawa R, Tsujimura T, Tao L, Kamikonya N, Fujiwara Y. The oncoprotein and stem cell renewal factor BMI1 associates with poor clinical outcome in oesophageal cancer patients undergoing preoperative chemoradiotherapy. *BMC Cancer* 2012; 12: 461 [PMID: 23046527 DOI: 10.1186/1471-2407-12-461]
  - 77 Zhu W, You Z, Li T, Yu C, Tao G, Hu M, Chen X. Correlation of hedgehog signal activation with chemoradiotherapy sensitivity and survival in esophageal squamous cell carcinomas. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41: 386-393 [PMID: 21127038 DOI: 10.1093/jjco/hyq217]
  - 78 Naganuma S, Whelan KA, Natsuizaka M, Kagawa S, Kinugasa H, Chang S, Subramanian H, Rhoades B, Ohashi S, Itoh H, Herlyn M, Diehl JA, Gimotty PA, Klein-Szanto AJ, Nakagawa H. Notch receptor inhibition reveals the importance of cyclin D1 and Wnt signaling in invasive esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 459-475 [PMID: 22860235]
  - 79 Isohata N, Aoyagi K, Mabuchi T, Daiko H, Fukaya M, Ohta H, Ogawa K, Yoshida T, Sasaki H. Hedgehog and epithelial-mesenchymal transition signaling in normal and malignant epithelial cells of the esophagus. *Int J Cancer* 2009; 125: 1212-1221 [PMID: 19431210 DOI: 10.1002/ijc.24400]
  - 80 Ma S, Bao JY, Kwan PS, Chan YP, Tong CM, Fu L, Zhang N, Tong AH, Qin YR, Tsao SW, Chan KW, Lok S, Guan XY. Identification of PTK6, via RNA sequencing analysis, as a suppressor of esophageal squamous cell carcinoma. *Gastroenterology* 2012; 143: 675-686. e1-e12 [PMID: 22705009 DOI: 10.1053]
  - 81 Wei L, Xu Z. Cross-signaling among phosphoinositide-3 kinase, mitogen-activated protein kinase and sonic hedgehog pathways exists in esophageal cancer. *Int J Cancer* 2011; 129: 275-284 [PMID: 20839260 DOI: 10.1002/ijc.25673]
  - 82 He J, Sheng T, Stelter AA, Li C, Zhang X, Sinha M, Luxon BA, Xie J. Suppressing Wnt signaling by the hedgehog pathway through sFRP-1. *J Biol Chem* 2006; 281: 35598-35602 [PMID: 17035233]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 利培酮抑制结肠癌细胞株SW480生长的作用机制

金永民, 韩哲洙, 孙红花, 崔海, 金文彪, 沈雄虎, 朴龙镇

金永民, 韩哲洙, 孙红花, 崔海, 金文彪, 沈雄虎, 朴龙镇, 延边大学附属医院肿瘤科 吉林省延吉市 133000

国家自然科学基金资助项目, No. 81060166

高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20102201120003

作者贡献分布: 金永民为第一作者; 此课题由朴龙镇设计; 研究过程由金永民与韩哲洙操作完成, 孙红花、崔海、金文彪及沈雄虎参与; 本论文写作由朴龙镇完成。

通讯作者: 朴龙镇, 副教授, 133000, 吉林省延吉市局子街1327号, 延边大学附属医院肿瘤科. piaolongzhen1978@yahoo.com.cn  
电话: 0433-2660195

收稿日期: 2012-12-03 修回日期: 2013-01-21

接受日期: 2013-01-30 在线出版日期: 2013-02-18

## Mechanisms underlying risperidone-mediated inhibition of cell proliferation in human colon cancer cell line SW480

Yong-Min Jin, Zhe-Zhu Han, Hong-Hua Sun, Hai Cui, Wen-Biao Jin, Xiong-Hu Shen, Long-Zhen Piao

Yong-Min Jin, Zhe-Zhu Han, Hong-Hua Sun, Hai Cui, Wen-Biao Jin, Xiong-Hu Shen, Long-Zhen Piao, Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, Jilin Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060166; and the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China, No. 20102201120003

Correspondence to: Long-Zhen Piao, Associate Professor, Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, 1327 Juzi Street, Yanji 133000, Jilin Province, China. piaolongzhen1978@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-03 Revised: 2013-01-21

Accepted: 2013-01-30 Published online: 2013-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate whether risperidone has an inhibitory effect on cell proliferation in human colon carcinoma cell line SW480 and to explore the possible mechanisms involved.

**METHODS:** SW480 cells were treated with epidermal growth factor (EGF) with and without risperidone. Phosphorylation levels of protein kinase B (PKB/Akt) and extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) were determined by Western blot. Expression of suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) mRNA was detected by RT-PCR. Cell proliferation was assessed using the trypan blue assay.

**RESULTS:** Risperidone could inhibit the proliferation of SW480 cells. Treatment with risperidone increased the phosphorylation of ERK1/2 and mRNA level of SOCS3, which may block EGF-induced EGF receptor phosphorylation and in turn inhibit PKB phosphorylation.

**CONCLUSION:** Treatment with risperidone significantly inhibited EGF-mediated proliferation of SW480 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Risperidone; Extracellular signal-regulated kinase 1/2; SOCS3; Protein kinase B

Jin YM, Han ZZ, Sun HH, Cui H, Jin WB, Shen XH, Piao LZ. Mechanisms underlying risperidone-mediated inhibition of cell proliferation in human colon cancer cell line SW480. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 381-385 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/381.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.381>

## 摘要

**目的:** 探讨利培酮对人结肠癌细胞株SW480生长抑制的作用机制及其相关研究。

**方法:** 表皮生长因子和利培酮单独或联合作用于SW480细胞, 通过蛋白印迹实验观察蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)及细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)磷酸化程度, 利用RT-PCR判断细胞因子信号转导抑制因子基因表达水平, 利用显微镜及细胞计数方法判断细胞生长情况。

**结果:** 利培酮抑制人表皮生长因子诱导的结肠癌细胞株SW480细胞的生长; 其机制是通过激活ERK1/2的活性并诱导SOCS3的基因的表达, 从而抑制PKB的磷酸化, 最终抑制SW480的生长。

**结论:** 利培酮具有抑制表皮生长因子对人结肠癌细胞株的生长作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 利培酮; 细胞外信号调节激酶1/2; 细胞因

## ■背景资料

利培酮属苯丙异恶唑的衍生物, 是一种非典型的新型抗精神病药物, 具有对多巴胺D2受体和5羟色胺的5-HT<sub>2</sub>受体的双重阻滞作用。在临床上多用于精神分裂症患者的治疗, 其主要不良反应为体质量增加, 目前其原因仍未能阐明。

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科



## ■研究前沿

探究G偶联蛋白受体与SOCS3相互之间的作用关系,可能会成为靶向分子研究新的热点.

## 子信号转导抑制因子; 蛋白激酶B

金永民, 韩哲洙, 孙红花, 崔海, 金文彪, 沈雄虎, 朴龙镇. 利培酮抑制结肠癌细胞株SW480生长的作用机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 381-385 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/381.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.381>

## 0 引言

利培酮属苯丙异恶唑的衍生物, 是一种非典型的新型抗精神病药物<sup>[1]</sup>, 具有对多巴胺D2受体和5羟色胺的5-HT2受体的双重阻滞作用<sup>[2]</sup>. 在临床上多用于精神分裂症病患者的治疗, 其主要不良反应为体质量增加, 目前其原因仍未能阐明<sup>[3]</sup>. 蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)又称丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase, Akt)是一种60 kDa左右的蛋白激酶<sup>[4]</sup>. PKB参与的磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)介导的信号传导通路, 与细胞生长、代谢、凋亡、恶变密切相关<sup>[4,5]</sup>. 越来越多的研究表明, 在很多的肿瘤中发现PKB的表达及磷酸化水平不同程度的增多<sup>[6,7]</sup>. 本实验首次观察到利培酮可以抑制人结肠癌细胞株SW480细胞的生长, 同时阐明利培酮是通过细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)依赖性诱导SOCS3基因的表达, 从而阻断PKB磷酸化抑制其活性, 最终达到抑制SW480细胞的生长. 通过本实验首次阐明第二代非典型抗精神病药物-利培酮具有抑制肿瘤生长的新的药理学作用机制.

## 1 材料和方法

1.1 材料 利培酮由R&D公司提供; 人结肠癌细胞株-SW480由ATCC公司提供; 总-PKB、磷酸化-PKB(Ser-473)、磷酸化-PKB(Thr-308)、总ERK1/2及磷酸化ERK1/2抗体由Cell Signaling提供.

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养: SW480细胞株, 于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>的条件下, 培养于含100 mL/L胎牛血清的DMEM培养基中. 每2-3 d传代1次.

1.2.2 蛋白印迹实验: SW480细胞接种于15 mL培养瓶内, 培养至80%满时, 更换无100 mL/L胎牛血清的DMEM培养液. 培养24 h之后处理100 nmol/L的利培酮及表皮生长因子. 各处理因素完成后, 用预冷的PBS冲洗2次, 加入细胞裂解液, 4℃静置30 min. 12 000 r/min离心10 min, 取上清

液, 用Bradford法进行蛋白定量. 总蛋白经SDS-PAGE分离后, 转移至PVDF膜上. 用5%脱脂奶粉封闭1 h. 随后分别加入总PKB抗体、磷酸化PKB(Ser-473和Thr-308)、总ERK1/2及磷酸化ERK1/2等抗体(1:1 000), 室温孵育2 h, 用TBST漂洗3次, 再加入相应的二抗, 孵育1 h, 用TBST漂洗3次. ECL显色之后, 曝光于底片上.

1.2.3 RT-PCR: PCR检测SOCS mRNA收集利培酮、EGF、利培酮+EGF处理的细胞, 利用easy-BLUTM RNA提取试剂盒提取总RNA. 以1 μg总RNA作为模版, 用ReverTra Ace逆转录酶进行逆转录, PCR扩增SOCS1和SOCS3, 同时以GAPDH为内参照. SOCS1上游引物为5'-CAC GCA CTT CCG CAC ATT-3', 下游引物为5'-AGC AGC TCG AGG AGG CAG-3'; SOCS3上游引物为5'-GAG TAC CAC CTG AGT CTC CA-3', 下游引物为5'-GAC CTC TCT CTC TTC CAC CT-3'. PCR反应条件如下: 5℃预变性5 min后开始25个循环(95℃变性30 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸30 s), 最后72℃延伸10 min. PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳分离.

统计学处理 采用配对t检验分析在利培酮组与对照组之间相对细胞生长率的差异. 数据采用SPSS11.0统计软件包进行统计分析.

## 2 结果

2.1 利培酮抑制结肠癌细胞株SW480的生长 SW480细胞分别以EGF(对照组)或添加利培酮100 nmol/L(Ris组)培养24 h、48 h之后, 利用显微镜观察细胞生长情况. 如图1所示, 处理利培酮(Ris组)后细胞生长的密度明显低于EGF(对照组)处理组. 收集SW480细胞株, 利用台盼蓝拒染实验检测EGF诱导的SW480生长率. 比较两组的细胞生长率, Ris组SW480细胞生长率明显低于对照组, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ). 提示利培酮具有抑制EGF诱导SW480结肠癌细胞株生长的作用.

2.2 利培酮抑制EGF诱导的PKB磷酸化水平 PKB, 即蛋白激酶B, 直接参与了细胞内各种生长因子的信号转导, 具有促进细胞的代谢及生长的生理学功能. PKB的活性需要两个氨基酸位点同时被磷酸化, 即苏氨酸磷酸化位点: 308(Thr308)和丝氨酸磷酸化位点: 473(Ser473), 从而得到激酶的活性<sup>[4]</sup>. 为观察利培酮是否影响PKB的磷酸化水平及, 进行了如下实验. 在SW480细胞中加入100 nmol/L利培酮培养6 h及

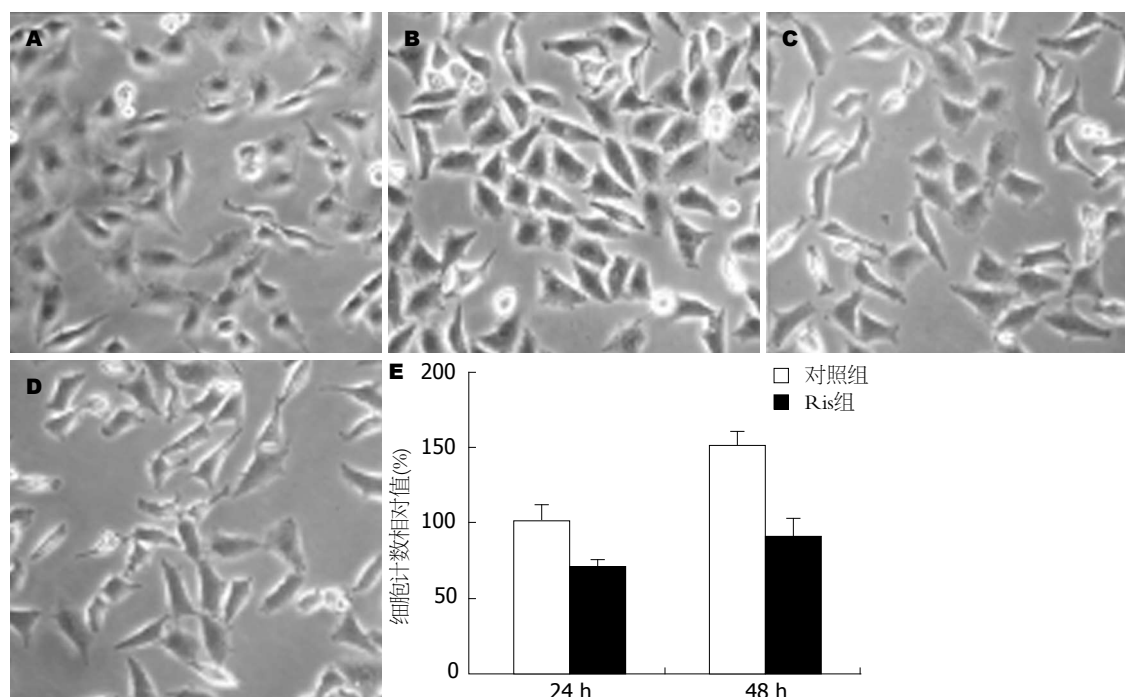


图 1 利培酮抑制SW480的生长. A: 对照组24 h; B: 对照组48 h; C: Ris组24 h; D: Ris组48 h.

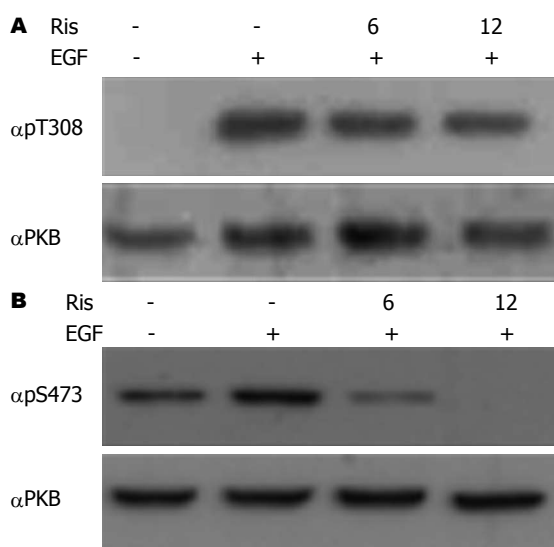


图 2 蛋白印迹法检测PKB的磷酸化水平.

12 h, 并加入100 ng/mL浓度的EGF. 分别收集细胞采用蛋白印迹法分别检测PKB-Thr308(图2A)和Ser473(图2B)位点磷酸化水平. SW480细胞单独处理EGF时PKB(Thr-308)位点的磷酸化水平明显增加, 而在预处理利培酮(Ris组)之后其磷酸化水平被抑制, 这种抑制随时间延长而逐渐增加(图2A). 同样利培酮抑制了PKB另外一个磷酸化位点-Ser473(图2B). 该实验结果表明利培酮具有抑制EGF诱导的PKB磷酸化水平的能力. 这可能是利培酮抑制PKB蛋白激酶活性, 最终导致抑制结肠癌细胞株SW480的生长.

#### ■ 相关报道

最近一些研究表明第二代抗精神病药物利培酮、奥氮平及喹硫平的使用, 增加患2型糖尿病的风险. 蛋白激酶B(PKB)作为胰岛素信号传导中的关键因子, 其活性直接影响胰岛素在细胞中的作用, 但目前利培酮与PKB活性之间关系尚未被阐明.

2.3 利培酮激活ERK1/2的活性及ERK1/2依赖性诱导SOCS3 mRNA水平 跨膜蛋白-G蛋白偶联受体作为细胞内信号转导的重要介质, 在细胞内参与多种信号传递的重要作用<sup>[8]</sup>. G蛋白偶联受体可通过影响细胞内的cAMP的浓度, 改变一些细胞内很多激酶的活性<sup>[9]</sup>. 相关文献报道显示, 随细胞内cAMP的浓度增加可激活ERK1/2的活性<sup>[10]</sup>. 为观察利培酮是否通过抑制G-蛋白偶联受体的功能, 改变ERK1/2的活性, 在SW480细胞中加入100 nmol/L利培酮或与ERK1/2激酶特异性抑制-U0126培养6 h, 收集细胞进行了蛋白印迹实验. Ris可激活ERK1/2的活性, 而这种激活可以被ERK1/2的特异性激酶抑制剂-U0126被抑制(图3A). SW480细胞加入利培酮6、12 h或与U0126共同处理之后, 采用RT-PCR方法检测SOCS1和SOCS3 mRNA水平. 如图3B所示, 利培酮可增加细胞内SOCS3 mRNA水平, 而SOCS1没有改变, 这种效应可被ERK1/2阻断剂-U0126所被抑制. 结果显示, 利培酮是通过激活ERK1/2活性, 从而诱导细胞内SOCS3 mRNA水平的表达.

2.4 利培酮通过诱导SOCS3的表达抑制PKB-Thr308和Ser-473的磷酸化水平 SOCS1和SOCS3蛋白可以与一些细胞因子受体结合, 阻断信号传导, 抑制相关因子的作用<sup>[11]</sup>. 为证明利培酮是通过增加SOCS3基因的表达, 与EGF受体结合从而抑制受体的磷酸化, 阻断PKB的活性及抑制细

## ■同行评价

本文新颖性较好, 内容重要, 提供充足有意义的信息.

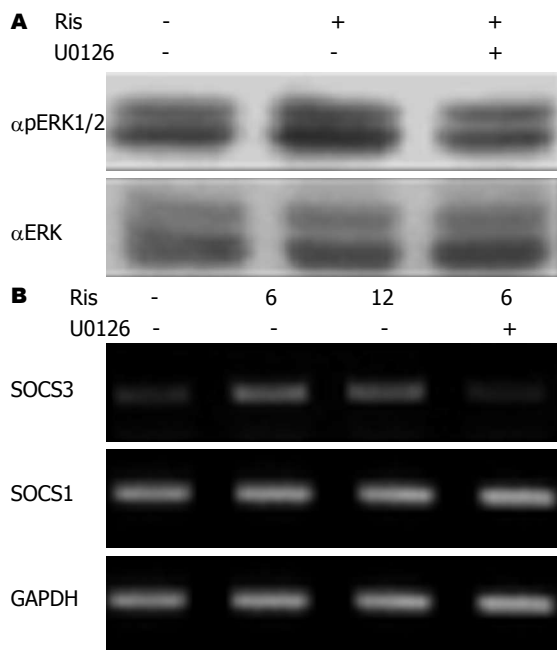


图3 利培酮通过激活ERK1/2的活性, 诱导SOCS3基因的表达.

胞的生长, 进行了如下实验. 在SW480细胞中加入100 nmol/L利培酮或与U0126共培养12 h, 并加入100 ng/mL浓度的EGF. 分别收集细胞采用蛋白印迹法检测PKB-Thr308和Ser-473磷酸化水平. 当SW-480细胞株共同处理EGF和利培酮时, PKB-Thr-308(图4A)和Ser-473(图4B)的磷酸化水平完全被阻滞, 然而添加ERK1/2阻断剂-U0126时, PKB两个磷酸化位点的磷化水平可被恢复.

### 3 讨论

磷酸肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/PKB)信号传导通路参与很多生物学过程调节<sup>[12]</sup>. PKB被PI3K依赖激酶1(PI3K-dependent kinase 1, PDK1)在催化区的苏氨酸308位点(Thr-308)磷酸化, 同时被另一个未知的丝氨酸激酶(PDK2)在碳末端疏水区丝氨酸473位点(Ser-473)磷酸化, 这两个位点同时磷酸化是PKB激活的必要条件<sup>[8]</sup>. 激活后的PKB蛋白在胞质中或胞核内, 通过对一系列底物蛋白的磷酸化, 调节细胞的增值、分化及凋亡. 在正常组织细胞内PI3K/PKB信号传导途径处于活化状态, 但是许多研究结果表明在许多肿瘤组织中该通路被过度激活, 从而通过下调肿瘤抑制蛋白P53、刺激蛋白质合成、抑制细胞凋亡等导致肿瘤细胞的无限增值, 成为肿瘤预后差的标志, 因此抑制该通路的激活有利于肿瘤的治疗<sup>[13-15]</sup>.

利培酮作为第二代抗精神病药物, 在临床

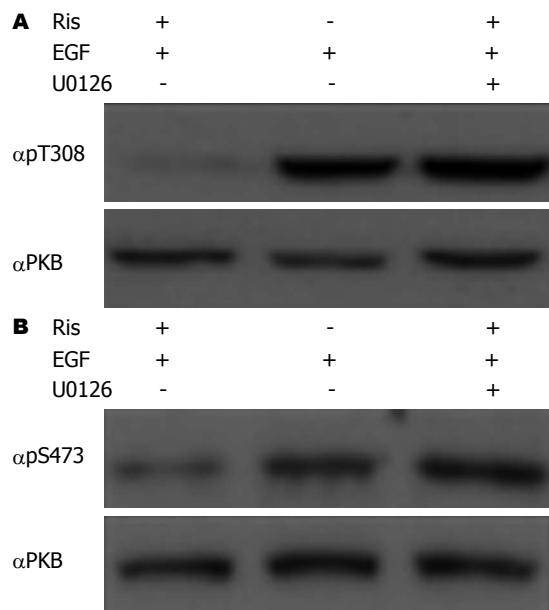


图4 利培酮抑制PKB-Thr308和Ser473的磷酸化效应被ERK1/2抑制剂-U0126所阻断.

上主要应用于精神分裂症患者的治疗. 最近一些研究表明第二代抗精神病药物利培酮、奥氮平及喹硫平的使用, 增加患2型糖尿病的风险<sup>[16]</sup>. PKB作为胰岛素信号传导中的关键因子, 其活性直接影响胰岛素在细胞中的作用, 但目前尚未阐明利培酮于与PKB活性之间的关系.

本文采用利培酮抑制结肠癌细胞的生长模型探讨利培酮是否抑制PKB的活性及其机制. SW480细胞作为人结肠癌细胞株, 许多研究以该细胞株作为结肠癌治疗药物的细胞模型. 本实验发现100 nmol/L的利培酮处理结肠癌细胞培养24 h和48 h后, 细胞生长缓慢、细胞体积变小、呈现出抑制细胞生长的特征. 同时利培酮可阻断PKB-S473和T308位点的磷酸化. 结果表明, 利培酮可能是通过阻断PKB的活性从而抑制结肠癌细胞的生长.

调节PKB的活性及细胞生长的机制非常复杂. 其中人们对ERK1/2信号传导通路与PKB的活性调节研究得较有深入. 然而, ERK1/2在调节PKB的活性还存在着争议, 一方面大量文献表明, ERK1/2可激活PKB的活性, 从而促进细胞存活与生长<sup>[17]</sup>; 另一方面, 最近研究表明ERK1/2通过诱导SOCS3, 抑制各种生长激素受体的磷酸化, 从而抑制PKB的活性及细胞生长. 利培酮可激活EKR1/2的活性, 且ERK1/2依赖性诱导SOCS3基因的表达. 上述结果提示, 利培酮可能是通过激活ERK1/2的活性诱导SOCS3基因的表达. 而增加的SOCS3蛋白与EGF受体结合, 抑制



EGF诱导的受体磷酸化, 最终达到阻断PKB的活性及抑制细胞生长的作用。

为进一步证实上述假设, 采用EK1/2特异性抑制剂-U0126, 判断是否抑制ERK1/2条件下, 利培酮同样可以阻断PKB磷酸化。如图4A和4B所示, 当SW480细胞中添加U0126时利培酮抑制PKB的磷酸化的作用完全被阻断。

总之, 利培酮能抑制人结肠癌细胞株的生长, 其作用机制可能是通过激活ERK1/2的活性, 诱导SOCS3基因的表达, 阻断EGF受体的磷酸化, 从而抑制PKB的活性, 最终达到抑制结肠癌细胞的生长。本实验结果提示, 利培酮作为第二代抗精神病药物, 不仅用于精神分裂症患者的治疗, 而且具有抑制肿瘤细胞的生长的作用, 其作用机制可能与抑制PKB活性有关。

最后, 本研究结果为研发结肠癌靶向治疗药物提供新的分子生物学理论基础, 进一步研究G偶联蛋白受体与SOCS3之间的作用关系, 可能会成为研究结肠癌靶向分子的新的热点。

#### 4 参考文献

- 1 Chouinard G, Arnott W. Clinical review of risperidone. *Can J Psychiatry* 1993; 38 Suppl 3: S89-S95 [PMID: 7504574]
- 2 Kapur S, Seeman P. Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 360-369 [PMID: 11229973]
- 3 Scheen AJ, De Hert MA. Abnormal glucose metabolism in patients treated with antipsychotics. *Diabetes Metab* 2007; 33: 169-175 [PMID: 17412628 DOI: 10.1016/j.diabet.2007.01.003]
- 4 Zou W, Li ZY, Li CL, Cui ZC. [Protein kinase B and its role in the signal transduction pathway mediated by phosphoinositide 3-kinase]. *Shengli Kexue Jinzhan* 2000; 31: 120-124 [PMID: 12545728]
- 5 Cheng GZ, Park S, Shu S, He L, Kong W, Zhang W, Yuan Z, Wang LH, Cheng JQ. Advances of AKT pathway in human oncogenesis and as a target for anti-cancer drug discovery. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 2-6 [PMID: 18288938]
- 6 Kim D, Dan HC, Park S, Yang L, Liu Q, Kaneko S, Ning J, He L, Yang H, Sun M, Nicosia SV, Cheng JQ. AKT/PKB signaling mechanisms in cancer and chemoresistance. *Front Biosci* 2005; 10: 975-987 [PMID: 15569636 DOI: 10.2741/1592]
- 7 Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, Cepas P, Belda-Iniesta C, González-Barón M. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 193-204 [PMID: 15023437]
- 8 Penela P, Ribas C, Mayor F. Mechanisms of regulation of the expression and function of G protein-coupled receptor kinases. *Cell Signal* 2003; 15: 973-981 [PMID: 14499340 DOI: 10.1016/S0898-6568(03)00099-8]
- 9 高景霞, 吕立夏, 李静琪, 李艳娜, 徐磊, 李学礼. G蛋白偶联受体激酶2对EGF诱导的cAMP生成的调控. *同济大学学报(医学版)* 2005; 26: 25-28
- 10 Gutkind JS. Regulation of mitogen-activated protein kinase signaling networks by G protein-coupled receptors. *Sci STKE* 2000; 2000: re1 [PMID: 11752597]
- 11 Glauser DA, Schlegel W. Sequential actions of ERK1/2 on the AP-1 transcription factor allow temporal integration of metabolic signals in pancreatic beta cells. *FASEB J* 2007; 21: 3240-3249 [PMID: 17504975]
- 12 Chang F, Lee JT, Navolanic PM, Steelman LS, Shelton JG, Blalock WL, Franklin RA, McCubrey JA. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 2003; 17: 590-603 [PMID: 12646949 DOI: 10.1038/sj.leu.2402824]
- 13 Ogawara Y, Kishishita S, Obata T, Isazawa Y, Suzuki T, Tanaka K, Masuyama N, Gotoh Y. Akt enhances Mdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. *J Biol Chem* 2002; 277: 21843-21850 [PMID: 11923280 DOI: 10.1074/jbc.M109745200]
- 14 Whiteman EL, Cho H, Birnbaum MJ. Role of Akt/protein kinase B in metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13: 444-451 [PMID: 12431841]
- 15 Li Q, Zhu GD. Targeting serine/threonine protein kinase B/Akt and cell-cycle checkpoint kinases for treating cancer. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 939-971 [PMID: 12171565 DOI: 10.2174/1568026023393318]
- 16 Tschoner A, Engl J, Laimer M, Kaser S, Rettenbacher M, Fleischhacker WW, Patsch JR, Ebenbichler CF. Metabolic side effects of antipsychotic medication. *Int J Clin Pract* 2007; 61: 1356-1370 [PMID: 17627711 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2007.01416.x]
- 17 Rodrigues AR, Pignatelli D, Almeida H, Gouveia AM. Melanocortin 5 receptor activates ERK1/2 through a PI3K-regulated signaling mechanism. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 303: 74-81 [PMID: 19428994 DOI: 10.1016/j.mce.2009.01.014]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



# HLA- I 类抗原及内质网分子伴侣表达下调与新疆哈萨克族食管鳞癌的关系

郑峰, 李德生, 居来提·安尼瓦尔, 张力为, 伊力亚尔·夏合丁

## ■背景资料

新疆是我国食管癌高发区之一。食管癌的发病率具有明显的民族差异, 以哈萨克族发病率最高。随着对肿瘤发病机制的深入研究, 发现人类白细胞抗原 I 类分子(HLA- I)表达低下或缺失, 可导致肿瘤细胞逃逸宿主免疫监视, 从而与肿瘤发生密切相关。本文通过免疫组织化学染色, 探讨新疆哈萨克族食管癌组织中HLA- I 类抗原和内质网分子伴侣表达情况以及其与肿瘤临床病理特征之间的关系, 为新疆哈萨克族食管癌的发生机制及免疫治疗研究提供实验依据。

郑峰, 李德生, 居来提·安尼瓦尔, 张力为, 伊力亚尔·夏合丁, 新疆医科大学第一附属医院胸外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

郑峰, 副主任医师, 在读博士, 主要从事食管癌的基础与临床的研究。

作者贡献分布: 郑峰与伊力亚尔·夏合丁对此文所做贡献均等; 此课题由伊力亚尔·夏合丁设计; 研究过程由郑峰与居来提·安尼瓦尔共同完成; 资料的收集与整理由李德生与张力为完成; 数据分析由郑峰完成; 本论文写作由郑峰与伊力亚尔·夏合丁共同完成。

通讯作者: 伊力亚尔·夏合丁, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院胸外科。ilyarsha@hotmail.com

收稿日期: 2012-12-16 修回日期: 2012-01-17

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-18

## Association of down-regulated expression of HLA- I antigen and endoplasmic reticulum molecular chaperones with clinicopathological features of esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang Kazakh patients

Feng Zheng, De-Sheng Li, Juret Anwer, Li-Wei Zhang, Ilyar Sheyhidin

Feng Zheng, De-Sheng Li, Juret Anwer, Li-Wei Zhang, Ilyar Sheyhidin, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ilyar Sheyhidin, Professor, Chief Physician, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ilyarsha@hotmail.com

Received: 2012-12-16 Revised: 2012-01-17

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of human leukocyte antigen class- I (HLA- I) and endoplasmic reticulum molecular chaperones and to analyze their relationship with clinicopathological features of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in Kazakh patients.

**METHODS:** The expression of HLA- I and endo-

plasmic reticulum molecular chaperones was assessed by immunohistochemistry in 50 paraffin-embedded ESCC specimens and tumor-adjacent normal mucosal specimens. The associations of expression of HLA- I and endoplasmic reticulum molecular chaperones with clinicopathological features of ESCC were analyzed.

**RESULTS:** The rates of down-regulation or loss of expression of HLA- I protein and endoplasmic reticulum molecular chaperones (CNX, Tapasin, and Erp57) were 24%/68%, 20%/48%, 20%/52% and 16%/32% in ESCC, and %/0%, 10%/2%, 8%/2% and 16%/2% in tumor adjacent normal mucosal specimens. The positive rates of HLA- I and endoplasmic reticulum molecular chaperones significantly decreased in ESCC compared with control tissue ( $P < 0.05$ ). HLA- I expression was significantly correlated with pathological grade, lymph node metastasis and depth of invasion. Erp57 expression was significantly correlated with vascular invasion, lymph node metastasis and depth of invasion. Tapasin expression was significantly correlated with lymph node metastasis and depth of invasion. Calnexin expression was significantly correlated with all above clinicopathological parameters (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Expression of HLA- I and endoplasmic reticulum molecular chaperones was significantly down-regulated in ESCC in Xinjiang Kazakh patients. The abnormal expression of HLA- I and endoplasmic reticulum molecular chaperones is closely related with the occurrence and clinicopathological features of ESCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Esophageal squamous cell carcinoma; Human leukocyte antigen class- I; Endoplasmic reticulum molecular chaperones

Zheng F, Li DS, Juret Anwer, Zhang LW, Ilyar Sheyhidin. Association of down-regulated expression of HLA- I antigen and endoplasmic reticulum molecular chaperones with clinicopathological features of esophageal squamous

## ■同行评议者

陈洪, 医学博士, 主任医师, 副教授, 东南大学附属中大医院消化科

cell carcinoma in Xinjiang Kazakh patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 386-391 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/386.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.386>

## 摘要

**目的:** 探讨人类白细胞抗原 I 类分子(human leukocyte antigen class I, HLA-I)类抗原及内质网分子伴侣在新疆哈萨克族食管癌中的表达水平及其与临床病理特征之间的关系。

**方法:** 用免疫组织化学法检测50例新疆哈萨克族食管鳞癌、癌旁石蜡包埋组织中HLA-I类分子和内质网分子伴侣中的表达水平, 同时分析其蛋白表达下调和缺失与临床病理特征的关系。

**结果:** 在食管癌组织中, HLA-I类抗原和内质网分子伴侣钙连接蛋白(CNX)、TAP相关蛋白(Tapasin)、蛋白质二硫异构体(Erp57)的表达下调和缺失率分别为24%/68%、20%/48%、20%/52%、16%/32%, 在癌旁组织中的表达下调和缺失率为4%/0%、10%/2%、8%/2%、16%/2%。食管癌组织中HLA-I分子及内质网分子伴侣较癌旁组织中有明显的表达下调或缺失, 其差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。在临床病理特征中, HLA-I与肿瘤分化、淋巴结转移、肿瘤浸润深度密切相关; CNX与肿瘤分化、血管侵袭、淋巴结转移、肿瘤浸润深度密切相关; Erp57与淋巴结转移、血管侵袭、肿瘤浸润深度密切相关; Tapasin与肿瘤分化、肿瘤浸润深度密切相关, 表达差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 新疆哈萨克族食管癌中有明显的HLA-I类抗原及内质网分子伴侣的表达下调或缺失, 这与哈萨克族食管癌的发生及肿瘤的临床病理特征密切相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 食管鳞状上皮细胞癌; HLA-I类抗原; 内质网分子伴侣

郑峰, 李德生, 居来提·安尼瓦尔, 张力为, 伊力亚尔·夏合丁. HLA-I类抗原及内质网分子伴侣表达下调与新疆哈萨克族食管鳞癌的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 386-391 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/386.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.386>

## 0 引言

新疆是我国食管癌高发区之一, 发病率及死亡

率具有明显的民族差异, 以哈萨克族发病率最高, 其死亡率为68.88/10万, 远高于全国平均水平(14.59/10万)<sup>[1]</sup>。随着对肿瘤发病机制的深入研究, 发现人类白细胞抗原 I 类分子(human leukocyte antigen class I, HLA-I)表达低下或缺失, 可导致肿瘤细胞逃逸宿主免疫监视, 从而与肿瘤发生密切相关<sup>[2]</sup>。HLA-I类分子是机体免疫应答信息产生和传递的基础, 主要功能是将细胞内源性抗原肽呈递到细胞表面, 实现CD8<sup>+</sup>T细胞对自身抗原的识别和免疫监视<sup>[3]</sup>。而此呈递过程必须在内质网分子伴侣钙连接蛋白(calnexin, CNX)、TAP相关蛋白(TAP-associated protein, tapasin)和蛋白质二硫异构体(Erp57)的协助下才能完成<sup>[4]</sup>。在宫颈癌、头、颈部肿瘤、膀胱癌中已发现这些分子异常表达<sup>[5-7]</sup>, 但食管癌有关这方面的报道甚少。本研究通过免疫组织化学染色, 探讨新疆哈萨克族食管癌组织中HLA-I类抗原和内质网分子伴侣表达情况以及其与肿瘤临床病理特征之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择新疆医科大学第一附属医院2007-2009手术切除哈萨克族食管鳞癌标本50例, 年龄36-79岁, 中位年龄50.5岁。常规石蜡包埋, 切片, 选取距癌组织边缘 $\geq 5$  cm处食管切缘组织标本作为“正常”对照。组织病理学诊断由病理医生确诊。按TNM标准对肿瘤进行病理分型。50例组织全部为食管鳞癌, 其中病理分型高分化25例, 中分化11例, 低分化14例。30例有淋巴结转移。22例肿瘤浸润深度超过15毫米, 16例呈血管侵袭生长。SP试剂盒及DAB显色剂购自北京中杉金桥公司。分子伴侣抗体分别为: 鼠抗人HLA-I抗体(1:100稀释, Santa Cruz公司); 兔抗人CNX单抗(1:50稀释, Santa Cruz公司); 鼠抗人ERp57抗体(1:50稀释, Abcam公司); 鼠抗人tapasin抗体(1:100稀释, Abcam公司)。

**1.2 方法** 应用免疫组织化学SP法进行染色。切片常规二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化后微波炉抗原修复, 滴加适量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>阻断内源性过氧化物酶, 然后滴加一抗, 4℃冰箱过夜(以PBS作为阴性对照)。第2天加二抗(各步间隔PBS缓冲液冲洗10 min)。DAB显色, 苏木素复染, 常规脱水、透明封片。阳性细胞为明显可辨的黄色或棕黄色。采用双盲法由两位病理医师分别计数着色细胞数和染色强度。光学显微镜下全视野观察, 按阳性细胞数在上皮细胞内所占比例分为4个分值, 染色

## ■研究前沿

HLA-I类抗原是免疫系统中的重要分子, 他参与机体递呈抗原, 决定免疫细胞对肿瘤的识别和杀伤, 与肿瘤的发生密切相关。内质网分子伴侣帮助HLA多肽链的正确折叠和组装, 对抗原呈递过程发挥重要作用。



### ■相关报道

缪凤琴等在83例汉族食管癌组织中研究发现HLA-I类分子有明显的表达下调或缺失。HLA B/C、HLA-A下调率为12.0%、25.3%，丢失率为29.0%、33.7%，且HLA-I类分子的异常表达与肿瘤分化密切相关。刘巧在114/120例食管鳞癌和40/40例淋巴结转移灶癌细胞中研究发现，有淋巴结转移的鳞癌组织中HLA-I、TAP1的下调和丢失率明显高于无淋巴结转移的鳞癌组织，提示这些分子表达下调与食管癌的转移密切相关。

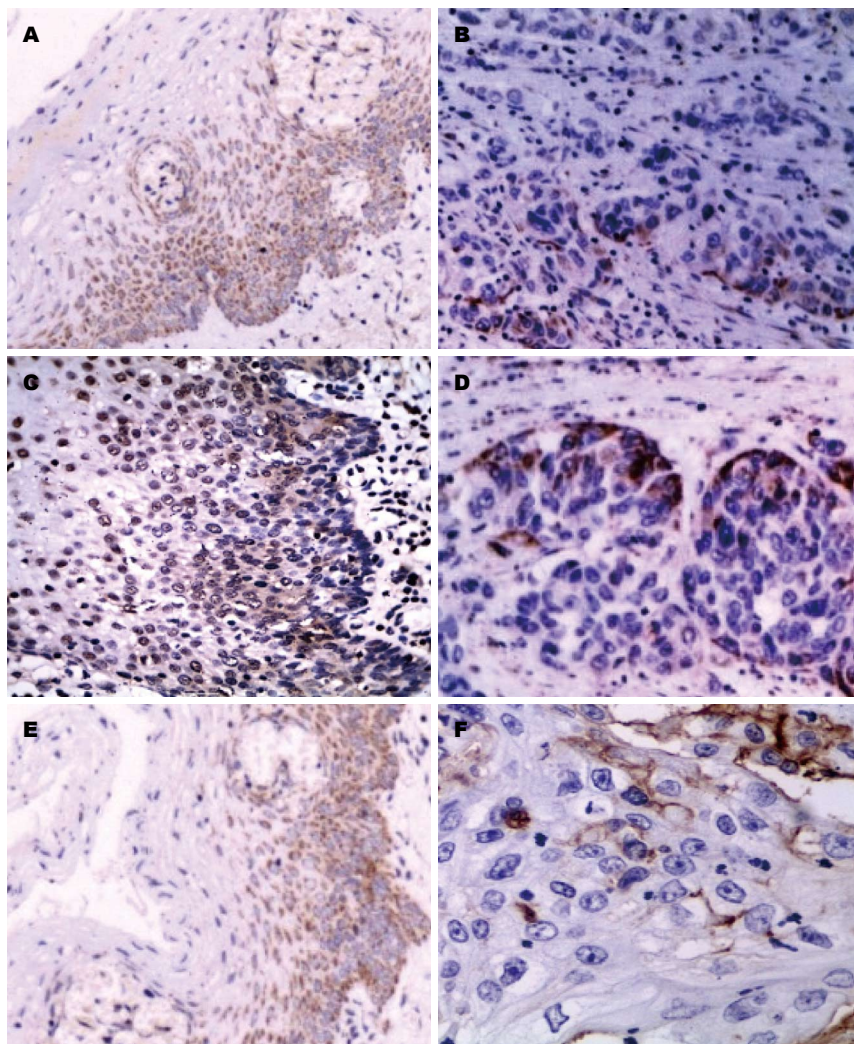


图1 Tapasin、CNX和Erp57在正常食管上皮组织和食管鳞癌组织中的表达(SP法)。A、C、E: Tapasin、CNX和Erp57在正常食管上皮组织呈阳性表达( $\times 200$ ); B、D、F: Tapasin、CNX和Erp57在食管鳞癌组织中表达下调或缺失( $\times 400$ )。

细胞数<5%视为0分, 5%-25%为1分, 26%-75%为2分, >75%者为3分。染色强度判定: 不显色或显色不清为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 深棕色为3分。综合积分按公式计算: 综合积分 = (染色细胞分数+染色强度分数)/2。综合判定: 积分小于0.5分为表达缺失, 0.5-1.5分为表达下调, 大于1.6分为正常表达。

**统计学处理** 采用SPSS15.0软件对全部数据进行统计处理, 等级资料分析采用秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义的检验标准。

## 2 结果

**2.1 HLA-I分子和内质网分子伴侣的表达模式** HLA-I类分子阳性表达部位多为细胞膜, 少数为细胞质, 上皮细胞和间质淋巴细胞染色呈黄色或棕黄色。内质网分子伴侣Tapasin、CNX和Erp57主要表达于细胞质(图1)。

**2.2 HLA-I分子和内质网分子伴侣在食管癌及癌旁组织中的表达情况** HLA-I、CNX、Tapa-

sin、Erp57各分子在癌组织中的表达下调和丢失率分别为24%/68%、20%/48%、20%/52%、16%/32%; 在癌旁组织中为4%/0%、10%/2%、8%/2%、16%/2%。食管癌组织中HLA-I分子及内质网分子伴侣Tapasin、CNX和Erp57均有明显的表达下调或缺失, 与癌旁组织相比有统计学意义( $P<0.05$ , 表1)。

**2.3 HLA-I分子和内质网分子伴侣与食管癌临床病理特征之间的关系** HLA-I分子的表达下调与肿瘤分化程度、淋巴结是否转移、肿瘤侵犯深度密切相关。内质网分子伴侣中CNX与所有病理特征均密切相关, Erp57与淋巴结是否转移、是否呈血管浸润生长、肿瘤侵犯深度密切相关, Tapasin与肿瘤分化程度、肿瘤侵犯深度密切相关, 表达差异均有统计学意义( $P<0.05$ , 表2)。

## 3 讨论

我国是世界上食管癌发病率和死亡率最高的国

表 1 HLA- I 分子和内质网分子伴侣蛋白在食管癌及癌旁组织中的表达情况  $n(\%)$ 

HLA- I 分子和内质网分子伴侣	表达水平	食管癌	癌旁组织	$P$ 值
HLA- I	+	4(8)	48(96)	0.000
	+/-	12(24)	2(4)	
	-	34(68)	0(0)	
CNX	+	16(32)	44(88)	0.000
	+/-	10(20)	5(10)	
	-	24(48)	1(2)	
Tapasin	+	14(28)	45(90)	0.000
	+/-	10(20)	4(8)	
	-	26(32)	1(2)	
Erp57	+	26(52)	41(82)	0.000
	+/-	8(16)	8(16)	
	-	16(32)	1(2)	

+表示正常表达; +/-表示表达下调; -表示表达缺失。

家。随着肿瘤免疫学突破性的进展, 肿瘤特异性免疫治疗的研究成为最具应用潜力的研究领域。HLA- I 类抗原是免疫系统中的重要分子, 他参与机体递呈抗原, 决定免疫细胞对肿瘤的认识和杀伤, 与肿瘤的发生密切相关<sup>[8]</sup>。内质网分子伴侣帮助HLA多肽链的正确折叠和组装, 对抗原的呈递过程发挥重要作用<sup>[9]</sup>。本文分析新疆哈萨克族食管鳞癌组织中HLA- I 类抗原和内质网分子伴侣的表达, 以及他与临床病理学特征的关系, 为新疆哈萨克族食管癌的发生机制及免疫治疗研究提供实验依据。

结果显示, 新疆哈萨克族食管鳞癌组织中HLA- I 类抗原表达下调和缺失率达到24%/68%, 明显高于癌旁组织中的4%/0%, 并且这种异常表达与肿瘤分化、淋巴结转移、肿瘤侵犯深度等临床特征密切相关。HLA- I 类分子的下调和缺失率在高分化癌、中分化癌及低分化癌中是逐渐增高的。随着肿瘤浸润的深度增加, 其下调与缺失率也增高。在有淋巴结转移的病例中, HLA- I 类分子的下调和缺失率增高。这与缪凤琴等<sup>[10]</sup>在汉族食管癌组织中报道结果相一致。其研究发现在83例食管癌组织中, HLA- I 类分子有明显的表达下调或缺失。HLA B/C、HLA-A下调率为12.0%、25.3%, 丢失率为29.0%、33.7%, 且HLA- I 类分子的异常表达与肿瘤分化密切相关, 但未就表达下调与患者预后、淋巴浸润和侵袭性进行分析。本研究进一步发现HLA- I 类分子表达下调和缺失与淋巴浸

润和肿瘤侵袭性也密切相关。证明HLA- I 类分子表达下调在新疆哈萨克族食管癌的整体演进过程以及预后中起到重要作用。

HLA- I 类抗原在细胞表面的正常表达是T淋巴细胞介导的抗原识别和自身免疫功能的基础。为了到达细胞表面, HLA类分子必须在内质网分子伴侣CNX、Tapasin、Erp57的协助下正确折叠和组装, 才能完成对内源性抗原肽的呈递功能。这3种分子的表达异常也是导致HLA- I 类抗原表达下调或缺失的重要原因之一<sup>[11]</sup>。本实验检测显示CNX、Tapasin、Erp57各分子在癌组织中的表达下调和缺失率分别为20%/48%、20%/52%、16%/32%; 在癌旁组织中为10%/2%、8%/2%、16%/2%。在癌组织中的表达下调和缺失率明显高于癌旁组织, 与HLA- I 类抗原下调和缺失保持一致。提示内质网分子伴侣表达下调, 影响了HLA类分子的正确折叠和组装, 以及对抗原的呈递作用。有研究者在宫颈癌中也发现内质网分子伴侣下调是早期事件, 且与临床进程相关<sup>[12]</sup>。其中Erp57表达下调与宫颈癌的分化程度相关, Tapasin的表达下调与FIGO临床分期密切相关, CNX、Tapasin和Erp57表达下调与淋巴结转移密切相关。本研究发现新疆哈萨克族食管癌中CNX表达下调与食管癌的分化程度、淋巴结转移、是否呈血管浸润生长密切相关, Erp57与淋巴结是否转移、是否呈血管浸润生长、肿瘤侵犯深度密切相关, Tapasin与肿瘤分化程度、肿瘤侵犯深度密切相关。CNX是内质网中的一类重要的类凝集素分子伴侣, 其主要辅助糖蛋白的折叠和装配, 包括HLA- I 类分子的折叠和装配过程<sup>[13]</sup>。Erp57蛋白为蛋白质二硫化物异构酶成员之一, 与钙网蛋白介导的抗肿瘤免疫系统关系密切<sup>[14]</sup>。Tapasin在抗原提呈中起着重要作用, Tapasin的缺失可能会导致HLA- I 类分子细胞内装配不充分而影响其在细胞表面的表达<sup>[15]</sup>。所以如果内质网分子伴侣表达下调, 会导致肿瘤抗原的加工递呈途径的障碍, 从而不利于机体的抗肿瘤免疫应答导致免疫逃逸, 从而影响患者的临床病理特征及预后。

本实验结果显示HLA- I 类抗原与内质网分子伴侣的下调和缺失和新疆哈萨克族食管癌的发生以及临床病理特征呈正相关, 但这种缺失是发生在基因水平还是转录水平还不清楚。由于肿瘤的复杂性, 还可能存在其他导致HLA- I 类分子异常表达的机制, 且对于不同个体, 肿瘤

#### ■创新盘点

本研究通过免疫组织化学染色, 探讨新疆哈萨克族食管癌组织中HLA- I 类抗原和内质网分子伴侣的表达情况, 以及其与肿瘤临床病理特征之间的关系, 为建立新疆哈萨克族食管癌肿瘤分子标志物及食管癌预后的判断提供理论依据。



## ■应用要点

本实验证实HLA-I类抗原和内质网分子伴侣在新疆哈萨克族食管鳞癌组织中均出现表达下调和缺失,明显高于癌旁组织,并且这种异常表达与肿瘤分化、淋巴结转移、肿瘤侵犯深度等临床特征密切相关。结合临床资料可作为判断肿瘤预后的指标,为食管癌的病因学研究提供了理论依据。

表 2 HLA-I 分子和内质网分子伴侣与食管癌临床病理特征之间的关系  $n(\%)$ 

临床病理特征	<i>n</i>	HLA- I			CNX			Tapasin			Erp57		
		+	+/-	-	+	+/-	-	+	+/-	-	+	+/-	-
肿瘤分化程度													
高	25	3(12)	11(44)	11(44)	11(46)	7(28)	7(28)	11(44)	6(24)	8(32)	16(64)	3(12)	6(24)
中	11	11(9)	0(0)	10(91)	4(36)	1(9)	6(54)	2(18)	2(18)	7(64)	6(64)	2(18)	2(18)
低	14	0(0)	1(7)	13(93)	1(7)	2(14)	11(71)	1(7)	2(14)	11(79)	4(29)	3(21)	7(50)
<i>P</i> 值			0.002			0.011			0.010			0.096	
淋巴结转移													
阳性	30	1(3)	5(17)	24(80)	7(23)	3(10)	20(67)	6(20)	5(17)	19(63)	12(40)	5(17)	13(43)
阴性	20	3(15)	7(35)	10(50)	9(45)	7(35)	4(20)	8(40)	5(25)	7(35)	14(70)	3(15)	3(15)
<i>P</i> 值			0.023			0.006			0.050			0.026	
肿瘤浸润深度(mm)													
≥15	22	0(0)	4(18)	18(82)	4(18)	4(18)	14(64)	4(18)	2(9)	16(73)	8(37)	4(18)	10(45)
< 15	28	4(16)	8(27)	16(57)	12(43)	6(21)	10(36)	10(35)	8(30)	10(35)	18(65)	4(14)	6(21)
<i>P</i> 值			0.045			0.038			0.020			0.043	
侵袭血管生长													
是	16	1(6)	2(13)	13(81)	1(6)	3(18)	12(76)	2(12)	4(25)	10(63)	5(31)	3(19)	8(50)
否	34	3(9)	10(29)	21(62)	15(44)	7(21)	12(35)	12(35)	6(18)	16(47)	21(61)	5(15)	8(24)
<i>P</i> 值			0.196			0.004			0.171			0.037	

+表示正常表达; +/-表示表达下调; -表示表达缺失。

发生的机制也各异,因此还需要进一步对HLA-I类抗原与内质网分子伴侣的下调和缺失的机制进行研究,从而使食管癌患者取得满意的免疫治疗效果。

## 4 参考文献

- 1 张月明. 新疆食管癌的分布. 新疆医学院学报 1988; 11: 139-144
- 2 Lorente E, García R, López D. Allele-dependent processing pathways generate the endogenous human leukocyte antigen (HLA) class I peptide repertoire in transporters associated with antigen processing (TAP)-deficient cells. *J Biol Chem* 2011; 286: 38054-38059 [PMID: 21914809 DOI: 10.1074/jbc.M111.281808]
- 3 Ryschich E, Nötzel T, Hinz U, Autschbach F, Ferguson J, Simon I, Weitz J, Fröhlich B, Klar E, Büchler MW, Schmidt J. Control of T-cell-mediated immune response by HLA class I in human pancreatic carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 498-504 [PMID: 15701833]
- 4 Seliger B. Molecular mechanisms of MHC class I abnormalities and APM components in human tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2008; 57: 1719-1726 [PMID: 18408926 DOI: 10.1007/s00262-008-0515-4]
- 5 Vora AR, Rodgers S, Parker AJ, Start R, Rees RC, Murray AK. An immunohistochemical study of altered immunomodulatory molecule expression in head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1997; 76: 836-844 [PMID: 9328140 DOI: 10.1038/bjc.1997.472]
- 6 Kageshita T, Hirai S, Ono T, Hicklin DJ, Fer-

rone S. Down-regulation of HLA class I antigen-processing molecules in malignant melanoma: association with disease progression. *Am J Pathol* 1999; 154: 745-754 [PMID: 10079252 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65321-7]

- 7 Singh H, Derwas N, Poulos A. Very long chain fatty acid beta-oxidation by rat liver mitochondria and peroxisomes. *Arch Biochem Biophys* 1987; 259: 382-390 [PMID: 3426234 DOI: 10.1007/s00262-009-0765-9]
- 8 Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ, Ferrone S. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 2000; 74: 181-273 [PMID: 10605607 DOI: 10.1016/S0065-2776(08)60911-6]
- 9 Pavelko KD, Mendez-Fernandez Y, Bell MP, Hansen MJ, Johnson AJ, David CS, Rodriguez M, Pease LR. Nonequivalence of classical MHC class I loci in ability to direct effective antiviral immunity. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002541 [PMID: 22383876 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002541]
- 10 缪凤琴, 张建琼, 单军, 蒋芹, 陈昊, 李淑锋, 张建民, 谢维. 食管癌组织HLA-I类抗原及相关分子的表达及意义. 南京师大学报(自然科学版) 2004; 27: 76-79
- 11 Campoli M, Ferrone S. HLA antigen and NK cell activating ligand expression in malignant cells: a story of loss or acquisition. *Semin Immunopathol* 2011; 33: 321-334 [PMID: 21523560 DOI: 10.1007/s00281-011-0270-z]
- 12 阿仙姑·哈斯木, 李巧稚, 马俊旗, 古丽扎热叶·艾库尔, 阿不力孜·阿布杜拉. 维吾尔族患者宫颈病变中内质网分子伴侣和HLA-I类分子表达与HPV16感染的关系研究. 实用妇产科杂志 2011; 27: 102-105
- 13 Brockmeier A, Brockmeier U, Williams DB. Distinct contributions of the lectin and arm domains of calnexin to its molecular chaperone function. *J Biol*



- Chem 2009; 284: 3433-3444 [PMID: 19074423 DOI: 10.1074/jbc.M804866200]
- 14 Mehta AM, Jordanova ES, Kenter GG, Ferrone S, Fleuren GJ. Association of antigen processing machinery and HLA class I defects with clinicopathological outcome in cervical carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2008; 57: 197-206 [PMID: 17622526 DOI: 10.1007/s00262-007-0362-8]
- 15 Rizvi SM, Raghavan M. Mechanisms of function of tapasin, a critical major histocompatibility complex class I assembly factor. *Traffic* 2010; 11: 332-347 [PMID: 20070606 DOI: 10.1111/j.1600-0854.2009.01025.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



#### ■同行评价

本文选题新颖, 设计合理, 结果可信, 对于食管癌的发生及预后评价从分子生物学角度提出自己的观点, 但研究深度不足, 可进一步进行分子蛋白表达水平的研究。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部 2012-03-08)。

# 肠易激综合征血循环microRNA的表达谱

熊青, 徐龙, 李强, 李慧敏, 娄婷, 汪安江, 刘丕, 吕农华

## ■背景资料

肠易激综合征(IBS)是常见的功能性肠道疾病,其病因及发病机制尚不明确,缺乏特异性的生物学诊断指标。近年来,miRNA在人类疾病中的广泛研究,使得miRNA在IBS中的价值逐渐引起人们的重视。

熊青, 徐龙, 李强, 李慧敏, 汪安江, 刘丕, 吕农华, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006  
娄婷, 南昌大学第一附属医院护理部 江西省南昌市 330006  
熊青, 在读硕士, 主要从事肠易激综合征的相关研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81060037

作者贡献分布: 此课题由熊青与徐龙设计; 临床病例收集及血液标本处理由李强完成; 数据分析由李强、李慧敏及娄婷完成; 文献查阅及校对由汪安江与刘丕完成; 本论文撰写由熊青完成; 指导论文修改由徐龙与吕农华完成; 外送试验的联系与协调工作由徐龙完成。

通讯作者: 徐龙, 副教授, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。

dxulong@yahoo.com.cn

电话: 0791-88692705

收稿日期: 2012-11-07 修回日期: 2013-01-15

接受日期: 2013-01-30 在线出版日期: 2013-02-18

## Expression profile of circulating microRNAs in patients with irritable bowel syndrome

Qing Xiong, Long Xu, Qiang Li, Hui-Min Li, Ting Lou, An-Jiang Wang, Pi Liu, Nong-Hua Lv

Qing Xiong, Long Xu, Qiang Li, Hui-Min Li, An-Jiang Wang, Pi Liu, Nong-Hua Lv, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Ting Lou, Nursing Department, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060037

Correspondence to: Long Xu, Associate Professor, Associate Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai-zheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. dxulong@yahoo.com.cn

Received: 2012-11-07 Revised: 2013-01-15

Accepted: 2013-01-30 Published online: 2013-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the differential expression of circulating microRNAs (miRNAs) between diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (D-IBS)/constipation-predominant irritable bowel syndrome (C-IBS) and normal controls to profile abnormally expressed circulating miRNAs in IBS patients.

**METHODS:** Patients were diagnosed with D-IBS or C-IBS based on the Rome III criteria. MiRNA microarray was performed to detect mixed se-

rum samples of either three patients with D-IBS, three patients with C-IBS, or three normal controls. After miRNA profiling, clustering analysis was conducted.

**RESULTS:** Compared to normal controls, there were two miRNAs down-regulated and two miRNAs up-regulated in the D-IBS group, and four miRNAs down-regulated and 59 miRNAs up-regulated in the C-IBS group. There was only one miRNA that was expressed differentially in D-IBS patients and 60 miRNAs in C-IBS patients. MiR-23b\* was down-regulated and HCMV-miR-US5-2 and hsv2-miR-H11 up-regulated in both types of IBS. Compared to D-IBS patients, one miRNA was down-regulated and 26 miRNAs up-regulated in C-IBS patients.

**CONCLUSION:** Abnormal expression profile of circulating miRNAs in IBS patients may provide new biomarkers for diagnosis of this disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; MiRNA; Expression profile

Xiong Q, Xu L, Li Q, Li HM, Lou T, Wang AJ, Liu P, Lv NH. Expression profile of circulating microRNAs in patients with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 392-396 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/392.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.392>

## 摘要

**目的:** 探讨腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)、便秘型IBS和正常人体血循环中微小核糖核酸(miRNA, miRNA)的表达差异, 寻找潜在的IBS异常miRNA表达谱。

**方法:** 按罗马III标准临床诊断IBS, 根据临床特点分为腹泻型IBS和便秘型IBS。分别选取3份腹泻型IBS、3份便秘型IBS和3份正常人的混合血清标本, miRNA表达芯片检测血清标本中miRNA的表达水平, 并进行聚类分析。

**结果:** miRNA表达芯片分析发现, 与正常人相比较, 腹泻型IBS血循环中2种miRNA表达下

## ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

调, 2种miRNA表达上调; 便秘型IBS血循环中4种miRNA表达下调, 59种miRNA表达上调; 只在腹泻型IBS血循环中差异表达的miRNA有1种, 只在便秘型IBS血循环中差异表达的miRNA有60种, miR-23b\*在两种IBS血循环中都表达显著下调, hcmv-miR-US5-2、hsv2-miR-H11都表达显著上调. 与腹泻型IBS相比, 便秘型IBS血循环中1种miRNA表达下降, 26种miRNA表达上调.

**结论:** IBS血循环具有异常的miRNA表达谱, 提示血循环miRNA可作为IBS潜在的诊断标志.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 肠易激综合征; miRNA; 表达谱

熊青, 徐龙, 李强, 李慧敏, 姜婷, 汪安江, 刘丕, 吕农华. 肠易激综合征血循环microRNA的表达谱. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 392-396 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/392.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.392>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种临床上常见的胃肠功能紊乱性疾病, 其病因及发病机制至今尚未完全阐明, 缺乏特异性的形态学及生化检查依据<sup>[1,2]</sup>. 临床上对本病的诊断主要依据罗马III标准. 最近有研究表明miRNA可能参与IBS的发病. Kapeller等<sup>[3]</sup>推测miR-510调节5-HT3A和5-HT3E的功能可能与女性腹泻型IBS发病有关. Zhou等<sup>[4]</sup>研究显示miRNA-29a调节IBS患者肠黏膜的谷氨酰胺合成并影响肠黏膜的通透性. 这两项研究提示miRNA在IBS的发病中可能起重要作用. 血清miRNA的优势在于无创便捷, 为胃肠道疾病的早期诊断提供一种新的非侵入性检测方法, 成为新的研究热点<sup>[5]</sup>. 本研究利用miRNA表达谱芯片技术分析腹泻型IBS、便秘型IBS、正常人体血循环中miRNA表达, 以期在IBS血循环中发现与之相关的miRNA, 从中找到潜在的miRNA诊断标志及治疗靶分子.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-06/2010-12在南昌大学第一附属医院诊断腹泻型IBS、便秘型IBS患者和正常人体混合血清标本各10份. 入选标准: 依据罗马III标准临床诊断IBS, 并行胃肠镜, 腹部彩超或CT, 血糖, 肝肾功能, 甲状腺功能等排除器质性疾病, 随访1-6 mo未发现器质性疾病, 根据临床特点分为腹泻型IBS和便秘型

IBS. 取腹泻型IBS、便秘型IBS和正常人体静脉血液标本, EDTA抗凝管收集, 将同一试验分组的血清随机每3份混合制成1份混合血清标本, 所有标本液氮冻存. 每组从中各选取3份混合血清标本送上海康成生物技术有限公司进行miRNA芯片检测. 本研究获得南昌大学第一附属医院伦理委员会批准, 所有标本的收集均征得患者本人的知情同意. 本研究所用主要试剂如下: TRIzol(Invitrogen)、miRNeasy mini试剂盒(QIAGEN)、miRCURYTM Hy3TM/Hy5TM Power标记试剂盒(Exiqon)、Wash buffer试剂盒(Exiqon); 仪器设备如下: 分光光度计(Nano-drop-1000)、第六代miRCURYTM LNA芯片(v.16.0)(Exiqon)、GeneP ix 4000B芯片扫描仪; 分析软件如下: GenePix Pro 6.0(Axon)、Volcano Plot filtering、MEV(v4.6, TIGR)、SPSS15.0.

### 1.2 方法

**1.2.1 标本处理:** 采集2 mL静脉全血, EDTA抗凝管收集, 将血液标本于4 ℃, 3 000 r/min离心10 min, 收集上清液, 将同一实验分组中的血清随机等量每3份混合制成1份混合血清标本, 所有标本液氮冻存.

**1.2.2 RNA的提取及标记:** 用TRIzol和miRNeasy mini试剂盒提取总RNA, 采用分光光度计测定RNA的质量和浓度, 采用凝胶电泳法检测RNA的完整性. 分离RNA, 采用miRCURYTM Hy3TM/Hy5TM Power标记试剂盒进行miRNA标记.

**1.2.3 芯片杂交:** 采用第六代miRCURYTM LNA芯片. 标记完成后, 采用miRCURYTM LNA芯片对Hy3TM标记的样品进行杂交. 杂交后, 玻片用Wash buffer试剂盒洗数次, 干燥后以400 r/min离心5 min; 采用微阵列芯片扫描仪扫描玻片.

**1.2.4 图像采集和数据分析:** 使用GenePix 4000B芯片扫描仪扫描, 芯片图像的原始荧光强度数据由GenePix Pro 6.0软件完成分析, 通过原始值减去背景值来做修正, 并用中值做标准化, 分别计算出9个样本中miRNA的标准值及两两之间标准值的比值. 用Volcano Plot filtering挑选差异表达的miRNA, 用MEV软件对差异表达miRNA进行聚类分析.

**统计学处理** 对IBS患者和正常人血循环的miRNA表达应用SPSS15.0统计软件处理数据, 组间比较采用方差分析( $P<0.05$ ). miRNA芯片实验结果按照Ratio>2.0倍( $P<0.05$ )或Ratio<0.5倍( $P<0.05$ )为标准, 筛选出差异常表达的miRNA.

**■研发前沿**  
明确IBS血循环miRNA的表达谱, 进而探索IBS的发病机制及诊断标志, 是当前乃至今后的研究热点.

**■相关报道**  
已有研究显示miRNA在IBS的发病中可能起重要作用, 但是研究的miRNA数量极少, 没有反映IBS miRNA表达谱的变化.



## ■创新盘点

本文采用基因芯片技术分析IBS血循环miRNA的表达谱,全面反映了IBS疾病过程中miRNA的表达变化。

表 1 腹泻型IBS和正常对照组血循环中差异表达的miRNA

miRNA 名称	改变倍数 D-IBS/N	P值 D-IBS/N	表达趋势
miR-23b*	0.1268	0.0001	下调
miR-378	0.4153	0.0126	下调
hsv2-miR-H11	4.0054	0.0125	上调
hcmv-miR-US5-2	3.1458	0.0233	上调

D-IBS: 腹泻型IBS; N: 正常对照组.

表 2 腹泻型IBS和正常对照组血循环中差异表达的未知miRNA序列

miRNA ID	改变倍数 D-IBS/N	P值 D-IBS/N	表达趋势
148582	0.3228	0.0133	下调
147927	2.2027	0.0429	上调

D-IBS: 腹泻型IBS; N: 正常对照组.

## 2 结果

2.1 入选患者的临床信息 9例腹泻型IBS患者中男:女为4:5,平均年龄55.2岁;9例便秘型IBS患者中男:女为5:4,平均年龄47.1岁;9例正常对照组中男:女为4:5,平均年龄50.1岁.

2.2 腹泻型IBS、便秘型IBS患者与正常人差异表达的miRNA与正常人相比较,腹泻型IBS血循环中2种miRNA(miR-378、miR-23b\*)表达下调,2种miRNA(hcmv-miR-US5-2、hsv2-miR-H11)表达上调(表1),差异表达的未知miRNA序列2种,1种表达下调,1种表达上调(表2);便秘型IBS血循环中4种miRNA(miR-23b\*、kshv-miR-k12-8\*、miR-181a\*、miR-548aa)表达下调,59种miRNA表达上调,其中前10位表达上调的miRNA(表3),差异表达的未知miRNA序列45种,2种表达下调,43种表达上调,其中前10位表达上调的miRNA序列(表4);只在腹泻型IBS血循环中差异表达的miRNA有1种(miR-378),其表达下调,只在便秘型IBS血循环中差异表达的miRNA有60种,3种miRNA表达下调,57种miRNA表达上调,其中前10位表达上调的miRNA(表5),只在腹泻型IBS血循环中差异表达的未知miRNA序列有1种,其表达下调,只在便秘型IBS血循环中差异表达的未知miRNA序列有13种,2种表达下调,11种表达上调,其中前10位表达上调的miRNA序列(表6);miR-23b\*在两种IBS血循环中都表达显著下调,hcmv-miR-US5-2、hsv2-

表 3 便秘型IBS和正常对照组血循环中差异表达的miRNA

miRNA 名称	改变倍数 C-IBS/N	P值 C-IBS/N	表达趋势
miR-181a*	0.1224	0.0308	下调
miR-23b*	0.1544	0.0001	下调
miR-548aa	0.3546	0.0350	下调
kshv-miR-k12-8*	0.4998	0.0133	下调
hcmv-miR-US5-2	11.7700	0.0479	上调
miR-4296	9.7451	0.0308	上调
miR-3115	9.0343	0.0407	上调
miR-551b	8.2983	0.0254	上调
miR-3674	7.2657	0.0013	上调
miR-34b	6.1206	0.0044	上调
hiv1-miR-H1	5.9138	0.0017	上调
miR-33a	5.5733	0.0287	上调
miR-200a	5.5008	0.0350	上调
miR-31*	5.4412	0.0131	上调

C-IBS: 便秘型IBS; N: 正常对照组.

表 4 便秘型IBS和正常对照组血循环中差异表达的未知miRNA序列

miRNA ID	改变倍数 C-IBS/N	P值 C-IBS/N	表达趋势
148438	0.4187	0.0246	下调
148558	0.4584	0.0427	下调
148314	9.0348	0.0035	上调
147927	7.3837	0.0100	上调
145988	7.0450	0.0120	上调
148507	6.0839	0.0456	上调
17527	5.7805	0.0109	上调
28769	5.5813	0.0324	上调
28346	5.5147	0.0285	上调
46271	5.3817	0.0117	上调
145998	5.3789	0.0467	上调
146083	5.1313	0.0111	上调

C-IBS: 便秘型IBS; N: 正常对照组.

miR-H11表达都显著上调(表1,表3),ID(Contains the miRNA ID number constituted by Exiqon)为147927的未知miRNA序列在两种IBS血循环中都表达显著上调(表2,表4).

2.3 腹泻型IBS与便秘型IBS患者miRNA表达谱的比较 与腹泻型IBS相比较,便秘型IBS血循环中1种miRNA(kshv-miR-k12-8\*)表达下降,26种miRNA表达上调,其中前10位表达上调的miRNA(表7),差异表达的未知miRNA序列15种,其中前10位表达上调的miRNA序列(表8).

表 5 只在腹泻型IBS或便秘型IBS患者血循环中差异表达的miRNA

miRNA名称	改变倍数	P值	表达趋势
D-IBS			
miR-378	0.4153	0.0126	下调
C-IBS			
miR-181a*	0.1224	0.0308	下调
miR-548aa	0.3546	0.0350	下调
kshv-miR-k12-8*	0.4998	0.0133	下调
miR-4296	9.7451	0.0308	上调
miR-3115	9.0343	0.0407	上调
miR-551b	8.2983	0.0254	上调
miR-3674	7.2657	0.0013	上调
miR-34b	6.1206	0.0044	上调
hiv1-miR-H1	5.9138	0.0017	上调
miR-33a	5.5733	0.0287	上调
miR-200a	5.5008	0.0350	上调
miR-31*	5.4412	0.0131	上调
miR-3190	5.3674	0.0363	上调

D-IBS: 腹泻型IBS; C-IBS: 便秘型IBS.

表 6 只在腹泻型IBS或便秘型IBS患者血循环中差异表达的未知miRNA序列

miRNA ID	改变倍数	P值	表达趋势
D-IBS			
148582	0.3228	0.0133	下调
C-IBS			
148438	0.4187	0.0246	下调
148558	0.4584	0.0427	下调
148314	9.0348	0.0035	上调
145988	7.0450	0.0120	上调
148507	6.0839	0.0456	上调
17527	5.7805	0.0109	上调
28769	5.5813	0.0324	上调
28346	5.5147	0.0285	上调
46271	5.3817	0.0117	上调
145998	5.3789	0.0467	上调
146083	5.1313	0.0111	上调
42690	5.0395	0.0452	上调

D-IBS: 腹泻型IBS; C-IBS: 便秘型IBS.

### 3 讨论

近期报道称血清中稳定存在一定水平的miRNA<sup>[6-8]</sup>. 血清miRNA在胃肠道肿瘤如食管癌、胃癌、大肠癌等有差异性表达, 炎症性肠病也有差异性表达的血清miRNA<sup>[9-13]</sup>. 由此提示miRNA芯片分析IBS血循环中miRNA表达, 从中找到差异性的miRNA表达谱, 有可能为IBS的诊断提供

表 7 便秘型IBS与腹泻型IBS血循环中miRNA表达谱的比较

miRNA名称	改变倍数	P值	表达趋势
	C-IBS/D-IBS	C-IBS/D-IBS	
kshv-miR-k12-8*	0.4845	0.0332	下调
miR-3713	10.7547	0.0029	上调
miR-762	7.9287	0.0014	上调
miR-605	7.0154	0.0026	上调
miR-3674	6.6429	0.0015	上调
miR-3115	6.2037	0.0153	上调
ebv-miR-BART3*	3.8504	0.0060	上调
miR-23a*	3.7775	0.0018	上调
hcmv-miR-US5-2	3.7415	0.0285	上调
miR-764	3.5198	0.0307	上调
miR-936	3.2445	0.0097	上调

C-IBS: 便秘型IBS; D-IBS: 腹泻型IBS.

表 8 便秘型IBS与腹泻型IBS血循环中未知miRNA序列表达谱的比较

miRNA ID	改变倍数	P值	表达趋势
	C-IBS/D-IBS	C-IBS/D-IBS	
17527	12.6525	0.0004	上调
46271	9.2784	0.0080	上调
148314	8.2612	0.0034	上调
28346	6.8623	0.0252	上调
42803	5.6098	0.0084	上调
148582	5.3304	0.0003	上调
145998	5.3220	0.0482	上调
146013	4.3427	0.0153	上调
28769	4.0229	0.0212	上调
147927	3.3521	0.0017	上调

C-IBS: 便秘型IBS; D-IBS: 腹泻型IBS.

一种血源性的生物标志. 异常的miRNA表达谱可能使IBS的诊断标准不再依据症状学即罗马III标准, 使其成为一种可以依据检验指标明确诊断的疾病.

miRNA芯片分析参与IBS疾病的miRNA表达谱变化, 解决了以往研究的miRNA数量极少的问题. 研究结果发现腹泻型IBS、便秘型IBS和正常人体血循环中miRNA存在显著性表达差异, 腹泻型IBS和便秘型IBS血循环中miRNA也存在显著性表达差异. 其中miR-23b\*在两种IBS血循环中都表达显著下调, hcmv-miR-US5-2、hsv2-miR-H11表达都显著上调, 由此提示血循环miR-23b\*、hcmv-miR-US5-2、hsv2-miR-H11可作为诊断IBS

**应用要点**  
IBS血循环miRNA的表达谱是今后研究IBS发病机制及诊断标志的分子基础, 从长远来看, 对IBS患者的临床诊治也有深远的意义.

## ■同行评价

本文研究起点高,对IBS发病的研究和进一步对其进行临床诊疗均有一定的意义。

的分子标志;只在腹泻型IBS或便秘型IBS血循环中差异表达的miRNA,提示这些血循环miRNA可作为鉴别诊断腹泻型IBS和便秘型IBS的分子标志,如kshv-miR-k12-8\*只在便秘型IBS血循环中显著性下调,且与腹泻型IBS相比较,存在显著性表达差异,故可作为IBS临床亚型的鉴别诊断标志。此外,芯片检测还发现部分未知miRNA序列,可能为之前未被研究发现的miRNA,可作为进一步研究IBS或其他疾病的分子基础。

目前关于miR-378、miR-23b\*、miR-181a\*的研究主要集中在肿瘤方面<sup>[14-16]</sup>,在IBS方面目前尚未见报道。IBS发病的重要因素之一是肠道感染后状态,其发病与炎症后肠道敏感性和动力异常有关<sup>[4]</sup>,hcmv-miR-US5-2、hsv2-miR-H11、kshv-miR-k12-8\*分别为人类巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒的相关miRNA,由此提示这些病毒可能参与人类肠道感染后状态的发生,成为IBS发病的潜在诱因。

采用基因芯片筛选方法,筛选出了一组可能与IBS发生有关的miRNA,可以作为潜在的IBS诊断标志,同时考虑到miRNA在血清中相对稳定,获取简便,为诊断IBS提供一种新的非侵入性检测方法。但是,由于芯片检测miRNA表达谱较为昂贵,本实验检测的病例数较少,如进行大样本量的芯片分析并将结果行实时定量PCR的验证,有可能得出IBS血清分子生物学的诊断标志,将对其诊断带来革命性的影响。

## 4 参考文献

- 中华医学会消化病学分会胃肠动力组. 肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007长沙). 中华消化杂志 2008; 28: 38-40
- Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]
- Kapeller J, Houghton LA, Mönnikes H, Walstab J, Möller D, Bönisch H, Burwinkel B, Autschbach F, Funke B, Lasitschka F, Gassler N, Fischer C, Whorwell PJ, Atkinson W, Fell C, Büchner KJ, Schmidtmann M, van der Voort I, Wisser AS, Berg T, Rappold G, Niesler B. First evidence for an association of a functional variant in the microRNA-510 target site of the serotonin receptor-type 3E gene with diarrhea predominant irritable bowel syndrome. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 2967-2977 [PMID: 18614545 DOI: 10.1093/hmg/ddn195]
- Zhou Q, Souba WW, Croce CM, Verne GN. MicroRNA-29a regulates intestinal membrane permeability in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 2010; 59: 775-784 [PMID: 19951903 DOI: 10.1136/gut.2009.181834]
- 熊青, 徐龙. 血清microRNAs在胃肠道疾病中的意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2043-2049
- Brase JC, Wuttig D, Kuner R, Sültmann H. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. *Mol Cancer* 2010; 9: 306 [PMID: 21110877 DOI: 10.1186/1476-4598-9-306]
- Gilad S, Meiri E, Yogie Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholak H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut A. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008; 3: e3148 [PMID: 18773077 DOI: 10.1371/journal.pone.0003148]
- Shih KK, Levine DA. Exosomal microRNAs step into the biomarker arena. *Gynecol Oncol* 2008; 110: 1-2 [PMID: 18589207 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.05.020]
- Zhang C, Wang C, Chen X, Yang C, Li K, Wang J, Dai J, Hu Z, Zhou X, Chen L, Zhang Y, Li Y, Qiu H, Xing J, Liang Z, Ren B, Yang C, Zen K, Zhang CY. Expression profile of microRNAs in serum: a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Chem* 2010; 56: 1871-1879 [PMID: 20943850 DOI: 10.1373/clinchem.2010.147553]
- Liu R, Zhang C, Hu Z, Li G, Wang C, Yang C, Huang D, Chen X, Zhang H, Zhuang R, Deng T, Liu H, Yin J, Wang S, Zen K, Ba Y, Zhang CY. A five-microRNA signature identified from genome-wide serum microRNA expression profiling serves as a fingerprint for gastric cancer diagnosis. *Eur J Cancer* 2011; 47: 784-791 [PMID: 21112772 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.10.025]
- Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, Poon TC, Ng SS, Sung JJ. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut* 2009; 58: 1375-1381 [PMID: 19201770 DOI: 10.1136/gut.2008.167817]
- Wu F, Zhang S, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, Meltzer SJ, Brant SR, Kwon JH. Identification of microRNAs associated with ileal and colonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1729-1738 [PMID: 20848482 DOI: 10.1002/ibd.21267]
- Paraskevi A, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, Mantzaris G, Nikiteas N, Gazouli M. Circulating MicroRNA in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 900-904 [PMID: 22386737 DOI: 10.1016/j.crohns.2012.02.006]
- Liu H, Zhu L, Liu B, Yang L, Meng X, Zhang W, Ma Y, Xiao H. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer. *Cancer Lett* 2012; 316: 196-203 [PMID: 22169097 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.10.034]
- He HC, Zhu JG, Chen XB, Chen SM, Han ZD, Dai QS, Ling XH, Fu X, Lin ZY, Deng YH, Qin GQ, Cai C, Chen JH, Zhong WD. MicroRNA-23b downregulates peroxiredoxin III in human prostate cancer. *FEBS Lett* 2012; 586: 2451-2458 [PMID: 22710126 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.06.003]
- Lin Y, Nie Y, Zhao J, Chen X, Ye M, Li Y, Du Y, Cao J, Shen B, Li Y. Genetic polymorphism at miR-181a binding site contributes to gastric cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2377-2383 [PMID: 22971574 DOI: 10.1093/carcin/bgs292]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌组织中的表达及意义

邹艳芳, 田永, 徐峰

邹艳芳, 田永, 徐峰, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

邹艳芳, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究.

作者贡献分布: 此课题由邹艳芳与徐峰设计; 研究过程与统计分析由邹艳芳与田永操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由徐峰提供; 本论文写作由邹艳芳完成; 徐峰审阅.

通讯作者: 徐峰, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 河南省郑州大学第一附属医院消化内科.

xufengmd@sina.com

电话: 0371-66862082

收稿日期: 2012-12-06 修回日期: 2013-01-18

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-18

## Significance of expression of Bmi-1 and Mel-18 in colorectal carcinoma

Yan-Fang Zou, Yong Tian, Feng Xu

Yan-Fang Zou, Yong Tian, Feng Xu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Feng Xu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. xufengmd@sina.com

Received: 2012-12-06 Revised: 2013-01-18

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between the expression of Bmi-1 and Mel-18 and clinicopathological features of colorectal carcinoma.

**METHODS:** Sixty-eight colorectal cancer samples and matched tumor-adjacent normal tissue samples were collected to detect the expression of Bmi-1 and Mel-18 using immunohistochemistry. The relationship between the abnormal expression of Bmi-1 and Mel-18 and the clinicopathological features of colorectal carcinoma was analyzed.

**RESULTS:** The positive rate of Bmi-1 expression was significantly higher in colorectal carcinoma than in normal colon tissue ( $P < 0.05$ ), and expression of Bmi-1 was correlated with the depth of bowel wall invasion, lymph node metastasis and Dukes stage (all  $P < 0.05$ ). The positive rate of Mel-18 expression was significantly lower in

colorectal carcinoma than in normal colon tissue ( $P < 0.05$ ), and expression of Mel-18 was negatively related to lymph node metastasis and Dukes stage (both  $P < 0.05$ ). There was a negative correlation between the expression of Bmi-1 and Mel-18 in colorectal carcinoma ( $r = -0.335$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The expression of Bmi-1 and Mel-18 proteins correlates with the progression, metastasis and prognosis of colorectal cancer. Combined detection of Bmi-1 and Mel-18 protein expression may be helpful to the diagnosis and evaluation of the malignancy of colorectal carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Colorectal neoplasms; Bmi-1; Mel-18; Immunohistochemistry

Zou YF, Tian Y, Xu F. Significance of expression of Bmi-1 and Mel-18 in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 397-402 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/397.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.397>

## 摘要

**目的:** 探讨Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌中的表达及其临床意义.

**方法:** 收集我院68例大肠癌组织标本, 68例癌旁正常组织作为对照. 利用免疫组织化学的方法检测大肠癌及正常组织中的Bmi-1基因和Mel-18基因的表达, 并结合临床资料, 对该两种基因的表达与大肠癌患者临床表现的相关性进行分析.

**结果:** (1)Bmi-1在大肠癌组织中的表达明显高于正常组织(73.5% vs 23.5%,  $P < 0.05$ ), 且与大肠癌的侵袭深度、淋巴结转移及临床分期有关( $P < 0.05$ ); (2)Mel-18基因在大肠癌组织中的表达明显低于正常组织(41.2% vs 66.2%,  $P < 0.05$ ), 且与大肠癌的淋巴结转移及临床分期呈负相关( $P < 0.05$ ); (3)相关性分析发现,

## ■背景资料

大肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位居全球恶性肿瘤的第3位. 2006年国家卫生部的统计数据显示, 我国大肠癌死亡率已位居恶性肿瘤第5位, 发病率呈逐年上升趋势. 大肠癌和其他恶性肿瘤一样, 病因尚未明确, 主要和环境、遗传等因素有关, 大肠癌的防治研究不断引起人们的重视, 对相关基因进行检测, 对预测结肠癌的发生、发展、治疗效果及预后判断有一定的临床指导意义.

## ■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科; 邵华, 副主任药师, 东南大学附属中大医院药剂科

## ■ 研发前沿

一般认为肿瘤的发生、发展及转移是个复杂而有序的多阶段生物学过程,受多个基因的调控,结直肠癌的发生亦是如此,近年来对癌基因Bmi-1和抑癌基因Mel-18的研究成为国内外的热门课题。

Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌组织中的表达呈负相关( $r = -0.545, P < 0.05$ )。

**结论:** Bmi-1和Mel-18基因与大肠癌的发展、转移关系密切,检测Bmi-1和Mel-18对大肠癌的诊断及判断预后可能有重要意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 结直肠肿瘤; Bmi-1; Mel-18; 免疫组织化学

邹艳芳, 田永, 徐峰. Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 397-402 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/397.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.397>

## 0 引言

大肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,其发病率位居全球恶性肿瘤第3位<sup>[1]</sup>。在我国,大肠癌的发病率呈上升趋势,排在恶性肿瘤和致死因素的第4位<sup>[2]</sup>,其发病率在40岁开始上升,至60-75岁时达到高峰,发病率呈逐年上升趋势<sup>[1,3,4]</sup>。大肠癌和其他恶性肿瘤一样,病因尚未明确,主要和环境、遗传等因素有关,大肠癌的防治研究不断引起人们的重视,通过对相关基因的检测,对预测结肠癌的发生、发展、治疗效果及预后判断有一定的临床指导意义。Bmi-1(bcell-specific MLV integrationsite-1)基因属于多梳基因家族(polycomb group genes, PcG)成员,首次被提出是在转基因鼠的淋巴瘤细胞传代中,可与c-myc协同作用引起细胞转化和肿瘤形成<sup>[5]</sup>。PcG家族结构高度保守,参与不同的信号通路,调控细胞增殖、分化、衰老,参与肿瘤细胞的形成<sup>[6]</sup>。Bmi-1是一种公认的癌基因,已证实Bmi-1基因在非霍杰金细胞淋巴瘤<sup>[7]</sup>、胃癌、非小细胞肺癌、鼻咽癌、乳腺癌<sup>[8-11]</sup>等多种实体瘤中均高表达。Mel-18基因也属于多梳基因家族PcG成员之一, Mel-18基因最初是从小鼠黑素瘤B6细胞中克隆获得<sup>[12]</sup>,为哺乳动物PcG成员。该基因第一次作为一种抑癌基因被提出是在转基因鼠的淋巴细胞瘤细胞的传代中,发现其可以抑制c-myc基因的转录,从而引起细胞的衰老和肿瘤细胞的凋亡<sup>[5,13]</sup>。本实验中我们分别检测了Bmi-1、Mel-18基因在大肠癌组织及癌旁正常组织中的表达情况,以探讨Bmi-1、Mel-18基因的表达与大肠癌的病理学特征的相关性及其在大肠癌的发生发展中可能的作用及临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择郑州大学第一附属医院2009-09/2-012-06手术切除后的大肠癌标本及肿瘤旁正常大肠组织(距癌组织边缘 $\geq 5$  cm)各68份,所有病例均经术后组织病理学确诊,组织标本的取得均获患者的书面知情许可,研究获郑州大学第一附属医院伦理委员会批准。所有组织标本均经10%甲醛固定,常规石蜡包埋,4  $\mu$ m厚连续切片。所有切除标本经病理学证实为大肠腺癌,其中有淋巴结转移者28例,无淋巴结转移者40例;按组织学分级,其中高+中分化45例,中低+低分化为23例。肿瘤临床分期参照2002年国际抗癌联盟UICC公布的恶性肿瘤TNM分期标准。所有病例术前未经任何抗肿瘤治疗。兔抗人多克隆抗体Bmi-1(1:100)、兔抗人多克隆抗体Mel-18(1:100)抗体及免疫组织化学试剂盒均购自北京博奥森生物有限公司。Bmi-1、Mel-18标记均采用免疫组织化学SP法染色,枸橼酸盐高压锅热修复;DAB显色,苏木素复染细胞核。用PBS代替一抗作阴性对照,用已知阳性标本切片作阳性对照。

**1.2 方法** Bmi-1、Mel-18蛋白阳性反应为胞核内染色,少数为胞浆内染色。染色结果采用Thomas综合计分法计算,即随机选取5个高倍镜视野,计数阳性细胞占肿瘤细胞的平均数,阳性细胞 $<10\%$ 计0分,11%-25%计1分,26%-50%计2分,51%-75%计3分,76%-100%计4分。染色强度以多数阳性细胞呈现的染色特性计分,淡黄色计1分,棕黄色计2分,棕褐色计3分。将阳性细胞数和着色强度两者的计分相乘,以中位数作为低表达和高表达的截断值。

**统计学处理** 利用SPSS17.0统计软件包进行统计学处理。统计学方法采用Pearson卡方检验和Spearman等级相关分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Bmi-1、Mel-18在大肠癌组织及正常组织中的表达** 大肠癌组织及正常组织的Bmi-1、Mel-18基因主要在胞核内表达,部分可在胞浆表达,阳性表达者呈棕黄色或黄褐色颗粒, Bmi-1、Mel-18基因在大肠癌组织中表达的阳性率分别为73.5%、41.2%,在正常组织表达阳性率分别为23.5%、66.2%(图1,图2), Bmi-1在大肠癌组织中表达阳性率高于正常组织,而Mel-18在大肠癌组织中表达阳性率明显低于正常组织,

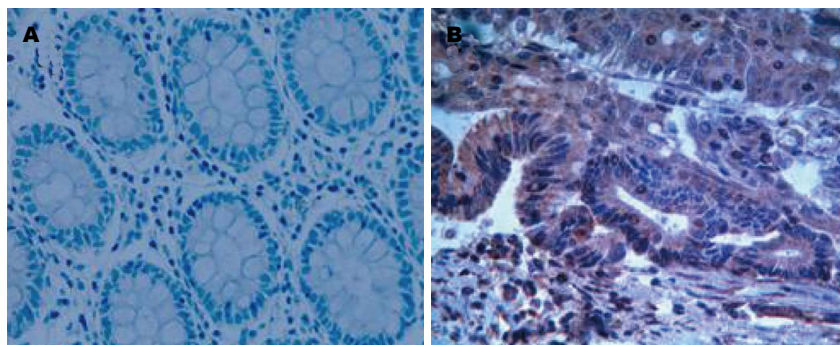


图1 Bmi-1蛋白的表达(SP × 400). A: 正常组织中的阴性的表达; B: 大肠癌组织的阳性表达.

■相关报道  
张振伟等的研究发现, 食管鳞癌组织中的Mel-18 mRNA表达水平显著低于癌旁正常食管组织.

表1 Bmi-1、Mel-18基因在大肠癌及正常组织中的表达 [ $n = 68, n(\%)$ ]

组织类别	Bmi-1	Mel-18
大肠癌组织	50(73.5)	28(41.2)
正常组织	16(23.5)	45(66.2)
$\chi^2$ 值	87.515	17.02
$P$ 值	0.000	0.000

两者的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ , 表1).

**2.2 Bmi-1、Mel-18基因在大肠癌组织中的表达与临床病理因素的关系** Bmi-1基因在大肠癌组织中的表达与癌组织的淋巴结转移、浸润深度及临床分期密切相关( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄无相关性( $P > 0.05$ , 表2), Mel-18基因在大肠癌组织中的表达与肿瘤组织的淋巴结转移、临床明显相关( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、肿瘤分化程度及浸润深度无关 ( $P > 0.05$ , 表2).

**2.3 Mel-18、Bmi-1基因在大肠癌组织中表达相关性分析** 在大肠癌组织中Mel-18基因和Bmi-1基因同时阳性表达例数为11, 比例约16.2%, 同时表达阴性例数为1, 比例约1.5%, 提示Mel-18、Bmi-1基因在大肠癌组织中的表达水平呈负相关( $r = -0.545, P < 0.05$ , 表3).

### 3 讨论

本实验中, 我们检测了68例大肠癌组织和相应的68例正常组织中Bmi-1基因和Mel-18基因的表达水平, 结果均显示差异具有显著统计学意义( $P < 0.05$ ). Bmi-1基因在大肠癌组织中的表达明显高于正常组织, 并且随着癌组织的淋巴结转移、浸润深度、临床分期的增加, 该基因表达的阳性率逐渐升高( $P < 0.05$ ), 而与患者的性别、年龄、肿瘤的分化程度无相关性( $P > 0.05$ ). 通过对Bmi-1基因的表达与大肠癌病理因素关系的分析发现, Bmi-1基因在大肠癌组织中高表达可以增加淋巴转移和组织浸润危险, 从而反

映恶性程度越高的大肠癌, 其浸润扩散和远处转移越严重, 可能与Bmi-1基因的高表达有关. 而目前临床上正是通过肿瘤的大小、分化程度、淋巴转移等来判断大肠癌的预后. 因此我们认为通过检测Bmi-1基因的表达对判断大肠癌的预后可能有重要意义. Song等<sup>[10]</sup>研究证实, 在一组鼻咽癌患者中, Bmi-1基因表达阳性者的5年生存率明显低于Bmi-1表达阴性者, Bmi-1基因阳性表达为独立的鼻咽癌预后因素. 在胃癌、肺癌、肝细胞癌和乳腺癌中同样提示高表达Bmi-1与预后不良密切相关<sup>[8-10,14]</sup>. Bmi-1基因作为PcG成员之一, 他与c-myc协同作用可以引起细胞转化和肿瘤形成, 并参与细胞增殖的调控. Bmi-1对于造血干细胞自我更新及分化潜能维持起着极其重要的角色, 并在部分血液系统恶性疾病, 包括白血病及淋巴瘤的发生和发展中发挥重要作用<sup>[15]</sup>. 近些年, 有文献报道Bmi-1基因在中心体复制扩增中起着重要的作用<sup>[16]</sup>. 最近研究发现Bmi-1在大部分人体正常组织中都不表达或呈低表达, 而其mRNA和蛋白在很多肿瘤组织或细胞中却表达上调, 并且与患者预后不良相关, 这些都提示Bmi-1可能与大肠癌预后有关, 因此被认为是一种潜在的癌基因<sup>[14,17,18]</sup>.

本实验还发现, Mel-18基因在大肠癌组织中低表达, 甚至部分缺失, 而在正常组织中有较高表达, 以胞核内为主. 通过对Mel-18基因在大肠癌组织中的表达水平与大肠癌病理特征关系的分析发现, 该基因与肿瘤组织的淋巴结转移、临床分期呈负相关( $P < 0.05$ ), 与患者的性别、年龄、肿瘤分化程度及浸润深度无相关性( $P > 0.05$ ). 推测Mel-18基因可能作为一种抑癌基因, 抑制肿瘤的淋巴结转移. Mel-18基因自1991年被发现以来就成为研究的热点, 他第一次作为一种抑癌基因被提出是在转基因鼠的淋巴细胞瘤细胞的传代中, 发现其可以下调c-myc, 从而引起细胞的衰老和肿瘤细胞的凋亡



## ■创新盘点

本文应用免疫组织化学法检测Bmi-1和Mel-18蛋白在结直肠癌及癌旁正常组织中的表达情况,从而在蛋白水平上探讨二者与结直肠癌各项临床病理参数之间的关系,为Bmi-1和Mel-18成为判断结直肠癌生物学行为的重要参考指标提供理论依据。

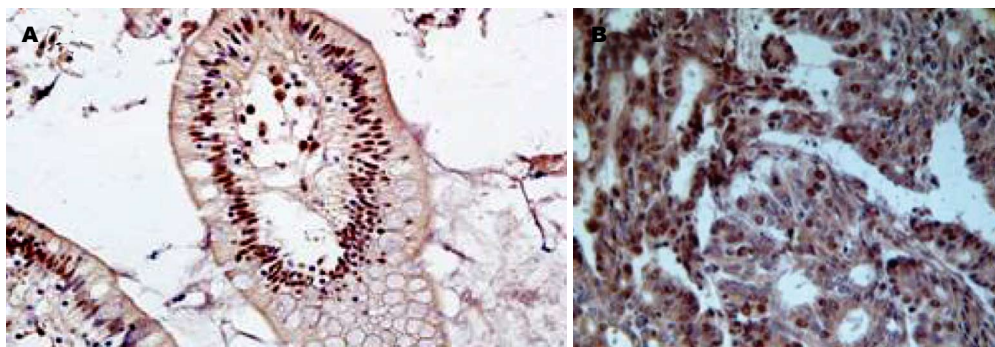


图2 Mel-18蛋白的表达(SP×400). A: 正常组织中的阳性表达; B: 大肠癌组织的阴性表达。

表2 Bmi-1、Mel-18基因在大肠癌组织中的表达及临床病理因素n(%)

临床病理因素	n	Bmi-1		P值	Mel-18		P值
		阳性	阴性		阳性	阴性	
性别							
男	38	30(78.9)	8(21.1)	>0.05	21(55.3)	17(44.7)	P>0.05
女	30	21(70.0)	9(30.0)		14(46.7)	16(53.3)	
年龄(岁)							
<60	36	21(58.3)	15(41.7)	>0.05	19(52.8)	17(47.2)	P>0.05
≥60	32	20(62.5)	12(37.5)		15(46.9)	17(53.1)	
淋巴结转移							
有	28	22(76.9)	6(23.1)	<0.05	9(32.1)	19(67.9)	P<0.05
无	40	15(42.9)	25(57.1)		28(69.0)	12(31.0)	
分化程度							
高+中	45	26(57.8)	19(42.2)	>0.05	21(46.7)	24(53.3)	P>0.05
中低+低	23	10(43.5)	13(56.5)		11(47.8)	12(52.2)	
浸润深度							
未及外膜	28	22(78.6)	6(21.4)	<0.05	16(57.1)	12(42.9)	P>0.05
侵透外膜	40	13(32.5)	27(67.5)		22(55.0)	18(45.0)	
TNM分期							
I、II期	42	11(26.2)	31(73.8)	<0.05	29(69.0)	13(31.0)	P<0.05
III、IV期	26	21(80.7)	5(19.3)		9(34.6)	17(65.4)	

表3 大肠癌组织中Mel-18和Bmi-1基因表达的相关性分析(n)

Mel-18	Bmi-1		合计	r值	P值
	(+)-(++)	(-)			
(+)-(++)	11	17	28	-0.545	<0.01
(-)	39	1	40		
合计	50	18	68		

[9,14]. Mel-18基因在多种肿瘤组织中(胃癌、食管癌、乳腺癌、前列腺癌等)呈低表达<sup>[19-22]</sup>, 郭宝红等<sup>[21]</sup>应用免疫组织化学的方法检测63例乳腺癌患者中Mel-18基因的表达, 发现在早期、无淋巴结转移、ER阴性的标本中, Mel-18基因的表达

信号强, 反之, 在晚期、有淋巴结转移、ER阳性的患者, Mel-18基因的表达信号较弱, 等级相关分析表明Mel-18基因的表达与乳腺癌的淋巴结转移、临床分期呈负相关( $P<0.05$ ), 上述实验结果与本实验大肠癌中的表达情况基本一致. 临床分期与淋巴结转移是决定患者预后的两个最重要的因素, 临床分期愈晚, 手术根治的机会愈少, 预后愈差. 本研究中, Mel-18基因与肿瘤组织的淋巴结转移、临床分期呈负相关( $P<0.05$ ), 提示Mel-18基因可能与大肠癌预后有关, 有可能成为临床监测病情, 评估大肠癌患者预后的重要指标. 已有研究发现, Mel-18和Bmi-1基因结构高度同源, 在N端区域与Bmi-1相应区域有93%同源性<sup>[9]</sup>. Bmi-1在多种肿瘤中被证实为原癌基

因<sup>[9,17,23-25]</sup>。有研究表明,两者在功能上可能存在重叠性,Mel-18亦可能存在癌基因的特性<sup>[26]</sup>。但近年研究发现,Mel-18基因更多的表现为抑癌基因的性质<sup>[27]</sup>。本实验中,通过二者的相关性分析发现,Mel-18、Bmi-1蛋白在大肠癌组织中的表达水平呈负相关( $r = -0.545, P < 0.05$ ),进一步提示Bmi-1是癌基因,促进大肠癌的发生发展;而Mel-18可能是抑癌基因,抑制大肠癌的生成和发展。在成纤维细胞衰老的过程中,Mel-18在转录水平通过抑制c-myc下调Bmi-1的表达<sup>[28]</sup>,在乳腺癌细胞中Mel-18表达与Bmi-1的表达也是密切负相关的<sup>[29]</sup>,外源性Mel-18过表达也通过下调c-myc的表达来下调Bmi-1的水平<sup>[21,30]</sup>。关于Bmi-1与Mel-18在大肠癌组织中的关系目前尚无报道,在大肠癌组织中Bmi-1与Mel-18是否也存在这种关系,即抑制c-myc的表达,进而下调Bmi-1基因的表达,他们的信号传导途径还需进一步研究。

综上所述,Bmi-1基因的高表达和Mel-18基因的低表达可能与大肠癌的发展、转移及预后相关。本实验检测二者在大肠癌组织中的表达,对于判断大肠癌的进展、恶性程度及预后可能具有重要意义,为结直肠癌的治疗提供新的思路及理论依据,然而Bmi-1基因和Mel-18基因在肿瘤发生发展过程是如何受调控的以及这些调控的重要程度和具体的机制目前尚不明确,仍需要深入探索。这些探索将为阐明大肠癌分子发病机制提供重要参考。

**志谢:** 感谢宋锐锋、李娅在本试验中给予的大力帮助。

#### 4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- 2 周晓东, 吕农华. 大肠癌的流行病学研究现状. 现代消化及介入治疗 2006; 11: 149-151
- 3 郑树. 结直肠癌的预防. 中华肿瘤防治杂志 2006; 13: 1-2
- 4 Sung J. Does fecal occult blood test have a place for colorectal cancer screening in China in 2006? *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 213-215 [PMID: 16454819 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00485.x]
- 5 Haupt Y, Alexander WS, Barri G, Klinken SP, Adams JM. Novel zinc finger gene implicated as myc collaborator by retrovirally accelerated lymphomagenesis in E mu-myc transgenic mice. *Cell* 1991; 65: 753-763 [PMID: 1904009 DOI: 10.1016/0092-8674(91)90383-A]
- 6 Valk-Lingbeek ME, Bruggeman SW, van Lohuizen M. Stem cells and cancer; the polycomb connection. *Cell* 2004; 118: 409-418 [PMID: 15315754 DOI: 10.1016/j.cell.2004.08.005]
- 7 Beà S, Tort F, Pinyol M, Puig X, Hernández L, Hernández S, Fernandez PL, van Lohuizen M, Colomer D, Campo E. BMI-1 gene amplification and overexpression in hematological malignancies occur mainly in mantle cell lymphomas. *Cancer Res* 2001; 61: 2409-2412 [PMID: 11289106]
- 8 黄开红, 刘建化, 李学先. Bmi-1基因过度表达与胃癌分化、转移及预后的关系. 南方医科大学学报 2007; 27: 973-975
- 9 Vonlanthen S, Heighway J, Altermatt HJ, Gugger M, Kappeler A, Borner MM, van Lohuizen M, Betticher DC. The bmi-1 oncoprotein is differentially expressed in non-small cell lung cancer and correlates with INK4A-ARF locus expression. *Br J Cancer* 2001; 84: 1372-1376 [PMID: 11355949 DOI: 10.1054/bjoc.2001.1791]
- 10 Song LB, Zeng MS, Liao WT, Zhang L, Mo HY, Liu WL, Shao JY, Wu QL, Li MZ, Xia YF, Fu LW, Huang WL, Dimri GP, Band V, Zeng YX. Bmi-1 is a novel molecular marker of nasopharyngeal carcinoma progression and immortalizes primary human nasopharyngeal epithelial cells. *Cancer Res* 2006; 66: 6225-6232 [PMID: 16778197 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0094]
- 11 冯艳, 宋立兵, 郭宝红, 廖雯婷, 李满枝, 刘万里, 曾木圣, 张玲. Bmi-1基因在乳腺癌组织中的表达及意义. 癌症 2007; 26: 154-157
- 12 Asano H, Ishida A, Hasegawa M, Ono T, Yoshida MC, Taniguchi M, Kanno M. The mouse Mel-18 "RING-finger" gene: genomic organization, promoter analysis and chromosomal assignment. *DNA Seq* 1993; 3: 369-377 [PMID: 8219280]
- 13 van Lohuizen M, Verbeek S, Scheijen B, Wientjens E, van der Gulden H, Berns A. Identification of co-operating oncogenes in E mu-myc transgenic mice by provirus tagging. *Cell* 1991; 65: 737-752 [PMID: 1904008 DOI: 10.1016/0092-8674(91)90382-9]
- 14 Wang H, Pan K, Zhang HK, Weng DS, Zhou J, Li JJ, Huang W, Song HF, Chen MS, Xia JC. Increased polycomb-group oncogene Bmi-1 expression correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 535-541 [PMID: 17917742 DOI: 10.1007/s00432-007-0316-8]
- 15 Haupt Y, Bath ML, Harris AW, Adams JM. bmi-1 transgene induces lymphomas and collaborates with myc in tumorigenesis. *Oncogene* 1993; 8: 3161-3164 [PMID: 8414519]
- 16 宋立兵, 张玲, 曾木圣, 廖雯婷, 李满枝, 郭宝红, 汪慧民. 癌基因BMI-1对中心体复制的调节作用. 中山大学学报(医学科学版) 2005; 26: 377-379
- 17 Kim JH, Yoon SY, Kim CN, Joo JH, Moon SK, Choe IS, Choe YK, Kim JW. The Bmi-1 oncoprotein is overexpressed in human colorectal cancer and correlates with the reduced p16INK4a/p14ARF proteins. *Cancer Lett* 2004; 203: 217-224 [PMID: 14732230 DOI: 10.1016/j.canlet.2003.07.009]
- 18 van Lohuizen M, Frasch M, Wientjens E, Berns A. Sequence similarity between the mammalian bmi-1 proto-oncogene and the Drosophila regulatory genes Psc and Su(z)2. *Nature* 1991; 353: 353-355 [PMID: 1922340 DOI: 10.1038/353353a0]
- 19 陆有为, 郭伟剑, 李进. Mel-18 mRNA在胃癌中的表达及其临床意义. 中国癌症杂志 2009; 19: 423-427
- 20 张振伟, 蒋仲敏. Mel-18 mRNA在食管鳞癌中的表达及其临床意义. 山东大学学报(医学版) 2012; 50: 78-81
- 21 郭宝红, 宋立兵, 张玲, 廖雯婷, 冯艳, 刘万里, 李满枝, 曾木圣. Mel-18在乳腺癌中表达的意义. 中山大学

#### ■应用要点

本文证实Bmi-1和Mel-18蛋白在结直肠癌中的表达情况及二者的相关性。联合检测两种蛋白的表达,对结直肠癌的诊断及预后判断可能具有重要意义,为结直肠癌的治疗提供新的思路及理论依据。

## ■同行评价

本文新颖性较好, 具有较好的可读性和科学价值。

- 22 王尉, 胡卫列, 吕军, 聂海波, 邱晓拂, 赵永斌, 肖远松, 刘俊. Mel-18在前列腺癌中的临床意义. 实用癌症杂志 2011; 26: 115-119
- 23 Reinisch C, Kandutsch S, Uthman A, Pammer J. BMI-1: a protein expressed in stem cells, specialized cells and tumors of the gastrointestinal tract. *Histol Histopathol* 2006; 21: 1143-1149 [PMID: 16874656]
- 24 Feng Y, Song LB, Guo BH, Liao WT, Li MZ, Liu WL, Zeng MS, Zhang L. [Expression and significance of Bmi-1 in breast cancer]. *Ai Zheng* 2007; 26: 154-157 [PMID: 17298744]
- 25 陈素秀, 费正华, 陈霖, 蒋亦燕, 杨晓蕾. 食管癌组织 Bmi-1表达及其与临床病理相关性分析. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 602-604
- 26 Wiederschain D, Chen L, Johnson B, Bettano K, Jackson D, Taraszka J, Wang YK, Jones MD, Morrissey M, Deeds J, Mosher R, Fordjour P, Lengauer C, Benson JD. Contribution of polycomb homologues Bmi-1 and Mel-18 to medulloblastoma pathogenesis. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 4968-4979 [PMID: 17452456 DOI: 10.1128/MCB.02244-06]
- 27 Zhang XW, Sheng YP, Li Q, Qin W, Lu YW, Cheng YF, Liu BY, Zhang FC, Li J, Dimri GP, Guo WJ. BMI1 and Mel-18 oppositely regulate carcinogenesis and progression of gastric cancer. *Mol Cancer* 2010; 9: 40 [PMID: 20170541 DOI: 10.1186/1476-4598-9-40]
- 28 Guo WJ, Zeng MS, Yadav A, Song LB, Guo BH, Band V, Dimri GP. Mel-18 acts as a tumor suppressor by repressing Bmi-1 expression and down-regulating Akt activity in breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 5083-5089 [PMID: 17545584 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4368]
- 29 Riis ML, Lüders T, Nesbakken AJ, Volla HS, Kristensen V, Bukholm IR. Expression of BMI-1 and Mel-18 in breast tissue--a diagnostic marker in patients with breast cancer. *BMC Cancer* 2010; 10: 686 [PMID: 21162745 DOI: 10.1186/1471-2407-10-686]
- 30 Lee JY, Jang KS, Shin DH, Oh MY, Kim HJ, Kim Y, Kong G. Mel-18 negatively regulates INK4a/ARF-independent cell cycle progression via Akt inactivation in breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4201-4209 [PMID: 18519679 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2570]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t=4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\min$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.



# 嗜酸性粒细胞性食管炎

潘小萍, 王雯

潘小萍, 王雯, 中国人民解放军南京军区福州总医院消化内科 福建省福州市 350000

潘小萍, 硕士, 主要从事胃肠动力障碍性疾病的研究.

作者贡献分布: 潘小萍完成本文综述; 王雯审校.

通讯作者: 王雯, 教授, 主任医师, 350000, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院消化内科.

wangw68@medmail.com.cn

收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-01-07

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-18

## Eosinophilic esophagitis

Xiao-Ping Pan, Wen Wang

Xiao-Ping Pan, Wen Wang, Department of Gastroenterology, Fuzhou General Hospital, Nanjing Military Region of PLA, Fuzhou 350000, Fujian Province, China

Correspondence to: Wen Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Fuzhou General Hospital, Nanjing Military Region of PLA, Fuzhou 350000, Fujian Province, China. wangw68@medmail.com.cn

Received: 2012-12-04 Revised: 2013-01-07

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-18

## Abstract

Eosinophilic esophagitis (EoE) represents a chronic, immune/antigen-mediated inflammatory esophageal disease characterized clinicopathologically by symptoms related to esophageal dysfunction and eosinophil-predominant inflammation. The pathogenesis of EoE is incompletely understood but is generally considered to be related to IgE- and non-IgE-mediated hypersensitivity. The diagnosis of EoE relies mainly on typical clinical presentations, esophageal pathological changes, and exclusion of gastroesophageal reflux disease (GRED) and other conditions that cause esophageal eosinophilia. Management options include dietary modifications, pharmacological therapy, and endoscopic dilation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Eosinophilic esophagitis; Diagnosis; Treatment

Pan XP, Wang W. Eosinophilic esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 403-408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/403.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.403>

## 摘要

嗜酸性粒细胞性食管炎是一种免疫/抗原介导的慢性食管炎症, 以食管黏膜嗜酸性粒细胞浸润为主及食管功能障碍相关症状为临床病理特点. 其发病机制尚未明确, 普遍认为系由IgE和非IgE联合介导引起的变态反应. 其诊断主要依据典型的临床表现及食管组织病理学改变, 并排除胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GRED)及其他可引起食管黏膜嗜酸性粒细胞浸润等疾病. 其治疗方法主要包括饮食调节、药物治疗、食管扩张等.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 嗜酸性粒细胞性食管炎; 诊断; 治疗

潘小萍, 王雯. 嗜酸性粒细胞性食管炎. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 403-408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/403.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.403>

## 0 引言

嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)是一种免疫/抗原介导的慢性食管疾病, 其临床病理学特点在组织学上表现为以食管黏膜嗜酸性粒细胞(eosinophil, EOS)浸润为主的炎症变化, 临床上表现为食管功能障碍相关症状, 如吞咽困难、食物嵌顿、呕吐、上腹痛等<sup>[1]</sup>. 近年来国外对EoE的报道及研究大大增加, 而国内较少关注该病, 本文拟对EoE的发病机制、诊断及治疗等进展作一综述.

## 1 流行病学

自从Dobbins等<sup>[2]</sup>于1977年首次报道EoE, 近年来国外对该病的报道逐渐增多, 主要分布于发达国家(北美、欧洲、东亚、澳大利亚等), 非洲尚无该病的相关报道<sup>[3]</sup>. 国外多篇文献表明, EoE的患病率正快速的生长. Prasad等<sup>[4]</sup>研究美国某个地区EoE的患病率, 发现该地区1991-1995年EoE患病率为0.35/10<sup>5</sup>, 而2001-2005年EoE患病率为9.45/10<sup>5</sup>, 增长近30倍. Spengel等<sup>[5]</sup>研究估计美国EoE患病率约52/10<sup>5</sup>. 各个地区报道的患病率不

## ■背景资料

嗜酸性粒细胞性食管炎(EoE)是一种罕见的慢性食管疾病, 其发病率正快速增长, 其症状与胃食管反流病相似, 由于缺乏对EoE的认识, 极易误诊, 造成诊断、治疗的偏差, 使患者长期处于病痛中, 降低了生活质量, 也造成了巨大的费用浪费, 加重了社会压力. 故加大对EoE的重视, 使广大医师认识、了解EoE, 非常有意义.

## ■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

## ■ 研究前沿

EoE的发病机制尚不明确, 研究表明TSLP基因在其发病中发挥了一定的作用, 并有可能指导临床应用, 有待进一步的研究论证. EoE与GERD症状相似, 其鉴别尚无统一标准, 需广大学者及临床医师进一步研究对比.

一致, 但均较之前有明显增高趋势. 然而患病率的提高到底是该病的发病率的真实反映, 还是更多的医师对该病的认识及报道有所提高而引起的<sup>[6,7]</sup>, 仍存在争议. 该病可发生于各个年龄段<sup>[7,8]</sup>, 青少年及儿童好发, 男性多于女性(3:1)<sup>[9]</sup>, 在不同种族和民族中, 非西班牙裔白人患病率相对较高<sup>[10]</sup>, 具体原因有待进一步研究. 目前, 中国尚无完善的流行病学资料.

## 2 发病机制

EoE的发病机制尚不明确, 多数研究者认为EoE是由于接触食物及空气中的过敏原, 由免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)和非IgE联合介导引起的变态反应(I型、IV型), 但以非IgE介导的IV型变态反应为主. 研究表明, 嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T淋巴细胞、白介素-5(interleukin-5, IL-5)、IL-13、IL-15、eotaxin3、TSLP、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)等可能参与了EoE的发病过程. 其中食管黏膜嗜酸性粒细胞浸润可能在EoE的发病过程中起到关键作用, EOS释放的嗜酸性颗粒, 包括: 主要碱性蛋白(major basic protein, MBP)、嗜酸性过氧化物酶(eosinophilic peroxidase, EPO)、嗜酸性细胞源性神经毒素(eosinophilic cell source sex nerve toxin, EDN)、嗜酸性细胞阳离子蛋白(eosinophil cationic protein, ECP)及炎性因子等可引起食管黏膜的损坏, 进而引起相关临床症状. eotaxin3是EoE的标志基因, 其在食管黏膜的EOS聚集中发挥着重要作用, 有研究认为其基因单核苷酸多态性与EoE有关<sup>[11]</sup>. 一项通过RT-PCR及免疫组织化学手段检测EoE患者外周血及食管黏膜组织中的eotaxin3和FGF水平的研究<sup>[12]</sup>, 显示二者表达均增多, 且协同促进EOS的活化及延长其半衰期. 还有研究<sup>[13]</sup>发现EoE患者食管黏膜及外周血中肥大细胞数目增多, 肥大细胞相关基因(TPSAB1, CPA3)的表达上调, 且激素治疗及饮食治疗可改善这些变化, 提示了肥大细胞可能参与了EoE的发病机制.

EoE是一种Th2介导的免疫反应(IV型变态反应)已得到广大认同<sup>[14]</sup>, 一项关于EoE全基因组分析结果显示<sup>[15]</sup>, EoE遗传易感基因位点位于5q22, 该位点包含TSLP基因. Sherrill等<sup>[16]</sup>研究表明TSLP可能参与了EoE的发病机制. 胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)是一种上皮细胞衍生因子, 研究发现EoE

患者食管上皮细胞分泌TSLP增多, TSLP通过激活树突状细胞(dendritic cells, DCs)促进T细胞的活化并分泌Th2细胞因子(如IL-5、IL-13), 进而促进Th2细胞分化增殖, 参与了Th2细胞介导的炎症反应. 也有研究<sup>[17]</sup>显示TSLP在特应性皮炎、哮喘等炎症发生中具有重要意义. 因此可以把TSLP作为基因靶位, 研制相应的生物制剂以治疗EoE、特应性皮炎、哮喘等特应反应性疾病, 为临床治疗提供一个新方向.

## 3 诊断

目前EoE尚无统一的诊断标准. 美国胃肠病学会于2007年在EoE诊断共识中提出的诊断标准<sup>[18]</sup>: (1)临床症状: 食管功能障碍相关症状; (2)组织病理学改变: 食管黏膜嗜酸性粒细胞计数 $\geq 15/\text{HPF}$ ; (3)排除胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GRED)及其他可引起EOS浸润的疾病. 2011年共识<sup>[1]</sup>对2007共识进行了修改, 提出了PPIRee(PPI-responsive esophageal eosinophilia)这个新概念. 值得注意的是EoE的诊断不能建立在任何单一的诊断依据上, 应包括以下几方面.

3.1 临床表现 EoE的临床症状复杂多样, 易与胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)相混淆, 且不同年龄段的患者的临床表现有所差异<sup>[19]</sup>. 婴幼儿EoE主要表现为哺育困难及发育迟缓; 儿童EoE主要为反流样症状(烧心、反酸)、呕吐、腹痛等; 青少年及成人主要为间歇性吞咽困难及食物嵌顿(主要为固体食物), 其次为胸痛、上腹痛、GERD样症状等. 多项研究表明<sup>[20,21]</sup>, 50%-60%EoE患者既往有过敏体质病史, 如鼻炎、支气管哮喘、特应性皮炎、食物过敏等特应反应性疾病, 并出现相应症状. 当然, 有些患者先前因没有明显的EoE相关临床症状而考虑其他疾病, 之后通过内镜下发现并诊断为EoE. Straumann等<sup>[22]</sup>研究表明EoE是一种慢性病, 其自然发病史至少十余年.

为了排除GERD, 可经验性给予6-8 wk大剂量抑酸剂(如PPI)治疗, 或行24 h食管内pH检测, EoE患者对抑酸剂不敏感且24 h pH正常. 有研究发现一部分患者食管黏膜EOS浸润数目达到诊断EoE标准, 但其对PPI治疗有效, 称为PPIRee<sup>[1]</sup>. 此类患者PPI单独治疗短期可暂时降低嗜酸性粒细胞浸润数目及改善内镜下表现, 主要考虑两方面: (1)EoE伴随GERD可能加重或减轻食管嗜酸性粒细胞浸润, 而这些嗜酸性细胞对PPI有

反应; (2)PPI可能不仅仅是一种抑酸剂, 有可能可以对抗嗜酸性粒细胞, 其机制尚不明确<sup>[1]</sup>. 但之后即使维持PPI治疗也会反弹. 不少学者认为PPIRee可能是早期的EoE, 是EoE亚型, 因此在长期PPI单独治疗过程中应监测EoE, 以减少漏诊. 但PPIRee是一种EoE亚型或GERD亚型或自成一类疾病尚不明确<sup>[23]</sup>.

**3.2 内镜表现** EoE内镜下表现缺乏特异性, 主要表现为<sup>[24,25]</sup>: 线状沟槽、白色渗出物、皱纸样黏膜(黏膜粗大水肿变脆)、一过性或持续性同心环、弥漫性食管狭窄、小管径食管等; 超声内镜可发现黏膜肌层呈环形但不对称性增厚<sup>[26,27]</sup>. 若出现1种以上的表现, 即可怀疑EoE, 并可进一步取病理组织检查以明确. 随着内镜医师对EoE的认知和经验技术的增长, 可发现轻微黏膜病变, 减少漏诊. 一项回顾性研究<sup>[28]</sup>显示24.79%EoE患者因内镜下黏膜无变化而被漏诊, 因此有吞咽困难或食物嵌顿症状的患者, 即使内镜下未发现任何异常变化, 亦建议行组织病理学检查.

**3.3 组织学表现** EoE以食管黏膜EOS的高度浸润为特征, 因此组织学检查是必不可少的检查手段, 也是目前公认的EoE诊断手段. 但目前仍未制定具体的嗜酸性粒细胞数作为区分EoE及GERD的诊断, 根据多数研究的临床经验, 美国胃肠病学会于2007年在EoE诊断共识中提出上皮内嗜酸性粒细胞峰值计数至少为15/HPF<sup>[18]</sup>. 2011共识亦支持该建议<sup>[1]</sup>.

EoE组织病理学表现主要包括嗜酸性微脓肿形成、表层的嗜酸性粒细胞浸润、基底层增生、固有层乳头状延伸、细胞间隙扩大、细胞外嗜酸性颗粒、黏膜固有层纤维化等. 其中表层的嗜酸性粒细胞浸润、嗜酸性微脓肿、细胞外嗜酸性颗粒(MBP、EPO、EDN、ECP)的沉积可区别EoE和GERD<sup>[29-32]</sup>. 目前建议于上段食管(距门齿20-25 cm)、下段食管(距SCJ 3-5 cm)及病变处食管黏膜总共取5-6块组织活检(5块组织活检的诊断敏感性达100%<sup>[33]</sup>), Shah等<sup>[34]</sup>研究显示, 取2、3、6块组织活检, 其敏感性分别为84%、97%和100%. 同时应取胃和十二指肠黏膜活检以排除该部位病变.

EoE病变组织中亦可见肥大细胞、IgE分泌细胞、IL-5、eotaxin-3、FGF、IL-13、IL-15、TGF等浸润.

**3.4 放射学检查** 放射学检查并非诊断EoE的主要方法, 其表现正常亦不排除EoE. 但是, 对于有吞咽困难的EoE患者, 特别是婴幼儿患者, 食管X线

检查及CT检查可发现小儿食管解剖学畸形, 亦可提供食管狭窄及管壁增厚情况, 有助于提示在进行内镜检查时选择不同口径的内镜以及判断是否需进行食管扩张术. 一项研究<sup>[35]</sup>以食管钡餐检查作为EoE食管狭窄范围的诊断方法, 结果显示狭窄段黏膜光滑, 边缘逐渐变细, 平均长约15.4 cm, 宽约2.0 cm左右.

**3.5 食管功能检查** 24 h食管pH监测对明确是否EoE酸反流及是否为酸反流引起的EOS增多具有重要诊断价值. 大多数EoE患者pH监测正常<sup>[36]</sup>. 多项研究通过食管压力测定法表明EoE患者有食管动力障碍, 但食管动力障碍并不是EoE所特有, 还可见于食管贲门失弛缓症、弥漫性食管痉挛、胡桃夹食管、食管下括约肌高压症等.

**3.6 实验室检查** 无任何单一生化标志物对EoE的诊断具有特异性. 外周血嗜酸性粒细胞、肥大细胞、IgE、皮肤过敏原实验(单刺试验、斑片试验<sup>[37]</sup>)均不能作为诊断标准, 但其可能对EoE的诊断提供一定的证据. Eotaxin3、EDN、CPA3、TSLP、IL-13、IL-5等非侵袭性生物标志物的检测有助于诊断、评估对治疗的反应、判断预后, 有待进一步研究.

## 4 治疗

**4.1 饮食调节** 食物过敏引起的变态反应可能参与了EoE的发病机制, 且研究发现通过饮食调节可显著改善EoE的症状和组织学变化<sup>[38]</sup>.

饮食调节主要有3种类型的限制饮食<sup>[1]</sup>: (1)要素饮食: 仅允许给予以氨基酸为基础的营养处方; (2)经验性限制饮食: 清除常见的过敏食物(如牛奶、黄豆、鸡蛋、小麦、花生、海鲜); (3)针对性剔除饮食: 要求清除已知有明确或可疑变应原的食物(单刺试验、斑片试验). 3种限制饮食的有效率分别为90%、70%-80%和75%<sup>[39-41]</sup>. 但转变为普通饮食后症状易复发, 故应长期维持膳食治疗, 至于维持时间有待进一步的研究. 然而由于限制饮食口感较差, 患者的生活质量受到了限制, 导致依从性较差, 故应联合药物治疗.

**4.2 糖皮质激素治疗** 糖皮质激素可有效缓解EoE的急性期症状, 但停药后易复发, 且长期应用不良反应大, 因此不建议长期应用. 包括全身用药和局部用药.

全身用药: 适用于紧急情况, 如需要住院治疗的急性吞咽困难、严重的体质量下降、脱水等. 长期全身使用激素可能出现水和电解质紊

## ■ 相关报道

国外相关研究报道表明EoE的发病率逐渐增长, 而国内尚无完善的流行病学资料.



## ■应用要点

国内文献对EoE的报道较少,本文对EoE进行了较为全面的阐述,使读者广泛认识、了解EoE,以减少漏诊、误诊,一方面可以及时的减轻患者的病痛,另一方面可以减少社会人力、财力的耗费。文中提出EoE遗传易感基因位点位于5q22, TSLP基因的表达产物TSLP参与了EoE的发生发展,故可把TSLP作为靶位,研制相应的生物制剂,为临床治疗提供新方向。

乱、糖耐量降低、类库兴综合征、生长抑制、骨质脱钙、垂体和肾上腺皮质反应低下、免疫低下、感染加重等不良反应。

局部用药: 由于全身用药的不良反应大, 局部用药成为首选的药物治疗方法。包过: (1)使用加压计量吸入器(喷雾器)将丙酸氟替卡松(500-1 000  $\mu\text{g}/\text{d}$ )喷入口腔并吞咽下去, 而非吸入; (2)口服黏稠的布地奈德制剂(500-1 000  $\mu\text{g}/\text{d}$ ), 使其黏附于食管。二者的有效率约50-80%<sup>[42,43]</sup>。服药后30 min需禁饮禁食禁漱口<sup>[44]</sup>。6-8 wk后复查内镜并取病理以评估疗效, 若治疗有效则可开始逐渐减低剂量至最低有效剂量并维持治疗。因停药后易复发, 故建议长期维持治疗。其不良反应主要为局部真菌感染<sup>[45]</sup>。多项研究表明短期局部应用激素可改善临床症状、内镜下表现及组织学变化<sup>[46]</sup>。

4.3 抑酸治疗 普遍认为酸反流不是EoE的原发致病因素, 故抑酸治疗在EoE中的应用尚有争议。抑酸治疗可能有以下2方面作用: (1)对怀疑有EoE而尚未确诊者, 有助于EoE的诊断, 如抑酸治疗无效且无GERD依据则支持EoE的诊断, 如抑酸治疗有效而无GERD依据则支持PPIRee; (2)对确诊为EoE而存在反流症状的患者, 抑酸治疗可改善其症状。多项研究表明抑酸治疗并不能改善EoE组织学变化, 故不推荐为首选治疗方法, 只作为辅助治疗。

4.4 白三烯受体拮抗剂及肥大细胞膜稳定剂 此类药物在其他变态反应性疾病的治疗中已得到广泛认可, 但对EoE患者的症状改善作用有限, 且对组织学变化无明显影响, 故其应用尚未得到认可。

孟鲁司特是选择性的白三烯受体拮抗剂, 大剂量孟鲁司特可改善临床症状, 但对组织学改变无明显影响, 长期应用无明显不良反应。

色甘酸钠是一种肥大细胞膜稳定剂, 抑制肥大细胞脱颗粒, 减少过敏原接触后组胺、白三烯的释放从而减轻变态反应。

4.5 生物制剂 IL-5在介导嗜酸性粒细胞聚集中的作用已经得到了广大学者的认可, 因此抗IL-5(mepolizumab, 美泊利单抗)治疗作为一种很有潜力的治疗手段得到了广泛关注。而抗IgE(omalizumab, 奥马珠单抗)的主要功能在于阻断IgE与肥大细胞表面的受体结合, 进而阻止细胞的活化与炎性介质释放。但由于缺乏大规模的临床资料, 该类药物尚不能作为常规用药, 有待进一步研究<sup>[47,48]</sup>。

4.6 食管扩张术 对表现为吞咽困难和食物嵌顿的EoE患者, 内镜下表现为食管狭窄, 经药物治疗后无明显好转者, 可行食管扩张术以缓解症状。但该手术并不减轻食管炎症反应, 不改善组织学变化, 且治疗后3-8 mo可能复发, 建议联合药物治疗。该手术并发症主要为胸痛、出血、黏膜撕裂和穿孔。Jacobs等<sup>[49]</sup>研究表明EoE患者行食管扩张术的风险不大, 且其穿孔风险并不比其他原因引起的食管狭窄患者高, 但亦有研究持相反意见<sup>[50]</sup>。

## 5 结论

EoE是近年来逐渐引起人们广泛重视的一类慢性炎症性食管疾病, 严重的影响人们的生活质量, 其临床表现与GERD相似, 极易造成误诊。而关于EoE的研究才刚刚起步, 对EoE的发病机制、诊断、治疗、预后、与GERD的关系等还需要广大医者坚持不懈的探究。

## 6 参考文献

- 1 Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, Burks AW, Chehade M, Collins MH, Dellon ES, Dohil R, Falk GW, Gonsalves N, Gupta SK, Katzka DA, Lucendo AJ, Markowitz JE, Noel RJ, Odze RD, Putnam PE, Richter JE, Romero Y, Ruchelli E, Sampson HA, Schoepfer A, Shaheen NJ, Sicherer SH, Spechler S, Spigel JM, Straumann A, Wershil BK, Rothenberg ME, Aceves SS. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 3-20. e6; quiz 21-22 [PMID: 21477849]
- 2 Dobbins JW, Sheahan DG, Behar J. Eosinophilic gastroenteritis with esophageal involvement. *Gastroenterology* 1977; 72: 1312-1316 [PMID: 870380]
- 3 Bonis PA. Putting the puzzle together: epidemiological and clinical clues in the etiology of eosinophilic esophagitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29: 41-52, viii [PMID: 19141340 DOI: 10.1016/j.jiac.2008.09.005]
- 4 Prasad GA, Alexander JA, Schleck CD, Zinsmeister AR, Smyrk TC, Elias RM, Locke GR, Talley NJ. Epidemiology of eosinophilic esophagitis over three decades in Olmsted County, Minnesota. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1055-1061 [PMID: 19577011 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.06.023]
- 5 Spigel JM, Book WM, Mays E, Song L, Shah SS, Talley NJ, Bonis PA. Variation in prevalence, diagnostic criteria, and initial management options for eosinophilic gastrointestinal diseases in the United States. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 52: 300-306 [PMID: 21057327 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181eb5a9f]
- 6 Straumann A, Simon HU. Eosinophilic esophagitis: escalating epidemiology? *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 418-419 [PMID: 15696105 DOI: 10.1016/j.jaci.2004.11.006]
- 7 Kapel RC, Miller JK, Torres C, Aksoy S, Lash R, Katzka DA. Eosinophilic esophagitis: a prevalent

- disease in the United States that affects all age groups. *Gastroenterology* 2008; 134: 1316-1321 [PMID: 18471509 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.016]
- 8 García-Compeán D, González González JA, Marrofo García CA, Flores Gutiérrez JP, Barboza Quintana O, Galindo Rodríguez G, Mar Ruiz MA, de León Valdez D, Jaquez Quintana JO, Maldonado Garza HJ. Prevalence of eosinophilic esophagitis in patients with refractory gastroesophageal reflux disease symptoms: A prospective study. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 204-208 [PMID: 20843755 DOI: 10.1016/j.dld.2010.08.002]
  - 9 Ferguson DD, Foxx-Orenstein AE. Eosinophilic esophagitis: an update. *Dis Esophagus* 2007; 20: 2-8 [PMID: 17227302 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00649.x]
  - 10 Dalby K, Nielsen RG, Kruse-Andersen S, Fenger C, Bindslev-Jensen C, Ljungberg S, Larsen K, Walsted AM, Husby S. Eosinophilic oesophagitis in infants and children in the region of southern Denmark: a prospective study of prevalence and clinical presentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51: 280-282 [PMID: 20512060]
  - 11 Blanchard C, Wang N, Stringer KF, Mishra A, Fulkerson PC, Abonia JP, Jameson SC, Kirby C, Konikoff MR, Collins MH, Cohen MB, Akers R, Hogan SP, Assa'ad AH, Putnam PE, Aronow BJ, Rothenberg ME. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest* 2006; 116: 536-547 [PMID: 16453027 DOI: 10.1172/JCI26679]
  - 12 Huang JJ, Joh JW, Fuentebella J, Patel A, Nguyen T, Seki S, Hoyte L, Reshamwala N, Nguyen C, Quiros A, Bass D, Sibley E, Berquist W, Cox K, Kerner J, Nadeau KC. Eotaxin and FGF enhance signaling through an extracellular signal-related kinase (ERK)-dependent pathway in the pathogenesis of Eosinophilic esophagitis. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2010; 6: 25 [PMID: 20815913 DOI: 10.1186/1710-1492-6-25]
  - 13 Hsu Blatman KS, Gonsalves N, Hirano I, Bryce PJ. Expression of mast cell-associated genes is upregulated in adult eosinophilic esophagitis and responds to steroid or dietary therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1307-1308.e3 [PMID: 21333344]
  - 14 Straumann A, Bauer M, Fischer B, Blaser K, Simon HU. Idiopathic eosinophilic esophagitis is associated with a T(H)2-type allergic inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 954-961 [PMID: 11742273 DOI: 10.1067/mai.2001.119917]
  - 15 Rothenberg ME, Spergel JM, Sherrill JD, Annaiah K, Martin LJ, Cianferoni A, Gober L, Kim C, Glessner J, Frackelton E, Thomas K, Blanchard C, Liacouras C, Verma R, Aceves S, Collins MH, Brown-Whitehorn T, Putnam PE, Franciosi JP, Chiavacci RM, Grant SF, Abonia JP, Sleiman PM, Hakonarson H. Common variants at 5q22 associate with pediatric eosinophilic esophagitis. *Nat Genet* 2010; 42: 289-291 [PMID: 20208534 DOI: 10.1038/ng.547]
  - 16 Sherrill JD, Gao PS, Stucke EM, Blanchard C, Collins MH, Putnam PE, Franciosi JP, Kushner JP, Abonia JP, Assa'ad AH, Kovacic MB, Biagini Myers JM, Bochner BS, He H, Hershey GK, Martin LJ, Rothenberg ME. Variants of thymic stromal lymphopoietin and its receptor associate with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 160-165. e3 [PMID: 20620568]
  - 17 Reefer AJ, Hulse KE, Lannigan JA, Solga MD, Wright PW, Kelly LA, Patrie J, Chapman MD, Woodfolk JA. Flow cytometry imaging identifies rare T(H)2 cells expressing thymic stromal lymphopoietin receptor in a "proallergic" milieu. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 1049-1058. 1049-1058 [PMID: 20888036]
  - 18 Furuta GT, Liacouras CA, Collins MH, Gupta SK, Justinich C, Putnam PE, Bonis P, Hassall E, Straumann A, Rothenberg ME. Eosinophilic esophagitis in children and adults: a systematic review and consensus recommendations for diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2007; 133: 1342-1363 [PMID: 17919504 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.08.017]
  - 19 Carr S, Watson W. Eosinophilic esophagitis. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011; 7 Suppl 1: S8 [PMID: 22165816 DOI: 10.1186/1710-1492-7-S1-S8]
  - 20 Almansa C, Krishna M, Buchner AM, Ghabril MS, Talley N, DeVault KR, Wolfsen H, Raimondo M, Guarderas JC, Achem SR. Seasonal distribution in newly diagnosed cases of eosinophilic esophagitis in adults. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 828-833 [PMID: 19240704 DOI: 10.1038/ajg.2008.169]
  - 21 Chehade M. IgE and non-IgE-mediated food allergy: treatment in 2007. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007; 7: 264-268 [PMID: 17489046 DOI: 10.1097/ACI.0b013e32814a5607]
  - 22 Straumann A, Spichtin HP, Grize L, Bucher KA, Beglinger C, Simon HU. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: a follow-up of 30 adult patients for up to 11.5 years. *Gastroenterology* 2003; 125: 1660-1669 [PMID: 14724818 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.09.024]
  - 23 Dohil R, Newbury RO, Aceves S. Transient PPI responsive esophageal eosinophilia may be a clinical sub-phenotype of pediatric eosinophilic esophagitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1413-1419 [PMID: 22134787 DOI: 10.1007/s10620-011-1991-5]
  - 24 Franciosi JP, Liacouras CA. Eosinophilic esophagitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29: 19-27, viii [PMID: 19141338 DOI: 10.1016/j.iac.2008.09.001]
  - 25 Dalby K, Nielsen RG, Kruse-Andersen S, Fenger C, Durup J, Husby S. Gastroesophageal reflux disease and eosinophilic esophagitis in infants and children. A study of esophageal pH, multiple intraluminal impedance and endoscopic ultrasound. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1029-1035 [PMID: 20504244 DOI: 10.3109/00365521.2010.487917]
  - 26 Stevoff C, Rao S, Parsons W, Kahrilas PJ, Hirano I. EUS and histopathologic correlates in eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 373-377 [PMID: 11522985 DOI: 10.1067/mge.2001.116569]
  - 27 Furuta K, Adachi K, Kowari K, Mishima Y, Imaoka H, Kadota C, Koshino K, Miyake T, Kadowaki Y, Furuta K, Kazumori H, Sato S, Ishihara S, Amano Y, Honda M, Kinoshita Y. A Japanese case of eosinophilic esophagitis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 706-710 [PMID: 16933010 DOI: 10.1007/s00535-006-1827-9]
  - 28 Müller S, Pühl S, Vieth M, Stolte M. Analysis of symptoms and endoscopic findings in 117 patients with histological diagnoses of eosinophilic esophagitis. *Endoscopy* 2007; 39: 339-344 [PMID: 17427070 DOI: 10.1055/s-2007-966216]
  - 29 Collins MH. Histopathologic features of eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2008; 18: 59-71; viii-ix [PMID: 18061102 DOI: 10.1016/j.giec.2007.09.014]
  - 30 Kephart GM, Alexander JA, Arora AS, Romero Y,

## ■名词解释

变态反应: 也称超敏反应, 是指机体对某些抗原初次应答后, 再次接受相同抗原刺激时, 发生的一种以机体生理功能紊乱或组织细胞损伤为主的特异性免疫应答。人们日常遇到的皮肤过敏, 皮肤瘙痒、红肿, 就是一种变态反应。分4型: I型-速发型, II型-细胞毒型/细胞溶解型, III型-免疫复合物型, 以上3型均由抗体介导, IV型-迟发型或细胞介导型。而本文所描述的EoE主要是由Th2介导的IV型变态反应。

# 同行评价

本文对EoE的诊断及治疗进行了较全面的概括总结, 文献引用充实新颖, 为该领域的进一步研究提供了大量有价值的参考信息, 具有一定的理论价值和临床指导意义。

- Smyrk TC, Talley NJ, Kita H. Marked deposition of eosinophil-derived neurotoxin in adult patients with eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 298-307 [PMID: 19888203 DOI: 10.1038/ajg.2009.584]
- 31 Mueller S, Neureiter D, Aigner T, Stolte M. Comparison of histological parameters for the diagnosis of eosinophilic oesophagitis versus gastro-oesophageal reflux disease on oesophageal biopsy material. *Histopathology* 2008; 53: 676-684 [PMID: 19076684 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2008.03187.x]
- 32 Protheroe C, Woodruff SA, de Petris G, Mukkada V, Ochkur SI, Janarthanan S, Lewis JC, Pasha S, Lunsford T, Harris L, Sharma VK, McGarry MP, Lee NA, Furuta GT, Lee JJ. A novel histologic scoring system to evaluate mucosal biopsies from patients with eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 749-755. e11 [PMID: 19345285]
- 33 Gonsalves N, Policarpio-Nicolas M, Zhang Q, Rao MS, Hirano I. Histopathologic variability and endoscopic correlates in adults with eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 313-319 [PMID: 16923475 DOI: 10.1016/j.gie.2006.04.037]
- 34 Shah A, Kagalwalla AF, Gonsalves N, Melin-Aldana H, Li BU, Hirano I. Histopathologic variability in children with eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 716-721 [PMID: 19209168 DOI: 10.1038/ajg.2008.117]
- 35 White SB, Levine MS, Rubesin SE, Spencer GS, Katzka DA, Laufer I. The small-caliber esophagus: radiographic sign of idiopathic eosinophilic esophagitis. *Radiology* 2010; 256: 127-134 [PMID: 20505062 DOI: 10.1148/radiol.10091060]
- 36 Genevay M, Rubbia-Brandt L, Rougemont AL. Do eosinophil numbers differentiate eosinophilic esophagitis from gastroesophageal reflux disease? *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 815-825 [PMID: 20524860]
- 37 Spergel JM, Brown-Whitehorn T, Beausoleil JL, Shuker M, Liacouras CA. Predictive values for skin prick test and atopy patch test for eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 509-511 [PMID: 17291865 DOI: 10.1016/j.jaci.2006.11.016]
- 38 Liacouras CA, Spergel JM, Ruchelli E, Verma R, Mascarenhas M, Semeao E, Flick J, Kelly J, Brown-Whitehorn T, Mamula P, Markowitz JE. Eosinophilic esophagitis: a 10-year experience in 381 children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 1198-1206 [PMID: 16361045 DOI: 10.1016/S1542-3565(05)00885-2]
- 39 Spergel JM, Andrews T, Brown-Whitehorn TF, Beausoleil JL, Liacouras CA. Treatment of eosinophilic esophagitis with specific food elimination diet directed by a combination of skin prick and patch tests. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95: 336-343 [PMID: 16279563 DOI: 10.1016/S1081-1206(10)61151-9]
- 40 Markowitz JE, Spergel JM, Ruchelli E, Liacouras CA. Elemental diet is an effective treatment for eosinophilic esophagitis in children and adolescents. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 777-782 [PMID: 12738455 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07390.x]
- 41 Kagalwalla AF, Sentongo TA, Ritz S, Hess T, Nelson SP, Emerick KM, Melin-Aldana H, Li BU. Effect of six-food elimination diet on clinical and histologic outcomes in eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1097-1102 [PMID: 16860614 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.05.026]
- 42 Schaefer ET, Fitzgerald JF, Molleston JP, Croffie JM, Pfefferkorn MD, Corkins MR, Lim JD, Steiner SJ, Gupta SK. Comparison of oral prednisone and topical fluticasone in the treatment of eosinophilic esophagitis: a randomized trial in children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 165-173 [PMID: 18237866 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.11.008]
- 43 Aceves SS, Bastian JF, Newbury RO, Dohil R. Oral viscous budesonide: a potential new therapy for eosinophilic esophagitis in children. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2271-2279; quiz 2280 [PMID: 17581266]
- 44 Teitelbaum JE, Fox VL, Twarog FJ, Nurko S, Antonioli D, Gleich G, Badizadegan K, Furuta GT. Eosinophilic esophagitis in children: immunopathological analysis and response to fluticasone propionate. *Gastroenterology* 2002; 122: 1216-1225 [PMID: 11984507 DOI: 10.1053/gast.2002.32998]
- 45 Elliott EJ, Thomas D, Markowitz JE. Non-surgical interventions for eosinophilic esophagitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (3): CD004065 [PMID: 20238328]
- 46 Aceves SS, Newbury RO, Chen D, Mueller J, Dohil R, Hoffman H, Bastian JF, Broide DH. Resolution of remodeling in eosinophilic esophagitis correlates with epithelial response to topical corticosteroids. *Allergy* 2010; 65: 109-116 [PMID: 19796194 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02142.x]
- 47 Stein ML, Collins MH, Villanueva JM, Kushner JP, Putnam PE, Buckmeier BK, Filipovich AH, Assa'ad AH, Rothenberg ME. Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy for eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 1312-1319 [PMID: 17157662 DOI: 10.1016/j.jaci.2006.09.007]
- 48 Holgate S, Casale T, Wenzel S, Bousquet J, Deniz Y, Reisner C. The anti-inflammatory effects of omalizumab confirm the central role of IgE in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 459-465 [PMID: 15753888 DOI: 10.1016/j.jaci.2004.11.053]
- 49 Jacobs JW, Spechler SJ. A systematic review of the risk of perforation during esophageal dilation for patients with eosinophilic esophagitis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1512-1515 [PMID: 20238250 DOI: 10.1007/s10620-010-1165-x]
- 50 Hirano I. Dilation in eosinophilic esophagitis: to do or not to do? *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 713-714 [PMID: 20363413 DOI: 10.1016/j.gie.2009.12.026]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# SPARC蛋白及其在胃癌中的研究进展

王小霞, 杨明, 张艳桥

王小霞, 杨明, 张艳桥, 哈尔滨医科大学附属第三医院内八科 黑龙江省哈尔滨市 150086

王小霞, 硕士, 主要从事消化系肿瘤的基础及临床的研究

作者贡献分布: 本文综述主要由王小霞完成; 杨明修改; 张艳桥审核。

通讯作者: 张艳桥, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区哈平路150号, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院消化内八科. yanqiaozhang@126.com

电话: 0451-86298278

收稿日期: 2012-11-30 修回日期: 2013-01-04

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-18

## Progress in understanding role of SPARC protein in gastric cancer

Xiao-Xia Wang, Ming Yang, Yan-Qiao Zhang

Xiao-Xia Wang, Ming Yang, Yan-Qiao Zhang, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yan-Qiao Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yanqiaozhang@126.com

Received: 2012-11-30 Revised: 2013-01-04

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-18

## Abstract

SPARC is a cysteine-rich secretory protein that is highly conservative and shares >70% amino acid sequence homology across all kinds of living organisms. The single-copy gene encoding the SPARC protein is located on human chromosome 5q31.3-q32, consists of 10 exons, and has a full length of 25 900 bp. SPARC protein is mainly expressed in tissue repair-related fibroblasts and endothelial cells, and high expression of SPARC protein has been noted in some aggressive malignant tumors. The incidence and mortality of gastric cancer are high in China, and the high mortality is closely related with tumor invasion and metastasis. SPARC protein is abnormally expressed in gastric carcinoma, and there is still controversy over the role of SPARC in gastric carcinoma. In this paper we review recent progress in understanding the role of SPARC protein in gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: SPARC protein; Gastric cancer; Research progress

Wang XX, Yang M, Zhang YQ. Progress in understanding role of SPARC protein in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 409-414 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.409>

## 摘要

SPARC(secreted protein, acidic and rich in cysteine)蛋白是一种富含半胱氨酸(Cys)的酸性分泌蛋白, 编码SPARC蛋白的基因定位于人类染色体5q31.3-q32, 包含10个外显子, 全长25.9 kb, 为单拷贝基因, 高度保守, 在各种生物中有超过70%的氨基酸序列同源。在与组织修复有关的纤维母细胞和内皮细胞以及在部分具有侵袭性的恶性肿瘤中呈高度表达。胃癌, 在我国的发病率及死亡率均较高, 其高死亡率与肿瘤的侵袭和转移密切相关, SPARC蛋白在胃癌组织中存在异常表达, SPARC在胃癌中是促进还是抑制作用可以说尚存在争议。本文主要就SPARC蛋白及其在胃癌中的研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: SPARC蛋白; 胃癌; 研究进展

王小霞, 杨明, 张艳桥. SPARC蛋白及其在胃癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 409-414 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.409>

## 0 引言

胃癌, 在我国的发病率及死亡率均较高, 其高死亡率与肿瘤的侵袭和转移密切相关。目前研究发现, SPARC(secreted protein, acidic and rich in cysteine)蛋白在胃癌组织中存在异常表达, 大多数基础及临床研究结果报道其作用是抑制胃癌的增殖、侵袭与转移, 提示其可能起到抑癌作用, 但也有一些研究表明: SPARC高表达患者预后差, 提示其可能起到促癌作用。因此, SPARC

## ■背景资料

通过参阅近几年至近十几年, 关于SPARC蛋白在人类恶性肿瘤中尤其在胃癌中的文献报道, 客观的分析了SPARC蛋白在恶性肿瘤及胃癌中的作用, 以及与SPARC蛋白相关药物的临床应用。

## ■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

## ■创新盘点

本文对近年来关于SPARC蛋白的研究以及在胃癌中的研究进展作了全面及详细的综述,目前尚未见有SPARC蛋白与胃癌相关研究的类似综述文章发表。

在胃癌中是促进还是抑制作用可以说尚存在争议. 本文主要就SPARC蛋白的分布、结构、功能、作用机制以及在胃癌中的研究进展作一综述。

## 1 SPARC蛋白的概述

SPARC蛋白是一种富含半胱氨酸(Cys)的酸性分泌蛋白<sup>[1]</sup>, 最早是由Termine等<sup>[2]</sup>于1981年在骨组织中鉴定出来的, 为骨非胶原蛋白中的一种钙结合蛋白, 因此又称作骨连接蛋白(osteonecfin)或基底膜40蛋白(BM40)<sup>[1]</sup>. 编码SPARC蛋白的基因定位于人类染色体5q31.3-q32, 包含10个外显子, 全长25.9 kb, 为单拷贝基因, 高度保守, 在各种生物中有超过70%的氨基酸序列同源。

研究表明SPARC蛋白在人体中分布广泛. 已经发现, SPARC在人体胚胎发育期和重塑与修复的组织中表达. 如: 在胎盘滋养层细胞、正常的软骨细胞以及血管平滑肌细胞中呈中等程度的表达<sup>[1,3,4]</sup>, 而在与组织修复有关的纤维母细胞和内皮细胞以及在部分具有侵袭性的恶性肿瘤呈高度表达<sup>[5]</sup>.

## 2 SPARC蛋白的结构与功能

SPARC蛋白的结构分为3个独立的区域<sup>[7,8]</sup>: 氨基末端酸性钙离子结合区域(I区), 铜离子结合区域(II区), 细胞外钙离子结合区域(III区). 其功能主要是参与胚胎发育、血管生成、组织重塑、细胞更新及组织修复等<sup>[5]</sup>. 具体分区及功能如下: (1)氨基末端酸性钙离子结合区域(I区). 此区具有稳定细胞外基质的作用, 包含SPARC蛋白主要的免疫位点, 可引起细胞形态改变和去黏附、抑制细胞游走并影响细胞外基质(extracellular matrix, ECM)蛋白的表达和基质金属蛋白酶的产生, 这是SPARC的主要抗原决定簇<sup>[8]</sup>; (2)与卵泡静止素同源的铜离子结合区域(II区). 此区的作用是抑制内皮细胞周期<sup>[8-11]</sup>、抑制细胞对某些生长因子的反应而促进凋亡、抗细胞黏附、抑制内皮细胞增殖及血管生成<sup>[8,12-14]</sup>; (3)细胞外钙离子结合区域(III区). 此区影响细胞外基质蛋白的表达, 抑制内皮细胞增殖和迁徙, 导致细胞形态改变、抗细胞黏附<sup>[6,8]</sup>.

总之, SPARC蛋白的模块结构与功能是相对应的, 其中抑制内皮细胞增殖、抗细胞黏附、抑制血管生成及促进凋亡等是SPARC蛋白的主要功能。

## 3 SPARC蛋白在肿瘤发生、发展中的作用

从大量文献中可以发现SPARC蛋白的功能是十分复杂的, 在不同组织中, SPARC蛋白受所在微环境的调节, 会表现不同的作用<sup>[15,16]</sup>. 因此, SPARC蛋白起到抑癌还是促癌的作用可以因不同的组织而异. 例如, SPARC蛋白在结直肠癌<sup>[17-19]</sup>、胰腺癌<sup>[20,21]</sup>、肺癌<sup>[22]</sup>、卵巢癌<sup>[23]</sup>、胃癌<sup>[24]</sup>、前列腺癌<sup>[25]</sup>、乳腺癌<sup>[26]</sup>、神经母细胞瘤<sup>[27]</sup>及急性白血病<sup>[28]</sup>等癌组织中起到抑癌作用. 然而, 在食管癌<sup>[29]</sup>、黑色素瘤<sup>[30]</sup>、胶质瘤<sup>[31]</sup>、肾癌<sup>[32]</sup>等肿瘤组织中却起到促癌作用。

**3.1 SPARC蛋白在抑癌作用中的研究进展及可能机制** SPARC蛋白在结肠癌、胰腺癌、卵巢癌及胃癌等癌组织中表达, 起抑癌作用, 可能通过抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤血管生成、促进细胞凋亡等机制来实现. (1)抑制肿瘤细胞增殖: 体外试验表明SPARC可直接抑制内皮细胞DNA的合成, 使细胞周期停止在G<sub>1</sub>中期. 有研究发现SPARC还可通过调节生长因子来抑制肿瘤细胞增殖, 如降低血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)等与其受体的结合, 从而有效抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[1,33]</sup>; (2)抑制肿瘤血管生成: 在肿瘤的侵袭及转移过程中, 血管生成起到关键性作用. 目前研究表明, SPARC蛋白能通过下调肿瘤细胞中的相关因子, 如血管生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase 7, MMP-7)及TGF-β等的表达, 抑制肿瘤血管生成<sup>[24]</sup>; (3)促进细胞凋亡: 细胞凋亡在肿瘤发生、发展及抗肿瘤药物方面有重要作用. SPARC主要通过2方面作用来促进细胞凋亡: (1)SPARC可以直接通过调节IRF1和IRF2等转录因子的表达, 激活外在途径, 促进内在途径的启动, 起到促进肿瘤细胞凋亡的作用; (2)有研究通过基础实验表明SPARC表达增加了肿瘤细胞的凋亡, 并增强了肿瘤细胞在放、化疗中的敏感性<sup>[18,34]</sup>, Tai等<sup>[35]</sup>通过在大肠癌细胞株中的研究表明, 过表达的SPARC通过使肿瘤细胞暴露于化疗药物及放射线中的, 导致肿瘤细胞凋亡增加。

**3.2 SPARC蛋白在促癌作用中的研究进展及可能机制** SPARC蛋白在食管癌、黑色素瘤、胶质瘤等肿瘤组织中高表达, 可能通过抗黏附及降解细胞外基质的途径起到促癌作用. (1)抗黏附作用: 细胞间的黏附力降低在肿瘤侵袭周围

组织和远处转移过程中起到关键性的作用, 有研究发现, 外源性的SPARC蛋白可以通过溶解细胞黏着斑、诱导细胞变圆、减少细胞间的黏附、促进细胞骨架(肌动蛋白)重排来完成抗黏附作用, 从而促进肿瘤细胞与瘤体分离, 增加肿瘤的侵袭能力<sup>[36]</sup>; (2)降解ECM: ECM降解是肿瘤细胞迁移的重要步骤, SPARC通过诱导多种蛋白酶(包括胶原酶、间质降解酶和明胶酶等)的合成来降解基质蛋白, 损害其屏障功能, 从而促进肿瘤细胞的迁移<sup>[37]</sup>。同时也有实验表明, SPARC能促进基底膜溶解和内皮细胞移动, 其水解产物(钙离子结合肽)能刺激肿瘤血管生成, 增强肿瘤的侵袭及转移<sup>[38]</sup>。

总之, SPARC蛋白在肿瘤进展中的作用不能用简单的促癌还是抑癌来解释, 我们认为SPARC蛋白起促癌还是抑癌的作用可能与肿瘤的病理类型及肿瘤微环境密切相关。

#### 4 SPARC蛋白在胃癌中的研究现状

**4.1 SPARC蛋白在胃癌中的表达** 近年来, 随着对SPARC蛋白在胃癌中的研究报道逐渐增多, 关于SPARC在胃癌中的表达部位也存在争议。有人认为SPARC蛋白存在于胃癌细胞中, 也有人认为主要存在于胃癌细胞的间质中<sup>[39]</sup>。如Wang等<sup>[40]</sup>通过RT-PCR、Northern印记及免疫组织化学研究发现, SPARC蛋白在胃癌细胞中高表达, 而在胃癌组织的基质细胞和成纤维细胞中低表达。然而, 也有研究结果表明: SPARC蛋白主要存在于胃癌的间质细胞中。例如, 有研究通过组织芯片和免疫组化的检测方法发现SPARC蛋白在胃癌组织周围的间质中高表达, 在胃癌细胞中罕见表达<sup>[41,42]</sup>。同样, 国内学者董明霞等<sup>[43]</sup>研究认为: SPARC蛋白主要表达于胃癌的间质中, 并且胃癌间质细胞中SPARC蛋白的表达与非肿瘤黏膜组织间质细胞中的表达差异有显著性( $P<0.01$ ), 并随着肿瘤恶性程度的增高, 表达量逐渐增加。

针对SPARC蛋白在胃癌中表达部位所存在的争议, Kranke等<sup>[42]</sup>做了分析, 他们认为胃癌组织中SPARC蛋白表达部位的不同可能与抗体的选择、免疫组织化学染色的过程以及个体差异有关。

**4.2 SPARC蛋白在胃癌中的作用及研究进展** 多数研究认为, SPARC蛋白主要存在于胃癌细胞外基质中, 是构成胃癌细胞微环境的重要组成部分之一, 在胃癌中SPARC蛋白可能主要起到抑癌

作用, 并可能通过以下机制抑制胃癌的侵袭与转移。

**4.2.1 SPARC蛋白抑制胃癌细胞增殖:** 在胃癌中, 高表达的SPARC蛋白对胃癌细胞的增殖可能起到抑制作用。韩伟等<sup>[33]</sup>证实: TGF- $\beta$ 与SPARC在胃癌细胞增殖过程中存在互相调节效应, SPARC并不与TGF- $\beta$ 或其受体结合, 而是与TGF- $\beta$ /TGF- $\beta$  RII复合体结合, 并减少其下游的信号传导, 从而抑制胃癌细胞增殖。也有实验将SPARC基因转染阳性的胃癌细胞株与SPARC基因敲除的胃癌细胞株的细胞增殖情况进行比较, 结果表明: SPARC基因转染阳性的胃癌细胞增殖明显低于SPARC基因敲除的胃癌细胞, 具有显著性差异( $P<0.01$ ), 即高表达的SPARC蛋白抑制了胃癌细胞的增殖<sup>[24]</sup>。

**4.2.2 SPARC蛋白抑制胃癌细胞侵袭及转移:** 在我国, 大多数胃癌诊断时即为晚期, 淋巴结转移及远处转移率较高, 血管生成是胃癌肿瘤侵袭转移的先决条件。大量研究已达成共识, SPARC在胃癌组织中通过下调VEGF的表达, 抑制血管生成, 进而抑制胃癌的侵袭转移。Zhang等<sup>[24]</sup>实验结果显示: 在胃癌中SPARC高表达抑制VEGF和MMP-7的表达主要是通过调节细胞因子的活性和调节细胞周期来影响, SPARC基因敲除后可增加VEGF和MMP-7的表达, 诱导肿瘤血管的生成。同样, Wang等<sup>[44]</sup>通过免疫组织化学方法检测80例胃癌组织和30例癌旁正常组织中SPARC和VEGF的表达, 并用CD34标记胃癌组织的微血管密度(MVD), 实验表明SPARC抑制胃癌的血管生成, 而VEGF则促进胃癌的血管生成, 胃癌组织中, SPARC与VEGF的表达呈反比( $P<0.01$ ), SPARC在干扰VEGF与微血管内皮细胞结合, 调节内皮细胞增殖的同时, 下调了VEGF的表达, 减少了胃癌的血管生成, 有效的阻止了胃癌的侵袭转移。在SPARC蛋白高表达抑制肿瘤血管生成方面的结论与国内杨迷玲等<sup>[45]</sup>的研究结果一致。

#### 5 SPARC蛋白与胃癌预后的相关研究进展

虽然, SPARC蛋白在胃癌间质中高表达可能抑制了胃癌的进展, 但是关于SPARC蛋白与胃癌预后的相关临床研究却表明: SPARC蛋白在间质中高表达的患者预后差<sup>[46,47]</sup>。如: Zhao等<sup>[46]</sup>通过对436例晚期胃癌患者, 应用免疫组织化学的方法, 检测SPARC蛋白的表达与胃癌的侵袭、转移及预后的关系, 结果表明: SPARC蛋白在胃癌中的高表达促进胃癌的侵袭、转移, 提示胃

#### ■应用要点

通过参阅近几年及更早期关于SPARC蛋白在人类恶性肿瘤中的研究文献, 客观全面的分析了高表达的SPARC蛋白在胃癌中的作用。同时, 基于SPARC蛋白与白蛋白高亲和力的特点, SPARC蛋白也可能成为晚期胃癌的治疗靶点之一, 从而为晚期胃癌患者的治疗带来新的希望。



### ■同行评价

本文内容较新,较好的反映了国内外该领域的最新进展,并阐述了作者自己的观点,同时进行展望,有较好的科学意义。

癌预后不良。董明霞等<sup>[42]</sup>通过对85例胃癌患者生存资料的分析得出:SPARC高表达患者中位生存时间为15 mo,低表达患者的中位生存时间是46 mo( $P<0.05$ ),SPARC高表达的患者生存期短,预后差。

总之,SPARC蛋白在胃癌间质中高表达,一些文献表明其抑制胃癌进展,而也有相关报道其提示不良预后,鉴于这一矛盾点,我们认为,胃癌本身存在异质性,同时SPARC蛋白在胃癌组织中的表达量受胃癌分化程度、临床分期、淋巴结转移情况及组织病理类型等因素影响,其功能因SPARC蛋白所处微环境不同而异。总结上述文献我们发现,SPARC蛋白在低分化胃癌、临床分期较晚(III-IV期)及淋巴结转移时高表达,很可能SPARC聚集起到抑癌作用,但SPARC蛋白并非胃癌一个独立预后因素,与其他临床及病理因素共同影响预后。因此,我们可以解释为什么高表达的SPARC在抑制胃癌进展的同时,却表现出不良预后。另外,SPARC高表达导致胃癌预后不良是否存在其他机制,有待于进一步的深入研究。

### 6 SPARC蛋白相关药物在胃癌中的研究进展

SPARC蛋白与白蛋白结合性药物有较强的亲和力,从而使肿瘤部位积累了更高浓度的药物来杀灭肿瘤。最近使用纳米白蛋白结合性药物抗肿瘤治疗成为了一个热点,如白蛋白结合型紫杉醇就是利用SPARC蛋白与该药物的高亲和力使药物进入肿瘤微环境,使肿瘤部位药物浓度增高,从而达到靶向杀灭肿瘤的作用。目前,白蛋白结合型紫杉醇已用于胰腺癌<sup>[48]</sup>及晚期乳腺癌<sup>[49]</sup>的治疗,明显好于普通紫杉醇的疗效。基于白蛋白结合性紫杉醇的靶向性、高效性及低毒性等特点,相关专家也在胃癌患者中进行了一些II期临床研究,寄希望在不久后就能得到令人满意的结果,从而为晚期胃癌患者提供治疗依据。

### 7 结论

随着SPARC蛋白在胃癌研究中的不断深入,使我们逐渐了解其在胃癌中的重要作用。综合分析,高表达的SPARC蛋白在胃癌中的作用可能主要是抑制了胃癌的进展及转移,也许能成为胃癌预后好的指标。另外,基于SPARC蛋白在胃癌组织中普遍表达及其与白蛋白高亲和力的特点,SPARC蛋白也可能成为晚期胃癌的治疗靶

点之一,从而为晚期胃癌患者的治疗带来新的希望。

### 8 参考文献

- 1 Brekken RA, Sage EH. SPARC, a matricellular protein: at the crossroads of cell-matrix communication. *Matrix Biol* 2001; 19: 816-827 [PMID: 11223341]
- 2 Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell* 1981; 26: 99-105 [PMID: 7034958]
- 3 Sage H, Vernon RB, Decker J, Funk S, Iruela-Arispe ML. Distribution of the calcium-binding protein SPARC in tissues of embryonic and adult mice. *J Histochem Cytochem* 1989; 37: 819-829 [PMID: 2723400 DOI: 10.1177/37.6.2723400]
- 4 Porter PL, Sage EH, Lane TF, Funk SE, Gown AM. Distribution of SPARC in normal and neoplastic human tissue. *J Histochem Cytochem* 1995; 43: 791-800 [PMID: 7622842 DOI: 10.1177/43.8.7622842]
- 5 Schellings MW, Vanhoutte D, Swinnen M, Cleutjens JP, Debets J, van Leeuwen RE, d'Hooge J, Van de Werf F, Carmeliet P, Pinto YM, Sage EH, Heymans S. Absence of SPARC results in increased cardiac rupture and dysfunction after acute myocardial infarction. *J Exp Med* 2009; 206: 113-123 [PMID: 19103879 DOI: 10.1084/jem.20081244]
- 6 Chlenski A, Cohn SL. Modulation of matrix remodeling by SPARC in neoplastic progression. *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21: 55-65 [PMID: 19958839]
- 7 Brune K, Hong SM, Li A, Yachida S, Abe T, Griffith M, Yang D, Omura N, Eshleman J, Canto M, Schlick R, Klein AP, Hruban RH, Iacobuzio-Donahue C, Goggins M. Genetic and epigenetic alterations of familial pancreatic cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 3536-3542 [PMID: 19064568 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0630]
- 8 Bradshaw AD, Sage EH. SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury. *J Clin Invest* 2001; 107: 1049-1054 [PMID: 11342565 DOI: 10.1172/JCI12939]
- 9 Yan Q, Sage EH. SPARC, a matricellular glycoprotein with important biological functions. *J Histochem Cytochem* 1999; 47: 1495-1506 [PMID: 10567433 DOI: 10.1177/002215549904701201]
- 10 Gordon KJ, Blobel GC. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1782: 197-228 [PMID: 18313409 DOI: 10.1056/NEJM200005043421807]
- 11 Motamed K, Funk SE, Koyama H, Ross R, Raines EW, Sage EH. Inhibition of PDGF-stimulated and matrix-mediated proliferation of human vascular smooth muscle cells by SPARC is independent of changes in cell shape or cyclin-dependent kinase inhibitors. *J Cell Biochem* 2002; 84: 759-771 [PMID: 11835401 DOI: 10.1002/jcb.10095]
- 12 Iruela-Arispe ML, Lane TF, Redmond D, Reilly M, Bolender RP, Kavanagh TJ, Sage EH. Expression of SPARC during development of the chicken chorion-allantoic membrane: evidence for regulated proteolysis in vivo. *Mol Biol Cell* 1995; 6: 327-343 [PMID: 7612967]
- 13 Lane TF, Sage EH. Functional mapping of SPARC: peptides from two distinct Ca<sup>2+</sup>-binding sites modulate cell shape. *J Cell Biol* 1990; 111: 3065-3076

- [PMID: 2269665 DOI: 10.1083/jcb.111.6.3065]
- 14 Lau CP, Poon RT, Cheung ST, Yu WC, Fan ST. SPARC and Hevin expression correlate with tumour angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Pathol* 2006; 210: 459-468 [PMID: 17029219 DOI: 10.1002/path.2068]
  - 15 Andrea Sabina LleraAuthor Vitae, Maria Romina GirottiAuthor Vitae, Lorena Gabriela BenedettiAuthor Vitae, Osvaldo Luis Podhajcer. Matricellularproteins and inflammatory cells: Ataskforce to promote or defeatcancer? *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2010; 2: 67-76 [DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.11.010]
  - 16 Arnold SA, Brekken RA. SPARC: a matricellular regulator of tumorigenesis. *J Cell Commun Signal* 2009; 3: 255-273 [PMID: 19809893 DOI: 10.1007/s12079-009-0072-4]
  - 17 Liang JF, Wang HK, Xiao H, Li N, Cheng CX, Zhao YZ, Ma YB, Gao JZ, Bai RB, Zheng HX. Relationship and prognostic significance of SPARC and VEGF protein expression in colon cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 71 [PMID: 20565704 DOI: 10.1186/1756-9966-29-71]
  - 18 Cheetham S, Tang MJ, Mesak F, Kennecke H, Owen D, Tai IT. SPARC promoter hypermethylation in colorectal cancers can be reversed by 5-Aza-2'deoxyctidine to increase SPARC expression and improve therapy response. *Br J Cancer* 2008; 98: 1810-1819 [PMID: 18458674 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604377]
  - 19 Yang E, Kang HJ, Koh KH, Rhee H, Kim NK, Kim H. Frequent inactivation of SPARC by promoter hypermethylation in colon cancers. *Int J Cancer* 2007; 121: 567-575 [PMID: 17397030]
  - 20 Infante JR, Matsubayashi H, Sato N, Tonascia J, Klein AP, Riall TA, Yeo C, Iacobuzio-Donahue C, Goggins M. Peritumoral fibroblast SPARC expression and patient outcome with resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 319-325 [PMID: 17235047 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.8824]
  - 21 Sato N, Fukushima N, Maehara N, Matsubayashi H, Koopmann J, Su GH, Hruban RH, Goggins M. SPARC/osteonectin is a frequent target for aberrant methylation in pancreatic adenocarcinoma and a mediator of tumor-stromal interactions. *Oncogene* 2003; 22: 5021-5030 [PMID: 12902985 DOI: 10.1038/sj.onc.1206807]
  - 22 Suzuki M, Hao C, Takahashi T, Shigematsu H, Shivapurkar N, Sathyanarayana UG, Iizasa T, Fujisawa T, Hiroshima K, Gazdar AF. Aberrant methylation of SPARC in human lung cancers. *Br J Cancer* 2005; 92: 942-948 [PMID: 15756262 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602376]
  - 23 Yiu GK, Chan WY, Ng SW, Chan PS, Cheung KK, Berkowitz RS, Mok SC. SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) induces apoptosis in ovarian cancer cells. *Am J Pathol* 2001; 159: 609-622 [PMID: 11485919 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61732-4]
  - 24 Zhang JL, Chen GW, Liu YC, Wang PY, Wang X, Wan YL, Zhu J, Gao HQ, Yin J, Wang W, Tian ML. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) suppresses angiogenesis by down-regulating the expression of VEGF and MMP-7 in gastric cancer. *PLoS One* 2012; 7: e44618 [PMID: 22957090 DOI: 10.1371/journal.pone.0044618]
  - 25 Lapointe J, Li C, Higgins JP, van de Rijn M, Bair E, Montgomery K, Ferrari M, Egevad L, Rayford W, Bergerheim U, Ekman P, DeMarzo AM, Tibshirani R, Botstein D, Brown PO, Brooks JD, Pollack JR. Gene expression profiling identifies clinically relevant subtypes of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 811-816 [PMID: 14711987 DOI: 10.1073/pnas.0304146101]
  - 26 Bergamaschi A, Tagliabue E, Sørbye T, Naume B, Trulzi T, Orlandi R, Russnes HG, Nesland JM, Tammi R, Auvinen P, Kosma VM, Ménard S, Børresen-Dale AL. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol* 2008; 214: 357-367 [PMID: 18044827 DOI: 10.1002/path.2278]
  - 27 Chlenski A, Liu S, Crawford SE, Volpert OV, DeVries GH, Evangelista A, Yang Q, Salwen HR, Farrer R, Bray J, Cohn SL. SPARC is a key Schwannian-derived inhibitor controlling neuroblastoma tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2002; 62: 7357-7363 [PMID: 12499280]
  - 28 DiMartino JF, Lacayo NJ, Varadi M, Li L, Saraiya C, Ravindranath Y, Yu R, Sikic BI, Raimondi SC, Dahl GV. Low or absent SPARC expression in acute myeloid leukemia with MLL rearrangements is associated with sensitivity to growth inhibition by exogenous SPARC protein. *Leukemia* 2006; 20: 426-432 [PMID: 16424866]
  - 29 Yamashita K, Upadhyay S, Mimori K, Inoue H, Mori M. Clinical significance of secreted protein acidic and rich in cysteine in esophageal carcinoma and its relation to carcinoma progression. *Cancer* 2003; 97: 2412-2419 [PMID: 12733139 DOI: 10.1002/cncr.11368]
  - 30 Nischt R, Wallich M, Reibetanz M, Baumann P, Krieg T, Mauch C. BM-40 and MMP-2 expression are not coregulated in human melanoma cell lines. *Cancer Lett* 2001; 162: 223-230 [PMID: 11146229]
  - 31 Schultz C, Lemke N, Ge S, Golembieski WA, Rempel SA. Secreted protein acidic and rich in cysteine promotes glioma invasion and delays tumor growth in vivo. *Cancer Res* 2002; 62: 6270-6277 [PMID: 12414657]
  - 32 Sakai N, Baba M, Nagasima Y, Kato Y, Hirai K, Kondo K, Kobayashi K, Yoshida M, Kaneko S, Kishida T, Kawakami S, Hosaka M, Inayama Y, Yao M. SPARC expression in primary human renal cell carcinoma: upregulation of SPARC in sarcomatoid renal carcinoma. *Hum Pathol* 2001; 32: 1064-1070 [PMID: 11679940 DOI: 10.1053/hupa.2001.28244]
  - 33 韩伟, 杨迷玲, 翟丽丽, 单丽辉, 柴翠翠, 齐蕾, 胡成乙, 王立峰. 胃癌SPARC、TGFβ1和Ki-67的表达及意义. *临床与实验病理学杂志* 2011; 6: 594-597
  - 34 Tang MJ, Tai IT. A novel interaction between procaspase 8 and SPARC enhances apoptosis and potentiates chemotherapy sensitivity in colorectal cancers. *J Biol Chem* 2007; 282: 34457-34467 [PMID: 17897953 DOI: 10.1074/jbc.M704459200]
  - 35 Tai IT, Dai M, Owen DA, Chen LB. Genome-wide expression analysis of therapy-resistant tumors reveals SPARC as a novel target for cancer therapy. *J Clin Invest* 2005; 115: 1492-1502 [PMID: 15902309 DOI: 10.1172/JCI23002]
  - 36 Rotllant J, Liu D, Yan YL, Postlethwait JH, Westerfield M, Du SJ. Sparc (Osteonectin) functions in morphogenesis of the pharyngeal skeleton and inner ear. *Matrix Biol* 2008; 27: 561-572 [PMID: 18430553 DOI: 10.1016/j.matbio.2008.03.001]
  - 37 Brekken RA, Puolakkainen P, Graves DC, Workman G, Lubkin SR, Sage EH. Enhanced growth

- of tumors in SPARC null mice is associated with changes in the ECM. *J Clin Invest* 2003; 111: 487-495 [PMID: 12588887 DOI: 10.1172/JCI16804]
- 38 Schiemann BJ, Neil JR, Schiemann WP. SPARC inhibits epithelial cell proliferation in part through stimulation of the transforming growth factor-beta-signaling system. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 3977-3988 [PMID: 14517312 DOI: 10.1091/mbc.E03-01-0001]
  - 39 Yin J, Chen G, Liu Y, Liu S, Wang P, Wan Y, Wang X, Zhu J, Gao H. Downregulation of SPARC expression decreases gastric cancer cellular invasion and survival. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 59 [PMID: 20525171 DOI: 10.1186/1756-9966-29-59]
  - 40 Wang CS, Lin KH, Chen SL, Chan YF, Hsueh S. Overexpression of SPARC gene in human gastric carcinoma and its clinic-pathologic significance. *Br J Cancer* 2004; 91: 1924-1930 [PMID: 15558074 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602213]
  - 41 Takahama Y, Yamada Y, Emoto K, Fujimoto H, Takayama T, Ueno M, Uchida H, Hirao S, Mizuno T, Nakajima Y. The prognostic significance of overexpression of the decoy receptor for Fas ligand (DcR3) in patients with gastric carcinomas. *Gastric Cancer* 2002; 5: 61-68 [PMID: 12111580 DOI: 10.1016/S0304-3835(02)00191-X]
  - 42 Franke K, Carl-McGrath S, Röhl FW, Lendeckel U, Ebert MP, Tänzer M, Pross M, Röcken C. Differential Expression of SPARC in Intestinal-type Gastric Cancer Correlates with Tumor Progression and Nodal Spread. *Transl Oncol* 2009; 2: 310-320 [PMID: 19956393 DOI: 10.1593/tlo.09169.]
  - 43 董明霞, 杨彦华, 于建宪. 胃癌组织SPARC表达及其意义. *齐鲁医学杂志* 2011; 4: 105-107
  - 44 Wang L, Yang M, Shan L, Qi L, Chai C, Zhou Q, Yao K, Wu H, Sun W. The role of SPARC protein expression in the progress of gastric cancer. *Pathol Oncol Res* 2012; 18: 697-702 [PMID: 22246794 DOI: 10.1007/s12253-012-9497-9]
  - 45 杨迷玲, 翟丽丽, 马丽华, 齐蕾, 单丽辉, 柴翠翠, 胡成乙, 王立峰. SPARC和VEGF在胃癌组织中的表达及与血管生成的关系. *诊断病理学杂志* 2012; 19: 52-55
  - 46 Zhao ZS, Wang YY, Chu YQ, Ye ZY, Tao HQ. SPARC is associated with gastric cancer progression and poor survival of patients. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 260-268 [PMID: 20028745 DOI: 10.1258/ebm.2011.011124]
  - 47 Winder T, Wilson PM, Yang D, Zhang W, Ning Y, Power DG, Bohanes P, Gerger A, Tang LH, Shah M, Lenz HJ. An individual coding polymorphism and the haplotype of the SPARC gene predict gastric cancer recurrence. *Pharmacogenomics J* 2012 Apr 10. [Epub ahead of print] [PMID: 22491017 DOI: 10.1038/tbj.2012.11.]
  - 48 Von Hoff DD, Ramanathan RK, Borad MJ, Laheru DA, Smith LS, Wood TE, Korn RL, Desai N, Trieu V, Iglesias JL, Zhang H, Soon-Shiong P, Shi T, Rajeshkumar NV, Maitra A, Hidalgo M. Gemcitabine Plus nab-Paclitaxel Is an Active Regimen in Patients With Advanced Pancreatic Cancer: A Phase I/II Trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4548-4554 [PMID: 21969517 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.5742]
  - 49 Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, Shaw H, Desai N, Bhar P, Hawkins M, O'Shaughnessy J. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7794-7803 [PMID: 16172456 DOI: 10.1200/JCO.2005.04.937]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布.《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01.

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”.(《世界华人消化杂志》编辑部)



# 乙型肝炎病毒相关性肝癌抗病毒治疗的现状

王文欢, 曹建彪

王文欢, 曹建彪, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心 北京市 100700

王文欢, 山西医科大学第二临床医学院 山西省太原市 030001

王文欢, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究.

作者贡献分布: 本文综述由王文欢完成; 曹建彪审校.

通讯作者: 曹建彪, 教授, 100700, 北京市东城区南门外大街5号, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心.

caojianbiao@sina.com

电话: 010-66721181

收稿日期: 2012-11-18 修回日期: 2013-01-22

接受日期: 2013-01-30 在线出版日期: 2013-02-18

## Antiviral therapy for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma

Wen-Huan Wang, Jian-Biao Cao

Wen-Huan Wang, Jian-Biao Cao, Institute of Hepatology, General Hospital of Beijing Military Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China

Wen-Huan Wang, the Second Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Correspondence to: Jian-Biao Cao, Professor, General Hospital of Beijing Military Command of Chinese PLA, 5 Nanmencang, Dongcheng District, Beijing 100700, China. caojianbiao@sina.com

Received: 2012-11-18 Revised: 2013-01-22

Accepted: 2013-01-30 Published online: 2013-02-18

## Abstract

Hepatitis B virus (HBV) is the main cause of hepatocellular carcinoma (HCC) in China. High HBV load is an important factor affecting the development and prognosis of primary HCC. Since surgery, local therapy and other treatments have the potential to reactivate HBV, antiviral therapy is considered the most fundamental treatment for HCC. Combination therapy with above treatment and antiviral therapy can significantly reduce the copies of HBV DNA, decrease tumor recurrence and metastasis, and extend survival time in patients with middle or advanced stage HCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; Hepatocellular carcinoma; Antiviral therapy

Wang WH, Cao JB. Antiviral therapy for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(5): 415-420 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/415.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.415>

## 摘要

乙型肝炎病毒感染是我国原发性肝癌的主要病因, 高病毒载量是肝癌发生、发展及预后的重要因素。外科治疗、局部治疗、放射治疗、系统治疗等均有激活乙肝病毒的潜在可能性, 影响抗肿瘤治疗的实施和效果。抗病毒治疗是乙型肝炎病毒相关性肝癌的最基本的病因治疗, 在上述治疗的基础上联合抗病毒治疗可有效降低病毒载量、肿瘤复发与转移率, 延长患者生存时间, 提高患者生存质量, 具有较好的临床效果。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 乙型肝炎病毒; 肝细胞肝癌; 抗病毒治疗

王文欢, 曹建彪. 乙型肝炎病毒相关性肝癌抗病毒治疗的现状. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 415-420 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/415.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.415>

## 0 引言

原发性肝癌(primary hepatic cancer, PHC)是我国最常见的恶性肿瘤之一, 临床上以肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最多见, 占90%以上, 故本文所指的“肝癌”主要是指HCC. 我国肝癌的病因因素, 主要有肝炎病毒感染、食物黄曲霉毒素污染、长期酗酒以及农村饮水蓝绿藻类毒素污染, 其他因素还包括肝脏代谢疾病、自身免疫性疾病以及隐源性肝病或隐源性肝硬化等<sup>[1]</sup>. 目前治疗方法包括外科治疗、局部治疗、放射治疗、系统治疗等。

2011年我国卫生部颁发的《原发性肝癌诊疗规范》中明确指出, 对于具有乙型病毒性肝炎背景的HCC患者, 应特别注意检查和监测病毒载量(HBV DNA)以及肝炎活动. 已知上述治

## ■背景资料

原发性肝癌(PHC)是我国最常见的恶性肿瘤之一, 临床上以肝细胞肝癌(HCC)最多见, 占到90%以上. 我国肝癌的病因因素, 主要有肝炎病毒感染、食物黄曲霉毒素污染、长期酗酒以及农村饮水蓝绿藻类毒素污染, 其他因素还包括肝脏代谢疾病、自身免疫性疾病以及隐源性肝病或隐源性肝硬化等. 目前治疗方法包括外科治疗、局部治疗、放射治疗、系统治疗等。

## ■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

## ■ 创新盘点

本文对乙型肝炎病毒相关性肝癌抗病毒治疗的现状进行了系统的综述, 以期对临床治疗和诊断提供指导。

疗方法均有激活乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的可能性, 而病毒复制活跃及肝炎活动, 往往损害患者的肝功能, 并且明显地影响抗肿瘤治疗的实施和效果。如果检查发现肝炎病毒复制活跃, 必须及时地积极进行抗病毒治疗, 可以选用核苷类似物、 $\alpha$ 干扰素及其长效制剂和胸腺肽 $\alpha 1$ 等<sup>[1]</sup>。近年来, 抗病毒在HCC患者的治疗中起着重要作用, 肝癌的进展、治疗效果、复发与生存率与是否给予抗病毒治疗密切相关。本文就HBV相关HCC治疗方法基础上联合抗病毒治疗以及如何、何时进行抗病毒治疗进行现状分析。

## 1 HBV和HCC的关系

HBV是万恶之源, 只要存在HBV的复制, 就容易发生肝炎、肝硬化、肝癌3步曲。中国是HBV感染的高发区, 肝癌患者中约有90%合并有HBV感染背景<sup>[2,3]</sup>。2010版《慢性乙肝防治指南》明确指出: 慢性乙型肝炎的总体目标是最大限度地长期抑制HBV, 减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化, 延缓和减少肝脏失代偿、肝硬化、肝癌及其并发症的发生, 从而改善生活质量和延长存活时间<sup>[4]</sup>。大量研究表明, 高表达HBV DNA( $\geq 10^4$  IU/mL)水平与HCC的发生成正相关性<sup>[5-8]</sup>。Witjes等<sup>[9]</sup>对HCC患者生存率结合临床指标和病毒学进行了单因素和多因素分析, 结果显示高病毒载量(HBV DNA $\geq 10^5$  copies/mL)HCC患者1年、5年生存率为58%、11%, 低病毒载量(HBV DNA $<10^5$  copies/mL)分别为70%、35%, 研究显示高HBV DNA水平是影响患者生存率的重要因素, 检测HBV DNA并口服核苷(酸)类似物抗病毒药物可提高HCC患者的生存率。除了病毒“量”的特征外, HBV的基因“质”不同, 诱发肝癌的风险也不同<sup>[10]</sup>。目前我国流行的HBV基因型主要是C型和B型, C基因型在临床上以慢性乙型肝炎、肝炎肝硬化、肝癌多见, 比B基因型患肝癌的风险高两倍<sup>[11-13]</sup>。

## 2 手术切除联合抗病毒治疗

手术切除是治疗肝癌的首选方法, 但中晚期肝癌手术切除后复发转移率很高。目前认为肝癌手术切除后复发与肿瘤本身的大小、生长位置、有无门静脉癌栓、分化程度、治疗及宿主的年龄、是否合并肝炎、肝硬化及HBV的状态有关<sup>[14-18]</sup>。有研究已证实机体HBV状态影响肝癌术后复发, 在肝癌组织分化相同的情况下, 高

HBV DNA载量的肝癌组织表现为较高的侵袭性, HBV DNA的复制可削弱机体对肿瘤的免疫监视<sup>[19,20]</sup>。

Chuma等<sup>[17]</sup>研究发现, 术前低HBV DNA患者, 无论是否接受术后抗病毒治疗, 其无瘤生存率均高于术前高HBV DNA( $>10^4$  copies/mL)的患者。因此, 对术前高HBV DNA者, 宜尽早行抗病毒治疗。亦有研究认为术前HBV DNA $<2\ 000$  IU/mL患者宜在术前预防应用抗病毒药物<sup>[21]</sup>。Honda等<sup>[22]</sup>研究认为拉米夫定对治疗HBV相关的HCC是有益的, 能显著改善患者肝功能, 减少肝癌伴肝硬化手术切除后的复发。周运添等<sup>[23]</sup>在肝癌根治术后应用拉米夫定进行抗病毒治疗的治疗组与单纯进行肝癌根治术的对照组比较, 研究表明对肝癌手术后预防复发进行抗HBV治疗可取得良好效果, 并降低了临床肝癌的复发率, 延长了患者生存时间。

## 3 肝动脉化疗栓塞术联合抗病毒治疗

肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemo-embolization, TACE)治疗中晚期HCC疗效显著, 已成为当前对不能手术切除的中晚期肝癌非手术治疗的首选方法。另外, TACE在肝肿瘤切除术前应用, 可使肿瘤缩小, 有利于二期切除, 同时能明确病灶数目; 也用于肝癌切除术后, 预防复发<sup>[1]</sup>。国内外文献报道TACE治疗肝癌可能导致HBsAg阳性患者病毒的再激活<sup>[24,25]</sup>。TACE可使肿瘤原始血管得到彻底栓塞, 化疗药物对血管内膜损伤的同时可导致相应的肝动脉变细甚至闭塞, 随时间延长侧支循环开放, 成为肝癌转移与复发的主要原因之一。另外, 化疗药物可引起患者机体免疫力下降, 同时由于肝功能的损害, 可以激发患者体内HBV病毒的复制<sup>[26]</sup>。

国内外文献报道HBV DNA载量与HCC术后复发成正相关, 术后给予抗病毒治疗可以延缓HCC的复发时间<sup>[27,28]</sup>。李学达等<sup>[26]</sup>对治疗组患者TACE术后给予口服阿德福韦酯或拉米夫定抗病毒治疗, 研究表明TACE联合抗病毒治疗HCC可有效降低HBV DNA载量、肿瘤复发与转移率, 延长患者生存时间, 提高患者生存质量, 具有较好的临床效果。鲁荣华等<sup>[29]</sup>将HBV DNA阳性( $>10^3$  copies/mL)的122例HCC患者, 分为TACE+恩替卡韦治疗组(60例)和TACE组(62例), 研究结果显示, HBV DNA阳性的原发性肝癌患者在TACE治疗同时采用恩替卡韦抗HBV治疗可以改善肝功能和Child-Pugh分级, 降低血清

HBV DNA水平, 虽然治疗2年后实体瘤缩小差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 但治疗组在延长患者生存期等方面明显优于对照组( $P<0.05$ ). 拉米夫定、阿德福韦酯均可预防性治疗肝癌患者化疗后HBV再激活<sup>[30-32]</sup>.

#### 4 局部消融联合抗病毒治疗

局部消融治疗是借助医学影像技术的引导对肿瘤靶向定位, 局部采用物理或化学的方法直接杀灭肿瘤组织一类治疗手段. 主要包括射频消融、微波消融、冷冻治疗、高功率超声聚焦消融以及无水乙醇注射治疗, 具有微创、安全、简便和易于多次施行的特点<sup>[1]</sup>.

已有研究证实高HBV DNA( $>10^4$  copies/mL)载量是HBV相关HCC患者射频消融术后复发的独立危险因素<sup>[33]</sup>. 彭齐荣等<sup>[34]</sup>将HBV DNA阳性的HCC患者40例为研究组, 同时接受微波消融联合拉米夫定, 单纯接受微波消融治疗的40例同类患者为对照组, 观察比较两组患者HBV DNA定量和谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)水平. 治疗1 wk及2 wk时, 两组患者HBV DNA载量、ALT值比较无显著差异( $P>0.05$ ), 治疗4 wk时, 研究组HBV DNA定量和ALT水平明显小于对照组( $P<0.05$ ). 研究表明拉米夫定联合微波消融治疗HBV DNA阳性的HCC患者, 可抑制HBV复制, 减轻肝脏炎症, 保护患者肝功能.

#### 5 放疗联合抗病毒治疗

放疗是恶性肿瘤的基本治疗手段之一, 现代精确放疗技术发展迅速, 包括三维适形放疗、调强适形放疗和立体定向放疗等, 为采用放疗手段治疗HCC提供了新的机会. 国内外学者已经陆续报告采用现代精确放疗技术治疗不能手术切除的HCC的临床实践和研究, 对于经过选择的HCC患者, 放疗后3年生存率可达25%-30%<sup>[1]</sup>. 放疗有免疫抑制作用, HBV出现免疫逃避, 使HBV复制再度活跃.

多因素分析结果表明: HBV DNA( $>10^4$  copies/mL)是HBV相关HCC患者放疗的独立危险因素, 放疗前预防应用抗病毒药物可减少HBV再激活率<sup>[35]</sup>. 庄见齐<sup>[36]</sup>研究结果显示预防治疗组(替比夫定+放疗)HBV再激活率为0%(0/30), 对照组(单纯放疗)为29%(10/34), 两组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ). 研究表明应用放射治疗的HBsAg携带者, 治疗前预防应用替比夫定显著降低患者免疫受损之后HBV再激活率.

#### 6 全身化疗联合抗病毒治疗

全身化疗是指主要通过口服、肌肉或静脉途径给药进行化疗的方式. 目前推荐有亚砷酸注射液、FOLFOX方案, 现已证明含奥沙利铂(OXA)的联合化疗可以为晚期HCC患者带来较好的客观疗效、控制病情和生存获益, 且安全性好<sup>[1]</sup>. 但化疗可导致HBV再激活肝炎和化疗药物性肝炎的发生. HBV再激活肝炎的发生机制可能是化疗药物的细胞毒性改变了细胞内HBV免疫耐受状态, 从而导致HBV复制<sup>[37]</sup>.

有研究表明HBsAg阳性为高危因素, 化疗前HBV DNA $>10^4$  copies/mL是HBV再激活的独立危险因素, HBV基因型B、C的患者化疗后容易发生HBV激活<sup>[38,39]</sup>. Lalazar等<sup>[40]</sup>研究发现HBsAg阴性, 而HBcAb阳性的肿瘤患者化疗后会出现HBV激活, 这些患者存在HBV潜在感染, 其中HBV DNA以一种半衰期很长、机体难清除的共价闭合环状DNA存在, 虽然血液中HBsAg阴性, 但有激活危险. Oketani等<sup>[41]</sup>提出所有接受免疫抑制剂治疗前均应筛查HBsAg, 对于HBsAg阳性患者, 预防性使用核苷(酸)类似物是必要的. 另外, HBsAg阴性伴HBcAb阳性和/或HBsAb阳性患者在化疗后12 mo内应每月检测HBV DNA. 化疗前预防性应用抗病毒治疗可显著降低细胞毒药物化疗期间HBV复发的危险<sup>[42]</sup>.

#### 7 肝移植联合抗病毒治疗

一般认为, 对于局限性肝癌, 如果患者不伴有肝硬化, 则应首选肝切除术; 如果合并肝硬化, 肝功能失代偿(Child-Pugh C级), 且符合移植条件, 应该首选肝移植术<sup>[1]</sup>. 由于肝移植术中及术后大剂量、长期的激素和免疫抑制剂的应用使机体免疫功能受到抑制, 患者机体免疫力下降, 病毒复制能力增强, 激发患者体内HBV病毒的复制<sup>[43]</sup>. Wu等<sup>[44]</sup>报道, HBV DNA $>10^6$  copies/mL是肝移植术后复发的独立危险因素. 肝移植术后HBV再激活提高了移植失败的风险, 降低了患者的生存率. 移植术后需长期应用抗病毒药物来预防HBV的复发<sup>[45]</sup>.

#### 8 肝癌的抗病毒治疗策略

抗病毒治疗的目标是清除或持续抑制体内的病毒, 阻止病情进展恶化, 提高患者的生存质量. 慢性乙型肝炎病毒性肝炎(CHB)的两大治疗策略为持久应答策略和持久维持策略. 两种策略相对应的就是目前用于CHB治疗的两类药物,

#### ■应用要点

HCC患者生存率低, 可能与未结合抗病毒治疗或不规范的抗病毒治疗有关, 如果检查发现HBV复制活跃, 必须及时地积极进行抗病毒治疗, 但合理的抗病毒治疗方案尚缺乏统一的标准和循证医学证据, 还有待进一步研究.



## ■同行评价

本文内容较为重要,对临床有一定指导意义。

即聚乙二醇干扰素(PEG-IFN- $\alpha$ )与核苷(酸)类似物(NA). NA通过抑制病毒发挥抗HBV作用,最大的挑战是易发生耐药,相比较NA的单一抑制病毒复制机制, PEG-IFN- $\alpha$ 具有双重机制,即既有抗病毒作用又有免疫调节作用<sup>[46,47]</sup>.

2012年APASL会议指出: 对于所有HCC患者,若HBV DNA>2 000 IU/mL,在给予根治性治疗前后均应给予口服NA治疗,对于接受TACE治疗的所有HCC患者,均应给予经验性NA治疗, HBsAg阳性患者化疗前应预防性使用抗病毒治疗,所有等待肝移植的患者若HBV DNA检测阳性均应开始NA治疗,拉米夫定联合小剂量乙肝免疫球蛋白(第1周, 400-800 IU/d, im.; 随后400-800 IU, 1次/mo, 长期用药)能安全有效地预防HBV再感染,也可考虑用拉米夫定联合阿德福韦酯预防,可减少移植后肝炎复发<sup>[48]</sup>. 而2010年《慢性乙型肝炎防治指南》对HCC患者抗病毒治疗的建议中对HBV相关疾病(包括HCC)实施肝移植患者的抗病毒治疗优先推荐拉米夫定联合阿德福韦酯<sup>[49]</sup>. 国外一项随机对照研究结果显示: 以阿德福韦酯替代乙肝免疫球蛋白联合拉米夫定治疗,具有同等保护作用,且耐受性更好,费用更低<sup>[50]</sup>. 对伴有明显肝功能失代偿或即将发生肝功能失代偿者,选用恩替卡韦或替诺福韦酯,干扰素治疗可导致肝衰竭,对失代偿期肝硬化HCC患者属禁忌症. 对于非失代偿期HCC患者,干扰素辅助治疗HBV相关HCC可减少HCC切除术后、TACE治疗后复发的危险性,提高患者的生存率<sup>[51]</sup>.

在何时停用NA问题上, APASL指南中写道, HBeAg阳性乙型肝炎治疗获得HBeAg血清学转换、转氨酶正常、HBV DNA测不到,巩固治疗1年可以考虑停药,而我国指南建议至少巩固治疗1年半,延长治疗可以减少复发. NA因需长期服用,均无明确的停药时间. 干扰素治疗如果获得治疗应答,则停药后具有长久地持续应答,因此可以按照指南规定疗程停药.

## 9 存在的问题与展望

HBV再激活影响患者的治疗疗效和生存期,但目前国内外尚无明确的HBV相关HCC的抗病毒治疗指南或共识,临床上只是参照慢性乙型肝炎的基础上用药,缺乏循证医学证据,尚需大量的临床观察以进一步探讨更好的抗病毒药物和治疗方案. 未来我们要开展前瞻性、多中心、随机对照临床试验,明确抗病毒治疗在HCC综

合治疗中的作用,改善患者生存质量及预后,并为临床医生规范HBV相关HCC的抗病毒治疗提供可靠依据.

## 10 结论

抗病毒治疗是HBV相关HCC的最基本的病因治疗,外科治疗、局部治疗、放射治疗、系统治疗等均有激活HBV的潜在可能性,影响抗肿瘤治疗的实施和效果,联合抗病毒治疗可有效降低病毒载量、肿瘤复发与转移率,延长患者的生存时间,提高患者生存质量. HCC患者生存率低,可能与未结合抗病毒治疗或不规范抗病毒有关,如果检查发现HBV复制活跃,必须及时地积极进行抗病毒治疗,但如何合理的抗病毒以及治疗方案尚缺乏统一的标准和循证医学证据,还有待进一步研究.

## 11 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
- 2 Yang JD, Roberts LR. Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 448-458 [PMID: 20628345 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.100]
- 3 周霞, 邓国宏, 向德栋, 王宇明. 乙型肝炎病毒复制水平对原发性肝癌的影响. 现代生物医学进展 2008; 8: 661-663
- 4 李海, 贾继东. 2010版《慢性乙型肝炎防治指南》解读—慢性乙型肝炎治疗目标和适应症. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 791-793
- 5 Zhou JY, Zhang L, Li L, Gu GY, Zhou YH, Chen JH. High hepatitis B virus load is associated with hepatocellular carcinomas development in Chinese chronic hepatitis B patients: a case control study. *Viral J* 2012; 9: 16 [PMID: 22244446 DOI: 10.1186/1743-422x-9-16]
- 6 Chen G, Lin W, Shen F, Iloeje UH, London WT, Evans AA. Past HBV viral load as predictor of mortality and morbidity from HCC and chronic liver disease in a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1797-1803 [PMID: 16817842]
- 7 Mendy ME, Welzel T, Lesi OA, Hainaut P, Hall AJ, Kuniholm MH, McConkey S, Goedert JJ, Kaye S, Rowland-Jones S, Whittle H, Kirk GD. Hepatitis B viral load and risk for liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in The Gambia, West Africa. *J Viral Hepat* 2010; 17: 115-122 [PMID: 19874478 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01168.x]
- 8 Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73 [PMID: 16391218]
- 9 Witjes CD, IJzermans JN, van der Eijk AA, Hansen BE, Verhoef C, de Man RA. Quantitative HBV DNA and AST are strong predictors for survival after HCC detection in chronic HBV patients. *Neth J Med* 2011; 69: 508-513 [PMID: 22279629]
- 10 杨怀壹, 李美璇, 陈建仁. 乙型及丙型肝炎患者发生肝

- 细胞癌的风险预测: REVEAL-HBV/HCV研究的回顾. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 357-362
- 11 韩学吉, 许顺姬, 倪光华, 崔鹤松, 朴红心. 延边地区朝鲜族乙型肝炎病毒感染者病毒基因型的检测与分析. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2529-2532
  - 12 庄辉, 李杰. 《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》解读: 乙型肝炎流行病学及预防. 中国病毒病杂志 2011; (5): 325-328
  - 13 Yang HL, Yeh SH, Chen PJ, Iloeje UH, Jen CL, Su J, Wang LY, Lu SN, You SL, Chen DS, Liaw YF, Chen CJ. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1134-1143 [PMID: 18695135 DOI: 10.1093/jnci/djn243]
  - 14 Toyama T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Oze T, Nakanishi F, Yasumaru M, Mochizuki K, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma including recurrent cases: a study of 861 patients in a single institution. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 317-322 [PMID: 18223490 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3180e790]
  - 15 Sasaki Y, Yamada T, Tanaka H, Ohigashi H, Eguchi H, Yano M, Ishikawa O, Imaoka S. Risk of recurrence in a long-term follow-up after surgery in 417 patients with hepatitis B- or hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2006; 244: 771-780 [PMID: 17060771]
  - 16 Kim BK, Park JY, Kim do Y, Kim JK, Kim KS, Choi JS, Moon BS, Han KH, Chon CY, Moon YM, Ahn SH. Persistent hepatitis B viral replication affects recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Liver Int* 2008; 28: 393-401 [PMID: 18028321]
  - 17 Chuma M, Hige S, Kamiyama T, Meguro T, Nagasaka A, Nakanishi K, Yamamoto Y, Nakanishi M, Kohara T, Shio T, Yamamoto K, Horimoto H, Kobayashi T, Yokoo H, Matsushita M, Todo S, Asaka M. The influence of hepatitis B DNA level and antiviral therapy on recurrence after initial curative treatment in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2009; 44: 991-999 [PMID: 19554391 DOI: 10.1007/s00535-009-0093-z]
  - 18 Rahbari NN, Mehrabi A, Mollberg NM, Müller SA, Koch M, Büchler MW, Weitz J. Hepatocellular carcinoma: current management and perspectives for the future. *Ann Surg* 2011; 253: 453-469 [PMID: 21263310 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31820d944f]
  - 19 Qu LS, Jin F, Huang XW, Shen XZ. High hepatitis B viral load predicts recurrence of small hepatocellular carcinoma after curative resection. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1111-1120 [PMID: 20422305 DOI: 10.1007/s11605-010-1211-1]
  - 20 Li N, Lai EC, Shi J, Guo WX, Xue J, Huang B, Lau WY, Wu MC, Cheng SQ. A comparative study of antiviral therapy after resection of hepatocellular carcinoma in the immune-active phase of hepatitis B virus infection. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 179-185 [PMID: 19727956 DOI: 10.1245/s10434-009-0694-z]
  - 21 Huang G, Lai EC, Lau WY, Zhou WP, Shen F, Pan ZY, Fu SY, Wu MC. Posthepatectomy HBV Reactivation in Hepatitis B-Related Hepatocellular Carcinoma Influences Postoperative Survival in Patients With Preoperative Low HBV-DNA Levels. *Ann Surg* 2012 Aug 3. [Epub ahead of print] [PMID: 22868358]
  - 22 Honda K, Seike M, Maehara S, Tahara K, Anai H, Moriuchi A, Muro T. Lamivudine treatment enabling right hepatectomy for hepatocellular carcinoma in decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2586-2590 [PMID: 22654459 DOI: 10.3748/wjg.v18.i20.2586]
  - 23 周运添, 谢建明, 黄婷娘, 林俊平. 肝癌术后抗乙型肝炎病毒治疗对预防肝癌复发的研究. 实用临床医药杂志 2011; 15: 112-113
  - 24 庞焯进, 李彦豪, 顾小媛, 杨旻, 何晓峰. 肝动脉化疗栓塞术对乙型肝炎病毒再激活的影响及拉米夫定对乙型肝炎病毒再激活的作用. 西部医学 2012; 24: 1728-1732
  - 25 Peng JW, Lin GN, Xiao JJ, Jiang XM. Hepatitis B virus reactivation in hepatocellular carcinoma patients undergoing transcatheter arterial chemoembolization therapy. *Asia Pac J Clin Oncol* 2012; 8: 356-361 [PMID: 22897940 DOI: 10.1111/j.1743-7563.2012.01534.x]
  - 26 李学达, 曹贵文, 崔新江, 宁厚法, 张云峰. 肝癌TACE治疗与术后保肝抗病毒治疗临床意义. 当代医学 2011; 17: 41-43
  - 27 Hung IF, Poon RT, Lai CL, Fung J, Fan ST, Yuen MF. Recurrence of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma is associated with high viral load at the time of resection. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1663-1673 [PMID: 18616655 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01872.x]
  - 28 Shuqun C, Mengchao W, Han C, Feng S, Jiahe Y, Wenming C, Zhengfeng Y, Yuxiang Z, Peijun W. Antiviral therapy using lamivudine and thymosin alpha1 for hepatocellular carcinoma coexisting with chronic hepatitis B infection. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 249-252 [PMID: 16608033]
  - 29 鲁荣华, 杨群, 杨列永, 李冬. 恩替卡韦联合TACE治疗原发性肝癌的效果分析. 肝脏 2012; 17: 254-255
  - 30 Lee HW, Lee HJ, Hwang JS, Sohn JH, Jang JY, Han KJ, Park JY, Kim do Y, Ahn SH, Paik YH, Lee CK, Lee KS, Chon CY, Han KH. Lamivudine maintenance beyond one year after HBeAg seroconversion is a major factor for sustained virologic response in HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 415-421 [PMID: 19902424 DOI: 10.1002/hep.23323]
  - 31 Verri WA, Souto FO, Vieira SM, Almeida SC, Fukada SY, Xu D, Alves-Filho JC, Cunha TM, Guerrero AT, Mattos-Guimaraes RB, Oliveira FR, Teixeira MM, Silva JS, McInnes IB, Ferreira SH, Louzada-Junior P, Liew FY, Cunha FQ. IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1697-1703 [PMID: 20472598 DOI: 10.1136/ard.2009.127233]
  - 32 Jones J, Shepherd J, Baxter L, Gospodarevskaya E, Hartwell D, Harris P, Price A. Adefovir dipivoxil and pegylated interferon alpha for the treatment of chronic hepatitis B: an updated systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2009; 13: 1-172, iii [PMID: 19607759 DOI: 10.3310/hta13350]
  - 33 Goto T, Yoshida H, Tateishi R, Enooku K, Goto E, Sato T, Ohki T, Masuzaki R, Imamura J, Shiina S, Koike K, Omata M. Influence of serum HBV DNA load on recurrence of hepatocellular carcinoma after treatment with percutaneous radiofrequency ablation. *Hepatol Int* 2011; 5: 767-773 [PMID: 21484129 DOI: 10.1007/s12072-011-9255-1]
  - 34 彭齐荣, 肖必, 程涛, 谭永才, 李灼亮, 余宙耀. 拉米夫定联合微波消融治疗原发性肝癌40例. 现代肿瘤医学 2010; 18: 755-757
  - 35 Jang JW, Kwon JH, You CR, Kim JD, Woo HY, Bae

- SH, Choi JY, Yoon SK, Chung KW. Risk of HBV reactivation according to viral status and treatment intensity in patients with hepatocellular carcinoma. *Antivir Ther* 2011; 16: 969-977 [PMID: 22024512 DOI: 10.3851/IMP1840]
- 36 庄见齐. 替比夫定预防放(化)疗后乙肝再激活临床观察. *河北医学* 2009; 15: 537-539
- 37 Wu XY, Li X, Chen ZH, Wen JY, Lin Q, Xing YF, Dong M, Wei L, Wang TT, Chen J, Lin ZX, Wan XB, Ruan DY, Ma XK. An optimized antiviral modification strategy for prevention of hepatitis B reactivation in patients undergoing prophylactic lamivudine and chemotherapy: a pilot study. *Tumour Biol* 2012 Dec 27. [Epub ahead of print] [PMID: 23269606]
- 38 Alexopoulou A, Theodorou M, Dourakis SP, Karayiannis P, Sagkana E, Papanikolopoulos K, Archimandritis AJ. Hepatitis B virus reactivation in patients receiving chemotherapy for malignancies: role of precore stop-codon and basic core promoter mutations. *J Viral Hepat* 2006; 13: 591-596 [PMID: 16907845]
- 39 Jang JW, Choi JY, Bae SH, Yoon SK, Chang UI, Kim CW, Cho SH, Han JY, Lee YS. A randomized controlled study of preemptive lamivudine in patients receiving transarterial chemo-lipiodolization. *Hepatology* 2006; 43: 233-240 [PMID: 16440357]
- 40 Lalazar G, Rund D, Shouval D. Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. *Br J Haematol* 2007; 136: 699-712 [PMID: 17338776]
- 41 Oketani M, Ido A, Uto H, Tsubouchi H. Prevention of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive therapy or chemotherapy. *Hepatol Res* 2012; 42: 627-636 [PMID: 22686858 DOI: 10.1111/j.1872-034x.2012.00998.x]
- 42 Loomba R, Rowley A, Wesley R, Liang TJ, Hoofnagle JH, Pucino F, Csako G. Systematic review: the effect of preventive lamivudine on hepatitis B reactivation during chemotherapy. *Ann Intern Med* 2008; 148: 519-528 [PMID: 18378948]
- 43 郭晓东, 熊璐, 杨坤, 丁宁, 郝晓刚, 吉英杰, 田如意, 孙婷. 阿德福韦酯联合乙肝免疫球蛋白预防HBV相关终末期肝病肝移植术后复发的临床研究. *现代生物医学进展* 2011; 11: 2122-2124
- 44 Wu TJ, Chen TC, Wang F, Chan KM, Soong RS, Chou HS, Lee WC, Yeh CT. Large fragment pre-S deletion and high viral load independently predict hepatitis B relapse after liver transplantation. *PLoS One* 2012; 7: e32189 [PMID: 22363813 DOI: 10.1371/journal.pone.0032189]
- 45 Cholongitas E, Goulis J, Akriviadis E, Papatheodoridis GV. Hepatitis B immunoglobulin and/or nucleos(t)ide analogues for prophylaxis against hepatitis b virus recurrence after liver transplantation: a systematic review. *Liver Transpl* 2011; 17: 1176-1190 [PMID: 21656655 DOI: 10.1002/lt.22354]
- 46 王宇, 侯金森, 贾继东. 《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》解读: 耐药预防和处理原则. *中国病毒病杂志* 2011; (5): 336-339
- 47 Zhang Y, Wu Y, Ye S, Wang T, Zhao R, Chen F, Abe K, Jin X. The response to interferon is influenced by hepatitis B virus genotype in vitro and in vivo. *Virus Res* 2013; 171: 65-70 [PMID: 23123214 DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.027]
- 48 廖运范. 新版《APASL慢性乙型肝炎诊疗指南》推荐意见速览. *国际肝病-第二十二届亚太地区肝脏研究协会年会特刊* 2012; (58): 4-5
- 49 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). *中国临床医生* 2012; 40: 66-78
- 50 Angus PW, Patterson SJ, Strasser SI, McCaughan GW, Gane E. A randomized study of adefovir dipivoxil in place of HBIG in combination with lamivudine as post-liver transplantation hepatitis B prophylaxis. *Hepatology* 2008; 48: 1460-1466 [PMID: 18925641 DOI: 10.1002/hep.22524]
- 51 Zhuang LP, Zeng XT, Meng ZQ. [A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials: adjuvant interferon therapy for hepatocellular carcinoma]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2012; 20: 363-367 [PMID: 22971282 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2012.05.012]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部 2012-01-01)



# 大型动物实验性肝纤维化及肝硬化模型的研究进展

郭若涵, 白彬

郭若涵, 白彬, 哈尔滨市医科大学附属第二医院放射介入科  
黑龙江省哈尔滨市 150086  
黑龙江省自然科学基金资助项目, No. D201270  
作者贡献分布: 本文综述由郭若涵完成; 白彬审校。  
通讯作者: 白彬, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院放射介入科。  
baibin1962@163.com  
电话: 0451-86297433  
收稿日期: 2012-12-07 修回日期: 2013-01-18  
接受日期: 2013-01-30 在线出版日期: 2013-02-18

## Advances in development of large animal models of liver fibrosis and cirrhosis

Ruo-Han Guo, Bin Bai

Ruo-Han Guo, Bin Bai, Department of Interventional Radiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China  
Supported by: the Nature Science Foundation of Heilongjiang Province, No. D201270  
Correspondence to: Bin Bai, Professor, Chief Physician, Department of Interventional Radiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. baibin1962@163.com  
Received: 2012-12-07 Revised: 2013-01-18  
Accepted: 2013-01-30 Published online: 2013-02-18

## Abstract

Liver fibrogenesis refers to a dynamic process involving complex cellular and molecular mechanisms, resulting in the chronic activation of tissue repair mechanisms and reiterated liver tissue injury. Regardless of the etiology, hepatic fibrosis is a characteristic feature of chronic liver disease. Advanced liver fibrosis results in cirrhosis, portal hypertension, and eventually hepatic cancer and liver failure. Liver fibrosis represents a significant health problem worldwide, and no acceptable therapy exists. Blocking of liver fibrosis formation has become a key problem in the therapy of chronic liver disease. Animal models of liver fibrosis and cirrhosis have been applied to study the occurrence of liver fibrosis and evaluate the potential and possibility of anti-fibrosis treatments for several decades. This article reviews recent advances in the development of large animal models (e.g., rabbits, dogs, monkeys, and pigs) of

liver fibrosis and cirrhosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Word:** Animal model; Liver fibrosis; Liver cirrhosis; Experimental research

Guo RH, Bai B. Advances in development of large animal models of liver fibrosis and cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 421-426 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/421.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.421>

## 摘要

肝纤维化作为一个动态的过程, 涉及复杂的细胞和分子机制, 所引起的慢性激活组织修复机制, 遵循反复的肝组织损伤。无论病因, 肝纤维化是慢性肝病的典型特征。进展中的肝纤维化可导致肝硬化、门静脉高压症, 并可能最终导致肝癌肝衰竭的形成。肝纤维化, 作为一个重大的全球卫生问题没有发现令人满意的治疗方式, 所以阻断肝纤维化形成已成为慢性肝病治疗中的关键问题。肝纤维化及肝硬化的动物模型被用于研究纤维化的发生和评价抗纤维化治疗的潜能和可能性。本文重点讨论大型动物, 兔、犬、猴、猪肝纤维化及肝硬化模型制作的研究进展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 动物模型; 肝纤维化; 肝硬化; 实验研究

郭若涵, 白彬. 大型动物实验性肝纤维化及肝硬化模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 421-426 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/421.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.421>

## 0 引言

肝纤维化(liver fibrosis)是由于慢性肝病所致的持续或反复的肝实质炎症坏死而引起纤维结缔组织大量增生, 其降解失衡导致肝内过多胶原沉积形成肝纤维化, 是各种慢性肝病损伤修复过程的共同结果<sup>[1]</sup>。由肝纤维化到肝硬化是一个连续的发展过程<sup>[2]</sup>。大多数慢性肝病患者都有不

## ■背景资料

肝纤维化是各种慢性肝病损伤修复过程的共同结果, 由肝纤维化到肝硬化是一个连续的发展过程, 如果任疾病发展甚至会导致凶险的肝癌死亡, 所以寻找适合并能够反映肝纤维化和肝硬化发生、发展变化的动物模型至关重要。

## ■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

## ■ 研发前沿

在我国肝炎、肝癌发病率较高, 控制住源头首先要了解其发展机制。我们选取与人类病理生理过程相似的大型动物, 其在影像学 and 血液生化学检查方面观察方便。国内外学者做了大量的研究试验, 如四氯化碳模型、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)模型、血吸虫模型, 这些方法简单易行, 可能反映疾病的发生发展过程。

同程度的肝纤维化, 如不积极治疗可发展成肝硬化甚至凶险的肝癌导致死亡。阻断和逆转其源头-肝纤维化形成已成为慢性肝病治疗中的关键问题。因此, 寻找适合并能够反映肝纤维化和肝硬化发生、发展变化的动物模型至关重要。大鼠、小鼠作为众多研究的首选, 对于我们理解疾病的病理生理过程产生极大的价值, 但与人类疾病发展过程有很大差距性。而大型动物其病理生理过程与人类极其相似。本文就兔、犬、猴、猪等大型动物的肝纤维化和肝硬化模型的研究进展做一阶段性回顾。

## 1 兔

兔子饲养简单, 肝脏大小适中, 血容量多, 与鼠类相比其在影像学 and 血液生化学检查方面观察方便。在制作纤维化动物模型刺激物的选择上尽量保证其反应机制与人类疾病发生发展的过程相似。

1.1 毒素和药物诱导肝纤维化肝硬化模型 较为经典的是四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )诱导的兔肝纤维化模型。 $\text{CCl}_4$ 是最为常用的肝脏毒素, 最早最广泛应用于实验性肝纤维化研究<sup>[3]</sup>。其优点在于造模简便、耗时短、费用低廉。此方法可应用于体内研究肝纤维化发生的细胞及分子机制、血清标志物与组织病理变化以及抗纤维化药物的筛选<sup>[4]</sup>。

1.1.1  $\text{CCl}_4$ 油溶液单纯法: (1)肝纤维化。丁亚楠等<sup>[5]</sup>给家兔腹腔注射 $\text{CCl}_4$ 油溶液, 2次/wk, 共12 wk。该实验病理学改变8 wk出现早期纤维化症状, 12 wk时肝小叶结构破坏, 间质纤维组织增生, 有明显肝纤维化症状; (2)肝硬化。Bravo等<sup>[6]</sup>经胃内灌注 $\text{CCl}_4$ 油溶液, 共19 wk,  $\text{CCl}_4$ 经植物油稀释为浓度100  $\mu\text{g/mL}$ 。实验开始的剂量为20  $\mu\text{g}$ (0.2 mL), 以后的剂量波动根据谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)指标的增减, ALT每增加或减少100 U/L,  $\text{CCl}_4$ 油溶液也增加或减少25%。此方法建立的肝硬化模型没有不良反应并且在实验期间没有死亡率。于晓红等<sup>[7]</sup>把 $\text{CCl}_4$ 和橄榄油, 按体积比为1:1配制, 充分摇匀, 制备成浓度50% $\text{CCl}_4$ 备用, 于臀部皮下注射 50% $\text{CCl}_4$ (0.23 mL/kg), 2次/wk, 8 wk后根据兔饮食、体质量及精神状态, 调整为1-2次/wk。

1.1.2  $\text{CCl}_4$ 油溶液+乙醇复合法: 在我国近年来酒精性肝炎(alcoholic steatohepatitis, ASH)有上升趋势, 其发病机制主要是酒精中间代谢产物乙醛对肝脏产生的氧化应激和脂质过氧化损伤, 诱发肝脏糖、脂代谢紊乱, 促进炎症免疫反应

和纤维化发生。乙醇可刺激肝细胞脂肪合成, 并诱导P450活性<sup>[8]</sup>, 并从而增加 $\text{CCl}_4$ 肝毒性, 加速肝细胞坏死。(1)肝纤维化。郭秋等<sup>[9]</sup>给家兔腹腔注射5%起始浓度 $\text{CCl}_4$ 色拉油溶液, 按0.1 mL/kg剂量, 前两周1次/wk, 第3周开始每隔3 d一次, 从第3周开始药物浓度每两次提高2%, 剂量维持在(0.1-0.2 mL/kg), 将10%乙醇水溶液为唯一饮用水。 $\text{CCl}_4$ 与乙醇合用使造模时间缩短, 药物剂量减少, 降低药物不良作用; (2)肝硬化。李栋等<sup>[10]</sup>给予双下肢外侧皮下交替多点注射500 mL/L  $\text{CCl}_4$ 橄榄油溶液, 2次/wk, 实验开始每日用300 mL/L食用乙醇10 mL灌服。该实验组兔第8 wk末可见肝脏体积缩小, 表面呈小结节或小颗粒状, 无弹性, 质地硬。乙醇联合应用造模可起到相辅的效果, 乙醇本身即为肝硬化的重要病因。此模型具有动物死亡率低、肝硬化成功率高和造模时间短等优点, 可较成功的模拟人酒精性肝硬化的小结节硬变。

1.1.3  $\text{CCl}_4$ 油溶液+苯巴比妥复合法诱导肝硬化模型: 苯巴比妥可以诱导肝内混合功能氧化酶, 使得细胞色素P450活性增强, 加速 $\text{CCl}_4$ 转变为 $\text{CCl}_3$ , 增加 $\text{CCl}_4$ 肝毒性。Crawford等<sup>[11]</sup>在行 $\text{CCl}_4$ 溶液灌胃前2 wk, 在饮用水中加入苯巴比妥(50 mg/d), 并且一直应用至实验造模成功。继而行 $\text{CCl}_4$ 灌胃, 1次/wk, 共16 wk。初始计量为20  $\mu\text{g}$   $\text{CCl}_4$ 溶于0.2 mL植物油中, 以后 $\text{CCl}_4$ 的剂量主要依据门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、ALT做调整。此模型对可用于研究慢性肝硬化疾病代谢、免疫和生物学方面改变的进展。与单一运用 $\text{CCl}_4$ 相比, 其方法简单, 缩短建模时间, 成模率高且死亡率低。出现病变分期明显, 有助于研究外在因素对肝纤维化进程的干预作用。能造成持续性肝损伤, 又不易引起急性肝功能衰竭。

1.1.4 吸入性 $\text{CCl}_4$ 诱导肝硬化模型: Ugazio等<sup>[12]</sup>在实验初期为了缩短依靠肝脏诱导的激发周期, 在兔子饮用水中加入0.05%的苯巴比妥钠1 wk, 将兔子置于 $\text{CCl}_4$ 的吸入室, 2 h/d, 2次/wk。肝脏毒素的初始浓度为100 ppm之后的浓度上升到200 ppm、400 ppm和最终600 ppm, 递增的肝毒素浓度依靠被破坏肝脏混合功能氧化酶系统的损伤程度。该实验方法独特, 但应用并不广泛。应用 $\text{CCl}_4$ 吸入的方法可以造成兔肝硬化模型, 但需要数月的时间, 而且吸入方法容易造成 $\text{CCl}_4$ 对环境的污染。

1.1.5 硫代乙酰胺(TAA)诱导肝纤维化模型: 硫代

乙酰胺(TAA)诱导肝纤维化的机制是影响蛋白合成肝细胞中酶的代谢<sup>[13]</sup>. TAA可作用在肝细胞DNA、RNA和蛋白合成酶上产生毒性作用, 还可诱肝的代谢紊乱, 而致肝坏死<sup>[14]</sup>. 王鹤桦等<sup>[15]</sup>用5%硫代乙酰胺(生理盐水配制, 过滤除菌)皮下注射, 2次/wk, 共12 wk, 诱导肝纤维化. TAA所致的肝纤维化模型适用于肝纤维化的机制研究、肝硬化向肝癌转化机制的研究和肝纤维化血清学标记物的可靠性评价.

**1.2 血吸虫性肝纤维化模型** 血吸虫引起肝纤维化其特点是引起肝细胞损伤、炎症和纤维化导致的慢性寄生虫卵诱导肉芽肿形成<sup>[16]</sup>. 血吸虫卵诱导肝纤维化模型是虫卵可随血流至肝脏沉积而导致肝损害, 此模型最接近人类血吸虫病性肝纤维化, 可研究人类血吸虫病肝硬化的进展过程和病理改变. Zou等<sup>[17]</sup>建立兔子经皮感染日本血吸虫尾蚴, 尾蚴大约(200±5)个/兔. 接受感染40 d后, 给予每只兔吡喹酮, 0.4 g/2次, 用以杀死寄生虫. Wang等<sup>[18]</sup>每只兔子腹部敷贴100个日本血吸虫尾蚴. 经过13 wk感染, 每周对兔子肝脏行B超检查, 一旦出现血吸虫性肝纤维化影像征象, 可确定为血吸虫性肝纤维化. 18 wk后, 可确定所有兔子血吸虫性肝纤维化建立成功. 所有兔子根据300 mg/kg的剂量经口服用吡喹酮.

**1.3 化学损伤性肝纤维化模型** 平阳霉素碘油乳剂(PLE)灌注法是一种制作肝纤维化模型的新方法. PLE肝纤维化模型制作方法简便只需一次给药, 不会导致大剂量注入毒性药物后产生肝坏死肝功能衰竭, 直接肝动脉给药, 药物直接作用于肝脏, 避免了全身给药后产生的其他脏器的不良反应<sup>[19]</sup>. 降低动物的死亡率, 模型可重复性较好. 李枫等<sup>[20]</sup>对实验组进行麻醉, 穿刺肝动脉注入(0.2 mL碘油+1.2 mg平阳霉素+0.2 mL生理盐水)制成的混悬乳剂. 该模型纤维化首先发生在门管区, 随病程进展逐渐向小叶内延伸. 肝内纤维化呈不均衡性, 病变程度肝内各部分轻重不等. 6 wk时即可产生明显的纤维化改变, 至10 wk时可出现肝硬化结节. 龙清云等<sup>[21]</sup>对实验组注入(平阳霉素1 mg+碘油0.2 mL), 术后抗炎3 d, 2 wk后实验组再次行胃十二指肠动脉穿刺注入化疗栓塞剂, 剂量同前. 经兔肝动脉栓塞术(hepatic artery embolization, TACE)可引起肝纤维化, 纤维化的程度与次数有关.

**1.4 非酒精性脂肪性肝炎肝纤维化模型** 脂肪肝不再是良性病变, 其肝纤维化的发生率高达25%. 非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steato-

hepatitis, NASH)是一个广义的范围从单一的脂肪转变为显著纤维化的脂肪性肝炎, 进一步可发展成肝硬化, 其导致的肝衰竭和进展性肝癌对生命构成威胁<sup>[22]</sup>. NASH进展过程与人类慢性病毒性肝炎和酒精的滥用临床发展过程相似. Ogawa等<sup>[23]</sup>建立的NASH兔子模型是进展期的肝纤维化(接近肝硬化), 通过在饲料中加入(0.75%胆固醇+12%植物油). 9 mo后, 兔子血清总胆固醇水平增高, 肝脏肉眼观呈现白色结节性. Kainuma等<sup>[24]</sup>在标准兔饲料中加入1%胆固醇, 持续12 wk. 每日测量完体质量后根据兔子体质量变化做量的调整, 日常饮食量严格限制到每天100 g/d. Aguilera等<sup>[25]</sup>建立兔肝高胆固醇血症实验模型, 饲料中加入(3%猪油+13%胆固醇), 共50 d. Fu等<sup>[26]</sup>配以高脂饲料(标准饲料+10%猪油+2%胆固醇), 实验期为8-12 wk. 采用高糖高脂喂养的方法, 可诱导兔发生脂肪肝、NASH和肝纤维化.

**1.5 胆管阻塞性肝硬化模型** 通过结扎、切断动物的胆总管, 造成胆管完全梗阻、胆汁排出受阻、胆管压力增高、肝内胆汁淤积, 从而引起肝细胞分泌功能障碍, 导致肝细胞坏死、增生, 肝硬化形成<sup>[27]</sup>. 付山峰等<sup>[28]</sup>分离并部分结扎新西兰兔胆总管, 存活兔于结扎14 wk后处死, 观察其胆道系统变化情况, 胆总管自狭窄以上呈不同程度扩张, 有的呈现串珠样扩张, 但无包裹性胆石沉积, 此类肝纤维化程度较重. 实验性胆汁性肝纤维化、肝硬化模型, 被认为是一种能模拟人肝纤维化的较理想动物模型, 主要用于考察药物的直接抗纤维化作用及用于筛选非创伤性肝纤维血清指标等研究.

## 2 狗

利用犬来制作肝纤维化、肝硬化模型, 具有以下优势: (1)犬作为大动物, 能很好地弥补肝脏体积小及血容量不足等问题; (2)犬的肝脏在解剖、血液流速以及血流动力学方面都更接近于人类; (3)大动物耐受性好, 能降低造模死亡率<sup>[29]</sup>.

### 2.1 毒素和药物引起肝硬化模型

**2.1.1 CCl<sub>4</sub>油溶液+单纯高脂饮食诱导肝硬化模型:** 章雅琴等<sup>[30]</sup>2次/wk按每千克体质量0.125 mL腹腔注射50%CCl<sub>4</sub>油溶液, 共56 wk, 饮食为米饭加含量为10%的猪油, 量为每天15 g/kg, 清水作为饮用水. 实验结果: 给药56 wk后, 大部分动物可见早期肝硬化, 假小叶形成. 陈钟等<sup>[31]</sup>用60%CCl<sub>4</sub>菜籽油乳剂于犬背部皮下注射, 1.0-1.3

### ■创新盘点

关于大型动物肝纤维化及肝硬化模型建立的文章没有学者进行过系统的总结, 大型动物模型的建立研究还处于探索阶段, 我们总结前人经验, 并争取创新.



## ■应用要点

本文介绍当前建立大型动物肝纤维化及肝硬化模型的技术和方法, 有利于对疾病发展过程的了解, 在临床工作中早发现早治疗, 控制其发生发展, 进而减少发病率, 提高患者的生活质量。

mL/kg, 每10 d/次, 共6-8次, 配合饮食控制, 所有犬以10%的猪油米饭喂养, 注射CCl<sub>4</sub>菜籽油乳剂后4 d内控制米饭量每日15 g/kg, 第5-10天不控制饮水量。该实验皮下注射CCl<sub>4</sub> 10-12 wk形成的犬肝硬化门静脉高压症模型。此实验饮食配方简单, 可操作性强; 避免口服给药受动物食欲影响而难以掌握剂量; 避免因肌肉注射或皮下注射易发生脓肿<sup>[32]</sup>。

**2.1.2 经肝动脉灌注CCl<sub>4</sub>诱导肝硬化模型:** Yang等<sup>[33]</sup>经导管每2 wk/次向肝动脉灌注50-100  $\mu$ L CCl<sub>4</sub>, 随着灌注CCl<sub>4</sub>次数的增加, 注药的肝脏发生了肝细胞变性坏死、肝脏纤维化及逐渐加重的肝硬化改变, 给药后16-24 wk逐渐加重并形成典型的肝硬化。

**2.1.3 二甲基亚硝胺(DMN)诱导肝硬化模型:** 既往研究表明巨噬细胞和炎症是DMN诱导肝硬化主要的病理学基础<sup>[34]</sup>, DMN制备肝硬化模型稳定呈进行性肝损害与人类肝硬变特征相似。Mwanza等<sup>[35]</sup>采用静脉给药, DMN剂量为2 mg/kg, 1 wk 2次, 维持10 wk。模型成功率较高, 死亡率也增加。Horiguchi等<sup>[36]</sup>将1%二甲基亚硝胺溶于盐水中由静脉给予2 mg/kg, 2次/wk, 共6 wk。

**2.2 肝硬化门静脉高压症模型** 我国95%以上的门静脉高压症患者以肝炎后肝硬化最为常见。犬为制备肝硬化门静脉高压模型常用的动物之一。曹昱等<sup>[37]</sup>对犬实行肝两叶切除, 其余三叶钛夹缩紧术。该实验最终侧枝曲张及脾脏增大, 肝功能指标表现出肝硬化特征。血管栓塞剂制备门脉高压动物模型是栓塞剂阻塞于门静脉分支末梢, 引起汇管区炎症, 逐渐形成肝硬化门脉高压。Taylor在门静脉注入二氧化硅混悬液建立犬肝硬化门脉高压模型。邓明礼等<sup>[38]</sup>在门静脉内注射葡聚糖微球成功制备犬门脉高压模型, 以血管栓塞剂制备门脉高压模型, 其肝内门静脉血流梗阻更符合临床, 门静脉压力升高迅速, 适合窦前型肝硬化与肝硬化血流动力学改变及门体分流的研究<sup>[39]</sup>。但因血管栓塞剂价格昂贵, 给研究带来不便。

**2.3 胆管结扎诱导胆汁性肝纤维化肝硬化模型** Shasha等结扎犬胆管, 4 wk后可成功地制备了犬胆汁性肝硬化门脉高压模型。顾硕等<sup>[40]</sup>对新生杂种幼犬进行胆总管双重结扎或双重结扎并加以切断, 建立胆管阻塞性肝纤维化模型。幼犬胆管阻塞后形成肝纤维化比较快, 术后2 wk可见肝纤维化形成, 自发逆转率较低, 但该模型病死率高, 有明显的腹腔黏连, 不利于进一步的手术操作。

## 3 猪

**3.1 CCl<sub>4</sub>辅以饮食诱导肝硬化模型** 张俊晶等<sup>[41]</sup>制备CCl<sub>4</sub>辅以饮食猪肝硬化模型, 腹腔内注射40%CCl<sub>4</sub>脂肪乳溶液0.25 mL/kg, 2次/wk, 以玉米面为唯一饲料, 5%乙醇作饮料。9-10 wk后, 肝硬化成模率83.3%。Zhang等<sup>[42]</sup>腹腔注射40% CCl<sub>4</sub>脂肪乳0.25 mL/kg, 2次/wk, 共9 wk, 饮用5%乙醇水, 将玉米粉最为唯一的食物。

**3.2 高脂低蛋白低胆碱饮食诱导肝硬化模型** 罗葆明等<sup>[43]</sup>制备小型猪高脂低蛋白低胆碱饮食肝硬化模型, 由(65%米饭+35%猪油和胆固醇)混合组成, 无水乙醇稀释成10%作为唯一饮料。浓度为10%乙醇水作为唯一饮料, 实验动物不易耐受。周忠信等采用CCl<sub>4</sub>、苯巴比妥和无水酒精喂养小型猪, 辅以高脂低蛋白和低胆碱饮食。小型猪的血管结构、腹腔脏器解剖学特征均与人的相似, 故他是外科尤其是肝胆外科常用的实验动物。

**3.3 肝硬化门静脉高压症模型** 廖清华等<sup>[44]</sup>制备肝硬化门脉高压症模型采用50%CCl<sub>4</sub>花生油溶液, 剂量为0.25 mL/kg, 清晨空腹称完体质量后腹腔注射, 2次/wk, 每日3餐给予混合无水乙醇的饲料喂养。该实验方法70 d达到成模标准, 成模率100%。He等<sup>[45]</sup>注射CCl<sub>4</sub> 3 mg/(kg·d)和戊巴比妥3 mg/(kg·d)饮食, 为加速其进程在饮食中加入20%脂肪, 并将10%乙醇作为唯一饮用水诱导实验性门静脉高压肝硬化模型, 王磊等<sup>[46]</sup>通过肝动脉乙醇注入法构建肝硬化门脉高压症猪模型。Avritscher等<sup>[47]</sup>经导管肝动脉灌注碘化油和乙醇(3:1)混合物, 灌注量为16 mL或28 mL。

**3.4 胆管结扎诱导胆汁性肝纤维化肝硬化模型** 李德旭等普通猪行胆总管结扎制作胆汁性肝纤维化模型, 4 wk胆管扩张, 淤胆, 纤维组织增生, 胆管周围纤维增多<sup>[48]</sup>。Shi等<sup>[49]</sup>采用胆总管结扎致胆汁性肝硬化造模方法, 6 wk后, 存活实验猪全部形成胆汁性肝硬化, 模型的死亡率为25%, 造模成功率100%。胆管结扎所致的胆汁性肝硬化模型操作简单、污染少、造模时间短。

## 4 猴

由于国内外关于灵长类肝纤维化模型建立的研究报道甚少, 庞荣清等<sup>[50]</sup>建立高级灵长动物肝纤维化动物模型, 皮下注射400 mL/L CCl<sub>4</sub> 0.8 mL/kg, 1次/wk, 连续10 wk, 同时辅以高脂饲料喂养。实验结果表明肝组织发生了纤维化改变, 成功建立了猴肝纤维化模型。

## 5 结论

随着对肝纤维化及肝硬化发病机制的深入研究, 对大型动物肝纤维化及肝硬化模型的探索研究, 制备与人类发病机制相似, 简单、安全、有效的大型动物模型将成为可能, 对在临床工作中的药物治疗及手术研究有一定的指导意义。

## 6 参考文献

- 1 Wirkowska A, Paczek L. [Liver fibrosis and cirrhosis-causes. Part I]. *Przegl Lek* 2011; 68: 222-227 [PMID: 21853678]
- 2 Pinzani M, Rosselli M, Zuckermann M. Liver cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 281-290 [PMID: 21497745 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.009]
- 3 Masuda Y. [Learning toxicology from carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity]. *Yakugaku Zasshi* 2006; 126: 885-899 [PMID: 17016019 DOI: 10.1248/yakushi.126.885]
- 4 Knockaert L, Berson A, Ribault C, Prost PE, Fautrel A, Pajaud J, Lepage S, Lucas-Clerc C, Bégué JM, Fromenty B, Robin MA. Carbon tetrachloride-mediated lipid peroxidation induces early mitochondrial alterations in mouse liver. *Lab Invest* 2012; 92: 396-410 [PMID: 22157718 DOI: 10.1038/labinvest.2011.193]
- 5 丁亚楠, 潘兴华, 刘志锋, 马丹, 朱向情, 马丽花, 何洁. 构建四氯化碳诱导的家兔肝纤维化模型. *中国组织工程研究与临床康复* 2008; 12: 9066-9070
- 6 Bravo E, D'Amore E, Ciaffoni F, Mammola CL. Evaluation of the spontaneous reversibility of carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rabbits. *Lab Anim* 2012; 46: 122-128 [PMID: 22522417 DOI: 10.1258/la.2012.011035]
- 7 于晓红, 金博, 邱慧彬, 付山峰, 路平. 四氯化碳皮下注射诱导兔肝硬化模型的建立. *实验动物科学* 2011; 28: 40-43
- 8 Osna N. Alcohol and liver disease. *Semin Liver Dis* 2009; 29: 139 [PMID: 19387913 DOI: 10.1055/s-0029-1214369]
- 9 郭秋, 任克. 四氯化碳复合法诱导家兔肝纤维化模型的建立. *中国比较医学杂志* 2011; 21: 36-38, 87
- 10 李栋, 张乐玲, 侯怀水, 时庆, 沈柏均. 四氯化碳诱导兔肝硬化模型的动态研究. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1403-1407
- 11 Crawford MA, Hassam AG. Letter: Diagnostic test for multiple sclerosis. *Br Med J* 1975; 1: 150-151 [PMID: 1111723 DOI: 10.1046/j.1440-1681.2000.03381.x]
- 12 Ugazio G, Bosia S, Cornaglia E. Experimental model of cirrhosis in rabbits exposed to carbon tetrachloride by inhalation. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1995; 88: 63-77 [PMID: 7620839]
- 13 Chen IS, Chen YC, Chou CH, Chuang RF, Sheen LY, Chiu CH. Hepatoprotection of silymarin against thioacetamide-induced chronic liver fibrosis. *J Sci Food Agric* 2012; 92: 1441-1447 [PMID: 22102319 DOI: 10.1002/jsfa.4723]
- 14 Xie Y, Wang G, Wang H, Yao X, Jiang S, Kang A, Zhou F, Xie T, Hao H. Cytochrome P450 dysregulations in thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats and the counteracting effects of hepatoprotective agents. *Drug Metab Dispos* 2012; 40: 796-802 [PMID: 22266841 DOI: 10.1124/dmd.111.043539]
- 15 王鹤桦, 潘兴华, 庞荣清, 杨勇琴, 刘建昆, 刘金海. 兔肝纤维化模型建立与自体骨髓干细胞移植的疗效. *中*

国组织工程研究与临床康复 2008; 12: 8472-8476

- 16 Xu H, Qian H, Zhu W, Zhang X, Yan Y, Mao F, Wang M, Xu H, Xu W. Mesenchymal stem cells relieve fibrosis of *Schistosoma japonicum*-induced mouse liver injury. *Exp Biol Med* (Maywood) 2012; 237: 585-592 [PMID: 22678013 DOI: 10.1258/ebm.2012.011362]
- 17 Zou WL, Yang Z, Zang YJ, Li DJ, Liang ZP, Shen ZY. Inhibitory effects of prostaglandin E1 on activation of hepatic stellate cells in rabbits with schistosomiasis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 176-181 [PMID: 17374578]
- 18 Wang P, Liang YZ. Chemical composition and inhibitory effect on hepatic fibrosis of Danggui Buxue Decoction. *Fitoterapia* 2010; 81: 793-798 [PMID: 20451591 DOI: 10.1016/j.fitote.2010.04.007]
- 19 Huang D, Chen Y, Zeng Q, Zhao J, Wu R, Wu X, Li Y. Transarterial embolization using pingyangmycin lipiodol emulsion and polyvinyl alcohol for the treatment of focal nodular hyperplasia of the liver. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1736-1741 [PMID: 21940344 DOI: 10.5754/hge11174]
- 20 李枫, 徐克, 刘瑞宝. 经兔肝动脉灌注平阳霉素碘油乳剂制作肝纤维化模型. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2090-2093
- 21 龙清云, 周云峰, 胡金香, 刘权焰. 兔化疗栓塞术后肝纤维化形成中转化生长因子- $\beta$ 1的动态变化. *中华实验外科杂志* 2008; 25: 585-587
- 22 Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231 [PMID: 11961152 DOI: 10.1056/NEJMra011775]
- 23 Ogawa T, Fujii H, Yoshizato K, Kawada N. A human-type nonalcoholic steatohepatitis model with advanced fibrosis in rabbits. *Am J Pathol* 2010; 177: 153-165 [PMID: 20489159 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090895]
- 24 Kainuma M, Fujimoto M, Sekiya N, Tsuneyama K, Cheng C, Takano Y, Terasawa K, Shimada Y. Cholesterol-fed rabbit as a unique model of nonalcoholic, nonobese, non-insulin-resistant fatty liver disease with characteristic fibrosis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 971-980 [PMID: 17096066 DOI: 10.1007/s00535-006-1883-1]
- 25 Aguilera CM, Ramirez-Tortosa CL, Quiles JL, Yago MD, Martínez-Burgos MA, Martínez-Victoria E, Gil A, Ramirez-Tortosa MC. Monounsaturated and omega-3 but not omega-6 polyunsaturated fatty acids improve hepatic fibrosis in hypercholesterolemic rabbits. *Nutrition* 2005; 21: 363-371 [PMID: 15797680]
- 26 Fu JF, Fang YL, Liang L, Wang CL, Hong F, Dong GP. A rabbit model of pediatric nonalcoholic steatohepatitis: the role of adiponectin. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 912-918 [PMID: 19248189 DOI: 10.3748/wjg.15.912]
- 27 张俊晶, 孟兴凯, 张瑞芳, 岳根全, 钟海燕. 大动物肝纤维化模型的研究进展. *肝胆胰外科杂志* 2006; 18: 56-57, 60
- 28 付山峰, 陈文生, 金博, 孙涛, 杨英祥, 路平, 刘敏, 崔立红. 兔胆总管部分结扎肝纤维化模型的建立. *天津医药* 2009; 37: 878-880, 917
- 29 Moreira PL, An YH. Animal models for therapeutic embolization. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2003; 26: 100-110 [PMID: 12677466 DOI: 10.1007/s00270-003-2632-y]
- 30 章雅琴, 李从蕊, 骆雷, 胡跃群, 容鹏飞, 王维. 腹腔注射四氯化碳辅以饮食改良制备犬慢性肝纤维化模型.

## 同行评价

本文对动物纤维化及肝硬化模型的建立进行综述, 对该类课题的研究具有一定指导意义。

- 生命科学研究 2011; 15: 410-414
- 31 陈钟, 戴向华, 明志祥, 朱李璐. 改良四氯化碳皮下注射法制备犬肝硬化门静脉高压症模型. 中国普通外科杂志 2009; 18: 63-67
- 32 Goldani HA, Matte US, Ramos AR, Costa TG, Winkelmann LV, Meurer L, Vieira SM, Kieling CO, Silveira TR. The role of food restriction on CCl<sub>4</sub>-induced cirrhosis model in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2007; 58: 331-337 [PMID: 17275271 DOI: 10.1016/j.etp.2006.11.007]
- 33 Yang ZH, Ye XH, Tan Y, Zhang M, Zhou MZ, Xie JX, Chen M, Zhou C. Evaluation of cirrhotic liver with perfusion-weighted magnetic resonance imaging: a preliminary experimental study in animal models with half-liver cirrhosis. *Chin Med Sci J* 2006; 21: 252-257 [PMID: 17249201]
- 34 Chen JY, Chen HL, Cheng JC, Lin HJ, Tung YT, Lin CF, Chen CM. A Chinese herbal medicine, Gexia-Zhuyu Tang (GZT), prevents dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis through inhibition of hepatic stellate cells proliferation. *J Ethnopharmacol* 2012; 142: 811-818 [PMID: 22706148 DOI: 10.1016/j.jep.2012.06.005]
- 35 Mwanza T, Miyamoto T, Okumura M, Kadosawa T, Fujinaga T. Ultrasonography, biochemical and hematological profiles in liver disease caused by intravenous administration of dimethylnitrosamine in dogs. *Jpn J Vet Res* 1997; 45: 153-161 [PMID: 9433016]
- 36 Horiguchi K, Hirano T, Ueki T, Hirakawa K, Fujimoto J. Treating liver cirrhosis in dogs with hepatocyte growth factor gene therapy via the hepatic artery. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 171-177 [PMID: 19221688 DOI: 10.1007/s00534-008-0029-7]
- 37 曹罡, 杨文彬, 蔡峰, 王永恒, 秦兆寅. 肝叶钛夹缩紧法快速制备狗肝硬化模型. 第四军医大学学报 2009; 30: 2876-2878
- 38 邓礼明, 张启瑜. 门静脉高压症大动物模型的研制进展. 温州医学院学报 2010; 40: 99-102
- 39 张春雨, 袁捷. 肝硬化门脉高压动物模型的研究进展. 肝胆胰外科杂志 2012; 24: 176-177
- 40 顾硕, 吴晔明, 严志龙, 殷敏智. 胆管阻塞性肝纤维化模型在新生幼犬中的尝试. 上海交通大学学报(医学版) 2006; 26: 1209-1211
- 41 张俊晶, 孟兴凯, 岳根全, 钟海燕, 张瑞芳. 腹腔注射四氯化碳辅以饮食调控制备猪肝硬化模型. 中国中西医结合消化杂志 2007; 15: 231-233
- 42 Zhang JJ, Meng XK, Dong C, Qiao JL, Zhang RF, Yue GQ, Zhong HY. Development of a new animal model of liver cirrhosis in swine. *Eur Surg Res* 2009; 42: 35-39 [PMID: 18987472 DOI: 10.1159/000167855]
- 43 罗葆明, 周忠信, 王捷, 潘景升, 马健鸿, 戴晓宁. 阻断肝右静脉对肝硬化小猪肝脏血流动力学的影响. 中国超声医学杂志 2002; 18: 4-8
- 44 廖清华, 林伟箭, 黄理哲, 田磊, 吴向华. 广西巴马小型猪构建肝硬化门脉高压症动物模型的实验研究. 广西医科大学学报 2010; 27: 661-664
- 45 He XJ, Huang TZ, Wang PJ, Peng XC, Li WC, Wang J, Tang J, Feng N, Yu MH. Morphological and biomechanical remodeling of the hepatic portal vein in a swine model of portal hypertension. *Ann Vasc Surg* 2012; 26: 259-267 [PMID: 22192237 DOI: 10.1016/j.avsg.2011.10.007]
- 46 王磊, 刘福全, 岳振东, 赵洪伟. 应用介入技术建立猪肝硬化门脉高压模型的实验研究. 介入放射学杂志 2012; 21: 756-759
- 47 Avritscher R, Wright KC, Javadi S, Uthamanthil R, Gupta S, Gagea M, Bassett RL, Murthy R, Wallace MJ, Madoff DC. Development of a large animal model of cirrhosis and portal hypertension using hepatic transarterial embolization: a study in swine. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 1329-1334 [PMID: 21802316 DOI: 10.1016/j.jvir.2011.04.016]
- 48 李德旭, 杨镇, 邱新光, 吴小勇, 李海洋. 猪胆汁性肝纤维化的形成机制研究. 中华实验外科杂志 2003; 20: 17-18
- 49 Shi LB, Peng CH, Peng SY, Liu YB, He W, Xu B, Chen XP, Bai MD, Wang Y, Tang Z. [Preliminary experimental study on treatment of portal hypertension with auxiliary partial orthotopic liver transplantation]. *Zhongguo Weizhongbing Jijiu Yixue* 2004; 16: 730-733 [PMID: 15585146]
- 50 庞荣清, 刘建昆, 何占龙, 王惠萱, 张步振, 王鹤桦, 杨勇琴, 屈璐, 潘兴华. 猕猴肝纤维化模型建立与评价. 世界华人消化杂志 2005; 13: 22-24

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.



# 非麦胶肠病性麦胶敏感的研究进展

孟捷, 谢春娥, 李军祥

孟捷, 谢春娥, 李军祥, 北京中医药大学东方医院消化科 北京市 100078

孟捷, 副主任医师, 主要从事功能性胃肠病和胃肠动力疾病方面的研究。

作者贡献分布: 本文由孟捷综述; 谢春娥与李军祥审校。

通讯作者: 李军祥, 主任医师, 100078, 北京市丰台区方庄芳星园一区6号, 北京中医药大学东方医院消化科。

lijx970508@sohu.com

电话: 010-67689751

收稿日期: 2012-10-16 修回日期: 2013-01-17

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-18

## Advances in research of non-coeliac gluten sensitivity

Jie Meng, Chun-E Xie, Jun-Xiang Li

Jie Meng, Chun-E Xie, Jun-Xiang Li, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

Correspondence to: Jun-Xiang Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. lijx970508@sohu.com

Received: 2012-10-16 Revised: 2013-01-17

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-18

## Abstract

Non-coeliac gluten sensitivity (NCGS) is a newly recognized clinical entity that is characterized by a wide variety of intestinal or extra-intestinal manifestations, and it may be the most common one in the spectrum of gluten-related disorders. The symptoms of NCGS improve or disappear after gluten withdrawal and relapse if gluten is reintroduced. There are no specific serological markers for NCGS although nearly half of patients are positive for antigliadin IgG antibodies. Since small intestinal biopsy is normal, the double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) and an exclusion of wheat allergy or coeliac disease are necessary for diagnosis. The pathogenesis is still unclear although immunology may play a role in its pathogenesis. This review will summarize our current knowledge about non-coeliac gluten sensitivity and outline pathogenic and epidemiological differences between NCGS and coeliac disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Non-coeliac gluten sensitivity; Coeliac disease; Gluten-related disorders

Meng J, Xie CE, Li JX. Advances in research of non-coeliac gluten sensitivity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 427-433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/427.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.427>

## 摘要

非麦胶肠病性的麦胶敏感(non-coeliac gluten sensitivity, NCGS)是一种新近才被认识到的疾病, 本病临床表现为多种消化系症状以及一些肠外症状, 在与麦胶相关的疾病谱中, NCGS很可能是患病率最高的一种。其临床症状在去除食物中的麦胶后减轻或消失, 再次进食含麦胶食物后症状复发, 尽管有近半数的患者血清抗麦胶蛋白抗体阳性, 目前尚没有诊断本病的特异性生物标志, 小肠黏膜活检通常正常, 本病的诊断依赖双盲, 有安慰剂对照的食物诱发实验, 同时需要除外麦胶肠病和小麦过敏。本病的发病机制和自然转归尚不明确。本文综述了当前对NCGS的最新认识以及本病在发病机制, 流行病学等方面与麦胶肠病的差异。

© 2013版权归Baishideng所有。

**关键词:** 非麦胶肠病性麦胶敏感; 麦胶肠病; 麦胶相关疾病

孟捷, 谢春娥, 李军祥. 非麦胶肠病性麦胶敏感的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 427-433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/427.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.427>

## 0 引言

在麦胶相关疾病中, 非麦胶肠病性麦胶敏感(non-coeliac gluten sensitivity, NCGS)是近期才被认识的, 非麦胶肠病性麦胶敏感有广泛的临床表现, 患者常常在进食麦胶后短期内出现肠易激综合征(irritablebowelsyndrome, IBS)样症状和肠外表现, 去除食物中的麦胶症状改善消失, 再次进食麦胶症状复发。尽管有不到50%的患者抗麦胶蛋白IgG抗体检测为阳性, 本病目前尚缺

## ■背景资料

非麦胶肠病性的麦胶敏感(NCGS)是一种新近才被认识到的疾病, 本病临床表现为多种消化系症状以及一些肠外症状, 在与麦胶相关的疾病谱中, NCGS很可能是患病率最高的一种。

## ■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

## ■创新盘点

本文对NCGS进行系统的综述,并且比较了本病在发病机制,流行病学等方面与麦胶肠病的差异。

乏特异性的诊断标志物,小肠黏膜活检没有麦胶肠病特征性的小肠绒毛萎缩。本病自然史不明确,不清楚该病是暂时性的还是慢性的,是否与其他麦胶相关疾病会相互转化。病因尚未明确,有研究显示本病有自身免疫的激活。

## 1 麦胶与麦胶相关疾病

麦胶是小麦和其他谷物如黑麦、大麦、燕麦等含有的结构蛋白质,可被划分为2组:醇溶麦胶蛋白gliadin和麦谷蛋白glutenin,当面粉与水混合时形成3D网格结构,赋予面团弹性和黏性<sup>[1,2]</sup>。醇溶蛋白是一组富含脯氨酸和谷氨酰胺的蛋白,是麦胶中主要毒性成分,这些蛋白在胃肠道中不能被消化,通过连蛋白zonulin途径使细胞骨架重构,破坏紧密连接,导致小肠黏膜通透性增高,醇溶蛋白的毒性作用还减少小肠黏膜上皮细胞的纤维肌动蛋白F-actin,抑制上皮细胞生长,诱导凋亡<sup>[3-5]</sup>。

世界上大多数人口的主食中都含有麦胶,小麦是麦胶蛋白的主要来源,世界上小麦品种大约有25 000种,研究发现在的小麦品种和1个世纪前的相比,含有更多导致免疫反应的麦胶蛋白<sup>[6]</sup>。传统的乳酸菌酵母发酵方法可以减少毒性麦胶蛋白的含量,但是近些年来烘焙业为缩短发酵时间而采用的添加化学品的高效食品发酵剂造成烘焙制品中含有更多的毒性麦胶蛋白<sup>[7-9]</sup>。与麦胶相关的疾病有很多,包括已被广泛认识的麦胶肠病(coeliac disease, CD)、小麦过敏、疱疹性皮炎、一些神经系统疾病(例如麦胶共济失调,麦胶周围神经病变<sup>[10,11]</sup>),还包括一些精神疾病如精神分裂症、急性躁狂、双向情感障碍<sup>[12]</sup>。麦胶相关疾病中研究最为充分的是麦胶肠病,麦胶肠病的概念近年已经发生巨大变化,以往认为麦胶肠病只是一种吸收不良疾病,现在认为是一种具有消化系和肠外表现的综合征<sup>[13]</sup>。对麦胶肠病认识的变化要归因于新的诊断方法,如特异性自身抗体的检测和病理学评估,麦胶肠病可能只是麦胶相关疾病谱的冰山一角。

非麦胶肠病性麦胶敏感也曾被称为非麦胶肠病性麦胶不耐受,麦胶过敏,麦胶敏感,以往相关命名和术语较混乱,有将麦胶肠病等同于麦胶敏感,还有一些文献将与进食麦胶相关疾病统称为麦胶敏感,2011年在奥斯陆召开了麦胶肠病国际研讨会,会议共识意见澄清了目前文献中含混的术语,称为奥斯陆定义<sup>[14]</sup>,该定义明确指出,与进食麦胶相关的疾病统称为麦

胶相关疾病,不再使用“麦胶不耐受”这一术语,明确了非麦胶肠病性麦胶敏感Non-coeliac gluten sensitivity这一病名。

非麦胶肠病性麦胶敏感一直困扰临床医生,很早就有报道一些患者其临床症状的出现、减轻和消失与进食麦胶相关,但又不符合小麦过敏和麦胶肠病的诊断标准<sup>[15]</sup>。肠黏膜活检没有CD的肠黏膜损害和小肠绒毛萎缩等病理表现,部分患者可能有抗麦醇溶蛋白抗体(anti-gliadin antibody, AGA)阳性,但是CD的特异性抗体抗组织谷氨酰胺抗体(anti-tissue transglutaminase antibodies, tTGAs),抗肌内膜抗体IgA(IgA-anti-endomysium antibody, IgA-EMA)为阴性,其肠道症状因为类似IBS,常被诊断为IBS。这些患者被留在无主之地,以往免疫科和消化科医生都未重视该种疾病的存在,这类患者辗转于各科之间,有时还会被转诊到精神科<sup>[16]</sup>。Biesiekierski等<sup>[17]</sup>进行一项双盲对照研究,34名排除了麦胶肠病的IBS患者,经过6 mo的去麦胶饮食症状得到改善,重新给予含麦胶的面包和松饼和安慰剂对照,1 wk后接受含麦胶食物组68%症状加重,安慰剂对照组仅有40%症状加重。麦胶组腹痛,腹胀,疲乏等症状都更重,该研究证明了非麦胶肠病性麦胶敏感的存在。尽管尚未形成权威性的诊断标准,在欧美国家公众有麦胶敏感浓厚兴趣,越来越多自认为有食物敏感的人未经医生确诊麦胶相关疾病就主动选择去麦胶食物(gluten free diet, GFD)<sup>[18]</sup>,在欧美很多国家都可买到GFD,仅在美国据路透社网上报道2011年GFD的市场已达13亿美元,预计2015年接近17亿美元,甚至大型快餐连锁店Subway都为消费者提供GFD的选择,但相比之下很多内科医生对其了解甚少<sup>[19]</sup>,可能与食品厂商推广相关概念有关。但是这样未经确诊就采用去麦胶饮食,容易形成含麦胶饮食都有毒有害的错误观念,可能使真正的麦胶肠病漏诊,增加不必要的经济负担,还可能造成其他营养素,如铁、叶酸、钙和维生素B<sub>12</sub>缺乏<sup>[20,21]</sup>。

## 2 流行病学

由于以往没有明确的定义和诊断标准,非麦胶肠病性麦胶敏感的流行病学数据不多,但是一般认为患病率要高于克罗恩病(Crohn disease, CD),大约为CD的6倍,约为6%<sup>[23,24]</sup>。

CD曾经被认为是罕见的疾病,近20年来随着对该病认识的深入,发现患病率远高于预期,麦胶肠病患病率在世界范围内约为

0.5%-1.0%<sup>[25,26]</sup>, 由于很多患者没有明显和典型的临床症状, 实际被确诊的患者只占患病人群的10%-15%, 研究表明近年欧洲北美麦胶肠病患病率在显著增长<sup>[27-29]</sup>。瑞典一项对第二代移民中儿童的麦胶肠病研究发现东亚东南亚第二代移民患病率比来自其他地区第二代移民明显低<sup>[30]</sup>, 我国缺乏相关流行病学和患病率的资料, 尚没有大规模的研究证实东亚国家患病率低, 但有推测随着经济发展, 传统以大米为主食的一些亚洲国家和地区小麦的消费量逐渐增加, 有可能伴随麦胶相关疾病患病率的上升。

非麦胶肠病性麦胶敏感任何年龄均可发病, 成人比儿童多见, 发病的中位年龄为40岁, 像其他功能性胃肠病(包括IBS)一样, 女性患病率高于男性, 12.8%麦胶敏感者一级亲属患有麦胶肠病<sup>[23,31]</sup>。有研究发现腹泻为主型的IBS患者IgA anti-tTG阳性率10.3%高于便秘为主型1.6%和混合型4.2%, 是否在腹泻为主型的IBS患者中存在较高比例的麦胶敏感有待进一步研究<sup>[32]</sup>。

### 3 主要表现

患者常常在进食麦胶后短期内出现症状, 去除食物中的麦胶症状改善消失, 再次进食麦胶症状复发。常见的临床表现为IBS样症状, 包括腹痛、腹胀、排便习惯异常(包括便秘和腹泻), 肠外症状包括头脑不清、头痛、疲乏、肌肉关节疼痛、肢体麻木、皮炎(湿疹、皮疹)、抑郁和贫血。一般患者有至少2项肠外症状, 肠外症状中最常见的是疲乏36%和头脑不清42%<sup>[33]</sup>。麦胶敏感的自然病程尚不清楚, 是否会自愈或转变为麦胶肠病尚待研究。

### 4 诊断

由于缺乏特异性的生物标志物, 非麦胶肠病性麦胶敏感的诊断依靠对临床表现的判断, 同时排除小麦过敏和麦胶肠病, 去除麦胶饮食会显著改善临床症状甚至使IBS样症状和肠外症状都完全消失, 食物中再次引入麦胶引起症状复发。因为不能排除去麦胶饮食的安慰剂作用, 双盲的, 安慰剂对照的麦胶激发实验能更准确地观察症状。

### 5 鉴别诊断

诊断麦胶敏感需要排除小麦过敏(wheat allergy)和CD。

5.1 小麦过敏 小麦过敏是一种免疫介导的对小

麦蛋白成分的过敏<sup>[34]</sup>, 与麦胶肠病不同, 小麦过敏由IgE介导, 通常在暴露后数分钟到数小时发病。小麦过敏可以通过呼吸道、皮肤、胃肠道暴露引发病状, 症状可表现在口鼻咽喉、气道、消化系和皮肤。胃肠道症状主要有: 胃肠痉挛、恶心、呕吐、胀气、腹泻和腹部疼痛, 与麦胶肠病, 或麦胶敏感不易区分。根据致敏原暴露的途径和免疫发生的机制可以分为以下几类: (1)经典的食物过敏可以影响皮肤胃肠道、呼吸道; (2)小麦依赖运动诱发过敏反应; (3)职业性哮喘(面点师)和鼻炎; (4)接触性皮炎。

以往对小麦过敏了解较多的是呼吸道过敏, 在很多国家面点师哮喘是常见的职业病性过敏, 和吸入小麦面粉的粉尘有关, 诊断通常依赖皮肤划痕症, 血清中特异的IgE抗体<sup>[35]</sup>。通过分析患者血清中的IgE抗体, 发现小麦蛋白中的过敏原, 包括 $\alpha$ 淀粉酶抑制剂, 小麦胚芽凝集素, 过氧化物酶, 脂质转移蛋白和IgE结合<sup>[36]</sup>。其中过氧化物酶和脂质转移蛋白还与进食途径的小麦过敏有关。进食引发的小麦过敏可以分为2类: 小麦依赖运动诱发过敏反应(wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis, WDEIA)是一种已被明确定义的综合征<sup>[37]</sup>, 由小麦蛋白中的特定成分 $\omega$ -5 gliadin引起, 在进食小麦后运动发生, 临床症状较轻的仅出现荨麻疹, 重者可以发生过敏性休克; 其他进食引发的小麦过敏包括异位性皮炎, 荨麻疹, I型变态反应和一组小麦蛋白相关<sup>[38]</sup>。

小麦过敏主要的诊断方法是皮肤划痕试验和血清特异IgE抗体, 这些方法的阳性预测值为75%, 诊断方法特异性不高, 因为常常存在与花粉的交叉反应, 很多皮肤划痕试验使用的试剂只含有小麦蛋白中的水溶、盐溶成分, 而不包括非水溶的麦胶蛋白成分, 使用未经加工的小麦做皮肤划痕试验或能克服这一问题, 近些年来小麦蛋白中的过敏原成分逐渐被分离鉴别, 提高了IgE分析的准确性。

小麦过敏多于婴幼儿时期起病, 罕有青春期或成年后起病的, 对小麦过敏的儿童常常还同时对其他食物过敏, 尽管在发生过敏性休克可能危及生命, 急性反应得到有效治疗后一般不会对器官和组织造成永久损害。小麦过敏去除食物中的小麦和相关制品可以避免发作, 与麦胶肠病不同, 不需要限制其他含醇溶蛋白的谷物, 例如大麦、黑麦、燕麦, 发作时应用抗组胺药物和皮质激素治疗有效。

5.2 麦胶敏感与麦胶肠病的不同特点 CD是具

### ■应用要点

本病与肠易激综合征(IBS)有部分重叠, 有研究发现去麦胶饮食可以改善部分肠易激患者的症状, 对NCGS进行深入研究, 有利于指导临床对本病的诊治。



## ■同行评价

本文内容比较重要, 并提供了较充足有意义的信息, 研究内容新颖, 对临床医生认识和诊断该疾病有一定帮助。

有遗传易感性的人员暴露于麦胶后, 激活了细胞介导(T细胞)和体液(B细胞)免疫反应的结果。Verdu等<sup>[16]</sup>提出一种假说: 具有基因易感性的人在其他导致肠道黏膜通透性发生改变的因素影响下失去了对麦胶的免疫耐受, 一部分人发展成为麦胶敏感, 对去麦胶饮食有症状反应, 抗组织谷氨酰胺抗体tTGAs阴性, 黏膜活检有淋巴细胞浸润, 另一部分人有抗组织谷氨酰胺抗体tTGAs阳性, 黏膜有淋巴细胞浸润, 但没有肠绒毛萎缩, 这部分人是潜在的麦胶肠病患者, 其中一部分出现肠绒毛萎缩, 成为CD, 一部分麦胶肠病患者发展为肠病相关的淋巴瘤, 但目前没有证据表明麦胶敏感会转变为麦胶肠病。

麦胶肠病患者症状的出现是缓慢的, 通常在暴露后数月到数年, 但也有长期坚持去麦胶饮食的患者偶然进食麦胶后马上出现呕吐、腹痛等症状。未坚持去麦胶饮食的成年CD患者中10%-15%会合并消化系恶性肿瘤, 尤其是淋巴瘤<sup>[39]</sup>, 麦胶敏感者是否与CD一样更易发生小肠淋巴瘤和其他胃肠道肿瘤也不明确。

**5.2.1 免疫:** CD的发病与固有免疫和适应性免疫均相关, 而麦胶敏感更多与固有免疫的激活有关<sup>[40]</sup>, 与CD和对照组相比, 麦胶敏感患者的固有免疫的生物标志物TLR(Toll-like receptor)2表达明显升高。TLR4转录的表达也显著升高, 适应性免疫的标记白介素-6(interleukin-6, IL-6)、T-helper-1 cytokine IFN- $\gamma$ 、IL-17和IL-21在CD表达升高, 但在麦胶敏感者肠黏膜表达没有明显升高, 麦胶敏感者与麦胶肠病者相比, 天然调节T细胞Treg cell的标志FOXP3的表达明显减少<sup>[38]</sup>。

**5.2.2 肠黏膜上皮屏障:** 在麦胶肠病的病理机制中肠黏膜上皮的损伤通透性升高是关键的一环, 通透性升高导致相关自身抗原进入肠黏膜上皮诱发自身免疫反应。与麦胶肠病不同, 乳果糖/甘露醇试验检测肠黏膜通透性, 麦胶敏感者不伴有肠道通透性升高, Biesiekierski等<sup>[33]</sup>使用双糖吸收实验检测肠道通透性, 麦胶敏感者在麦胶食物激发实验前后未发现明显变化。还有研究显示与健康对照组相比, 麦胶敏感者肠道通透性是降低的, PCR技术分析麦胶敏感者有紧密连接蛋白claudin CLDN4表达的升高<sup>[40]</sup>。

**5.2.3 合并其他自身免疫疾病:** 麦胶肠病患者胰岛素依赖性1型糖尿病、自身免疫性甲状腺疾病、Sjögren's综合征、自身免疫性肝病等自身免疫性疾病发病率明显升高<sup>[41,42]</sup>, 麦胶敏感者合并其他自身免疫疾病要少于麦胶肠病患者,

Volta等<sup>[23]</sup>的研究中78个麦胶敏感者中没有合并1型糖尿病患者, 仅有一例合并自身免疫性甲状腺炎, 而麦胶肠病患者中合并1型糖尿病和自身免疫性甲状腺炎分别为5%和19%。

**5.2.4 血清标志物:** 约50%麦胶敏感者抗麦胶蛋白抗体AGA阳性<sup>[23,43]</sup>, 这其中主要是IgG型AGA, 而IgA型AGA阳性不足10%。麦胶敏感者的IgG型AGA阳性率高于肠易激患者(20%)和普通人群(2%-9%)<sup>[44]</sup>; 麦胶敏感者IgA tTGA、IgA EmA均为阴性, 而在麦胶肠病患者中接近100%<sup>[23]</sup>。

**5.2.5 病理:** 约60%的麦胶敏感者肠黏膜属于Marsh分类<sup>[45,46]</sup>的0期, 剩下的40%患者上皮内淋巴细胞数量低于40%, 属于Marsh1期, 但是1期病变并非麦胶相关疾病特有, 一些自身免疫疾病, 例如桥本氏甲状腺炎、1型糖尿病、肠道感染(细菌、病毒、寄生虫)、幽门螺杆菌感染、乳糖不耐受, 食物过敏和免疫力低下均可见到, 有研究发现麦胶敏感者结肠和十二指肠黏膜活检存在嗜酸细胞浸润<sup>[47]</sup>。CD的典型病理表现为小肠绒毛的萎缩, 属于Marsh分类的2和3期。

**5.2.6 遗传:** 基因易感性在麦胶肠病发病起到关键作用, 已知CD的发病与人类白细胞抗原HLA II类基因密切相关, 在麦胶肠病中接近100%, 约95%CD患者HLA-DQ2阳性, 其余5%患者HLA-DQ8阳性。高加索人中约30%携带HLA-DQ2等位基因, 这提示HLA-DQ2或HLA-DQ8分子表达对于疾病发生虽不是决定性的, 但却是必要的<sup>[48]</sup>。在麦胶敏感者中HLA-DQ2和/或HLA-DQ8阳性比例仅略高于正常人, 普通人群为30%<sup>[23]</sup>。

**5.2.7 心理:** 麦胶敏感没有泛躯体化倾向, 个性与生活质量与CD患者无差异。但是去除麦胶饮食后重新在食物中引入麦胶发现麦胶敏感者比麦胶肠病者临床症状更多<sup>[49]</sup>。

## 6 治疗

和CD一样, 应当改变饮食习惯尽可能减少麦胶摄入, 谷物例如荞麦、大米、玉米、小米, 蔬菜例如藜麦、黄豆都可作为含麦胶食物的替代品<sup>[22]</sup>。由于目前对非麦胶肠病性的自然病程和转归尚不清楚, 尚不知麦胶敏感者是否需要像CD患者一样终生严格遵循去麦胶食谱, 有学者建议至少遵循去麦胶食谱1-2年再考虑在食物中重新引入麦胶<sup>[43]</sup>。还有学者提出这种非麦胶肠病性的麦胶敏感可能是由不同病因引起的有相同表现的综合征, 如果确实如此, 治疗应当找到根本的病因, 针对病因治疗<sup>[50]</sup>。

## 7 结论

随着对麦胶相关疾病研究, 目前发现麦胶相关疾病的发病率远比以往认识的高, 其中对CD的研究相对比较深入, 对麦胶相关疾病谱中的其他疾病的研究刚刚起步, 非麦胶肠病的麦胶敏感可能是该疾病谱中最常见的一类疾病, 非麦胶肠病的麦胶敏感具有麦胶肠病一些特点, 临床症状类似IBS, 诊断主要依赖双盲的, 安慰剂对照的麦胶激发实验, 同时排除麦胶肠病和小麦过敏, 诊断费时费力, 未来的研究需要寻找本病的特异性生物标志以便快速诊断; 目前研究显示本病的发病与免疫相关, 免疫机制在发病中的作用需要进一步研究. 本病与IBS有部分重叠, 有观察发现去麦胶饮食可以改善部分肠易激患者的症状, 是否麦胶摄入会通过影响肠道的免疫, 肠道菌群而诱发IBS也值得深入研究.

## 8 参考文献

- Wieser H. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol* 2007; 24: 115-119 [PMID: 17008153 DOI: 10.1016/j.fm.2006.07.004]
- Shewry PR, Halford NG, Belton PS, Tatham AS. The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2002; 357: 133-142 [PMID: 11911770 DOI: 10.1098/rstb.2001.1024]
- Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR, Drago S, Congia M, Fasano A. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* 2003; 52: 218-223 [PMID: 12524403]
- Dolfini E, Roncoroni L, Elli L, Fumagalli C, Colombo R, Ramponi S, Forlani F, Bardella MT. Cytoskeleton reorganization and ultrastructural damage induced by gliadin in a three-dimensional in vitro model. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7597-7601 [PMID: 16437684]
- Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Grazia Clemente M, Tripathi A, Sapone A, Thakar M, Iacono G, Carroccio A, D'Agate C, Not T, Zampini L, Catassi C, Fasano A. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 408-419 [PMID: 16635908 DOI: 10.1080/00365520500235334]
- van den Broeck HC, de Jong HC, Salentijn EM, Dekking L, Bosch D, Hamer RJ, Gilissen LJ, van der Meer IM, Smulders MJ. Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease. *Theor Appl Genet* 2010; 121: 1527-1539 [PMID: 20664999 DOI: 10.1007/s00122-010-1408-4]
- Gobbetti M, Giuseppe Rizzello C, Di Cagno R, De Angelis M. Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiol* 2007; 24: 187-196 [PMID: 17008163 DOI: 10.1016/j.fm.2006.07.014]
- Rizzello CG, De Angelis M, Di Cagno R, Camarca A, Silano M, Losito I, De Vincenzi M, De Bari MD, Palmisano F, Maurano F, Gianfrani C, Gobbetti M. Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during food processing: new perspectives for celiac disease. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 4499-4507 [PMID: 17513580 DOI: 10.1128/AEM.00260-07]
- De Angelis M, Cassone A, Rizzello CG, Gagliardi F, Minervini F, Calasso M, Di Cagno R, Francavilla R, Gobbetti M. Mechanism of degradation of immunogenic gluten epitopes from *Triticum turgidum* L. var. durum by sourdough lactobacilli and fungal proteases. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76: 508-518 [PMID: 19948868 DOI: 10.1128/AEM.01630-09]
- Hadjivassiliou M, Grünewald RA, Davies-Jones GA. Gluten sensitivity as a neurological illness. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 72: 560-563 [PMID: 11971034]
- Ghazal FA, Singh S, Yaghi S, Keyrouz SG. Gluten ataxia: an important treatable etiology of sporadic ataxia. *Int J Neurosci* 2012; 122: 545-546 [PMID: 22512541 DOI: 10.3109/00207454.2012.683220]
- Dickerson F, Stallings C, Origoni A, Vaughan C, Khushalani S, Yolken R. Markers of gluten sensitivity in acute mania: a longitudinal study. *Psychiatry Res* 2012; 196: 68-71 [PMID: 22386570 DOI: 10.1016/j.psychres.2011.11.007]
- Richey R, Howdle P, Shaw E, Stokes T. Recognition and assessment of coeliac disease in children and adults: summary of NICE guidance. *BMJ* 2009; 338: b1684 [PMID: 19474030 DOI: 10.1136/bmj.b1684]
- Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Kelly CP, Leonard JN, Lundin KE, Murray JA, Sanders DS, Walker MM, Zingone F, Ciacci C. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013; 62: 43-52 [PMID: 22345659 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301346]
- Cooper BT, Holmes GK, Ferguson R, Thompson RA, Allan RN, Cooke WT. Gluten-sensitive diarrhea without evidence of celiac disease. *Gastroenterology* 1980; 79: 801-806 [PMID: 7419003 DOI: S0016508580002168]
- Verdu EF, Armstrong D, Murray JA. Between celiac disease and irritable bowel syndrome: the "no man's land" of gluten sensitivity. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1587-1594 [PMID: 19455131 DOI: 10.1038/ajg.2009.188]
- Biesiekierski JR, Rosella O, Rose R, Liels K, Barrett JS, Shepherd SJ, Gibson PR, Muir JG. Quantification of fructans, galacto-oligosaccharides and other short-chain carbohydrates in processed grains and cereals. *J Hum Nutr Diet* 2011; 24: 154-176 [PMID: 21332832]
- Comino I, Real A, Gil-Humanes J, Pistón F, de Lorenzo L, Moreno Mde L, López-Casado MÁ, Lórite P, Cebolla A, Torres MI, Barro F, Sousa C. Codex Alimentarius Commission. Draft revised codex standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten Joint FAO/WHO Food Standards Programme. WHO; Geneva, Switzerland: 2007
- Ferch CC, Chey WD. Irritable bowel syndrome and gluten sensitivity without celiac disease: separating the wheat from the chaff. *Gastroenterology* 2012; 142: 664-666 [PMID: 22281277 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.01.020]
- Stevens L, Rashid M. Gluten-free and regular foods: a cost comparison. *Can J Diet Pract Res* 2008; 69:

- 147-150 [PMID: 18783640]
- 21 Saturni L, Ferretti G, Bacchetti T. The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients* 2010; 2: 16-34 [PMID: 22253989 DOI: 10.3390/nu20100016]
- 22 Lee AR, Ng DL, Dave E, Ciaccio EJ, Green PH. The effect of substituting alternative grains in the diet on the nutritional profile of the gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet* 2009; 22: 359-363 [PMID: 19519750 DOI: 10.1111/j.1365-277X.2009.00970.x]
- 23 Volta U, Tovoli F, Cicola R, Parisi C, Fabbri A, Piscaglia M, Fiorini E, Caio G. Serological tests in gluten sensitivity (nonceliac gluten intolerance). *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 680-685 [PMID: 22138844 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182372541]
- 24 Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G, Mikhailenko I, Carteni M, Casolaro V, Fasano A. Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152: 75-80 [PMID: 19940509 DOI: 10.1159/000260087]
- 25 Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 1981-2002 [PMID: 17087937 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.10.004]
- 26 Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6036-6059 [PMID: 23155333 DOI: 10.3748/wjg.v18.i42.6036]
- 27 Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, Brantner TL, Kim WR, Phelps TK, Lahr BD, Zinsmeister AR, Melton LJ, Murray JA. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 88-93 [PMID: 19362553 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.03.059]
- 28 Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton LJ. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950-2001. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; 1: 19-27 [PMID: 15017513 DOI: 10.1053/jcgh.2003.50004]
- 29 Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, Lohi O, Bravi E, Gasparin M, Reunanen A, Mäki M. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1217-1225 [PMID: 17944736 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03502.x]
- 30 Ji J, Ludvigsson JF, Sundquist K, Sundquist J, Hemminki K. Incidence of celiac disease among second-generation immigrants and adoptees from abroad in Sweden: evidence for ethnic differences in susceptibility. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 844-848 [PMID: 21529249 DOI: 10.3109/00365521.2011.579999]
- 31 Sanders DS, Patel D, Stephenson TJ, Ward AM, McCloskey EV, Hadjivassiliou M, Lobo AJ. A primary care cross-sectional study of undiagnosed adult coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 407-413 [PMID: 12655262 DOI: 10.1097/01.meg.0000050023.34359.20]
- 32 Bakhshipour A, Nezam SK, Zakeri Z, Gharibi R, Bahari A, Kaykhaei MA. Coeliac disease in irritable bowel syndrome (Rome III) in Southeast Iran. *Arab J Gastroenterol* 2012; 13: 24-27 [PMID: 22560821 DOI: 10.1016/j.ajg.2012.03.003]
- 33 Biesiekierski JR, Newnham ED, Irving PM, Barrett JS, Haines M, Doecke JD, Shepherd SJ, Muir JG, Gibson PR. Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 508-514; quiz 515 [PMID: 21224837 DOI: 10.1038/ajg.2010.487]
- 34 Inomata N. Wheat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 238-243 [PMID: 19318930 DOI: 10.1097/ACI.0b013e31823832aa5bc]
- 35 Amano M, Ogawa H, Kojima K, Kamidaira T, Suetsugu S, Yoshihama M, Satoh T, Samejima T, Matsumoto I. Identification of the major allergens in wheat flour responsible for baker's asthma. *Biochem J* 1998; 330 (Pt 3): 1229-1234 [PMID: 9494090]
- 36 Tatham AS, Shewry PR. Allergens to wheat and related cereals. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 1712-1726 [PMID: 18823308 DOI: 10.1111/j.1365-2222.2008.03101.x]
- 37 Morita E, Matsuo H, Chinuki Y, Takahashi H, Dahlström J, Tanaka A. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis -importance of omega-5 gliadin and HMW-glutenin as causative antigens for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis-. *Allergol Int* 2009; 58: 493-498 [PMID: 19847096 DOI: 10.2332/allergolint.09-RAI-0125]
- 38 Vorobjova T, Uibo O, Heilman K, Rägo T, Honkanen J, Vaarala O, Tillmann V, Ojakiivi I, Uibo R. Increased FOXP3 expression in small-bowel mucosa of children with coeliac disease and type I diabetes mellitus. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 422-430 [PMID: 19096978 DOI: 10.1080/00365520802624177]
- 39 Swinson CM, Slavin G, Coles EC, Booth CC. Coeliac disease and malignancy. *Lancet* 1983; 1: 111-115 [PMID: 6129425]
- 40 Sapone A, Lammers KM, Casolaro V, Cammarota M, Giuliano MT, De Rosa M, Stefanile R, Mazzarella G, Tolone C, Russo MI, Esposito P, Ferraraccio F, Carteni M, Riegler G, de Magistris L, Fasano A. Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity. *BMC Med* 2011; 9: 23 [PMID: 21392369 DOI: 10.1186/1741-7015-9-23]
- 41 Collin P, Reunala T, Pukkala E, Laippala P, Keyriläinen O, Pasternack A. Coeliac disease-associated disorders and survival. *Gut* 1994; 35: 1215-1218 [PMID: 7959226]
- 42 Drastich P, Honsová E, Lodererová A, Jarešová M, Pekáriková A, Hoffmanová I, Tučková L, Tlaskalová-Hogenová H, Spičák J, Sánchez D. Celiac disease markers in patients with liver diseases: a single center large scale screening study. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6255-6262 [PMID: 23180946 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6255]
- 43 Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D, Fabris M, Tonutti E. Cutting-edge issues in celiac disease and in gluten intolerance. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42: 279-287 [PMID: 21181303 DOI: 10.1007/s12016-010-8223-1]
- 44 Wahnschaffe U, Schulzke JD, Zeitz M, Ullrich R. Predictors of clinical response to gluten-free diet in patients diagnosed with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 844-850; quiz 769 [PMID: 17553753 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.03.021]
- 45 Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and im-



- munobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992; 102: 330-354 [PMID: 1727768]
- 46 Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1185-1194 [PMID: 10524652]
- 47 Carroccio A, Mansueto P, Iacono G, Soresi M, D'Alcamo A, Cavataio F, Brusca I, Florena AM, Ambrosiano G, Seidita A, Pirrone G, Rini GB. Non-coeliac wheat sensitivity diagnosed by double-blind placebo-controlled challenge: exploring a new clinical entity. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1898-1906; quiz 1907 [PMID: 22825366 DOI: 10.1038/ajg.2012.236]
- 48 Sapone A, Bai JC, Ciacci C, Dolinsek J, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Rostami K, Sanders DS, Schumann M, Ullrich R, Villalta D, Volta U, Cattassi C, Fasano A. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med* 2012; 10: 13 [PMID: 22313950 DOI: 10.1186/1741-7015-10-13]
- 49 Brottveit M, Vandvik PO, Wojniusz S, Løvik A, Lundin KE, Boye B. Absence of somatization in non-coeliac gluten sensitivity. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 770-777 [PMID: 22519894 DOI: 10.3109/00365521.2012.679685]
- 50 Di Sabatino A, Corazza GR. Nonceliac gluten sensitivity: sense or sensibility? *Ann Intern Med* 2012; 156: 309-311 [PMID: 22351716 DOI: 10.1059/0003-4819-156-4-201202210-00010]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 促结肠动力药物治疗慢性便秘的研究进展

吴霜, 孙桂东, 陈玉根, 吴本升, 杨柏霖

## ■背景资料

我国60岁以上老年人的慢性便秘比率高达15%-20%, 功能性便秘多分为慢传输便秘与出口梗阻型便秘, 目前临床治疗方式主要通过改变生活方式、使用处方或非处方药如容积性泻剂、粪便软化剂、渗透性轻泻剂、刺激性泻剂、栓剂如酚酞和比沙可啶栓、离子通道激活剂等。

吴霜, 吴本升, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

孙桂东, 陈玉根, 杨柏霖, 南京中医药大学附属医院 江苏省南京市 210029

江苏省六大人才高峰重点课题基金资助项目, No. 2011-WS40  
江苏省中医药管理局课题基金资助项目, No. LZ11042

作者贡献分布: 本综述由杨柏霖与陈玉根设计; 文献搜集由吴霜、吴本升及孙桂东完成; 论文写作由吴本升与吴霜完成; 杨柏霖审核。

通讯作者: 杨柏霖, 副主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中中路155号, 南京中医药大学附属医院. blyang1971@163.com

收稿日期: 2012-10-17 修回日期: 2013-01-07

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-02-18

## Colonic motility-promoting agents for treatment of chronic constipation

Shuang Wu, Gui-Dong Sun, Yu-Gen Chen, Ben-Sheng Wu, Bo-Lin Yang

Shuang Wu, Ben-Sheng Wu, the First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Gui-Dong Sun, Yu-Gen Chen, Bo-Lin Yang, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Great Topic Foundation of Jiangsu Province, China, No. 2011-WS40; and the Foundation of Jiangsu Province Administration of Traditional Chinese Medicine, No. LZ11042

Correspondence to: Bo-Lin Yang, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. blyang1971@163.com

Received: 2012-10-17 Revised: 2013-01-07

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-02-18

## Abstract

Chronic constipation (CC) is one of the most common functional gastrointestinal disorders. Possible etiologies for CC include alterations in gastrointestinal motility and secretion. Research efforts in CC have led to the identification of multifactorial and often overlapping etiologies including abnormalities in myenteric neurons, alterations in neurotransmitters and their receptors, and incoordination of the muscles of the pelvic floor or anorectum. In this article, we review the safety and efficacy of colonic motility-promoting agents, such as 5-HT modulators,

motilin agonists, chloride-channel activators, opioid antagonists, uroganylin and GC-2C receptor agonists, in the management of CC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Chronic constipation; Colonic motility-promoting agents; Curative effect; Safety

Wu S, Sun GD, Chen YG, Wu BS, Yang BL. Colonic motility-promoting agents for treatment of chronic constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 434-439 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.434>

## 摘要

慢性便秘是最常见的胃肠功能紊乱症状之一, 对患病人群的生活质量有着广泛的影响, 在各国医疗支出中占比例高。便秘受多种肠道动力以及内分泌因素的影响。近年来, 慢性便秘的药物治疗靶点趋向于肠肌层神经、神经传导介质及其受体改变、盆底肌和肛提肌收缩不协调等。本文搜集归纳国内外近年便秘治疗常用药, 尤其是促结肠动力药物, 包括无羟色胺(5-HT)受体激动剂、氯离子通道激活剂、尿鸟苷素和鸟苷酸环化酶-C受体激动剂、阿片拮抗剂等, 就其疗效和安全性综述如下。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 慢性便秘; 促结肠动力药物; 疗效; 安全性

吴霜, 孙桂东, 陈玉根, 吴本升, 杨柏霖. 促结肠动力药物治疗慢性便秘的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(5): 434-439 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.434>

## 0 引言

功能性便秘多分为慢传输便秘与出口梗阻型便秘, 相关数据表明, 全世界便秘患者的发病率2%-27%<sup>[1]</sup>, 且在逐年增长。美国每年花费在通便药物上面的医疗开销约有50亿-80亿美元。慢性便秘发病率: 可能与社会经济地位、女性分娩以及种族差异、环境、年龄等多种因素相关<sup>[2]</sup>。初

## ■同行评议者

蓝宇, 教授, 北京积水潭医院消化科

发便秘多能获得迅速有效的改善,医生一般建议患者通过改变生活方式(如加大纤维食物的摄入、加大运动量等)、使用处方或非处方药如容积性泻剂(欧车前、甲基纤维素、聚卡波非钙)、粪便软化剂(泻盐或者矿物油)、渗透性轻泻剂(硫酸镁、甘露醇)、刺激性泻剂(番泻叶、蒽醌类)、栓剂如酚酞和比沙可啶栓、离子通道激活剂(鲁比前列酮)等改善便秘症状。但是药物对慢传输便秘和便秘为主的IBS患者的治疗效果和安全性还有待提升,仅1/4-2/3的患者对医生的治疗满意<sup>[1]</sup>。近年来肠神经系统及慢性便秘的病理生理学研究,促使了一系列促结肠动力新药的开发与临床应用。

## 1 5-羟色胺

肠神经控制了肠动力和肠道分泌。肠神经系统释放多种神经递质,包括乙酰胆碱、5-羟色胺(5-HT)、P物质、肠血管缩氨酸、降钙素基因相关肽等<sup>[3]</sup>。5-HT由肠黏膜的嗜铬细胞分泌,通过众多的受体发挥广泛的生物学效应,与胃肠道动力密切相关的受体是5-HT<sub>3</sub>和5-HT<sub>4</sub><sup>[4]</sup>。5-HT分泌后,通过与相关受体的结合,促进胃肠道动力及传输,为便秘的治疗提供新的治疗思路<sup>[5]</sup>。

### 1.1 5-HT<sub>4</sub>激动剂

1.1.1 马来酸替加色罗:替加色罗(HTF-919, HIF-919A, SDZ-HIF-919)是5-HT<sub>4</sub>在肠神经系统的激动剂,为FDA批准的治疗慢性便秘的两种处方药物之一,其通过激发神经递质如降钙素基因相关肽从感觉神经元的进一步释放,减少内脏敏感性,刺激蠕动反射,增加结肠动力,以及促进肠道氯离子的分泌,从而促使液体向结肠肠腔的转运。替加色罗对提高完整自发性的排便频率有效,并且排便时不需要过度用力<sup>[6-8]</sup>。与安慰剂相比,替加色罗对一过性的腹泻有良好的耐受性,不良反应有头疼、恶心想<sup>[9]</sup>,罕见而严重的不良反应是严重腹泻以及局部缺血性肠炎<sup>[10]</sup>。尽管替加色罗与钾离子强心通路无相互作用,不具有西沙比利的强心作用,但是2006年对18 000例患者用药后回顾性的临床数据评估显示,替加色罗就安慰剂比较而言,心血管缺血事件,包括心肌梗塞、中风、不稳定性心绞痛发生率较高,现已在临床停用<sup>[11]</sup>。

1.1.2 普卡必利:普卡必利(R-93877)作为5-HT<sub>4</sub>受体激动剂,其促蠕动作用只针对结肠,对胃排空和小肠传输无任何影响,可以治疗结肠传输时间延迟造成的排便困难。一项包括713例长

期存在慢性便秘患者(91%女性)的随机双盲临床试验表明,普卡必利2 mg、4 mg在平均给药4 wk后,31%和28%的患者产生3次/wk或以上的自发性排便,给药12 wk以后,该比例为47%和47%( $P<0.01$ ),对照组为则仅有26%<sup>[12]</sup>。另一项包括1 924例患者的研究证明了上述结果,与安慰剂对照相比,连续12 wk服用普卡必利2 mg-4 mg显著改善一系列便秘相关症状,如腹胀、腹部不适感和排便困难,患者对肠道功能的满意度能持续至24 mo以上<sup>[1]</sup>。普卡必利安全且易被耐受<sup>[12]</sup>,不良反应主要有在治疗初期出现头疼、腹痛、腹泻、恶心等不适。两组临床研究均检查了服药患者的24 h动态心电图,结果显示所有患者均无QT间期超过500 ms、QT增幅超过60 ms的情况,证实了普卡必利无QT间期延迟的药物不良反应<sup>[13]</sup>。

### 1.2 5-HT<sub>3</sub>受体抑制剂与5-HT<sub>4</sub>受体激动剂组合

1.2.1 莫沙必利:枸橼酸莫沙必利(AS-4370; TAK-370)是一种具有5-HT<sub>4</sub>受体激动作用的苯酰胺胃动力药,他能促进肠胆碱能神经元释放乙酰胆碱,但不阻断钾离子通道和大脑神经细胞膜上的D<sub>2</sub>多巴胺受体<sup>[14]</sup>。他与西沙比利结构类似,但多巴胺抑制功能较弱,比西沙比利和胃复安更能促进胃排空<sup>[15]</sup>。莫沙必利同时具有5-HT<sub>3</sub>受体抑制功能,其主要代谢物脱-4-氟苄莫沙必利具有5-HT<sub>3</sub>受体阻断作用。在一项帕金森便秘患者的临床试验中,15 mg莫沙必利1次/d服用3 mo,除了1位患者因上腹部不适退出试验,其余均能很好的耐受,所有患者在肠道运动频率以及排便困难方面有明显改善,研究者认为莫沙必利能缓解帕金森便秘患者的一些症状并无严重不良反应<sup>[14]</sup>。

1.2.2 伦扎必利:伦扎必利是新型5-HT<sub>3</sub>受体抑制剂与5-HT<sub>4</sub>受体激动剂,刺激结肠收缩,改善肠易激综合征(irritablebowelsyndrome,IBS)患者的便秘症状<sup>[16]</sup>。近期一项伦扎必利对IBS便秘患者的临床研究发现,伦扎必利改善了粪便性状,增加了肠动力,但是没有缓解IBS患者腹痛不适的症状<sup>[17]</sup>。研究表明,伦扎必利对肠功能以及结肠传输有显著的改善,但起对小肠传输和胃排空没有影响<sup>[16]</sup>。有研究证明伦扎必利对IBS男女不同性别的患者疗效存在差别<sup>[18]</sup>。在一项三期安慰剂对照双盲试验中,对1 798例女性IBS-便秘型患者的12 wk研究中发现,伦扎必利2 mg bid或者4 mg,1次/d与安慰剂对照,结果显示仅5%和6%的患者有效。

## ■ 研发前沿

国内便秘诊疗指南将便秘分为慢传输型便秘、出口梗阻型便秘、混合型便秘。而出口梗阻型便秘的治疗目前多依赖于心理疗法及生物负反馈治疗,慢传输型便秘的药物治疗是近年来国内外研究的热点,本文主要从促进结肠动力这一研究目标入手,归纳罗列近年来市面上常见的促结肠动力药物的不同治疗靶点,总结这些药物的安全性及疗效性。



## ■相关报道

Tack认为, 结肠传输减慢可能是排便紊乱的结果, 那么缩短结肠传输时间, 促进结肠动力可以作为治疗便秘的关键手段. 普卡必利是高度选择性的5-HT<sub>4</sub>受体, 对靶受体具有高度选择性. 其不良反应轻微, 对高龄阿片类药物依赖性便秘及严重慢性便秘的女性疗效甚优.

1.3 5-HT<sub>3</sub>受体激动剂 Pamosetrag(DDP-733; MKC-733)是治疗IBS-C(以便秘为主要症状的IBS患者)和夜间胃食管返流病的5-HT<sub>3</sub>受体激动剂<sup>[19]</sup>, 关于此药的临床数据较为有限, 但是在健康人群的一项研究表明该药能加速小肠传输, 延缓胃排空<sup>[20]</sup>. 亦有研究证明该药能改善便秘患者的症状, 研究表明DDP733, 3次/d, 1.4 mg/次是理想耐受剂量, 与安慰剂组对比临床有效率为54%、15%<sup>[19]</sup>.

## 2 胃动素

胃动素是一个由内分泌Mo细胞分泌的22个氨基酸组成的直链多肽, 他通过激活来源于胃肠平滑肌细胞和肠神经系统的G-蛋白和胃动素受体来刺激胃肠动力<sup>[21]</sup>, 临床和药理学研究证明大环内酯类抗菌素(红霉素), 一种胃动素受体兴奋剂, 能加速胃轻瘫患者的胃排空, 刺激禁食状态小肠的肌电迁移<sup>[22]</sup>. 最初对胃动素的研究仅局限于近端胃肠道运动. 最近, 结肠胃动素受体激动剂的研究有了新进展, 研究显示胃动素受体在结肠表达, 胃动素能刺激人结肠平滑肌收缩, 促进肠蠕动<sup>[23]</sup>.

## 3 氯离子通道激活剂: 鲁比前列酮(SPI-0211, RU-0211)

已知存在9种氯离子通道<sup>[24]</sup>, 最被人熟知的是囊性纤维化跨膜电导调节体(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR), 一种分布于肠上皮细胞的cAMP氯离子通道. 2型和3型的氯化物通道是容量调节通道, 由非哺乳类和哺乳类的胃肠细胞和肝细胞表达, 这些通道负责了多种活动, 包括细胞内的pH值调节、膜电位平衡、炎性细胞外渗、上皮氯离子传输和分泌液体, 氨基酸渗透转运膜和细胞增殖. 尤其是氯离子2通道已被发现存在于肠腔壁细胞、小肠和大肠上皮细胞, 显微镜学将氯离子2通道定位于人类肠上皮细胞的顶膜<sup>[25]</sup>. 也有证据表明豚鼠的末端结肠上皮细胞存在氯离子转运通道<sup>[25]</sup>, 有人认为氯离子2通道是末端结肠基底膜的氯离子转出通道, 这将提供一个上皮细胞的顶面和基底外围互串研究机制.

近期研究发现鲁比前列酮(一种二环脂肪酸), 可以激活2型氯离子通道(CIC-2), 增加肠液的分泌和肠道的运动, 从而增加排便, 减轻慢性特发性便秘的症状, 且不改变血浆中钠和钾的浓度. 最初并不被认为该药机制与CFTR通道相

互作用<sup>[26]</sup>, 但是, 近期一项研究发现鲁比前列酮促进氯离子和肠液的分泌是依赖于激活CFTR后完成的<sup>[27]</sup>, 这将他的作用效果局限于与囊性纤维化有关的肠道疾病. 该药来源于前列腺素E1的代谢<sup>[26,28]</sup>. 与前列腺素不同的是, 他不刺激平滑肌收缩, 而是选择性的作用于氯离子2型通道来激活刺激氯离子分泌. 氯离子过度分泌将引起钠离子的被动分泌, 导致等渗液体进入肠腔<sup>[29]</sup>. 有人认为肠液分泌的刺激将会导致肠道动力的增加, 一旦等渗溶液进入肠腔, 结肠将再吸收这些多余的水分, 而产生频繁的肠道运动. 有人推测肠道液体体积的增加将减少腹部不适, 疼痛以及腹胀症状, 软化大便. 一项多中心双盲对照研究确认了这个推测, 证明鲁比前列酮与安慰剂对照相比, 能被很好的耐受并且缓解便秘症状. 鲁比前列酮最常见的不良反应是恶心<sup>[30]</sup>. 有研究证实了鲁比前列酮较安慰剂而言, 对便秘患者的治愈率高达百分之百<sup>[31]</sup>.

## 4 尿鸟苷素和鸟苷酸环化酶-C受体激动剂: 利那洛肽

尿鸟苷素是主要由肠道分泌的肽激素, 他与肠上皮细胞中GC-C(鸟苷酸环化酶-C受体肽激动剂)受体联合发挥功效, GC-C(是一种耐热肠毒素)在肠黏膜细胞中特异性表达<sup>[32,33]</sup>. 鸟苷素和尿鸟苷素激活, 调节肠道水、电解质的动态平衡, 促进液体流动至肠管, 使粪便在下消化道传输加快, 从而促进排便<sup>[34]</sup>.

利那洛肽醋酸盐(MD-1100)是治疗IBS便秘和慢性便秘的新兴药物. 为肠上皮细胞尿鸟苷酸环化酶C受体肽激动剂. 在大鼠模型中, 口服给予该药能刺激氯离子和碳酸氢盐进入肠管, 从而促进肠液分泌加快胃肠动力<sup>[35]</sup>. 一项随机双盲安慰剂对照试验评估了利那洛肽口服给药的疗效, 两组共36例IBS的女性便秘患者分别给予100 μg和1 000 μg的利那洛肽, 1 000 μg显著加速了结肠运动并改善了肠道功能. 不良反应主要是腹泻和消化不良<sup>[36]</sup>.

## 5 阿片拮抗剂: 甲基纳曲酮和爱维莫潘

近年来, 应用阿片类药物氢可酮和氧可酮治疗慢性非肿瘤性疼痛几乎呈指数倍增长<sup>[26]</sup>. 大多数阿片拮抗剂能通过血脑屏障<sup>[37]</sup>, 减轻阵痛效果并产生阿片药物撤退性反应. 这类药物易导致阿片依赖性肠功能紊乱和术后肠梗阻, 而且目前临床常用的泻药对此类药物产生的便秘疗效较

差<sup>[38]</sup>。甲基纳曲酮和爱维莫潘是新近研发用来治疗阿片药物肠功能失调和肠梗阻的阿片拮抗剂。

**5.1 溴化甲基纳曲酮(MNTX; MOA-728)** 溴化甲基纳曲酮(MNTX; MOA-728)是一种钠曲酮四代阿片拮抗剂。钠曲酮不能通过血脑屏障。因此, 他可以预防外围阿片类聚合酶链副反应并且保持中心镇痛作用<sup>[39-41]</sup>。该药已经在正常人群、美沙酮依赖性慢性便秘患者、老年性便秘、阿片药物导致的肠道功能紊乱患者以及术后肠梗阻患者中进行了临床试验。在一期和二期健康受试者, 口服与静脉给药均能在不影响止痛效果的同时改善阿片药物诱导的肠动力延迟<sup>[42]</sup>。二期临床试验显示, 长期接受阿片药物治疗患者的盲肠传输时间缩短至52 min<sup>[43]</sup>。在三期临床试验中, 甲基纳曲酮皮下静注能获得同样的疗效<sup>[44]</sup>。一项双盲安慰剂对照试验研究结果显示, 甲基纳曲酮静脉注射治疗结肠次全切除术后肠梗阻患者, 治疗组较安慰剂组具有较早的自发性肠道蠕动并且能较早地自主排气<sup>[39]</sup>。最常见的不良反应是腹部不适, 气胀和恶心, 与安慰剂对照分别是17%、13%、11% vs 13%、7%、7%以及剂量相关或剂量依赖的一过性直立性低血压<sup>[45]</sup>。

**5.2 爱维莫潘(ADL-8-2698; LY-24636)** 爱维莫潘是选择性的阿片受体抑制剂, 是近年用于治疗急性术后肠梗阻和改善阿片类药物引起的胃肠传输延迟的主要药物<sup>[46]</sup>。因其对阿片受体有更高的亲和力, 所以比甲基纳曲酮更为有效<sup>[46]</sup>。2006-11美国批准爱维莫潘作为术后肠梗阻的主要治疗药物; 2008-05 FDA又重新修订了用药风险评估和缓解策略, 确定该药促进了结肠或小肠部分切除术后胃肠道功能的恢复。除此之外, 研究表明爱维莫潘能在不影响阿片类药物止痛效果的同时改善阿片类药物引起的胃肠道动力传输抑制<sup>[46]</sup>。结肠首次术后运动时间提前, 平均每周的肠道活动次数极大地增加<sup>[47]</sup>。但是, 欧洲进行的试验未能复制爱维莫潘在减少术后肠梗阻的临床疗效<sup>[48]</sup>。而荟萃分析结果显示爱维莫潘能够预防术后肠梗阻的发生, 且6 mg与12 mg剂量组疗效相同。该荟萃分析结果同时显示甲基纳曲酮和爱维莫潘在治疗阿片药物诱导的胃肠传输时间延长和便秘为主症的患者中有效<sup>[49]</sup>。

## 6 结论

功能性便秘的药理生理学在过去的十年有了很大的进步。如今, 更多研究证明了5-HT抑制剂和激动剂的复合剂的有效性, 他在治疗

IBS和便秘等胃肠功能紊乱方面潜在新兴靶点正被进一步挖掘。研究多着重于对5-HT再吸收转运载体及其在5-HT新陈代谢中的作用。转运蛋白更为精确的调控胃肠道对5-HT生物利用度, 同时使肠功能趋于正常化。而新生代药物研究趋向于基因组学领域, 包括氯离子通道激活剂、GC-2C激动、阿片受体激动剂和抑制剂等, 促使肠道功能紊乱的治疗从个体化走向标准化。

## 7 参考文献

- 1 Tack J, Müller-Lissner S, Stanghellini V, Boeckstaens G, Kamm MA, Simren M, Galmiche JP, Fried M. Diagnosis and treatment of chronic constipation—a European perspective. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 697-710 [PMID: 21605282 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01709.x]
- 2 American College of Gastroenterology Chronic Constipation Task Force. An evidence-based approach to the management of chronic constipation in North America. *Am J Gastroenterol* 2005; 100 Suppl 1: S1-S4 [PMID: 16008640]
- 3 Bueno L, Fioramonti J, Delvaux M, Frexinos J. Mediators and pharmacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations. *Gastroenterology* 1997; 112: 1714-1743 [PMID: 9136853 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70056-8]
- 4 Lesurtel M, Soll C, Graf R, Clavien PA. Role of serotonin in the hepato-gastrointestinal tract: an old molecule for new perspectives. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 940-952 [PMID: 18080089 DOI: 10.1007/s00018-007-7377-3]
- 5 Talley NJ. Review article: 5-hydroxytryptamine agonists and antagonists in the modulation of gastrointestinal motility and sensation: clinical implications. *Aliment Pharmacol Ther* 1992; 6: 273-289 [PMID: 1600046 DOI: 10.1111/j.1365-2036.1992.tb00050.x]
- 6 Camilleri M. Review article: tegaserod. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 277-289 [PMID: 11207504]
- 7 Prather CM, Camilleri M, Zinsmeister AR, McKinnis S, Thomforde G. Tegaserod accelerates orocecal transit in patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2000; 118: 463-468 [PMID: 10702196 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70251-70254]
- 8 Degen L, Matzinger D, Merz M, Appel-Dingemanse S, Osborne S, Luchinger S, Bertold R, Maecke H, Beglinger C. Tegaserod, a 5-HT<sub>4</sub> receptor partial agonist, accelerates gastric emptying and gastrointestinal transit in healthy male subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1745-1751 [PMID: 11683688 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.01103.x]
- 9 Johanson JF, Wald A, Tougas G, Chey WD, Novick JS, Lembo AJ, Fordham F, Guella M, Nault B. Effect of tegaserod in chronic constipation: a randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 796-805 [PMID: 15354280]
- 10 Woollorton E. Tegaserod (Zelnorm) for irritable bowel syndrome: reports of serious diarrhea and intestinal ischemia. *CMAJ* 2004; 170: 1908 [PMID: 15210635 DOI: 10.1503/cmaj.1040882]
- 11 Tegaserod: withdrawal from the world market. A treatment for constipation with cardiovascular adverse effects. *Prescrire Int* 2008; 17: 112-113 [PMID:

## ■创新盘点

本文从造成慢性便秘可能的分子生物病因学角度出发, 总结出不同病因下可选择的药物, 系统阐述了目前促进结肠动力的药物治疗手段。

## ■应用要点

本文在实际应用中可以直接用于指导治疗慢传输便秘, 针对患者的不同情况, 如性别差异, 有无手术史, 蒽醌类泻药服用时间的长短, 自身基础疾病的不同, 年龄差异等等, 选择相应的治疗药物, 从而达到将不良反应调控至最低, 来改善便秘促进排便的目的。

- 18630355]
- 12 Camilleri M, Kerstens R, Rykx A, Vandeplasse L. A placebo-controlled trial of prucalopride for severe chronic constipation. *N Engl J Med* 2008; 358: 2344-2354 [PMID: 18509121]
- 13 Mendezlevski B, Ausma J, Chanter DO, Robinson P, Kerstens R, Vandeplasse L, Camm J. Assessment of the cardiac safety of prucalopride in healthy volunteers: a randomized, double-blind, placebo- and positive-controlled thorough QT study. *Br J Clin Pharmacol* 2012; 73: 203-209 [PMID: 21848574 DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04088.x.]
- 14 Liu Z, Sakakibara R, Odaka T, Uchiyama T, Uchiyama T, Yamamoto T, Ito T, Asahina M, Yamaguchi K, Yamaguchi T, Hattori T. Mosapride citrate, a novel 5-HT<sub>4</sub> agonist and partial 5-HT<sub>3</sub> antagonist, ameliorates constipation in parkinsonian patients. *Mov Disord* 2005; 20: 680-686 [PMID: 15719424 DOI: 10.1002/mds.20387]
- 15 Schmitt EC, Pigatto PD, Boneschi V, Bubola D, Finzi AF. Pyoderma gangrenosum treated with low-dose cyclosporin. *Br J Dermatol* 1993; 128: 230-231 [PMID: 8457463 DOI: 10.2165/00003495-200868070-00007]
- 16 Camilleri M, McKinzie S, Fox J, Foxx-Orenstein A, Burton D, Thomforde G, Baxter K, Zinsmeister AR. Effect of renzapride on transit in constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 895-904 [PMID: 15476153 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00391-X]
- 17 George AM, Meyers NL, Hickling RI. Clinical trial: renzapride therapy for constipation-predominant irritable bowel syndrome--multicentre, randomized, placebo-controlled, double-blind study in primary healthcare setting. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 830-837 [PMID: 18284648 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03649.x]
- 18 Spiller RC, Meyers NL, Hickling RI. Identification of patients with non-d, non-C irritable bowel syndrome and treatment with renzapride: an exploratory, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 3191-3200 [PMID: 18465239 DOI: 10.1007/s10620-008-0295-x]
- 19 Evangelista S. Drug evaluation: Pumosetrag for the treatment of irritable bowel syndrome and gastroesophageal reflux disease. *Curr Opin Investig Drugs* 2007; 8: 416-422 [PMID: 17520871]
- 20 Fujita T, Yokota S, Sawada M, Majima M, Ohtani Y, Kumagai Y. Effect of MKC-733, a 5-HT receptor partial agonist, on bowel motility and symptoms in subjects with constipation: an exploratory study. *J Clin Pharm Ther* 2005; 30: 611-622 [PMID: 16336295]
- 21 Feighner SD, Tan CP, McKee KK, Palyha OC, Hreniuk DL, Pong SS, Austin CP, Figueroa D, MacNeil D, Cascieri MA, Nargund R, Bakshi R, Abramovitz M, Stocco R, Kargman S, O'Neill G, Van Der Ploeg LH, Evans J, Patchett AA, Smith RG, Howard AD. Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. *Science* 1999; 284: 2184-2188 [PMID: 10381885 DOI: 10.1126/science.284.5423.2184]
- 22 Weber FH Jr, Richards RD, McCallum RW. Erythromycin: a motilin agonist and gastrointestinal prokinetic agent. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 485-490 [PMID: 8470625]
- 23 Van Assche G, Depoortere I, Thijs T, Missiaen L, Penninckx F, Takanashi H, Geboes K, Janssens J, Peeters TL. Contractile effects and intracellular Ca<sup>2+</sup> signalling induced by motilin and erythromycin in the circular smooth muscle of human colon. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 27-35 [PMID: 11169123 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2001.00237.x]
- 24 Lipecka J, Bali M, Thomas A, Fanen P, Edelman A, Fritsch J. Distribution of CIC-2 chloride channel in rat and human epithelial tissues. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C805-C816 [PMID: 11880269]
- 25 Catalán M, Niemeyer MI, Cid LP, Sepúlveda FV. Basolateral CIC-2 chloride channels in surface colon epithelium: regulation by a direct effect of intracellular chloride. *Gastroenterology* 2004; 126: 1104-1114 [PMID: 15057749 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.010]
- 26 Cuppoletti J, Malinowska DH, Tewari KP, Li QJ, Sherry AM, Patchen ML, Ueno R. SPI-0211 activates T84 cell chloride transport and recombinant human CIC-2 chloride currents. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C1173-C1183 [PMID: 15213059 DOI: 10.1152/ajpcell.00528.2003]
- 27 Bijvelds MJ, Bot AG, Escher JC, De Jonge HR. Activation of intestinal Cl<sup>-</sup> secretion by lubiprostone requires the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Gastroenterology* 2009; 137: 976-985 [PMID: 19454284 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.037]
- 28 Lubiprostone: RU 0211, SPI 0211. *Drugs R D* 2005; 6: 245-248 [PMID: 15991886]
- 29 Lacy BE, Levy LC. Lubiprostone: a chloride channel activator. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 345-351 [PMID: 17413599 DOI: 10.1097/01.mcg.0000225665.68920.df]
- 30 Johanson JF, Morton D, Geenen J, Ueno R. Multi-center, 4-week, double-blind, randomized, placebo-controlled trial of lubiprostone, a locally-acting type-2 chloride channel activator, in patients with chronic constipation. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 170-177 [PMID: 17916109]
- 31 Drossman DA, Chey WD, Johanson JF, Fass R, Scott C, Panas R, Ueno R. Clinical trial: lubiprostone in patients with constipation-associated irritable bowel syndrome--results of two randomized, placebo-controlled studies. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 329-341 [PMID: 19006537 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03881.x]
- 32 Kuhn M. Function and dysfunction of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors: lessons from genetic mouse models and implications for human diseases. *Handb Exp Pharmacol* 2009; (191): 47-69 [PMID: 19089325 DOI: 10.1007/978-3-540-68964-5\_4]
- 33 Hasegawa M, Shimonishi Y. Recognition and signal transduction mechanism of Escherichia coli heat-stable enterotoxin and its receptor, guanylate cyclase C. *J Pept Res* 2005; 65: 261-271 [PMID: 15705168 DOI: 10.1111/j.1399-3011.2005.00218.x]
- 34 Forte LR. Uroguanylin and guanylin peptides: pharmacology and experimental therapeutics. *Pharmacol Ther* 2004; 104: 137-162 [PMID: 15518884]
- 35 Johnston JM, Kurtz CB, Drossman DA, Lembo AJ, Jeglinski BI, MacDougall JE, Antonelli SM, Currie MG. Pilot study on the effect of linaclotide in patients with chronic constipation. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 125-132 [PMID: 19098860 DOI: 10.1038/ajg.2008.59]
- 36 Manchikanti L, Singh A. Therapeutic opioids: a ten-year perspective on the complexities and complications of the escalating use, abuse, and nonmedical use of opioids. *Pain Physician* 2008; 11: S63-S88 [PMID: 18443641]
- 37 Brown DR, Goldberg LI. The use of quaternary narcotic antagonists in opiate research. *Neurophar-*



- macology 1985; 24: 181-191 [PMID: 2986035 DOI: 10.1016/0028-3908(85)90072-3]
- 38 Kurz A, Sessler DI. Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. *Drugs* 2003; 63: 649-671 [PMID: 12656645 DOI: 10.2165/00003495-200363070-00003]
- 39 Tavani A, Bianchi G, Ferretti P, Manara L. Morphine is most effective on gastrointestinal propulsion in rats by intraperitoneal route: evidence for local action. *Life Sci* 1980; 27: 2211-2217 [PMID: 7207014 DOI: 10.1016/0024-3205(80)90386-0]
- 40 Foss JF. A review of the potential role of methyl-naltrexone in opioid bowel dysfunction. *Am J Surg* 2001; 182: 19S-26S [PMID: 11755893 DOI: 10.1016/S0002-9610(01)00783-8]
- 41 Camilleri M. Alvimopan, a selective peripherally acting mu-opioid antagonist. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 157-165 [PMID: 15787936 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00640.x]
- 42 Yuan CS, Foss JF, O'Connor M, Toledano A, Roizen MF, Moss J. Methyl-naltrexone prevents morphine-induced delay in oral-cecal transit time without affecting analgesia: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 59: 469-475 [PMID: 8612393 DOI: 10.1016/S0009-9236(96)90117-4]
- 43 Yuan CS, Foss JF, O'Connor M, Osinski J, Karrison T, Moss J, Roizen MF. Methyl-naltrexone for reversal of constipation due to chronic methadone use: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000; 283: 367-372 [PMID: 10647800 DOI: 10.1001/jama.284.11.1383]
- 44 Thomas J, Karver S, Cooney GA, Chamberlain BH, Watt CK, Slatkin NE, Stambler N, Kremer AB, Israel RJ. Methyl-naltrexone for opioid-induced constipation in advanced illness. *N Engl J Med* 2008; 358: 2332-2343 [PMID: 18509120 DOI: 10.1056/NEJMoa0707377]
- 45 Yuan CS, Foss JF, Osinski J, Toledano A, Roizen MF, Moss J. The safety and efficacy of oral methyl-naltrexone in preventing morphine-induced delay in oral-cecal transit time. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 61: 467-475 [PMID: 9129564 DOI: 10.1016/S0009-9236(97)90197-1]
- 46 Paulson DM, Kennedy DT, Donovan RA, Carpenter RL, Cherubini M, Techner L, Du W, Ma Y, Schmidt WK, Wallin B, Jackson D. Alvimopan: an oral, peripherally acting, mu-opioid receptor antagonist for the treatment of opioid-induced bowel dysfunction—a 21-day treatment-randomized clinical trial. *J Pain* 2005; 6: 184-192 [PMID: 15772912]
- 47 Webster L, Jansen JP, Peppin J, Lasko B, Irving G, Morlion B, Snidow J, Pierce A, Mortensen E, Kleoudis C, Carter E. Alvimopan, a peripherally acting mu-opioid receptor (PAM-OR) antagonist for the treatment of opioid-induced bowel dysfunction: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-finding study in subjects taking opioids for chronic non-cancer pain. *Pain* 2008; 137: 428-440 [PMID: 18164818]
- 48 Büchler MW, Seiler CM, Monson JR, Flamant Y, Thompson-Fawcett MW, Byrne MM, Mortensen ER, Altman JF, Williamson R. Clinical trial: alvimopan for the management of post-operative ileus after abdominal surgery: results of an international randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled clinical study. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 312-325 [PMID: 19086236 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03696.x]
- 49 McNicol E, Boyce DB, Schumann R, Carr D. Efficacy and safety of mu-opioid antagonists in the treatment of opioid-induced bowel dysfunction: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain Med* 2008; 9: 634-659 [PMID: 18828197 DOI: 10.1111/j.1526-4637.2007.00335.x]

## ■同行评价

本文选题及结构较新颖, 文章结构层次清晰, 具有一定的实用性, 为该病的诊疗提供较全面的参考依据。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

# 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

## 小柴胡汤对消化不良模型大鼠胃动素和胃泌素的影响

郁保生, 石晓理, 张国山, 吕瑶

### ■背景资料

对于经方小柴胡汤,目前的实验报道多从退热、抗炎、抗肿瘤、抗过敏、镇咳、保肝利胆、镇静及抗病毒等方面进行研究,较少有关于其对胃肠激素影响方面的研究。本文以消化不良模型大鼠(肝郁脾虚型)为受试对象,研究小柴胡汤对其胃肠激素(MTL和GAS)的影响,为小柴胡汤的临床应用提供重要的实验依据。

郁保生, 湖南中医药大学中学院 湖南省长沙市 410007  
石晓理, 张国山, 吕瑶, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007

郁保生, 教授, 主要从事伤寒论经方配伍规律及应用机制的研究。  
长沙市科技计划重点基金资助项目, No. k1005020-31  
湖南省教育厅基金资助项目, No. 06C629

作者贡献分布: 此课题由郁保生设计; 动物模型制作、用药及样本采集与检测分析由石晓理、张国山及吕瑶操作完成; 数据统计及统计学分析由石晓理与张国山完成; 论文写作由郁保生与石晓理完成。

通讯作者: 郁保生, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学中学院. ybs1955@126.com  
收稿日期: 2012-10-21 修回日期: 2012-11-10  
接受日期: 2012-12-20 在线出版日期: 2013-02-18

### Treatment with Xiaochaihu decoction increases serum levels of motilin and gastrin in rats with dyspepsia

Bao-Sheng Yu, Xiao-Li Shi, Guo-Shan Zhang, Yao Lv

Bao-Sheng Yu, College of Traditional Chinese Medicine of Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China

Xiao-Li Shi, Guo-Shan Zhang, Yao Lv, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by: the Key Changsha Science and Technology Program, No. k1005020-31; and the Research Foundation of Education Bureau of Hunan Province, No. 06C629

Correspondence to: Bao-Sheng Yu, Professor, College of Traditional Chinese Medicine of Hunan University of TCM, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. ybs1955@126.com

Received: 2012-10-21 Revised: 2012-11-10

Accepted: 2012-12-20 Published online: 2013-02-18

### Abstract

**AIM:** To observe the influence of treatment with Xiaochaihu decoction on serum levels of motilin (MTL) and gastrin (GAS) in a rat model of dyspepsia (syndrome of liver-qi stagnation and spleen-qi deficiency) and to analyze the mechanisms behind therapeutic effects of Xiaochaihu decoction on dyspepsia.

**METHODS:** Forty-eight rats were randomly divided into four groups ( $n = 12$  for each): blank group (BG), model group (MG), Xiaochaihu decoction group (XG), and domperidone group (DG). Except the BG group, dyspepsia was induced in rats of the other three groups by apply-

ing chronic restraint stress + excessive fatigue + irregular food for 21 consecutive days. XG and DG rats were then intragastrically administered with Xiaochaihu decoction and domperidone daily for 14 d, and BG and MG rats were given equal volume of physiological saline. On day 35, the treatment was discontinued and all rats were fasted for 24 h with free access to water. Blood samples were collected on day 36 for testing.

**RESULTS:** Compared to the BG group, serum MTL content in the MG group significantly decreased ( $P < 0.01$ ). Compared to the MG group, serum MTL content in the XG and DG groups significantly increased (both  $P \leq 0.01$ ). Compared to the BG group, serum GAS content in the MG group significantly decreased ( $P < 0.01$ ). Compared to the MG group, serum GAS content in the XG and DG groups significantly increased (both  $P \leq 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Treatment with Xiaochaihu decoction increased serum levels of MTL and GAS in rats with dyspepsia.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Xiaochaihu decoction; Dyspepsia; Syndrome of liver-qi stagnation and spleen-qi deficiency; Motilin; Gastrin

Yu BS, Shi XL, Zhang GS, Lv Y. Treatment with Xiaochaihu decoction increases serum levels of motilin and gastrin in rats with dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 440-444 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.440>

### 摘要

**目的:** 观察小柴胡汤对消化不良模型大鼠(肝郁脾虚型)胃肠激素中胃动素(motilin, MTL)和胃泌素(gastrin, GAS)的影响, 分析其治疗消化不良的作用机制。

**方法:** 将48只大鼠随机分为4组, 每组12只, 分别为: 空白组、模型组、小柴胡汤组和多潘立酮组。除空白组外其余3组均采用复合病因造模法(慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节)

### ■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

造模, 连续21 d后造模结束. 再按被试因素施加方法每天进行生理盐水、小柴胡汤、多潘立酮灌胃14 d. 实验第35天给药结束后, 禁食不禁水24 h, 于实验第36天, 取血清进行检测.

**结果:** (1)与空白组相比, 模型组实验大鼠的血清MTL含量明显降低, 差异有高度统计学意义( $P = 0.00 < 0.01$ ); 与模型组相比, 小柴胡汤组( $P = 0.00$ )与多潘立酮组( $P = 0.01$ )实验大鼠的血清MTL含量明显升高, 差异有高度统计学意义( $P \leq 0.01$ ). (2)与空白组相比, 模型组实验大鼠的血清GAS含量明显降低, 差异有高度统计学意义( $P = 0.00 < 0.01$ ); 与模型组相比, 小柴胡汤组( $P = 0.01$ )与多潘立酮组( $P = 0.00$ )实验大鼠的血清GAS含量明显升高, 差异有高度统计学意义( $P \leq 0.01$ ).

**结论:** 小柴胡汤有升高消化不良模型大鼠(肝郁脾虚型)血清MTL、GAS含量的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 小柴胡汤; 消化不良; 肝郁脾虚型; 胃动素; 胃泌素

郁保生, 石晓理, 张国山, 吕瑶. 小柴胡汤对消化不良模型大鼠胃动素和胃泌素的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 440-444 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.440>

## 0 引言

消化不良是指由胃和十二指肠功能紊乱引起的症状, 主要包括上腹痛、上腹灼热感、餐后饱胀和早饱的一种或多种, 可同时存在上腹胀、嗝气、食欲不振、恶心、呕吐等症状的一组临床综合征. 近年有报道小柴胡汤应用于消化不良取得了较好疗效, 但目前的相关实验多从退热、抗炎、抗肿瘤、抗过敏、保肝利胆、镇静及抗病毒等方面进行研究, 较少关于其对胃肠激素等方面影响的研究. 本实验以消化不良模型大鼠(肝郁脾虚型)为受试对象, 研究小柴胡汤对其胃肠激素胃动素(motilin, MTL)和胃泌素(gastrin, GAS)的影响, 为小柴胡汤的临床应用提供重要的实验依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康SD大鼠48只, 雌雄各半, 体质量180-220 g. 由湖南中医药大学动物实验中心提供(SPF级)(动物合格证号: SCXK<湘>2009-0004), 饲养温度20℃-25℃, 湿度50%-70%. AUE-210

电子分析天平(长沙湘仪天平仪器厂); S658电热恒温水浴箱(长沙东风医疗仪器厂); Forma Scientific超低温冰箱(美国); ZLSC-5型不锈钢电热蒸馏水器(上海申安医疗器械厂); DHG-9246A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); PW-960多功能全自动酶标洗板机(深圳汇松科技有线公司); MB酶标仪(深圳汇松科技有线公司). MTL酶联免疫分析试剂盒(南京建成科技有限公司); GAS酶联免疫分析试剂盒(南京建成科技有限公司). 小柴胡汤: 柴胡24 g(bupleurum chinensis DC. 湖南福泰中药饮片厂产品, 生产批号: 120123)、黄芩9 g(scutellaria baicalensis georgi. 湖南福泰中药饮片厂产品, 生产批号: 120102)、半夏9 g(pinellia ternate thunb.reit. 湖南福泰中药饮片厂产品, 生产批号: 111229)、生姜9 g(zingiber officinale rosc. 市售)、人参9 g(panax ginseng C.A.mey. 湖南福泰中药饮片厂产品, 生产批号: 120107)、炙甘草9 g(glycyrrhiza uralensis fisch. 湖南福泰中药饮片厂产品, 生产批号: 120115)、大枣12 g(ziziphus jujuba mill. 湖南福泰中药饮片厂产品, 生产批号: 120126). 除生姜为市售外, 上述药材均购自湖南中医药大学第一附属医院. 汤药煎煮按中药常规煎法进行<sup>[1]</sup>, 以8倍量水浸泡药物30 min, 加热保持微沸30 min, 过滤; 残渣加5倍量水, 微沸30 min, 过滤, 合并两次滤液, 滤液浓缩至折合原药材浓度2 g/mL. 置于4℃冰箱保存备用. 多潘立酮片, 西安杨森制药有限公司生产, 批号H11110003.

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组:** 将48只SD大鼠随机分为以下4组, 每组12只, A: 空白组(空白对照组); B: 模型组(消化不良模型组); C: 小柴胡汤组(小柴胡汤+消化不良模型组); D: 多潘立酮组(多潘立酮+消化不良模型组).

**1.2.2 动物造模:** 采用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节<sup>[2]</sup>的方法. (1)预游泳筛选: 造模前全部动物进行预游泳, 剔除游泳时间少于10 min、大于20 min的大鼠; (2)造模: 对预游泳合格大鼠进行随机分组, 除空白组外, 将其余3组大鼠于每天上午8:00置于束缚盒中限制3 h, 下午2:00置于盛有温水(22℃±1℃)的大塑料桶中游泳10 min. 隔日喂食(隔日禁食, 隔日足量给食), 连续3 wk.

**1.2.3 药物干预:** 造模结束后开始按体质量灌胃给药, 各组大鼠每天早8:00给予灌胃. 小柴胡汤、多潘立酮(片剂, 10 mg/片)按照人体用药量换算成大鼠等效剂量作为大鼠用药量, 灌胃容

### ■研发前沿

消化不良为常见胃肠疾病, 其发病机制与胃肠激素有很大联系. 临床上小柴胡汤应用于消化不良取得了良好效果, 但其作用机制尚不明确. 本文主要探究小柴胡汤对胃肠激素的影响是否与其能够治疗消化不良有关.

### ■相关报道

叶勇等发现小柴胡汤可升高正常大鼠血和胃组织中MTL, 与空白对照组比较差异有统计学意义; 小柴胡汤对血和胃组织中的GAS和VIP与空白对照组比较差异无统计学意义, 认为小柴胡汤的促胃肠动力作用可能与MTL密切相关.



## ■应用要点

通过实验观察分析, 以及根据中医学理论的推理, 更加详细的阐述了小柴胡汤治疗肝郁脾虚型消化不良具有丰富的传统及现代医学理论依据。

表 1 小柴胡汤对FD大鼠体质量的影响 ( $n = 12$ , g, mean  $\pm$  SD)

分组	0 wk	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	5 wk
空白组	202.17 $\pm$ 1.19	221.33 $\pm$ 4.24	248.33 $\pm$ 5.02	277.83 $\pm$ 10.27	333.30 $\pm$ 14.07	362.20 $\pm$ 19.49
模型组	204.67 $\pm$ 2.63	200.08 $\pm$ 4.42 <sup>b</sup>	203.50 $\pm$ 5.00 <sup>b</sup>	214.25 $\pm$ 4.51 <sup>b</sup>	257.20 $\pm$ 5.53 <sup>b</sup>	277.40 $\pm$ 4.08 <sup>b</sup>
小柴胡汤组	205.75 $\pm$ 2.89	199.08 $\pm$ 3.56 <sup>b</sup>	202.08 $\pm$ 3.61 <sup>b</sup>	223.83 $\pm$ 7.65 <sup>b</sup>	279.30 $\pm$ 5.78 <sup>b</sup>	296.00 $\pm$ 5.65 <sup>c</sup>
多潘立酮组	201.83 $\pm$ 2.39	200.42 $\pm$ 2.60 <sup>b</sup>	201.50 $\pm$ 3.26 <sup>b</sup>	215.50 $\pm$ 5.34 <sup>b</sup>	273.10 $\pm$ 3.87 <sup>b</sup>	296.00 $\pm$ 5.74 <sup>c</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型组。

表 2 各组大鼠胃动素和胃泌素比较 ( $n = 12$ , pg/mL, mean  $\pm$  SD)

分组	胃动素	胃泌素
空白组	472.63 $\pm$ 9.19	64.80 $\pm$ 2.01
模型组	377.80 $\pm$ 7.02 <sup>b</sup>	51.76 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>
小柴胡汤组	468.64 $\pm$ 23.72 <sup>d</sup>	64.48 $\pm$ 2.76 <sup>d</sup>
多潘立酮组	455.32 $\pm$ 16.89 <sup>d</sup>	64.61 $\pm$ 3.25 <sup>d</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组。

积为1 mL/100 g体质量。动物药量 = 成人剂量  $\times$  0.018(200 g大鼠与70 kg成人体表面积比)。小柴胡汤组为7.29 g/(kg $\cdot$ d), 多潘立酮组为2.7 mg/(kg $\cdot$ d), 其余组则分别灌服同等换算体积的生理盐水。

1.2.4 标本采集: 血液样品的收集与处理: 所有动物于禁食后24 h, 用20%乌拉坦以10 mL/kg腹腔注射(intraperitoneal, ip)麻醉。剖腹后, 快速用一次性负压采血针从腹主动脉采血5 mL, -4  $^{\circ}$ C低温离心, 3 000 r/min, 离心15 min, 离心后提取上清液置于-20  $^{\circ}$ C冰箱保存, ELISA测定血清MTL、GAS。

1.2.5 实验指标测定方法: (1)大鼠体质量变化情况测量: 实验开始后隔日上午7:00用电子秤称量大鼠体质量, 并根据体质量调整给药量; (2)胃肠激素的测定: MTL、GAS均按照相应试剂盒说明书提供的检测方法, 进行检测。两者操作步骤相同, 主要包括以下步骤: 标准品的稀释、加样、温育、配液、洗涤、加酶、显色、终止和测定。

**统计学处理** 所有数据用mean  $\pm$  SD表示。所有资料进行正态性检验。符合正态分布者, 多组计量资料采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐者用LSD和SNK法, 方差不齐者用Tamhane's T2或Dunnett's T3法; 不符合正态分布者采用秩和检验。所有数据使用SPSS16.0 for Windows软件进行处理。

## 2 结果

2.1 小柴胡汤对消化不良模型大鼠体质量的影响 如表1所示: 与空白组相比, 第3周造模结束时, 各造模组大鼠体质量明显偏低, 差异有高度统计学意义( $P = 0.000 < 0.01$ ); 第5周实验结束时与模型组相比, 小柴胡汤组( $P = 0.026$ )与多潘立酮组( $P = 0.021$ )大鼠体质量明显升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.2 小柴胡汤对消化不良模型大鼠血清胃动素的影响 如表2所示: 与空白组相比, 模型组实验大鼠的血清MTL含量明显降低, 差异有高度统计学意义( $P = 0.00 < 0.01$ ); 与模型组相比, 小柴胡汤组( $P = 0.00$ )与多潘立酮组( $P = 0.01$ )实验大鼠MTL明显升高, 差异均有高度统计学意义( $P \leq 0.01$ ); 小柴胡汤组与多潘立酮组比较, 差异无统计学意义( $P = 0.551 > 0.05$ )。

2.3 小柴胡汤对消化不良模型大鼠血清胃泌素的影响 如表2所示: 与空白组相比, 模型组实验大鼠的血清GAS含量明显降低, 差异有高度统计学意义( $P = 0.00 < 0.01$ ); 与模型组相比, 小柴胡汤组( $P = 0.01$ )与多潘立酮对照组( $P = 0.00$ )实验大鼠GAS明显升高, 差异均有高度统计学意义( $P \leq 0.01$ ); 小柴胡汤组与多潘立酮组比较, 差异无统计学意义( $P = 0.969 > 0.05$ )。

## 3 讨论

消化不良是临床上最常见的一种胃肠病, 除去器质病变原因, 占较大比例的功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)发病机制至今尚不清楚。目前多数认为与胃肠运动障碍、胃肠激素、内脏敏感性增加、精神心理因素等有关<sup>[3]</sup>。

胃肠激素是由胃肠内分泌细胞合成和释放的多种活性物质, 其主要作用是调节消化器官的功能, 但对体内其他器官功能也可产生广泛的影响, 其分泌失调是消化不良的发病机制之一。

MTL<sup>[4]</sup>是由22个氨基酸组成的单链多肽,

他主要分布于十二指肠和近端空肠黏膜陷窝及绒毛中, 胃窦及下部小肠黏膜中也有少量存在; 除胃肠黏膜外, MTL也存在于中枢神经组织中如: 垂体、下丘脑、大脑皮质、小脑及松果体. MTL的生理作用主要是促进胃肠运动, 提高胃肠道、胆道、oddis括约肌的收缩力和张力. Sanger<sup>[5]</sup>研究发现, FD患者胃排空延长、收缩减弱或III期收缩缺乏均与MTL分泌下降有关, FD患者血浆MTL含量低于正常对照组. 有证据显示胃排空障碍的FD患者空腹及餐后血浆与胃黏膜组织中MTL水平明显降低, 而胃排空正常者和健康人之间无显著性差异, 提示FD患者胃肠道动力障碍与MTL释放减少有关<sup>[6]</sup>. Kamerling等<sup>[7]</sup>研究表明, 依托必利相对于安慰剂组治疗FD能提高血浆MTL水平, 继而改善症状, 说明血浆MTL水平降低与FD有关.

GAS是研究最早、最多的胃肠激素之一, 主要由胃窦及小肠黏膜的G细胞分泌, 人胰岛的D细胞也分泌. 在中枢神经系统、延髓的迷走神经背核也含有GAS. GAS对胃肠运动具有中度刺激作用, 能提高幽门泵的活动, 使幽门舒张而促进胃排空, 还可直接刺激胃肠平滑肌细胞收缩. 研究表明内源性GAS释放可引起餐后胃电频率升高, 因而增加胃收缩性, 促进胃排空<sup>[8,9]</sup>. 消化不良患者血清GAS水平比正常人降低, 可能是消化不良胃排空延迟的病理生理机制.

小柴胡汤来源于医圣张仲景的《伤寒论》, 其组成为: 柴胡、黄芩、生姜、半夏、人参、炙甘草、大枣7味药, 具有和解少阳调达枢机之功, 是治疗少阳病主方. 小柴胡汤的辨证要点为: 往来寒热, 胸胁苦满, 不欲饮食, 心烦喜呕, 口苦, 咽干, 目眩, 脉弦细. 观其全文, 关于小柴胡汤的论述条文共17条, 散见于《伤寒论》的太阳、少阳、阳明、厥阴、差后劳复等篇中, 除用于治疗少阳病本证外, 可应用于三阳并病、少阳病兼阳明病发潮热、妇人热入血室、湿热黄疸、胆热犯胃之呕吐等病证.

方中柴胡为君, 《神农本草经》载: “主心腹去肠胃中结气, 饮食积聚, 寒热邪气, 推陈致新.” 《医学衷中参西录》云: “肝气不舒畅者, 此能舒之; 胆火甚炽盛者, 此能散之.” 《本草正义》又云: “(柴胡)外邪之在半表半里者, 引而出之, 使达于表, 而外邪自散.” 因此柴胡不仅能外散少阳经中之邪热, 亦可疏肝解郁, 行肝经郁结之气, 止胸胁之痛. 黄芩为臣, 清泄少阳胆腑之邪热. 二药合用, 则经腑并治, 清热解郁,

复少阳疏泄调达之性. 且柴胡味辛能升, 黄芩味苦能降, 二者一升一降亦可调理气机. 半夏、生姜为佐, 其中半夏燥湿化痰, 降逆止呕, 消痞散结, 为止呕要药, 柯琴言: “半夏能开结气, 降逆气, 除痰饮, 为呕家第一品药”; 生姜辛散温通, 能温胃散寒, 和中降逆, 其止呕功良, 素有“呕家圣药”之称, 二者合用和胃降逆之功卓著. 另一方面半夏、生姜之辛散与柴胡、黄芩之苦降相合, 辛开苦降亦可有助于少阳枢机的恢复, 达到调理气机之功. 人参、大枣、炙甘草, 三药合用, 健脾益气、培补中州; 以助柴芩疏邪扶正. 柯琴云: “然本方七味中, 半夏、黄芩俱在可去之例, 惟不去柴胡、甘草, 当知寒热往来, 全赖柴胡解外, 甘草和中”, 指出了补脾扶正对本方的重要性; 徐春圃对此亦有深刻的认识: “张仲景著《伤寒论》, 专以外伤为法, 其中顾盼脾胃元气之秘, 世医鲜知之. 观其少阳证小柴胡汤用人参, 则防邪气之入三阴; 或恐脾胃稍虚, 邪乘而入, 必用人参、炙甘草, 固脾胃以充中气.” 本方寒热并用, 攻补兼施, 升降协调, 实有调达气机, 运转枢机, 疏肝健脾, 和胃降逆之效.

现代药理研究发现: 小柴胡汤具有解热抗炎、保肝利胆、抗过敏、抗肿瘤、镇痛及镇静、调节平滑肌、抗胃溃疡、强壮等作用, 其中柴胡具有镇静、镇痛、抗脂肪肝、抗肝损伤、利胆、降转氨酶、兴奋肠平滑肌、抑制胃酸分泌、抗溃疡、抑制胰蛋白酶等作用<sup>[10]</sup>. 王艳等<sup>[11]</sup>研究发现柴胡对阿托品所致的小鼠小肠抑制状态有促进其蠕动的作用. 黄芩具有抗炎、解热、降压、镇静、保肝、利胆、降血脂、抗氧化等作用. 王宪龄等<sup>[12]</sup>研究发现黄芩能促进正常小鼠小肠推进功能. 半夏具有镇吐、镇痛、抗溃疡等作用, 且对小鼠胃肠运动呈显著促进作用<sup>[13,14]</sup>. 生姜具有促进消化液分泌、保护胃黏膜、抗溃疡、保肝、利胆、抗炎、解热、抗菌、镇痛、镇吐作用<sup>[15]</sup>. 人参可提高机体免疫力<sup>[16]</sup>. 大枣可以提高机体免疫力, 并可有效地减少肠道蠕动时间<sup>[17]</sup>. 甘草具有抗溃疡, 抑制胃酸分泌, 镇痛作用, 且对于小肠推进和胃排空有双向调节的作用<sup>[18]</sup>.

小柴胡汤所涉条文症状与消化不良临床症状相似. 《伤寒论》论述小柴胡汤17条原文中, 与消化系统相关的条文有11条, 其中腹中痛(第96条)和腹中急痛(第100条), 腹满(第231条)和心下满(第148条), 不欲饮食(第96条)和口不欲食(第148条), 喜呕(第96条)和干呕(第266条)等症,

## ■名词解释

功能性消化不良: 由胃和十二指肠功能紊乱引起的症状, 主要包括上腹痛、上腹灼热感、餐后饱胀和早饱之一种或多种, 可同时存在上腹胀、噯气、食欲不振、恶心、呕吐等, 经检查排除引起这些症状的器质性疾病的的一组临床综合征.

## ■同行评价

本文是传统中医理论与药剂与现代实验研究方法相结合的有益尝试,对探究经方临床应用的科学依据具有一定意义。

与消化不良的上腹痛、上腹胀、食欲不振、恶心、呕吐等症十分相似。对于肝郁脾虚型消化不良而言,两者不仅症状相似,且小柴胡汤有调达气机,疏肝健脾,和胃降逆之效,故可治疗肝郁脾虚型消化不良。

小柴胡汤可通过以下几方面恢复胃肠运动以治疗肝郁脾虚型消化不良: (1)人参、炙甘草、大枣合用以补益脾胃,脾旺则气升,胃健则气降,直接恢复脾胃气机之升降以治本,从而促进其胃肠运动的恢复; (2)柴胡可疏肝解郁,调达气机,恢复肝主疏泄的功能,从而有助于胃肠运动的恢复; 且柴胡可直接推动胃肠的运动,《神农本草经百种录》云:“柴胡能疏肠胃之滞气……疏肠胃之滞物。” (3)柴胡辛散,黄芩苦降,二者一升一降,调理气机; (4)柴芩味苦,姜夏味辛,辛开苦降亦可调理气机。由是则脾胃健,肝胆舒,气机调,有助于胃肠运动的恢复正常,从而治疗肝郁脾虚型消化不良。

综上所述,小柴胡汤对肝郁脾虚型消化不良具有良好的治疗作用。其主要机制为升高血清MTL、GAS含量以促进胃肠运动,以达到治疗消化不良的功效。

## 4 参考文献

- 1 谢鸣, 杨卫红, 刘月. 小柴胡汤对高脂血症性模型大鼠的作用观察. 浙江中医药大学学报 2010; 34: 54-55, 57
- 2 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 岳广欣, 梁媛, 霍素坤, 李晶晶. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价. 北京中医药大学学报 2008; 31: 396-400
- 3 罗金波, 琚坚. 功能性消化不良发病机制的研究进展.

医学综述 2011; 17: 3431-3434

- 4 尹立新, 陈鹏, 李琳. 胃动素与胃肠动力障碍疾病研究进展. 中国实用医药 2009; 4: 238-240
- 5 Sanger GJ. Motilin, ghrelin and related neuropeptides as targets for the treatment of GI diseases. *Drug Discov Today* 2008; 13: 234-239 [PMID: 18342799 DOI: 10.1016/j.drudis.2007.10.024]
- 6 孙燕, 侯晓华. 内脏感觉过敏与功能性胃肠病. 临床内科杂志 2005; 22: 359-360
- 7 Kamerling IM, van Haarst AD, Burggraaf J, de Kam M, Biemond I, Jones R, Cohen AF, Masclee AA. Exogenous motilin affects postprandial proximal gastric motor function and visceral sensation. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1732-1736 [PMID: 12184523 DOI: 10.1023/A:1016522625201]
- 8 翟宏丽. 功能性消化不良胃肠动力障碍与胃肠激素的关系. 胃肠病学和肝病学杂志 2003; 12: 318-320
- 9 Takayasu H, Harasawa S, Miwa T. Effect of exogenous tetragastrin on gastric myoelectrical activity in humans. *Tokai J Exp Clin Med* 1999; 24: 117-123 [PMID: 10733159]
- 10 谢乐. 小柴胡汤的药理研究及该方在发热性疾病中的应用. 现代医药卫生 2007; 23: 2930-2931
- 11 王艳, 孙鹏, 张学栋, 苏继娇, 王彩英, 郭清丽, 曹彦芳. 柴胡对胃肠运动的影响. 今日药学 2011; 21: 442-443
- 12 王宪龄, 申平, 李连珍. 柴胡黄芩及其不同剂量比例配伍对小鼠小肠推进功能的影响. 中药药理与临床 2004; 20: 1-2
- 13 王志强, 李炳超. 半夏药理作用研究进展. 山西医药杂志 2009; 38: 65-67
- 14 吴皓, 蔡宝昌, 荣根新, 叶定江. 半夏姜制对动物胃肠道功能的影响. 中国中药杂志 1994; 19: 535-537
- 15 张红霞, 王军. 生姜醇提物药理学研究进展. 中医研究 2008; 21: 60-62
- 16 张翼轸, 张文驹, 穆青, 罗建平. 人参化学成分的药理活性及其含量积累的研究进展. 安徽农业科学 2011; 39: 12158-12160, 12163
- 17 罗莉, 王崧成, 王金水, 渠琛玲, 郭蕊, 闫李慧, 谢安国. 大枣多糖结构及药理活性的研究进展. 安徽农业科学 2010; 38: 16860-16861
- 18 吴燕敏, 王平, 魏睦新. 不同浓度甘草对小鼠胃肠运动的影响. 江苏中医药 2010; 42: 74-75

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗小儿胃食管反流性哮喘84例

周庆华, 邱其武

周庆华, 荆楚理工学院医学院 湖北省荆门市 448000  
邱其武, 荆门市第一人民医院感染科 湖北省荆门市 448000  
作者贡献分布: 本文由周庆华与邱其武共同完成。  
通讯作者: 邱其武, 主治医师, 448000, 湖北省荆门市象山大道49号, 荆门市第一人民医院感染科. zhouqinghua@163.com  
收稿日期: 2013-01-05 修回日期: 2013-01-22  
接受日期: 2013-02-08 在线出版日期: 2013-02-18

## Omeprazole combined with becotide spray for gastroesophageal reflux asthma in children: An analysis of 84 cases

Qing-Hua Zhou, Qi-Wu Qiu

Qing-Hua Zhou, Medical School of Jingchu University of Technology, Jingmen 448000, Hubei Province, China  
Qi-Wu Qiu, Department of Infection, Jingmen First People's Hospital, Jingmen 448000, Hubei Province, China  
Correspondence to: Qi-Wu Qiu, Attending Physician, Department of Infection, Jingmen First People's Hospital, No. 49 Xiangshan Road, Jingmen 448000, Hubei Province, China. zhouqinghua@163.com  
Received: 2013-01-05 Revised: 2013-01-22  
Accepted: 2013-02-08 Published online: 2013-02-18

### Abstract

**AIM:** To observe the efficacy of omeprazole in combination with becotide spray in the management of gastroesophageal reflux asthma in children.

**METHODS:** Eighty-four children with gastroesophageal reflux asthma were given omeprazole (0.3-0.4 mg/kg) by oral administration, twice per day, and becotide spray (100 µg, 50 µg after 2 wk) by inhalation, three times per day. The therapy lasted 3 mo, and the symptoms were scored before and after treatment.

**RESULTS:** The pre-treatment and post-treatment scores of gastroesophageal reflux were  $3.9 \pm 1.0$  and  $1.6 \pm 0.7$ , and the scores of asthma were  $4.2 \pm 1.0$  and  $2.4 \pm 0.8$ . There were significant differences between before and after therapy in

scores of gastroesophageal reflux and asthma ( $P < 0.05, 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Combination therapy with omeprazole and becotide spray has a remarkable curative effect in the management of gastroesophageal reflux asthma in children.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Omeprazole; Becotide spray; Children; Gastroesophageal reflux asthma

Zhou QH, Qiu QW. Omeprazole combined with becotide spray for gastroesophageal reflux asthma in children: An analysis of 84 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 445-447 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/445.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.445>

### 摘要

**目的:** 观察奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗儿童胃食管反流性哮喘的疗效。

**方法:** 分别给予84例胃食管反流性哮喘患儿口服质子泵抑制剂奥美拉唑, 每次0.3-0.4 mg/kg, 2次/d, 同时常规吸入皮质激素必可酮气雾剂, 3次/d, 每次吸入100 µg, 持续2 wk后改为50 µg, 持续治疗3 mo后复查并进行评分。

**结果:** 胃食管反流症和支气管哮喘在治疗前、后症状评分分别为: 胃食管反流症状评分: 治疗前 $3.9 \pm 1.0$ 分、治疗后 $1.6 \pm 0.7$ 分; 支气管哮喘症状评分: 治疗前 $4.2 \pm 1.0$ 分、治疗后 $2.4 \pm 0.8$ 分, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05, 0.01$ )。

**结论:** 应用奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗小儿胃食管反流性哮喘具有显著疗效, 且耐受性良好。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 奥美拉唑; 必可酮气雾剂; 小儿; 胃食管反流性哮喘

### ■背景资料

胃食管反流(GER)已成为临床儿科的常见病, 但广大儿科医师对此病却知之甚少, 极易引起误诊。目前认为, 有部分哮喘与GER有密切关系。有研究表明, 对哮喘患儿采取抗酸反流的治疗会改善患儿的症状, 治疗酸反流疾病的同时可改善部分呼吸道患儿的症状。

### ■同行评议者

邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院  
消化内科

## ■相关报道

有研究报道, 小儿哮喘中伴GER者达53.17%。大多数患儿对酸性反流液高度敏感, 诱发支气管痉挛, 从而引起哮喘发作。

周庆华, 邱其武. 奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗小儿胃食管反流性哮喘84例. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 445-447  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/445.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.445>

## 0 引言

胃食管反流(gastroesophageal reflux, GER)是指由于全身或局部因素引起食管下端括约肌(low esophageal sphincter, LES)功能不全, 胃内容物流入食管而产生的上消化道功能紊乱性综合征<sup>[1]</sup>。近年研究表明, 该病与婴儿时期反复急性肺炎、哮喘及支气管炎、窒息和婴儿猝死综合征(sudden infant death syndrome, SIDS)都有密切关系。荆楚理工学院医学院附属医院儿科2006-01/2008-12应用奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗84例胃食管反流性哮喘患儿取得显著疗效, 现报道如下。

## 1 材料和方法

1.1 材料 胃食管反流性哮喘患儿84例, 其中男48例, 女36例, 发病年龄2-13岁, 平均(7.75岁±2.15岁), 病程2-8年。根据1998年中国儿童哮喘预防与治疗工作组“儿童哮喘预防与治疗方案”, 本案中84例患儿均被确诊为哮喘患儿, 经过抗哮喘治疗无显著疗效, 患儿一般哮喘发作在夜间较为频繁, 且哮喘发作时常伴有明显的胃肠道症状, 如恶心、呕吐及上腹部疼痛等。患儿均行X线胸部透视检查, 两侧肺部均未发现活动性病灶。

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: 分别给予84例患儿口服质子泵抑制剂奥美拉唑, 每次0.3-0.4 mg/kg, 2次/d, 同时给予必可酮气雾剂(皮质激素)常规吸入, 3次/d, 吸入100 μg/次, 连续给药2 wk后剂量降至50 μg, 有研究表明, 抗哮喘药物可能会导致胃食管反流的形成, 比如β2肾上腺素能受体激动剂和氨茶碱等, 故将β2肾上腺素能受体激动剂停用, 持续治疗3 mo后复查并进行评分。

1.2.2 临床观察指标: 胃食管反流症状评分标准: 胃肠道症状如恶心、呕吐及上腹痛等消失评1分; 胃肠道症状偶有发作评2分; 胃肠道症状和持续时间好转评3分; 胃肠道症状缓解不明显评4分。支气管哮喘症状评分标准<sup>[2]</sup>: (1)夜晚症状评分: 整晚无任何症状评0分; 因与哮喘有关的症状导致患儿醒来1次或提前醒来评1分; 因与哮喘有关的症状导致患儿醒来2次或2次以上评2

表 1 支气管哮喘及胃食管反流症状评分表(mean ± SD, n = 84)

症状	治疗前评分	治疗后评分
支气管哮喘	4.2 ± 1.0	2.4 ± 0.8 <sup>a</sup>
胃食管反流	3.9 ± 1.0	1.6 ± 0.7 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P<0.05; <sup>b</sup>P<0.01 vs 治疗前。

分; 因与哮喘有关的症状导致患儿频繁醒来评3分; (2)白天症状评分: 白天无任何与哮喘有关的症状评0分; 白天短时间出现与哮喘有关的症状评1分; 白天出现2次或2次以上短时间出现与哮喘有关的症状评2分; 白天频繁出现与哮喘有关的症状评3分。

## 2 结果

患儿治疗效果可通过直接观察患儿症状或间接询问患儿家属来判断。患儿在治疗前后症状对比采用配对t检验, 其差异均具有统计学意义, 整个治疗期间也未见明显药物不良反应(表1)。患儿在接受治疗前、后胃食管反流症和支气管哮喘的症状评分分别为: 胃食管反流症状评分治疗前为3.9分±1.0分、治疗后为1.6分±0.7分; 支气管哮喘症状评分治疗前为4.2分±1.0分、治疗后为2.4分±0.8分。

患儿采用奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗2 wk后, 腹痛、返酸、呕吐等胃肠道症状基本控制; 服药2 mo后胃肠道症状全部被控制。联合治疗1 wk后, 哮喘发作次数开始减轻, 平均1 mo后哮喘发作次数减少1/2, 3 mo后哮喘发作完全消失。对其中63例(75%)已随访8-24 mo, 目前未见复发。

## 3 讨论

GER患儿的呼吸道因反流物重复进出, 支气管黏膜受到刺激而出现痉挛和引发炎症, 从而导致肺间质纤维化、慢性支气管炎、哮喘和吸入性肺炎窒息等, 严重者可导致SIDS<sup>[1]</sup>。目前认为, GER是反流性食管炎和婴幼儿顽固性呕吐的重要原因之一, 并可导致儿童生长发育迟缓。值得注意的是, GER已成为临床儿科的常见病, 但广大儿科医师对此病却知之甚少, 极易引起误诊。目前认为, 有部分哮喘与GER有密切关系。有报道, 小儿哮喘中伴GER者达53.17%<sup>[3]</sup>。大多数患儿对酸性反流液高度敏感, 诱发支气管痉挛, 从而引起哮喘发作<sup>[4]</sup>。咳嗽、肺炎、非变态反应性

## ■创新盘点

抑酸治疗的药物可采用H<sub>2</sub>受体阻滞剂及质子泵抑制剂(PPI), 其中H<sub>2</sub>受体阻滞剂有西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁等, 然而H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶抑制剂奥美拉唑的作用更强, 治疗严重者效果较好。

哮喘与胃食管反流之间的相关性被不断证实. 研究表明, 对哮喘患儿采取抗酸反流的治疗会改善患儿的症状, 治疗酸反流疾病的同时可改善部分呼吸道患儿的症状<sup>[5,6]</sup>.

患儿哮喘发作时胃肠道症状往往不典型或叙述不清, 易被家属和医生忽视. 我们认为在哮喘患儿就诊时, 应详细了解病史与病情. 对哮喘病史2年以上, 常规治疗效果不显著, 胸部X线正常, 无鼻疾患, 而具有相关胃肠道症状者, 要考虑有GER的可能, 应常规应用奥美拉唑缓解胃肠道症状.

荆楚理工学院医学院附属医院儿科自2006年起, 应用奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗小儿胃食管反流性哮喘, 在缓解胃肠道症状同时也控制了哮喘的症状, 这从另一个侧面证明了这两种病的密切关系. 根据GER阳性的病理机制, 采用奥美拉唑进行抑酸治疗<sup>[7-9]</sup>. 抑酸治疗的药物可采用H<sub>2</sub>受体阻滞剂及质子泵抑制剂, 其中H<sub>2</sub>受体阻滞剂有西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁等, 主要作用为减少胃反流物的酸度及适当抑制夜间胃酸分泌, 降低食管黏膜对酸的敏感性, 从而减轻GER的症状及治疗反流性食管炎. 然而H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶抑制剂奥美拉唑的作用更强, 治疗严重者效果较好<sup>[10-12]</sup>. 本组患儿经奥美拉唑治疗后, 恶心、呕吐及上腹部疼痛等消化系症状消失, 哮喘症状明显改善, 发作次数减少. 持续给药3 mo后, 哮喘症状消失. 故我们认为治疗小儿胃食管反流性哮喘的患儿, 使用奥美拉唑有显著疗效. 必可酮气雾剂为糖皮质激素, 丙酸倍氯米松为其活性成分, 存在于靶细胞细胞质中的糖皮质激素可与其结合而发挥作用. 大量临床研究表明, 必可酮气雾剂在延缓细胞因子及介质的生产和挥发, 降低黏附分子表达,

加快抗蛋白酶的挥发和炎性细胞灭活等有明显的效果. 此外, 胃肠吸收度和口服生物利用率的低下, 使长期应用必可酮气雾剂对儿童正常的生长发育具有极低的影响<sup>[13-15]</sup>.

总之, 对确诊为胃食管反流性哮喘的患儿应用奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗具有显著疗效, 且耐受性良好.

#### 4 参考文献

- 1 张寅, 许春娣. 小儿胃食管反流进展. 临床儿科杂志 2005; 23: 57-59
- 2 Simons FE. Allergic rhinobronchitis: the asthma-allergic rhinitis link. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 534-540 [PMID: 10482824]
- 3 邓惠珊. 法莫替丁治疗小儿胃食管反流性哮喘的研究. 邯郸医学高等专科学校学报 2004; 17: 509-510
- 4 张馨. 50例小儿胃食管反流临床分析. 中原医刊 2005; 32: 48
- 5 Rudolph CD. Supraesophageal complications of gastroesophageal reflux in children: challenges in diagnosis and treatment. *Am J Med* 2003; 115 Suppl 3A: 150S-156S [PMID: 12928092]
- 6 丁志贤. 胃食道返流与肺部疾病的关系. 临床荟萃 1991; 6: 337-338
- 7 宋宏伟, 朱凌云. 难治性胃食管反流病诊断方法的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1742-1746
- 8 张敏洁, 陈维顺. 危重症患者胃食管反流相关问题的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1045-1050
- 9 陈维顺, 罗虹雨, 周婷. 咳嗽与非咳嗽胃食管反流病的比较. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3241-3244
- 10 冯业全. 奥美拉唑联合莫沙比利治疗94例胃食管反流性咳嗽的效果分析. 检验医学与临床 2011; 8: 2746-2746, 2748
- 11 王大建. 莫沙比利联合奥美拉唑治疗胃食管反流病104例效果观察. 中国交通医学杂志 2008; 22: 509
- 12 金忠海, 楼放毅, 楼正才, 吴小洪, 陈华英, 应光荣. 胃食管反流食管外症状的治疗研究. 医学研究杂志 2012; 41: 68-70
- 13 张丹霞, 张海燕, 张柳春. 儿童哮喘临床治疗效果观察. 实用儿科临床杂志 2002; 17: 324-325
- 14 曾韬. 必可酮气雾剂和法莫替丁治疗小儿胃食管反流性哮喘的临床观察. 医学理论与实践 2009; 22: 1320-1321
- 15 李大果. 小剂量必可酮治疗小儿咳嗽变异性哮喘疗效观察. 广西医学 2004; 26: 683-684

#### ■同行评价

应用奥美拉唑和必可酮气雾剂联合治疗小儿胃食管反流性哮喘具有显著疗效, 且耐受性良好.

编辑 李军亮 电编 鲁亚静





# 组织结构声学定量技术在肝脏弥漫性病变中的应用价值

王云忠, 王学梅, 李银燕, 欧国成

## ■背景资料

肝脏弥漫性病变已成为当今共同的公共健康问题, 不同程度的此类疾病预后差别明显, 影响人们的身体健康及生活质量, 对此类病变做出早期诊断及准确分级一直是超声诊断的难题, ASQ技术是近期出现的非创伤性定量评价肝内纤维化程度的超声成像新技术, 具有操作简洁、重复性好、人为因素影响小等优点, 在临床应用前景广阔。

王云忠, 王学梅, 李银燕, 欧国成, 中国医科大学附属第一医院超声科 辽宁省沈阳市 110001

王云忠, 在读硕士, 主要从事腹部超声诊断与介入性超声的研究。  
作者贡献分布: 此课题立题由王学梅完成; 设计由王学梅与王云忠完成; 研究过程由王学梅、王云忠及李银燕完成; 数据分析与论文撰写由王云忠完成; 实验指导与论文修改由王学梅与欧国成完成。

通讯作者: 王学梅, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院超声科。  
wxm1mt@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-12-11 修回日期: 2013-01-15

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-18

## Diagnostic value of acoustic structure quantification technology in diffuse liver diseases

Yun-Zhong Wang, Xue-Mei Wang, Yin-Yan Li, Guo-Cheng Ou

Yun-Zhong Wang, Xue-Mei Wang, Yin-Yan Li, Guo-Cheng Ou, Department of Ultrasound Diagnostics, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xue-Mei Wang, Professor, Department of Ultrasound Diagnostics, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wxm1mt@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-11 Revised: 2013-01-15

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-18

## Abstract

**AIM:** To assess the diagnostic value of acoustic structure quantification (ASQ) technology in homogeneous fatty liver and chronic hepatitis B.

**METHODS:** One hundred and fifty-eight normal subjects, 139 patients with homogeneous fatty liver disease (46 mild cases, 64 moderate cases and 29 severe cases) and 66 patients with chronic hepatitis B (43 cases with normal and 23 cases with abnormal liver function), who underwent quantitative assessment of liver tissue using the ASQ technology, were included in the study. ASQ quantitative parameters were compared among different groups, including mode, mean, standard deviation (SD), and the ratio of blue to red (RB ratio) color histogram curve area.

**RESULTS:** Red and blue curves were different in shape and area under the curve among the five groups. The normal group, fatty liver group and chronic hepatitis B group were different in ASQ color coding graph. The redline mode value had a significant difference between the normal group and fatty liver group ( $113.71 \pm 4.50$  vs  $111.18 \pm 2.01$ ,  $104.51 \pm 2.55$ ,  $97.25 \pm 2.22$ , all  $P < 0.01$ ). The blue line mean and SD values in the normal group, moderate to severe fatty liver group and chronic hepatitis B group also had significant difference (all  $P < 0.01$ ). There were significant differences in redline mean, SD and RB ratio values among the three groups ( $P < 0.01$ ). The redline mode value, mean value and RB ratio had significant differences between the normal and abnormal liver function groups in patients with chronic hepatitis B (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** ASQ quantitative parameters can indirectly reflect the severity of homogeneous fatty liver to a certain extent.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Ultrasonography; Acoustic structure quantification; Fatty liver; Chronic hepatitis B

Wang YZ, Wang XM, Li YY, Ou GC. Diagnostic value of acoustic structure quantification technology in diffuse liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 448-453  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/448.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.448>

## 摘要

**目的:** 探讨组织声学定量技术(acoustic structure quantification, ASQ)在不同程度均匀性脂肪肝及慢性乙型肝炎的诊断价值。

**方法:** 应用ASQ技术对158例正常人、139例均匀性脂肪肝患者(轻度46例, 中度64例, 重度29例)及66例慢性乙型肝炎患者(肝功能正常43例, 肝功能异常23例)的肝脏进行组织声学结构定量分析, 比较ASQ定量参数: 众数、均值、标准差及蓝红曲线下面积比。

**结果:** 5组人群中红蓝曲线走形及曲线下面积

## ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

不同; ASQ彩色编码图中, 正常人组、脂肪肝组及慢性乙型肝炎组在图像上表现不同; 红线Mode值在正常组与轻中重度脂肪肝组比较中有显著性差异( $113.71 \pm 4.50$  vs  $111.18 \pm 2.01$ ,  $104.51 \pm 2.55$ ,  $97.25 \pm 2.22$ ,  $P < 0.01$ ), 蓝线Average、SD值在正常组、中重度脂肪肝组与慢性乙型肝炎组有显著差异( $P < 0.01$ ), 红线Average值、SD值及RB Ratio值在3组人群中具有显著性差异( $P < 0.01$ ); 红线Mode值、Average值及RB Ratio值在慢性乙型肝炎肝功正常组及异常组比较中有显著性差异( $P < 0.05$ ).

**结论:** ASQ定量参数值可以在一定程度上间接反映均匀性脂肪肝的严重程度.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 超声; 组织声学定量技术; 脂肪肝; 慢性乙型肝炎

王云忠, 王学梅, 李银燕, 欧国成. 组织结构声学定量技术在肝脏弥漫性病变中的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 448-453 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/448.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.448>

## 0 引言

肝脏弥漫性病变(如: 肝炎、脂肪肝、肝硬化等)是指各种病因引起的肝细胞与肝细胞间质疾病<sup>[1]</sup>, 不同程度的此类疾病预后差别明显, 影响人们的身体健康及生活质量, 但要对此类病变做出早期诊断及准确分级一直是超声诊断的难题. 本研究主要探讨组织结构声学定量(acoustic structure quantification, ASQ)技术的各参数值在弥漫性肝病诊断价值.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2012-07/2012-09在我院就诊经超声检查并经ASQ检测的患者363例, 脂肪肝组139例, 男73例, 女66例, 年龄16-67岁, 平均 $43.89 \pm 12.57$ 岁; 慢性乙型肝炎组66例, 男37例, 女29例, 年龄21-87岁, 平均 $51.30 \pm 12.68$ 岁; 正常对照组158例, 男77例, 女81例, 年龄16-79岁, 平均 $42.68 \pm 9.74$ 岁, 经分析病史及实验室检测排除其他原因导致肝纤维化及硬化者, 排除肝炎合并脂肪肝者及过量饮酒、药物或遗传性疾病等导致的脂肪肝者.

**1.2 方法** 使用东芝Aplio 500彩色多普勒超声诊断仪, 凸阵探头, THI 5.0 MHz, 配有ASQ成像技

术软件. 受检者取平卧位及左侧卧位, 扫查肝脏切面图像共3幅: 肝右叶第5、6肋间1幅, 肝右叶第7、8肋间1幅, 肋间近膈顶部肝S5或S8段1幅, 尽可能避开明显血管、胆管结构. 嘱受检者屏住呼吸, 开启ASQ检测功能, 存储动态影像3-4 s. 图像分析使用ASQ软件进行脱机分析, ROI(感兴趣区)取样框不小于 $30 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ , 取样深度 $\leq 6 \text{ cm}$ , 焦点 $4.0 \text{ cm}$ . 得到红、蓝两条曲线和7个参数值, 红色曲线代表肝组织回声的强度或振幅与系统内部正常肝组织回声强度间的差异, 蓝色曲线代表感兴趣区内的 $\chi^2$ 值均值、标准差与小于 $\mu + 4\sigma$ 的取样点卡方值之比 $> 1.2$ 的 $\chi^2$ 值分布图, 7个参数值包括蓝红曲线下面积比Ratio值和红、蓝色曲线各3个参数值, 分别为Mode值(ROI内出现次数最多的 $\chi^2$ 值)、Average值(ROI内所有取样点卡方值的均值)、SD值(ROI内取样点的离散度), 重复操作10次, 去掉极值, 其余取平均值.

脂肪肝分度诊断符合中华医学会肝脏病学分会脂肪肝及酒精肝病学组中非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版)<sup>[2]</sup>中有关CT诊断标准: 弥漫性肝脏密度减低,  $0.7 < \text{肝/脾CT比值} \leq 1.0$ 为轻度,  $0.5 < \text{肝/脾CT比值} \leq 0.7$ 为中度,  $\text{肝/脾CT比值} \leq 0.5$ 为重度. 慢性乙型肝炎诊断符合中华医学会肝病学分会中慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)<sup>[3]</sup>, 经血清乙型肝炎病毒指标检测证实诊断, 慢性病史2-30年不等, 临床无继发性门脉高压表现, 超声图像上表现为肝实质回声粗糙.

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件对数据进行方差分析. 方差齐性时选用多个样本两两比较的LSD法; 方差不齐时选用Dunnett T3法, 检验水准为 $\alpha < 0.05$ . 两样本比较选用两独立样本 $t$ 检验, 检验水准为 $\alpha < 0.05$ .

## 2 结果

**2.1 ASQ定量分析图** 正常人肝脏红蓝曲线分布较平滑, 红线峰值略向 $100 \text{ cm}^2$ 位置右侧偏离; 脂肪肝时红线分布变窄, 走形平滑, 红线峰值接近 $100 \text{ cm}^2$ 位置, 蓝线走形较缓, 峰值减低, 随着脂肪肝程度加重蓝线走形变得平滑, 峰值更低, 曲线下面积减小; 慢性乙型肝炎时蓝红曲线分布粗糙、增宽, 峰值均明显偏离 $100 \text{ cm}^2$ 位置, 蓝线峰值增大, 曲线下面积增大(图1).

**2.2 ASQ参数成像彩色编码图** 正常肝脏肝实质显示为黄绿色, 沿着肝内管道走形呈红色区域,

## ■ 研发前沿

随着超声诊断技术的不断发展, 单纯的定性诊断已不能完全满足临床的需要, 超声定量技术的研究日益受到医学工程技术人员、超声工作者及临床医生的重视, 目前国内应用ASQ技术对弥漫性肝病进行研究的相关报道较少.

## ■ 相关报道

Yamaguchi等通过与正常肝组织超声信号的统计差异比较,发现能够对肝组织弥漫性改变进行定量估计。Toyoda等提出ASQ方法并证实可以定量诊断肝脏弥漫性疾病,监测肝脏疾病的预后。

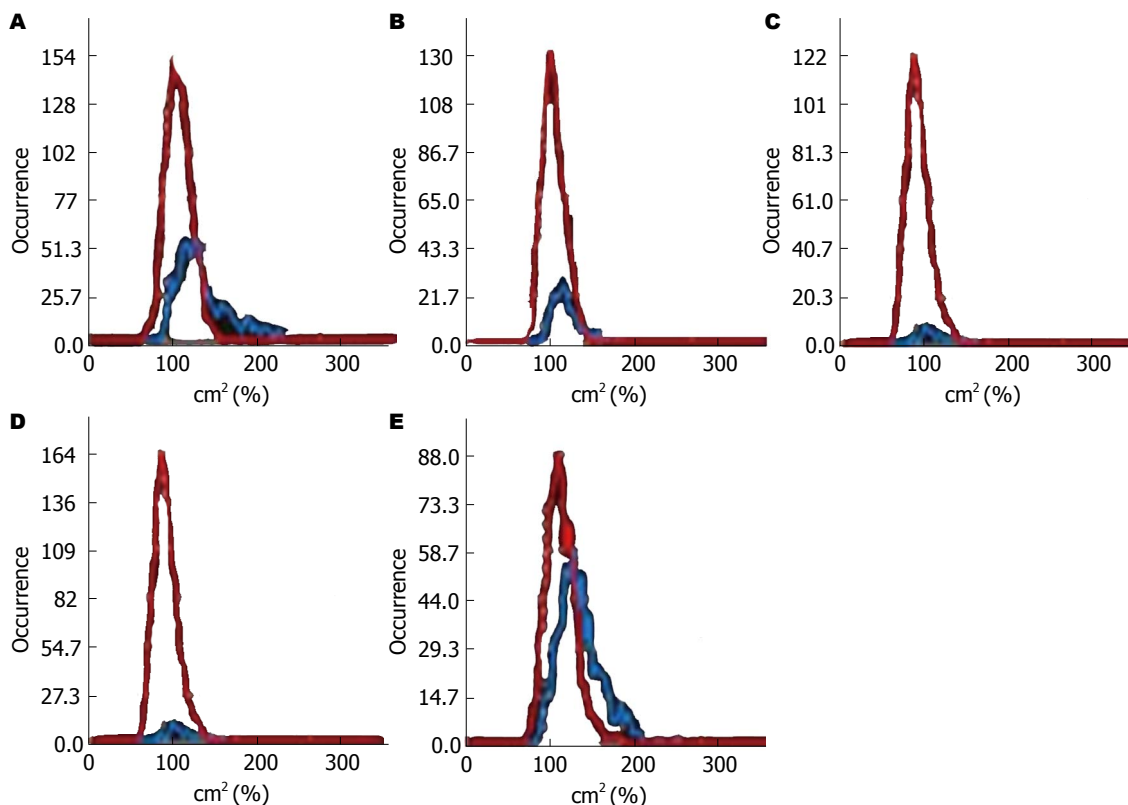


图1 肝脏ASQ定量分析图. 横轴为回声强度 $\chi^2$ 值, 纵轴为频数值. A: 正常肝脏组; B: 轻度脂肪肝; C: 中度脂肪肝; D: 重度脂肪肝; E: 慢性乙型肝炎.

脂肪肝时黄绿色区域增加, 红色区域减少, 随着脂肪肝的加重, 红色区域消失, 图像几乎充满绿色, 慢性乙型肝炎时红色区域增加, 且不规则, 黄绿色区减小(图2).

**2.3 红线参数 Mode值:** 正常组、轻度脂肪肝组与慢性乙型肝炎组比较无显著性差异( $P = 1.00$ ;  $P = 0.34$ ), 其余两两比较均有显著性差异( $P < 0.01$ ). 红线Average值及SD值: 各组之间比较均有显著性差异( $P < 0.01$ , 表1).

**2.4 蓝线参数 Mode值:** 正常组与轻度脂肪肝组无显著性差异( $P = 0.50$ ); 中度脂肪肝与重度脂肪肝比较无显著差异( $P = 0.24$ ); 其余两两比较均有显著性差异( $P < 0.01$ ), 蓝线Average值及SD值: 正常组与轻度脂肪肝组无显著性差异( $P = 0.06$ ,  $P = 1.00$ ), 其余两两比较均有显著性差异( $P < 0.01$ ), RB Ratio值: 各组比较均有显著性差异( $P < 0.01$ , 表1).

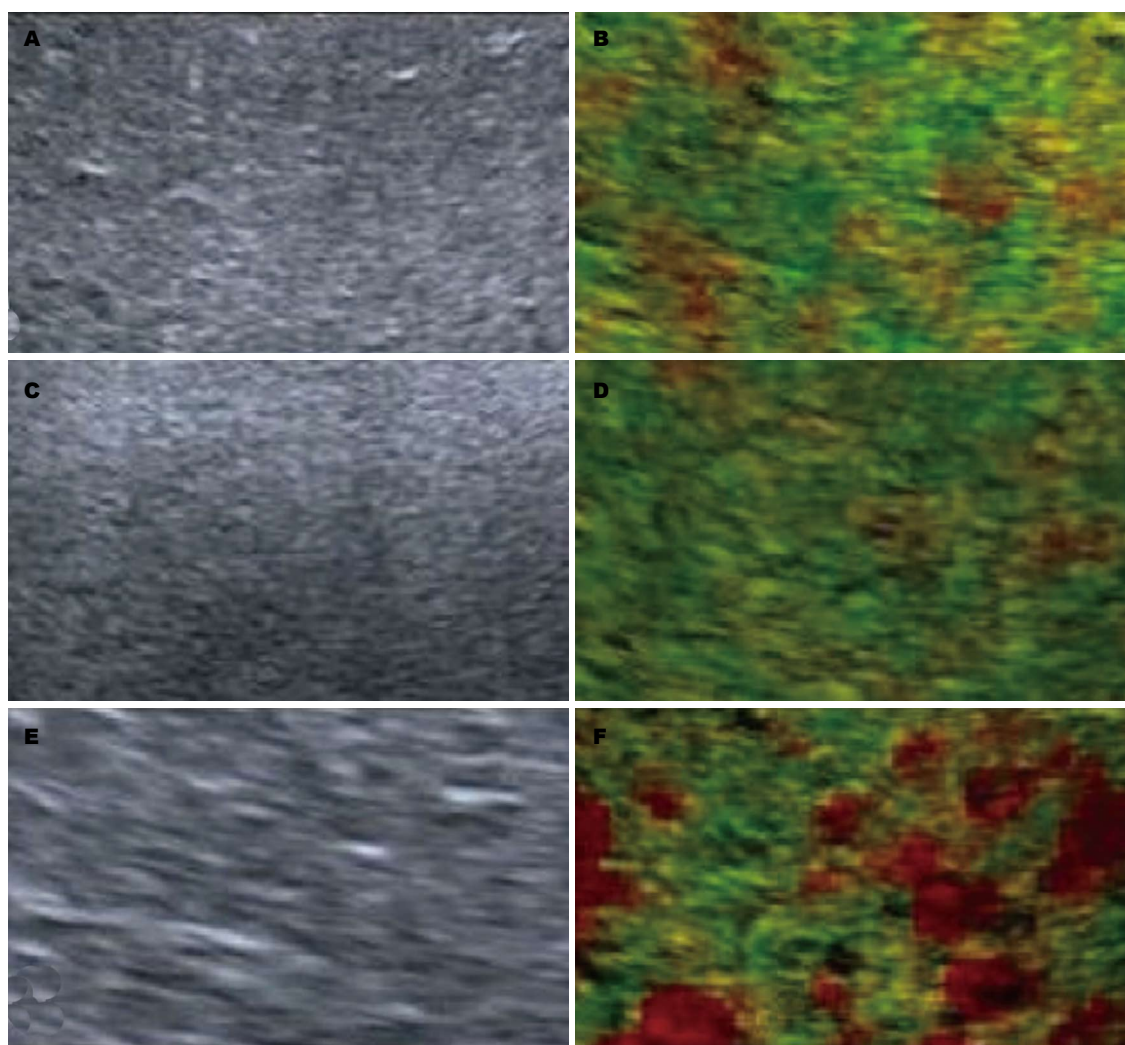
**2.5 慢性乙型肝炎肝功能正常组及异常组红、蓝线参数值** 两组中红线Mode值、红线Average值及RB Ratio值比较有显著性差异( $P < 0.05$ , 表2).

### 3 讨论

肝脏疾病在发达国家和发展中国家都是共同的

公共健康问题<sup>[4-7]</sup>, 在慢性弥漫性肝病中, 超声是最常应用的检查方式, 常规超声检查主要通过肝脏形态大小、包膜及实质回声等进行综合分析, 但当肝组织出现纤维化等病理改变时, 组织的声界面阻抗差或者声散射系数变化并不明显<sup>[8]</sup>, 肝组织穿刺活检仍是脂肪肝及肝纤维化诊断的金标准, 然而他也有一定的局限性, 包括: 所取组织条过小及穿刺操作引起的疼痛或出血风险; 高达25%的病例肝纤维化分期不正确是由于取样误差; 间或观察者对病理解释的内在差异<sup>[9-11]</sup>, 由于这些原因有创性的肝穿刺活检难以作为普查及常规检查手段开展, 目前用于非创性定量评价肝组织弹性的技术主要有: FibroScan、ARFI和SWE(实时剪切波弹性成像). FibroScan是一维的瞬时弹性成像, 可以对肝纤维化进行无创快速检测, 缺点是难以扩展到二维成像, 无法避开肝内非目标结构<sup>[12]</sup>; ARFI是在常规二维图像的基础上选择感兴趣区进行剪切波速度测量, 通过剪切波速度换算得到弹性模量, 缺点是仅能测量辐射力聚焦点位置附近的剪切波速度, 取样面积极其有限, 且聚焦局部能量较高<sup>[13,14]</sup>; SWE是基于ARFI技术的改进, 降低了聚焦超声波的能量, 可用于肥胖和腹水患者,



**■创新盘点**

本研究通过对脂肪肝进行分级并依据肝功异常与否对慢性乙型肝炎进行划分, 比较分析了ASQ各参数数值在弥漫性肝病诊断中的价值, 为临床诊断弥漫性肝病提供了一种新的方法。

图2 肝脏二维超声图及ASQ参数成像彩色编码图. A, B: 正常肝脏; C, D: 脂肪肝; E, F: 慢性乙型肝炎。

但其受测量深度影响。

ASQ技术是近期出现的非创伤性定量评价肝内纤维化程度的超声成像新技术, 其原理是: 系统通过采集肝组织原始回声信号, 对目标区域(大、小ROI)的回声强度(振幅)进行 $\chi^2$ 检验的分析处理, 检验实测肝组织与正常肝组织回声信号的差异性。系统内置了正常肝组织回声信号的原始数据, 其信号特征符合瑞利分布。计算大ROI(其中包括至少300个小的ROI)内的 $\chi^2$ 值; 利用求得的 $\chi^2$ 值均值、标准差, 对小于 $\mu+4\sigma$ 的取样点再进行一次卡方计算, 当两次卡方值之比 $>1.2$ 时, 就用蓝色曲线显示。值的大小与肝组织的纤维成分多少密切相关, 卡方值的均值、众数及RB Ratio也会相应变化。红线为肝组织回声的强度或振幅与系统内部正常肝组织回声强度间的差异, 实际上也就是两者回声信号方差的差异。然后利用卡方的特性之一, 即适合度检验对肝脏回声的均一度进行判断, 求值若为100%,

说明实测肝脏与正常肝组织的回声特征完全符合, 质地均匀, 没有差异。卡方值若大于或小于一定范围, 均表明肝组织回声不正常。目前, 应用ASQ新技术相关研究主要是关于ASQ技术对慢性病毒性肝炎的肝纤维化定量评估, Toyoda等<sup>[15]</sup>用ASQ技术研究了慢性丙型病毒性肝炎患者的肝纤维化程度, 与活检组织检查相比较, 发现在慢性丙型病毒性肝炎中, ASQ定量参数和活检纤维化等级有很好的相关性, 能密切反应肝脏质地的一致性。有研究者应用ASQ技术研究了57例慢性病毒性肝炎患者的肝纤维化程度, 并与肝活检比较, 结果发现, ASQ定量参数和组织声学纤维化程度显著相关, 表明组织声学定量参数的增加与肝纤维化的严重程度相关。

本研究发现, 红线Mode值在正常组与脂肪肝组比较中有显著性统计学差异, 可以对脂肪肝的严重程度进行定量划分, 红线Average值、红线SD值在各组之间比较均有显著性差异, 表明

## ■应用要点

ASQ检测技术能够减少操作者的主观性,提高对弥漫性肝病诊断的准确性,ASQ定量参数值可作为一种量化指标,评价均匀性脂肪肝严重程度及慢性乙型肝炎患者肝功能是否异常等,可作为动态观察疗效的有效评估手段。

表 1 正常组、脂肪肝组与慢性乙型肝炎组各定量参数值比较 (mean ± SD)

分组	正常	脂肪肝			慢性乙型肝炎	F值
		轻度	中度	重度		
<i>n</i>	158	46	64	29	66	
红线Mode值	113.71 ± 4.50	111.18 ± 2.01	104.51 ± 2.55	97.25 ± 2.22	113.41 ± 8.41	97.92 <sup>b</sup>
红线Average值	116.25 ± 2.81	111.02 ± 1.15	107.21 ± 3.46	102.71 ± 2.82	119.80 ± 6.43	176.15 <sup>b</sup>
红线SD值	18.22 ± 1.69	17.27 ± 1.58	16.19 ± 1.92	14.86 ± 1.73	21.59 ± 3.17	79.06 <sup>b</sup>
蓝线Mode值	128.51 ± 5.74	126.47 ± 6.76	117.79 ± 12.57	112.61 ± 9.01	137.06 ± 14.78	48.24 <sup>b</sup>
蓝线Average值	135.93 ± 4.62	133.42 ± 5.47	125.22 ± 10.52	118.00 ± 6.73	152.82 ± 9.86	163.84 <sup>b</sup>
蓝线SD值	25.40 ± 5.18	25.62 ± 6.11	21.70 ± 5.93	17.43 ± 3.84	38.36 ± 10.67	74.27 <sup>b</sup>
RB-Ratio值	0.30 ± 0.08	0.23 ± 0.07	0.12 ± 0.11	0.05 ± 0.03	0.53 ± 0.21	127.08 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>*P* < 0.001. Mode: ROI内取样频率最多的卡方值; Average: ROI内所有取样点卡方值的均值; SD: 主要用于观察ROI内取样点的离散度, 数值越大其离散度越大; RB-Ratio: 表示在 $\chi^2$ 频数直方图内蓝线与红线之间的比率。

表 2 慢性乙型肝炎肝功能正常组及异常组ASQ各定量参数值比较 (mean ± SD)

	<i>n</i>	红线Mode值	红线Average值	红线SD值	蓝线Mode值	蓝线Average值	蓝线SD值	RB-Ratio
正常组	43	111.91 ± 8.70	117.60 ± 5.94	21.14 ± 2.83	135.95 ± 17.65	152.60 ± 10.81	38.58 ± 11.67	0.41 ± 0.13
异常组	23	116.22 ± 7.20	123.91 ± 5.28	22.43 ± 3.65	139.13 ± 6.67	153.22 ± 7.99	37.96 ± 8.73	0.74 ± 0.15
<i>P</i> 值		0.04	0.00	0.14	0.41	0.79	0.80	0.00

Mode: ROI内取样频率最多的卡方值; Average: ROI内所有取样点卡方值的均值; SD: 主要用于观察ROI内取样点的离散度, 数值越大其离散度越大; RB-Ratio: 表示在卡方频数直方图内蓝线与红线之间的比率。

五组人群肝脏回声强度均有差别, 红线Average值、红线SD值可以间接反映这种差别并能定量区分; 蓝线Mode值、Average及SD值在正常组与轻度脂肪肝组无显著性差异, 原因可能是由于轻度脂肪肝肝内脂肪含量增加不显著, 声阻抗差改变与正常组差异不明显。蓝线Mode值在中度组与重度组无显著性差异, 原因是中重度脂肪肝时随着肝细胞内的脂肪小滴增加, 小滴之间散射信号互相作用使散射信号强度增加, 返回探头的回声强度明显减弱, 原始数据测值均减小, 同时随着脂肪小滴增加肝组织回波趋于一致, 声阻抗差减小, 回波信号区分变得不显著。蓝线Average、SD值在正常组、中重度脂肪肝组与慢性乙型肝炎组有显著性差异, 表明这4组人群中肝脏回波声阻抗差有显著性差别, 慢性乙型肝炎时, 肝内基质及纤维化程度增加, 而纤维化的肝组织, 其结节和纤维化结构大于超声波长, 形成不同的散射结构, 因此其与正常组及脂肪肝组存在统计学差异。RB Ratio值(蓝红曲线下面积比值)在各组比较中均有显著性差异, 表明RB Ratio值对组织声学的不均匀程度可以进行直观的分析。慢性乙型肝炎患者肝功能正常组与异常组中红线Mode

值、红线Average值及RB Ratio值均有显著性差异, 表明肝功能受损时也可能同时伴有一定程度的纤维化改变, 通过ASQ参数值之间的差异能间接反映慢性乙型肝炎患者肝功异常, 并提示可能伴有纤维化。Wang等<sup>[16]</sup>研究发现, 正常人、轻度脂肪肝、中-重度脂肪肝、肝纤维化、肝硬化的RB Ratio值分别为0.39、0.20、0.17、0.06和0.18, 5组中RB Ratio值有显著差异, 这与本研究结论相同, 但RB Ratio值大小有差异。

总之, 红线Average值、SD值及RB Ratio值在区分5组人群中意义较大, 红线Mode值可以划分脂肪肝程度, 蓝线Mode值、Average值及SD值在中重度脂肪肝及慢性乙型肝炎患者中有意义, 红线Mode值、红线Average值及RB Ratio值在一定程度上能够间接评估慢性乙型肝炎患者肝功能异常与否。利用ASQ检测技术的多个参数值、红蓝卡方直方图曲线以及参数成像彩色编码图对弥漫性肝病进行综合分析, 能够减少操作者的主观性, 提高对弥漫性肝病诊断的准确性, ASQ定量参数值可作为一种量化指标, 评价均匀性脂肪肝严重程度及慢性乙型肝炎患者肝功能异常与否ASQ参数值的变化, 是动态观察

疗效的有效评估手段。

本实验针对部分脂肪肝及慢性乙型肝炎患者进行了初步研究, 虽未能包含其他类型的弥漫性肝病, 不能和病理金标准相媲美, 但希望通过本研究能够促进ASQ技术在定量诊断其他肝脏弥漫性疾病方法的发展。

#### 4 参考文献

- 1 刘玉蕾, 曹军英, 张筠. 影像学新技术诊断肝脏常见弥漫性疾病. 中国医学工程 2011; 19: 175-177
- 2 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 胃肠病和肝病杂志 2010; 19: 483-487
- 3 贾继东, 李兰娟. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 临床肝胆病杂志 2011; 21: 1-15
- 4 Lavanchy D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. *J Clin Virol* 2005; 34 Suppl 1: S1-S3 [PMID: 16461208 DOI: 10.1016/S1386-6532(05)00384-7]
- 5 Sherman M, Shafran S, Burak K, Doucette K, Wong W, Girgrah N, Yoshida E, Renner E, Wong P, Deschênes M. Management of chronic hepatitis C: consensus guidelines. *Can J Gastroenterol* 2007; 21 Suppl C: 25C-34C [PMID: 17568824]
- 6 Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 3-20 [PMID: 15085483 DOI: 10.1055/s-2004-823098]
- 7 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 8 Chen Y, Wang BE, Jia JD, Qian LX, Wang TL, Chen MH, Chen GY, He W, Ding HG, Yin SS, Zhang Y, Dong Z. [Noninvasive evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis B patients]. *Zhonghua Ganzhangbing* 2003; 11: 354-357 [PMID: 12837216]
- 9 Talwalkar JA, Yin M, Fidler JL, Sanderson SO, Kamath PS, Ehman RL. Magnetic resonance imaging of hepatic fibrosis: emerging clinical applications. *Hepatology* 2008; 47: 332-342 [PMID: 18161879 DOI: 10.1002/hep.21972]
- 10 Standish RA, Cholongitas E, Dhillon A, Burroughs AK, Dhillon AP. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut* 2006; 55: 569-578 [PMID: 16531536 DOI: 10.1136/gut.2005.084475]
- 11 Myers RP. Noninvasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S25-S33 [PMID: 19381121]
- 12 罗建文, 邵金华, 白净, 崔立刚, 王金锐. 瞬时弹性成像用于肝纤维化的无创评价. 中华肝病杂志 2006; 14: 395-397
- 13 Dahl JJ, Pinton GF, Palmeri ML, Agrawal V, Nightingale KR, Trahey GE. A parallel tracking method for acoustic radiation force impulse imaging. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2007; 54: 301-312 [PMID: 17328327 DOI: 10.1109/TUFFC.2007.244]
- 14 Palmeri ML, Wang MH, Dahl JJ, Frinkley KD, Nightingale KR. Quantifying hepatic shear modulus in vivo using acoustic radiation force. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34: 546-558 [PMID: 18222031 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2007.10.009]
- 15 Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, Shiraki K, Takase K, Yamaguchi T, Hachiya H. B-mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 1037-1043 [PMID: 19770327 DOI: 10.2214/AJR.07.4047]
- 16 Wang T, Liu C, Hung C, Lee C, Chang CW, Wang H, Shih S. Acoustic structure quantification analysis for liver parenchymal disease: Experiences at a Medical Center J. *Ultrasound in Medicine & Biology* 2011; 37: S82 [DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2011.05.735]

#### ■同行评价

本文使用彩色多普勒超声诊断仪, 通过检测均匀性脂肪肝患者ASQ定量参数值, 初步表明ASQ技术在诊断均匀性脂肪肝的严重程度方面具有一定价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。



# 难治性远端溃疡性结肠炎的临床表现和治疗

汪玉兰, 李 鹏, 刘朋伟

## ■背景资料

难治性远端溃疡性结肠炎是临床存在的一大难题, 其难治的原因和最佳的治疗方案一直存在争论。

汪玉兰, 李鹏, 刘朋伟, 皖南医学院弋矶山医院消化内科 安徽省芜湖市 241001

汪玉兰, 主任医师, 主要从事炎症性肠病的临床研究。

作者贡献分布: 文献检索、数据收集、论文撰写由汪玉兰完成; 部分数据收集、数据分析由汪玉兰、李鹏及刘朋伟完成。

通讯作者: 汪玉兰, 主任医师, 241001, 安徽省芜湖市赭山西路2号, 皖南医学院弋矶山医院消化内科。

wangyulan2611@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-11-05 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-01-30 在线出版日期: 2013-02-18

## Refractory distal ulcerative colitis: Clinical manifestations and treatment

Yu-Lan Wang, Juan Li, Peng-Wei Liu

Yu-Lan Wang, Juan Li, Peng-Wei Liu, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui Province, China

Correspondence to: Yu-Lan Wang, Chief Physician, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui Province, China. wangyulan2611@yahoo.com.cn

Received: 2012-11-05 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-01-30 Published online: 2013-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical features and treatment of distal ulcerative colitis (DUC) and to analyze probable reasons and optimal therapeutic regimens for refractory DUC.

**METHODS:** Clinical data for 145 DUC patients who were treated at the Affiliated Yijishan Hospital of Wannan Medical College from January 2005 to December 2011 were retrospectively analyzed. Based on the response to traditional treatments, the patients were divided into either an effective group or a refractory group. The two groups were compared in clinical and laboratory examination results to analyze probable reasons and optimal therapeutic regimens for refractory DUC.

**RESULTS:** Of 145 DUC patients, 117 were eligible for evaluation, and 26 of 117 patients were confirmed to have refractory DUC. The percentages of patients with abdominal distention and abdominal pain or elevated white blood cell

count differed significantly between the refractory group and effective group (42.3% vs 22.0%,  $P = 0.038$ ; 30.8% vs 12.1%,  $P = 0.035$ ), while no significant differences were found in bloody stools, diarrhea, extraintestinal manifestations, C-reactive protein, blood sedimentation between the two groups (all  $P > 0.05$ ). Of all 117 cases, 43 were found to have rectitis (including 10 refractory cases), and 74 were found to have sigmoiditis (including 16 refractory cases). No significant difference was found between the two groups in the location of the lesions ( $P > 0.05$ ). Of 26 refractory cases, only 1 was treated by surgery, and the others were treated by intravenous hormone therapy, addition of new dosage form of 5-ASA, or proper laxatives to gain relief.

**CONCLUSION:** Diarrhea and bloody stools are the most common clinical symptoms of DUC. Significantly elevated leukocyte count can be expected to be an important factor for evaluating treatment outcome of DUC. Refractory DUC can be treated by intensification therapy, addition of new dosage form of 5-ASA, proper laxatives, or surgery to gain relief.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Refractory distal ulcerative colitis; Distal ulcerative colitis; Clinical analysis; 5-ASA

Wang YL, Li J, Liu PW. Refractory distal ulcerative colitis: Clinical manifestations and treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(5): 454-458 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/454.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i5.454>

## 摘要

**目的:** 分析难治性远端溃疡性结肠炎的可能的发病原因及治疗方案。

**方法:** 收集我院2005-01/2011-12溃疡性结肠炎中145例DUC患者资料进行回顾性分析。根据对传统治疗的反应, 分为有效组和难治组。比较两组患者的临床和实验室检查结果, 分析难治DUC可能的原因及进一步治疗方案。

## ■同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

**结果:** 145例远端溃疡性结肠炎患者, 其中117例符合条件纳入组, 117例中有26例[22.2%(26/117)]患者难治。与有效组相比, 难治组患者腹痛腹胀明显[42.3%(11/26) vs 22.0%(20/91),  $P=0.038$ ]、白细胞数明显增高[30.8%(8/26) vs 12.1%(11/91),  $P=0.035$ ], 而血便、腹泻、肠外表现、C反应蛋白及血沉两组之间无明显差异( $P>0.05$ )。117例入组患者内镜下表现为直肠炎43例其中10例难治, 直乙状结肠炎74例中16例难治, 病变部位差异无统计学意义( $P>0.05$ )。26例难治患者仅1例行外科手术, 其余的通过激素静脉治疗、加用5-ASA新型剂型、适当的泻药等获得缓解。

**结论:** 远端溃疡性结肠炎患者腹泻和血便是临床最常见症状, 难治组白细胞数较有效组明显增高, 其有望成为评估DUC治疗转归的指标之一。难治性DUC患者可通过强化治疗、加用5-ASA的新型剂型、适当的泻药、手术等方法获得缓解。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 难治性溃疡性结肠炎; 远端溃疡性结肠炎; 临床分析; 5-ASA的新型制剂

汪玉兰, 李鹏, 刘朋伟. 难治性远端溃疡性结肠炎的临床表现和治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(5): 454-458 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/454.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i5.454>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因未明, 以结肠直肠黏膜弥漫性炎性损害为特征的慢性非特异性肠道炎性疾病。远端溃疡性结肠炎(distal ulcerative colitis, DUC)是指UC内镜下病变仅仅累及直肠或者直乙状结肠, 在我国DUC约占UC的41.2%<sup>[1]</sup>, DUC的传统治疗是指口服氨基水杨酸制剂和局部应用皮质激素类药物, 但部分患者对传统治疗反应不佳, 或激素撤药后疾病复发且再次治疗无效、激素撤药后症状改善持续时间有限或治疗过程中病变向近端发展<sup>[2]</sup>, 被称为难治性远端溃疡性结肠炎(refractory distal ulcerative colitis, RDUC)。本文通过对我院2005-01/2011-12住院的溃疡性结肠炎中145例DUC患者资料进行回顾性分析, 总结RDUC患者临床特征和进一步治疗的措施。

## 1 材料和方法

1.1 材料 以皖南医学院弋矶山医院2005-01/2011-

12住院的溃疡性结肠炎中145例DUC患者为研究对象, 收集他们的基本资料及随访资料。

1.2 方法 统一依据2007年济南会议对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见<sup>[3]</sup>规范诊断标准, 重新审定各个病案并纳入。调查其一般资料, 结肠镜下病变部位, 临床症状(腹胀腹痛、腹泻、血便、肠外表现)及实验室检查结果(血红蛋白、血沉、C反应蛋白)。根据对传统治疗(口服氨基水杨酸制剂和局部应用皮质激素类药物)的反应分为有效组和难治组。符合下列情况之一者归为难治组: (1)经以上治疗6-8 wk后症状不能缓解; (2)激素撤药后疾病复发且再次治疗无效、激素撤药后症状改善持续时间有限(撤药后6 wk内复发)或治疗过程中病变向近端发展<sup>[2]</sup>。对于难治性远端溃疡性结肠炎患者, 进一步调查其补救治疗的方案及效果。

**统计学处理** 采用SPSS16.0软件进行分析, 计数资料以例数和百分比进行描述, 组间率的比较采用 $\chi^2$ 检验。  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般情况 2005-01/2011-12在皖南医学院弋矶山医院确诊为DUC患者145例纳入分析的病例中, 男83例, 女62例, 年龄15-73岁(平均年龄 $43.0 \pm 14.7$ 岁)。145例患者中117例(80.7%)接受传统治疗(口服氨基水杨酸制剂和局部应用皮质激素类药物), 其中难治组和有效组分别占22.2%(26/117)和77.8%(91/117), 两组性别, 年龄差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 入组的117例均为轻中度患者。26例难治性DUC患者占总DUC患者比例为17.9%(26/145), 通过调整治疗方案获得缓解。

2.2 临床表现 难治组中有11例(42.3%)临床有明显的腹胀腹痛, 疼痛部位不固定, 特别是胀痛, 部位较高; 有效组患者20例(22.0%)腹痛, 疼痛部位基本在左下腹, 排便后可以缓解, 腹胀腹痛的发生两组间有显著差异( $P<0.05$ )。两组腹泻发生率均较高, 难治组高达76.9%, 多为黏液脓血便, 3-10次/d不等, 大便量少。肉眼血便发生率也高, 难治组中有18例(69.2%), 有效组54例(59.3%)。在本组DUC患者中, 肠外表现的发生率低, 且两组间无统计学意义( $P>0.05$ , 表1)。

2.3 内镜及实验室检查 难治组和有效组中分别有30.8%(8/26)和12.1%(11/91)的患者外周血白细胞数增高, 两组间差异有统计学意义( $P=0.035$ ), 可能由于难治组结肠黏膜炎症反应

## ■ 相关报道

江学良《重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗》阐述了UC的治疗应遵循规范化和个体化相结合的原则, 给临床工作指出了探索的方向。

## ■创新盘点

远端溃疡性结肠炎患者难治的影响因素多,除了炎症因素,还有肠道动力以及生理因素,在规范化治疗的基础上进行个体化治疗是我们的原则。

表 1 难治组和有效组患者临床特征对比  $n(\%)$ 

分组	<i>n</i>	年龄(岁)	腹胀腹痛	腹泻	血便	肠外表现
难治组	26	44.0 ± 14.4	11(42.3)	20(76.9)	18(69.2)	3(11.5)
有效组	91	43.0 ± 13.6	20(22.0)	54(59.3)	54(59.3)	9(9.9)
<i>P</i> 值			0.038	0.101	0.361	0.809

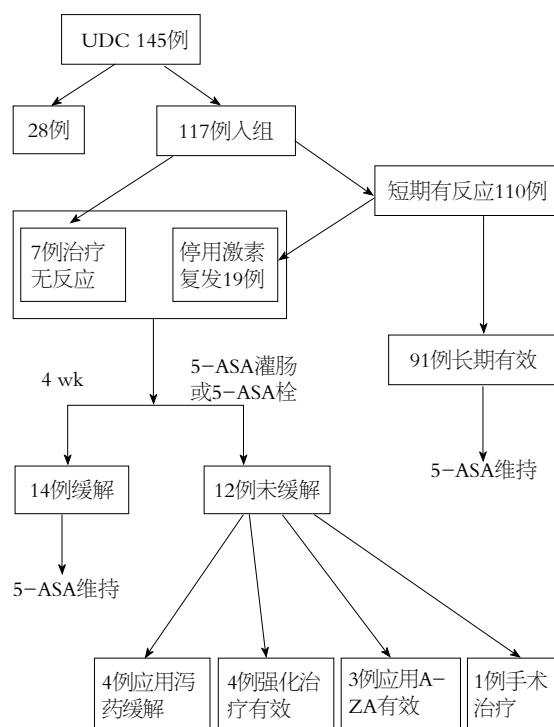


图 1 远端溃疡性结肠炎患者的治疗及随访情况。

严重,病程长有关。难治组和有效组中分别有34.6%(9/26)和35.2%(32/91)的患者红细胞沉降率不同程度的增高,两组间差异无统计学意义( $P = 0.959$ )。难治组和有效组中分别有26.9%(7/26)和24.2%(22/91)的患者C-反应蛋白增高,两组间差异无统计学意义( $P = 0.775$ )。117例患者内镜下表现为43例直肠炎10例难治和74例直乙状结肠炎16例难治,内镜下病变部位比较23.3%(10/43)和21.6%(16/74),无统计学意义( $P = 0.838$ )。病理组织学由于部分缺乏病理特征的描述,未能进行两组对比。

**2.4 难治病例的进一步治疗** 入组的117例DUC患者中有7例接受传统治疗(5-ASA 4 g/d分次口服和氢化可的松200 mg/d灌肠),6 wk后,患者的临床症状没能缓解;110例治疗有效,其中19例治疗6 wk激素撤药后疾病复发或撤药后症状改善持续时间<6 wk。给予这26例难治病例美沙拉嗪灌肠剂1 g/d或栓剂1 g/d治疗,4 wk后有14例缓解;4例腹部X线检查发现近端结肠运动异常,口

服乳果糖3袋/d获得缓解;4例通过静脉激素(氢化可的松300 mg/d)强化治疗有效,3例应用硫唑嘌呤(AZA, 100 mg/d)有效并以AZA维持。1例行结肠切除术(图1)。

## 3 讨论

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括UC和克罗恩病(Crohn disease, CD),近年来我国IBD发病率逐年升高,引起临床医生的广泛关注。由于IBD的病因和发病机制目前仍不完全清楚,因此治疗缺乏特异性,如何减少复发以及提高难治性患者的疗效是临床难题<sup>[4]</sup>。UC根据其内镜下病变的部位分为直肠炎、直乙状结肠炎、左半结肠(脾曲以远)炎、广泛结肠(脾曲以近)炎、全结肠炎。远端溃疡性结肠炎DUC指的是病变位于直肠或直乙状结肠黏膜。我国的3 100例UC大样本调查<sup>[1]</sup>结果显示,DUC发生率占UC的41.2%;国外的一项1161例UC患者的调查中,48%远端结肠炎,32%左侧结肠炎,其他为全结肠炎和尚未确定范围<sup>[5]</sup>。难治性远端结肠性溃疡的发生率约为20%。故难治性远端溃疡性结肠炎是我们临床工作不能回避的问题。我们的资料分析显示,DUC患者临床腹泻和血便非常常见,且难治组和有效组没有明显差异,部分实验室检查差异也不明显,不太容易在治疗开始预测治疗效果,给选择治疗方案带来困难,难以避免难治性病例的发生。

远端结肠疾病难治的生理因素是细胞的表面类固醇激素受体的表达不同,糖皮质激素受体或者表达为有活性的 $\alpha$ 链,或者表达为 $\beta$ 链(是一种细胞内糖皮质激素拮抗物)。国外学者一项研究表明<sup>[6]</sup>,12例对糖皮质激素反应差的患者中10例 $\beta$ 链mRNA表达,而在反应良好的11例病例中仅有1例 $\beta$ 链mRNA表达。直肠的低顺应性也是远端结肠炎难治的另一生理因素,慢性炎症所致的直肠顺应性降低可以产生持续的症状,即使在炎症消失后仍能持续,使得患者在低便量时引发便意,从而使大便频率增加,导致在局部治疗时,药物与黏膜接触时间缩短,这也是DUC



患者腹泻常见的原因。

活动性DUC的初始治疗,口服氨基水杨酸和局部应用糖皮质激素。我们选入组的117例均经过6-8 wk上述治疗,有7例症状不缓解;另有19例初始治疗有效,在停用糖皮质激素后症状再发或停药后6 wk内症状再发。26例中有14例通过增加直肠或直乙状结肠5-ASA应用后获得缓解。国外有大量的关于5-ASA药物浓度与临床疗效关系的资料, Frieri等<sup>[7]</sup>研究得出肠黏膜5-ASA浓度与溃疡性结肠炎内镜下和组织学活动度呈负相关,提示肠黏膜5-ASA药物浓度不足影响了疾病的治疗效果;在一组研究中,显示使用柳氮磺胺吡啶时患者肠黏膜5-ASA浓度高于使用美沙拉嗪时的浓度<sup>[8]</sup>,而另有资料得出相反结论<sup>[9]</sup>,但是,在这些研究中可以肯定的是,局部应用5-ASA可以提高肠道黏膜5-ASA浓度<sup>[8,9]</sup>; Frieri等<sup>[10]</sup>另一项关于难治性结肠疾病的研究表明,同时将口服和局部5-ASA剂量加倍可使组织5-ASA浓度增加100倍,其复发率降为10%。国内学者研究亦显示,5-ASA增加剂量维持可有效降低UC的复发率<sup>[11]</sup>。对难治性远端结肠炎患者应着力于提高肠黏膜5-ASA浓度,通过增加5-ASA剂量和给药方式影响着治疗的效果。在我们的资料中有14/26患者通过美沙拉嗪灌肠剂1 g/d或美沙拉嗪栓剂1 g/d治疗4 wk获得缓解,由于随访时间不足,我们没能对维持治疗患者DUC复发情况进一步统计,这有待于我们后期进一步随访研究。

远端溃疡性结肠炎患者近端肠运动的异常引起临床工作者的广泛关注,运动紊乱表现为自口至肛门传输时间的延迟,未受累结肠传输时间延长,而有炎症累及的远端结肠传输加快,提示小肠和非病变结肠生理功能发生改变,这可能是通过神经内分泌或神经免疫途径导致的,并可影响口服药物向远端结肠的传递<sup>[12]</sup>。Hebden等<sup>[13]</sup>应用闪烁扫描法发现,12例活动性远端结肠炎患者中,91%的患者标记过的树脂包仍存留在非病变的近端结肠,仅9%患者树脂包到达远端结肠,在22例健康对照的受试者中,31%树脂包在远端结肠。这有力的解释了远端结肠炎部分患者存在近端结肠运动障碍。因此,如果患者经常规治疗后腹痛腹胀症状不能缓解或结肠镜显示炎症持续存在,应给予腹部X线平片检查以明确各段结肠的运动情况。在考虑到远端腹泻和近端便秘这一矛盾之后,可适当给予泻药治疗,临床可起到一定的治疗效果。

张烁等<sup>[14]</sup>对难治性IBD的研究表明,26例难治性IBD患者与25例对照组在临床症状、内镜表现和病变部位相比,差异无明显统计学意义,而难治组较有效组C反应蛋白、血沉水平明显升高。我们研究结果亦表明,难治组与有效组的患者相比,部分临床症状、内镜下病变部位无明显统计学差异。在我们的资料中,C反应蛋白、血沉水平两者之间无明显差别,这可能与入组患者的标准不同有关。此外,我们发现DUC难治组患者白细胞升高较有效组明显,这可能与难治组肠黏膜的炎症反应更严重,病程长有关。白细胞聚集可以释放大量的炎症介质,包括前列腺素、白细胞三烯、血小板活化因子、氧自由基和细胞因子等,从而导致更广泛的肠黏膜损害,这可能是导致治疗缓解更加困难的原因之一。对于DUC患者难治组与有效组间白细胞升高程度是否存在差别,目前尚无文献报道。本研究首次发现难治型DUC白细胞升高更明显,其有望成为评估患者治疗效果的重要指标之一。

难治性DUC患者病例数少,治疗流程长,患者的依从性差,收集病例难度大。Vernia等<sup>[15]</sup>的多中心临床试验研究,将51例难治性DUC患者随机分为两组,实验组25例行5-ASA与丁酸盐治疗,对照组26例应用5-ASA与盐溶液治疗,得出前者对难治性DUC的治疗效果明显优于后者的结论;张烁等<sup>[14]</sup>对26例难治性IBD的研究,得出IBD患者的临床症状和内镜表现不能预测临床治疗效果。我们对26例难治性DUC患者进行回顾性临床研究,探讨其难治的原因以及进一步治疗的方案,期望对临床工作有一定的指导意义。当然本研究并非大规模的临床研究,不能据此得出有效的诊疗方案。对于难治性DUC的临床特征和推荐性的治疗方案的得出,尚需要一定样本量的前瞻性研究。

总之,DUC临床最常见的症状腹泻和血便,这两大症状可能不能预示规范化治疗的效果;白细胞数升高可能与患者的治疗效果相关,其有望成为评估患者治疗效果的指标之一;DUC患者难治的影响因素多,临床应结合患者的具体情况,在规范化治疗的基础上个体化治疗。

#### 4 参考文献

- 1 中国炎症性肠病协作组,王玉芳,欧阳钦. 3100例溃疡性结肠炎住院病例回顾分析. 中华消化杂志 2006; 26: 368-372
- 2 Griffin MG, Miner PB. Review article: refractory distal colitis -- explanations and options. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10: 39-48 [PMID: 8871442 DOI:

#### ■同行评价

难治性远端溃疡性结肠炎的临床特征和治疗方法的调查研究,是就临床实际问题而开展的研究,有利于治疗方法的确立或更新,有利于提高临床疗效。

- 10.1111/j.1365-2036.1996.tb00175.x]
- 3 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 中华内科杂志 2008; 47: 73-79
- 4 江学良. 重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1081-1082
- 5 Langholz E, Munkholm P, Davidsen M, Binder V. Course of ulcerative colitis: analysis of changes in disease activity over years. *Gastroenterology* 1994; 107: 3-11 [PMID: 8020674]
- 6 Honda M, Orii F, Ayabe T, Imai S, Ashida T, Obara T, Kohgo Y. Expression of glucocorticoid receptor beta in lymphocytes of patients with glucocorticoid-resistant ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2000; 118: 859-866 [PMID: 10784585]
- 7 Frieri G, Giacomelli R, Pimpo M, Palumbo G, Passacantando A, Pantaleoni G, Caprilli R. Mucosal 5-aminosalicylic acid concentration inversely correlates with severity of colonic inflammation in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2000; 47: 410-414 [PMID: 10940280 DOI: 10.1136/gut.47.3.410.]
- 8 Naganuma M, Iwao Y, Ogata H, Inoue N, Funakoshi S, Yamamoto S, Nakamura Y, Ishii H, Hibi T. Measurement of colonic mucosal concentrations of 5-aminosalicylic acid is useful for estimating its therapeutic efficacy in distal ulcerative colitis: comparison of orally administered mesalamine and sulfasalazine. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7: 221-225 [PMID: 11515848 DOI: 10.1097/00054725-200108000-00007]
- 9 Hussain FN, Ajjan RA, Kapur K, Moustafa M, Riley SA. Once versus divided daily dosing with delayed-release mesalazine: a study of tissue drug concentrations and standard pharmacokinetic parameters. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 53-62 [PMID: 11136278 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.00891.x]
- 10 Frieri G, Pimpo M, Galletti B, Palumbo G, Corrao G, Latella G, Chiaramonte M, Caprilli R. Long-term oral plus topical mesalazine in frequently relapsing ulcerative colitis. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 92-96 [PMID: 15733520 DOI: 10.1016/j.dld.2004.09.017]
- 11 沈娟, 李俊霞, 王化虹, 李懿璇, 田雨, 刘新光. 5-氨基水杨酸维持治疗溃疡性结肠炎114例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 416-420
- 12 Rao SS, Read NW, Brown C, Bruce C, Holdsworth CD. Studies on the mechanism of bowel disturbance in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1987; 93: 934-940 [PMID: 3653643]
- 13 Hebden JM, Blackshaw PE, Perkins AC, Wilson CG, Spiller RC. Limited exposure of the healthy distal colon to orally-dosed formulation is further exaggerated in active left-sided ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 155-161 [PMID: 10651655 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00697.x]
- 14 张烁, 吕宾, 晁冠群, 郭贇, 孟立娜, 张璐. 难治性炎症性肠病临床特征分析. 胃肠病学 2008; 13: 544-547
- 15 Vernia P, Annese V, Bresci G, d'Albasio G, D'Inca R, Giaccari S, Ingrosso M, Mansi C, Riegler G, Valpiani D, Caprilli R. Topical butyrate improves efficacy of 5-ASA in refractory distal ulcerative colitis: results of a multicentre trial. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 244-248 [PMID: 12641543 DOI: 10.1046/j.1365-2362.2003.01130.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 2012 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇,退稿887篇,退稿率57.63%,发表文章652篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评34篇(5.21%),基础研究94篇(14.42%),临床研究61篇(9.36%),焦点论坛20篇(3.07%),文献综述114篇(17.48%),研究快报86篇(13.19%),临床经验222篇(34.05%),病例报告21篇(3.22%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV



RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H.pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能写Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d。3.56 ± 0.27 pg/mL应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.



《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈洪 主任医师  
东南大学附属中大医院消化科

陈其奎 教授  
中山大学附属第二医院消化内科

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院

管世鹤 副教授  
安徽医科大学第一附属医院检验科

郝建宇 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

郝立强 副教授  
上海长海医院普外二科

黄恒青 主任医师  
福建省第二人民医院消化内科

黄缘 教授  
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

江建新 副主任医师  
贵阳医学院附属医院肝胆外科

孔静 副教授  
中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

李刚 教授  
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李永翔 教授  
安徽医科大学第一附属医院普外科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

陆云飞 教授  
广西医科大学第一附属医院

倪润洲 教授  
南通大学附属医院消化内科

潘阳林 副教授  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

沈柏用 教授  
瑞金医院肝胆胰外科中心

沈薇 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

汤静 主管药师  
上海交通大学附属第一人民医院药学部

王俊平 教授  
山西省人民医院消化科

王来友 副教授  
广东药学院中医药研究院

王道荣 主任医师  
江苏省苏北人民医院胃肠外科

魏继福 研究员  
江苏省人民医院

徐灿霞 教授  
中南大学湘雅三医院消化内科

杨薇 副教授  
北京大学肿瘤医院超声科

袁红霞 研究员  
天津中医药大学

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张力为 副教授  
新疆医科大学第一附属医院胸外科

周南进 研究员  
江西省医学科学研究所

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Room 1701, 17/F, Henan Building,

No. 90 Jaffe Road, Wanchai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>



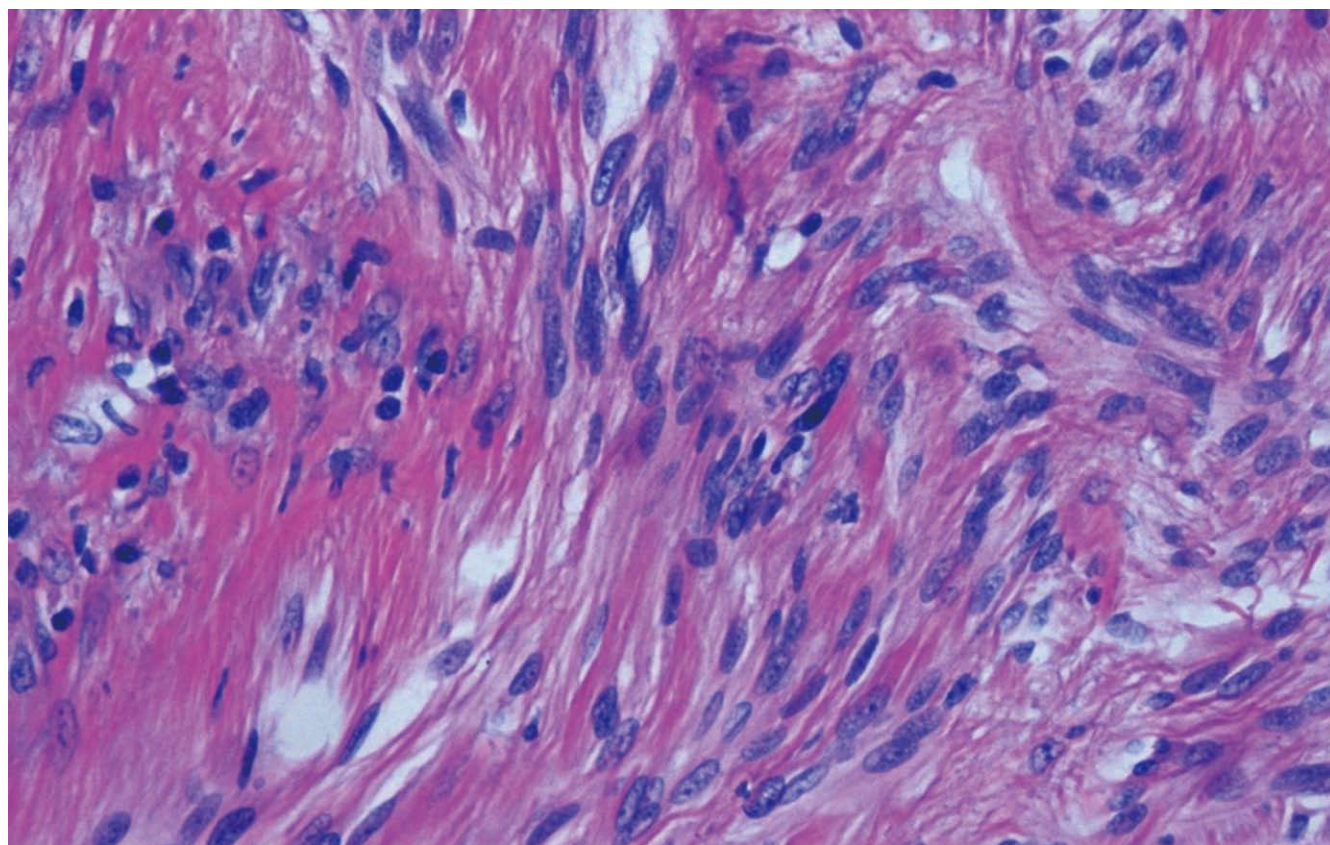
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 2 月 28 日      第 21 卷      第 6 期      (Volume 21 Number 6)**



**6/2013**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思凤教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授

汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐决副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年2月28日 第21卷 第6期 (总第410期)

述 评	459 中医药治疗功能性便秘机制的研究进展 冯 硕, 刘绍能
基 础 研 究	464 光敏剂磁性纳米粒子螯合剂在兔VX2肝转移瘤模型中的生物学分布 龚健, 刘煜昊, 葛海燕 471 大鼠肠巨噬细胞TREM-1表达对其侵袭力和肠上皮细胞增殖的影响 张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春
临 床 研 究	478 整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 蛋白及mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义 白兴武, 李桃, 齐洁敏 484 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值 邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁
文 献 综 述	490 食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展 王琳, 李苏宜 498 CD4 <sup>+</sup> T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系 夏妍, 张淑云 508 脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展 廖金卯, 胡小宣 514 胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系 杨梓琪, 樊利芳
研 究 快 报	521 TNF $\alpha$ 通过TNFR1/PKC $\alpha$ 和TNFR2信号通路诱导人肾小球系膜细胞IP <sub>3</sub> R1的表达 王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 刘沛
临 床 经 验	527 食管覆膜支架置入治疗恶性肿瘤所致的食管气管瘘21例 王宝明, 杨海山 531 黑龙江地区丙型肝炎病毒的基因亚型 杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云 537 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例 邢霖远, 余祖江 541 选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压在肝切除术中的应用 董志涛, 罗昆仑, 吴国忠, 李界明, 周脉涛 547 内镜胆道金属支架联合鼻胆管引流姑息性治疗恶性胆道梗阻 韩今朝, 秦鸣放



附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	463 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 470 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 477 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 483 《世界华人消化杂志》出版流程 497 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 507 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 513 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 520 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 526 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 530 《世界华人消化杂志》外文字符标准 540 《世界华人消化杂志》参考文献要求 546 《世界华人消化杂志》修回稿须知 552 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 484-489 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484</a>
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-02-28

原刊名 新消化病学杂志

### 期刊名称

世界华人消化杂志

### 国际标准连续出版物号

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

### 主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

党双锐, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

### 编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### 出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### 制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

### 特别声明

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

### 定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## February 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 6

<b>EDITORIAL</b>	459 Advances in research on mechanism of Chinese medicine treatment of functional constipation <i>Feng S, Liu SN</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	464 Biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma <i>Gong J, Liu YH, Ge HY</i> 471 Effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells <i>Zhang JX, Wang K, Zhu WR, Shen Y, Wang PJ, Dang SC</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	478 Clinical significance of expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma <i>Bai XW, Li T, Qi JM</i> 484 Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors <i>Zou CX, Xie M, Dai SJ, Tang SQ</i>
<b>REVIEW</b>	490 Progress in research of markers for cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma <i>Wang L, Li SY</i> 498 Changes in CD4 <sup>+</sup> T lymphocyte subsets and clinical outcomes of hepatitis B virus infection <i>Xia Y, Zhang SY</i> 508 Transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis: Research progress <i>Liao JM, Hu XX</i> 514 EGFR signaling pathway and targeted therapy for cholangiocarcinoma <i>Yang ZQ, Fan LF</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	521 TNF $\alpha$ induces IP <sub>3</sub> R1 expression via TNFR1/PKC $\alpha$ and TNFR2 signaling pathways in human mesangial cells <i>Wang YR, Zhang H, Sun H, Li CH, Liu P</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	527 Treatment of malignant esophagorespiratory fistula with metallic stents: An analysis of 21 cases <i>Wang BM, Yang HS</i> 531 Analysis of hepatitis C virus subgenotypes in patients in Heilongjiang province <i>Du B, Jin X, Liu W, Li XK, Yu XY, Zhang SY</i> 537 Causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: An analysis of 127 cases <i>Xing JY, Yu ZJ</i> 541 Application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure in hepatectomy <i>Dong ZT, Luo KL, Wu GZ, Li JM, Zhou MT</i> 547 Endoscopic metal biliary endoprosthesis combined with endoscopic nasobiliary drainage for palliative treatment of malignant biliary obstruction <i>Han JZ, Qin MF</i>

<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Zou CX, Xie M, Dai SJ, Tang SQ.</i> Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(6): 484-489 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** February 28, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,  
Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,  
Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# 中医药治疗功能性便秘机制的研究进展

冯 硕, 刘绍能

冯硕, 刘绍能, 中国中医科学院广安门医院消化科 北京市 100053

刘绍能, 主任医师, 主要从事消化疾病的中医药防治研究.

作者贡献分布: 本文综述由冯硕完成; 刘绍能修改并审核.

通讯作者: 刘绍能, 主任医师, 博士研究生导师, 100053, 北京市西城区广安门内北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院消化科. liushaoneng886@yahoo.com.cn

电话: 010-88001031

收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-02-28

## Advances in research on mechanism of Chinese medicine treatment of functional constipation

Shuo Feng, Shao-Neng Liu

Shuo Feng, Shao-Neng Liu, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China

Correspondence to: Shao-Neng Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China. liushaoneng886@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-04 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-02-28

## Abstract

Functional constipation is a common disease affecting patients' health and quality of life. Chinese medicine has certain advantages in the treatment of functional constipation. In this article we review the literature and summarize the mechanisms on Chinese medicine treatment of functional constipation. Main mechanisms include lubricating the intestinal tract and increasing intestinal contents, promoting gastro-intestinal motility and defecation, increasing the number of interstitial cells of Cajal in the colon and regulating the amount of intestinal neurotransmitters and hormones. We also put forward ideas and suggestions for future research.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Functional constipation; Chinese medicine treatment; Colon; Cajal interstitial cells; Neurotransmitter

Feng S, Liu SN. Advances in research on mechanism of

Chinese medicine treatment of functional constipation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(6): 459-463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/459.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.459>

## 摘要

功能性便秘是影响患者健康和生活质量的常见疾病, 中医药在治疗功能性便秘方面有一定优势. 本文通过文献分析, 将中医药治疗功能性便秘的机制概括为润滑肠道并增加肠道内容物含量、促进胃肠运动和排便、增加结肠Cajal间质细胞的数量、调控肠神经递质及激素的含量, 并对今后研究提出了思路和建议.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 功能性便秘; 中医药治疗; 结肠; Cajal间质细胞; 神经递质

冯硕, 刘绍能. 中医药治疗功能性便秘机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 459-463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/459.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.459>

## 0 引言

功能性便秘(functional constipation, FC)是一组以排便质地改变、排便困难或排便不尽感、粪便干结为主要表现的疾病, 并且经各种检查排除器质性病变. 中医药治疗便秘已有上千年历史, 近年来中草药治疗慢性功能性便秘的报道逐渐增多, 循证医学研究证实<sup>[1]</sup>, 中医药在治疗功能性便秘方面安全、有效, 能改善功能性便秘患者的临床症状, 在总体疗效方面具有明显的优势. 随着现代医学对神经胃肠病学认识的不断发展, 许多学者开始从更新的领域探讨中医药对功能性便秘的作用机制, 且他们的研究取得了颇多进展. 我们通过查阅近些年来与此相关的文献报道, 现将中医药治疗功能性便秘作用机制的研究进展综述如下.

## 1 润肠作用

许多中药质润多脂, 含有丰富的油脂, 对肠道具

## ■背景资料

中医药治疗功能性便秘历史悠久, 临床应用广泛. 随着现代神经胃肠病学的发展, 中医药治疗功能性便秘机制的研究也取得了较大进展. 综述这些进展有助于了解中医药治疗功能性便秘机制的现状, 为进一步研究寻找新的思路 and 途径.

## ■同行评议者

魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

## ■研发前沿

肠神经系统的病理学改变,尤其是Cajal间质细胞数量减少、神经递质及激素水平的变化在功能性便秘的病理生理方面担任重要角色。鉴于此,应用中医药治疗功能性便秘是否能扭转此病理生理改变已成为研究的热点。

有润滑作用,可用于功能性便秘的治疗,单味中药即有效。据记载<sup>[2]</sup>火麻仁的主要成分中含脂肪油约30%,油中含大黄酚、植酸钙镁等,有润滑肠道的作用,同时在肠道遇碱性溶液后能产生脂肪酸,刺激和润滑肠壁,产生通便作用;牵牛子中含牵牛子脂,是以树脂与糖结合为甙形式存在的,其中含树胶及挥发油,具有润滑肠道的作用;而松子仁中,脂肪油含量可达74%。此外,润肠通便药也可增加肠道内水分含量,软化粪便,使肠腔内容物体积增加,从而刺激肠壁,缩短排便时间,增加排便量,类似于容积性泻剂和高渗性泻剂的导泻作用来实现。周玖瑶等<sup>[3]</sup>以麻仁润肠口服液观察小鼠大肠的水分含量,发现麻仁润肠口服液的通便作用可能是通过润肠、增加肠组织水分和肠腔内容物容积来实现的。覃荣等<sup>[4]</sup>观察了润肠通便合剂对正常小鼠肠道水分吸收的影响,认为润肠通便合剂具有增加肠腔含水量,从而产生润肠通便的作用。潘希雄等<sup>[5]</sup>的研究显示,首乌润肠口服液(何首乌、玄参等)能明显增加大、小肠水分的含量,使肠道容积变大,大便软化,有利于大便的排泻。郁飞虹等<sup>[6]</sup>则认为首乌润肠口服液可使肠段膨胀、肠内水分明显增加、肠腔容积变大,发挥机械刺激肠壁的作用,使肠蠕动亢进,而产生润肠通便的作用。另有研究显示<sup>[7,8]</sup>,肉苁蓉中的半乳糖具有良好的通便作用,其是一种性能良好的水溶性膳食纤维,有较好的持水力且易被肠道内有益菌群选择性利用,降低肠道内环境的pH值,抑制腐败菌的生长,刺激肠黏膜,促进粪便容积增加及肠蠕动,从而加快粪便的排出速度。润肠中药多质润温和,促进排便而不至于峻泻,是临床治疗功能性便秘的常用药物。

## 2 促胃肠动力作用

结肠动力下降,传导无力是便秘的重要原因,而中药有行气通腑之功效,有增加胃肠动力的作用,可用于治疗功能性便秘。魏睦新<sup>[9]</sup>运用离体细胞的制备及其运动记录技术、显微离子通道技术,观察了槟榔的有效成分氢溴酸槟榔碱(Ah)对离体的大鼠结肠平滑肌细胞的收缩效应及细胞Ca<sup>2+</sup>动态移动情况,发现Ah通过M受体引起结肠平滑肌细胞收缩,增加细胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度,从而促进排便。张荣等在<sup>[10]</sup>观察了润肠片(黄芪、枳实、莱菔子、番泻叶等)对家兔离体肠管运动的影响,研究表明润肠片对乙酰胆碱及氯化钡引起的离体肠管强直性收缩有明显的拮抗

作用,能拮抗肾上腺素引起的离体肠管的抑制性收缩,起到通便的效果。刘赛等<sup>[11]</sup>研究了润肠通便口服液(火麻仁、大黄、枳实、芍药等)对离体豚鼠回肠平滑肌的作用,发现润肠通便口服液可增加平滑肌的收缩力,使处于抑制状态的回肠平滑肌肌张力明显提高,使在体小肠推进性运动增强,加速肠内容物的排泄,这可能是润肠通便口服液治疗便秘的主要作用机制。此外<sup>[12]</sup>,许多泻下类的中药,如大黄、番泻叶等,其中含有蒽醌苷类物质,他们在肠道内分解释放出蒽醌,刺激结肠推进性蠕动,应用后可排软便或引起腹泻。行气通腑类中药大多数是作用较强的刺激性泻药,通过调节胃肠道平滑肌的电生理活动,增加结肠推进性运动,加快肠内容物的转运,缩短结肠通过时间来起效。这类药物长期使用可导致药物依赖,甚至引起结肠黑变病,形成顽固性便秘,值得临床注意。

## 3 对结肠组织Cajal间质细胞的影响

现已肯定<sup>[13]</sup>,Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是胃肠慢波的起搏细胞及神经兴奋传导细胞。ICC广泛存在于消化道环形肌和纵行肌的肌层交界处区域,可促进胃肠道平滑肌细胞收缩<sup>[14]</sup>,增加胃肠传导,有利于大便排出。现有学者将目光投向中医药能否纠正ICC的异常形态及增加ICC的数量,寻找中医药治疗功能性便秘的机制。孟萍等<sup>[15]</sup>通过单味白术水煎液对慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠模型进行研究,证实白术可以改善结肠组织中ICC形态并提高ICC数量,并通过不同剂量的对比,证实剂量60 g的生白术能将上述效应发挥最好。李国峰<sup>[16]</sup>以自拟方化瘀润肠方(当归、生白术、黄芪、生地、川芎、赤芍、桃仁、甘草)对便秘小鼠进行观察,并测定其小鼠结肠ICC变化,结果表明便秘模型小鼠结肠ICC存在形态及数量异常,化瘀润肠方能够增加便秘模型小鼠结肠ICC的数量。不仅中药能够对ICC产生作用,针灸亦是如此。孙建华等<sup>[17]</sup>的研究表明,对功能性便秘的大鼠模型,给予双侧天枢针灸加电刺激时,能够促进结肠平滑肌的结构变化,并能够增加结肠ICC的数量,这可能是针刺能够治疗功能性便秘的作用机制。与ICC相关的C-kit蛋白表达减少可能在STC的病理生理过程中起到重要作用<sup>[18]</sup>。杨关根等<sup>[19]</sup>以便秘二号方(当归、白术、黄芪、升麻、杏仁、枳实、肉苁蓉)对STC大鼠模型进行观察,对每组大鼠记录C-kit mRNA的表达,结果

## ■相关报道

目前普遍认为ICC具有控制胃肠自主节律性运动的功能,主要参与胃肠道慢波电位产生和传播,同时在推进电活动的传播以及介导神经信号传递中起着重要作用。Ward等的研究同时表明,Cajal间质细胞网络在某些刺激作用下具有可塑性。

证实便秘二号方能够纠正STC大鼠C-kit mRNA的过低表达,使STC大鼠结肠功能恢复正常。李国峰等<sup>[20]</sup>以自拟方养血活血方对便秘模型小鼠进行干预,发现养血活血方大剂量组能够上调C-kit蛋白表达,且几乎接近空白对照组,保证ICC表面C-kit受体的抗原性,从而维持ICC的发育、成熟及功能形态。这些研究从基因和细胞水平上阐明了中医药治疗功能性便秘的作用机制。

#### 4 对结肠神经递质的影响

胃肠道平滑肌中的许多递质以胃肠肽的形式存在于肠神经系统(enteric nervous system, ENS)中,又可以激素的形式参与胃肠运动的调控,影响胃肠道的电生理活动。已经确定的肠神经递质多达数十种,其中兴奋性递质主要包括乙酰胆碱、P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal polypeptide, VIP)、速激肽、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)等,而一氧化氮(nitric oxide, NO)、三磷酸腺苷等为主的抑制性递质。有研究证实<sup>[21]</sup>,功能性便秘患者的结肠存在VIP、SP、5-HT及NO等肠道神经递质的异常。中医药可通过调节兴奋性递质与抑制性递质的失衡而治疗功能性便秘。郑晨果等<sup>[22]</sup>基于ENS神经递质紊乱会导致该病这一理论,以丹参枳术饮(丹参、枳实、白术、麻子仁)对STC大鼠模型进行研究,通过免疫组化染色对大鼠的VIP、SP神经阳性细胞数量进行半定量分析,得出结论:丹参枳术饮可以增加STC大鼠的肠道肌间神经丛内VIP、SP含量,推测丹参枳术饮治疗STC可能和VIP、SP有关。陈棣兰等<sup>[23]</sup>通过对功能性便秘大鼠模型研究,测定大鼠血中VIP与SP含量,提示泰魄颗粒(通幽汤加减)治疗STC可能通过修复或改善肠神经失调,增加SP和VIP等的分泌,从而促进肠道运动,增加推进性运动,并增加肠道水分分泌而达到治疗便秘的目的。高健群等<sup>[24]</sup>研究了复方肺肃润肠汤(阿胶、苏子、杏仁、枳实、沉香等)治疗前后的大鼠5-HT免疫反应细胞的形态分布及数量变化,发现该方可以改善药物依赖性便秘大鼠肠道免疫反应细胞5-HT的形态分布和数量,从而促进胃肠蠕动,改善胃肠道的传输功能。NO是ENS中最主要的抑制性神经递质,其在便秘发病机制中的作用受到广泛的关注<sup>[25]</sup>,NO可通过提高胃肠平滑肌内环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)的浓度而导致平滑肌松弛,引起胃肠运动减弱。吴至久等<sup>[26]</sup>以益气养血温阳方(白术、

黄芪、当归、肉苁蓉、槟榔等)作用于大鼠,发现该方通过改变SP、一氧化氮合酶(NOS)的含量,促进结肠运动,起到治疗便秘的作用。邱剑锋等<sup>[27]</sup>发现,养血润肠方治疗便秘有效,该药有降低结肠组织匀浆及血清中NO含量的作用。孟萍等<sup>[28]</sup>以STC大鼠模型进行研究,对大鼠结肠NOS进行半定量分析,认为白术治疗STC是通过改变STC大鼠结肠黏膜NOS的表达、降低NO的合成而取效。虽然目前学术界对肠神经递质的种类及分类还不十分清楚,但这为中医治疗功能性便秘作用靶点的进一步研究指明了方向。

#### 5 对胃肠道激素的影响

现已知,ENS不仅可以通过递质对胃肠运动进行神经调节,还可分泌胃肠道激素进行体液调节。已知的胃肠激素有20余种,对于调节胃肠运动具有重要的生理意义。其包括胃泌素(gastrin, GAS)、胃动素(motilin, MOT)、促胰液素、降钙素相关基因肽(calcitonin gene related peptide, CGRP)及生长抑素(somatostatin, SS)等。检测功能性便秘患者空腹和餐后胃肠激素显示<sup>[29]</sup>,近端的MOT分泌增加,远端胃肠激素下降,尤其对那些肠道传输减慢的患者,更是明显。中医药可通过调节胃肠道激素水平而影响胃肠的运动功能,治疗便秘。唐学贵等<sup>[30]</sup>研究证实,便塞通合剂(枳术丸加减)对便秘模型大鼠的通便作用,是通过调节血中GAS、MOT等胃肠激素的分泌来实现的,并且便塞通的通便作用呈一定的量效依赖关系。车彦忠等<sup>[31]</sup>以经方济川煎对便秘老龄雄性大鼠模型进行研究,利用放射免疫法对小肠组织中MOT及SS的水平进行定量分析,表明济川煎能显著提高老龄大鼠小肠组织MOT的含量,使其恢复到正常水平,从而改善了老龄大鼠胃肠运动的功能,同时降低了SS水平,从而削弱了SS对老龄大鼠胃肠运动的抑制作用。赵小青等<sup>[32]</sup>以调肠理气片(白术、枳实、乌台、虎杖)治疗气秘证模型大鼠,并检测结肠组织内MOT、CGRP浓度,认为调肠理气片对功能性便秘有一定的疗效,对相关胃肠激素也有一定的调节作用,作用部位可能以结肠为主。王岚等<sup>[33]</sup>以附子、大黄配伍的不同比例,对小鼠阳虚便秘模型进行研究,实验结果提示,附子大黄配伍对阳虚便秘动物具有确切的治疗作用,作用机制可能与其干预MOT、GAS、SS等胃肠激素及肠神经递质的分泌有关。同神经递质一样,胃肠激素的种类繁多,分类不明,且对胃肠运动调节

#### ■创新盘点

本文综述了近年来中医药治疗功能性便秘的机制,主要包括润滑肠道并增加肠道内容物含量、促进胃肠运动和排便、增加结肠Cajal间质细胞的数量、调控肠神经递质、调控胃肠道激素的含量等5个方面。

#### ■应用要点

本文系统地介绍了中医药治疗功能性便秘的作用机制,为今后进一步研究提供方向,并为临床选方用药提供参考。



## ■名词解释

慢传输型便秘 (STC): 功能性便秘分型之一, 是指结肠的传输功能障碍, 肠内容物传输缓慢引起的便秘, 又称慢通过性便秘, 是以大便次数减少、粪质坚硬、便意少或无便意为主要特点的顽固性便秘。

也十分复杂, 从目前研究来看, 中医药仅对具有代表性的几种激素进行了初步探讨, 众多激素在胃肠运动中的调控及中医药在其中的作用尚待更深入的研究。

## 6 其他

范一宏等<sup>[34]</sup>以自拟枳术通便汤(木香、莱菔子、枳壳、黄芪等)对STC大鼠模型进行研究, 用RT-PCR方法测定结肠神经营养因子(GDNT)的表达, 结果显示高剂量的枳术通便汤对STC大鼠肠道传输有明显改善作用, 其作用机制可能是通过提高结肠GDNF-mRNA表达而促进肠道的动力。王业皇等<sup>[35]</sup>以益气润肠液(生白术、生首乌、肉苁蓉、炙黄芪、肉桂、神曲、枳壳)观察患者便秘症状改善情况, 并通过排粪造影、肛管直肠压力测定分析治疗前后肛肠动力学的变化指标, 提示益气润肠液具有改善直肠的感觉功能、提高盆底肌肉的兴奋性的作用。汪兴伟等<sup>[36]</sup>报道, 大黄可使便秘大鼠结肠异常的慢波频率和振幅恢复, 可使结肠肌间神经丛的胆碱能神经分布趋于正常, 这可能是其治疗便秘的机制。

## 7 结论

中医药治疗功能性便秘有较好的临床疗效, 其机制有润滑肠道并增加肠道水分含量、促进胃肠运动和排便、增加结肠Cajal间质细胞的数量、调节肠神经递质及激素的含量等。从目前来看, 中医药治疗功能性便秘的机制研究主要在动物实验中进行, 而在临床上基于临床疗效与机制的相关研究显得不足。在今后的机制研究中, 应当将疗效验证和机制探讨相结合, 从病理生理多个角度研究中医药治疗功能性便秘的机制。中医药在治疗功能性便秘领域有广阔的前景, 随着实验研究的深入和临床经验的积累, 将会越来越引起学术界的重视。

## 8 参考文献

- 马继征, 刘绍能, 吴泰相, 时磊. 中药治疗慢性功能性便秘效果的系统评价. 中国循证医学杂志 2010; 10: 1213-1221
- 高学敏. 中药学. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 186-193
- 周玖瑛, 李锐, 廖雪珍, 廖惠芳. 麻仁润肠口服液对肠道及排便的作用的实验研究. 广州中医药大学学报 1996; 13: 36-38
- 覃荣, 陈彦清, 刘云兴, 曾学斌, 叶敏馥. 润肠通便合剂对正常小鼠大肠和小肠水分吸收的影响. 云南中医中药杂志 2009; 30: 50-51
- 潘希雄, 邱明义, 沈雪梅, 邱飞虹, 胡学书. 首乌润肠口服液治疗老年性便秘临床和实验研究. 山东中医杂志 1997; 16: 248-249

- 郁飞虹, 江俊, 蒋冠斌. 首乌润肠通便口服液润肠作用机理分析. 中医药研究 1995; 6: 48-49
- 张百舜, 赵学文, 陈双厚, 刘瑞华, 程慧平. 肉苁蓉各分离部位的通便作用的实验研究. 中国中医药信息杂志 2003; 10: 31-32
- 生庆海, 耿倩, 徐丽, 陈铁涛, de Vries Hprc. 低聚半乳糖润肠通便功能的研究. 中国食品添加剂 2007; 1: 62-65, 79
- 魏睦新. 促胃肠动力中药研究概况. 江苏中医药 2007; 39: 5-6
- 张荣在, 欧卫平, 许庆文, 林建昌, 叶少梅, 刘启德. 润肠片通便作用的实验研究. 中药新药与临床药理 2000; 11: 158-159
- 刘赛, 王春波, 于桂英, 赵永娟, 曲国艺, 刘占涛. 润肠通便口服液对实验性便秘及肠道平滑肌的作用. 青岛医学院学报 1998; 34: 104-106
- 杨宝峰. 药理学. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 342
- 周吕, 柯美云. 胃肠神经病学与动力. 第1版. 北京: 科学出版社, 2005: 200
- Mostafa RM, Moustafa YM, Hamdy H. Interstitial cells of Cajal, the Maestro in health and disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3239-3248 [PMID: 20614479 DOI: 10.3748/wjg.v16.i26.3239]
- 孟萍, 尹建康, 高晓静, 刘平, 王凡, 王静. 白术对慢传输型便秘大鼠结肠组织Cajal间质细胞的影响. 中医研究 2012; 25: 58-60
- 李国峰. 自拟化痰润肠方对顽固性便秘模型小鼠结肠间质细胞的影响. 世界中西医结合杂志 2011; 6: 806-808
- 孙建华, 郭慧, 陈璐, 吴晓亮, 李浩, 裴丽霞, 彭拥军, 陆斌. 电针"天枢"穴对慢传输型便秘大鼠结肠平滑肌结构及Cajal间质细胞的影响. 针刺研究 2011; 36: 171-175
- Tong WD, Liu BH, Zhang LY, Zhang SB. [Study on distribution of interstitial cells of Cajal in the sigmoid colon of patients with slow transit constipation]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2004; 42: 853-856 [PMID: 15363273]
- 杨关根, 刘智勇, 杨琴燕, 金建芬. 便秘二号方对慢传输型便秘大鼠Cajal间质细胞及C-KIT表达的影响. 中国中西医结合外科杂志 2010; 16: 203-206
- 李国峰, 李国栋, 兰春林, 肖诚. 自拟养血活血方对血虚便秘模型小鼠结肠c-kit蛋白表达的影响. 中国中医基础医学杂志 2009; 15: 741-742
- De Giorgio R, Camilleri M. Human enteric neuropathies: morphology and molecular pathology. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16: 515-531 [PMID: 15500508]
- 郑晨果, 叶乐驰, 金纯. 丹参枳术饮对STC大鼠肠道肌间神经丛内VIP、SP表达的影响. 中国中医急症 2010; 19: 1737-1738
- 陈棣兰, 王志刚, 王志国, 施正华, 郭晓华, 葛永盛, 王红. 泰魄颗粒对慢传输型便秘治疗机制的研究. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 303-305
- 高健群, 巫全胜, 钱摇宁, 吴曙光. 肃肺润肠汤对药物依赖性便秘大鼠大肠杯状细胞、5-HT变化的实验研究. 时珍国医国药 2010; 21: 1814-1815
- 孟萍, 尹建康, 高晓静, 刘平, 王凡, 王静. 白术对慢传输型便秘大鼠结肠黏膜NO及NOS的影响. 江西中医学院学报 2012; 24: 61-63
- 吴至久, 代渊, 王飞. 益气养血温阳方对泻药性便秘大鼠结肠SP、NOS-1的影响. 辽宁中医药大学学报 2012; 14: 70-72
- 邱剑锋, 李国栋, 肖诚, 李国峰, 舒涛, 袁亮, 洪子夫. 养血润肠方对小鼠血虚型慢性功能性便秘结肠组织匀浆及血清中NO的影响. 江西中医学院学报 2007; 19: 68-69

- 28 孟萍, 尹建康, 高晓静, 刘平, 王凡, 王静. 白术对慢传输型便秘大鼠结肠黏膜NO及NOS的影响. 江西中医学院学报 2012; 24: 61-63
- 29 Penning C, Delemarre JB, Bemelman WA, Biemond I, Lamers CB, Masclee AA. Proximal and distal gut hormone secretion in slow transit constipation. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 709-714 [PMID: 10964163]
- 30 唐学贵, 伍静, 刘芳. 便塞通合剂调节慢性便秘大鼠血清GAS、MTL和SP含量实验研究. 中华中医药学刊 2011; 29: 1549-1551
- 31 车彦忠, 陈洪宝, 安立凤, 常丽, 樊小勇. 济川煎对老龄大鼠胃肠蠕动的影晌及相关机制研究. 中国实验方剂学杂志 2007; 13: 44-46
- 32 赵小青, 黄媛, 罗云坚, 陈延, 邓芳柏. 调肠理气片优化方对FC气秘证大鼠肠运动及结肠组织内MOT、CGRP的影响. 中药新药与临床药理 2012; 23: 171-173
- 33 王岚, 彭成, 郭力. 附子大黄配伍对阳虚便秘动物的治疗作用及其机制研究. 中国中西医结合消化杂志 2006; 14: 82-85
- 34 范一宏, 徐国萍, 冯雯, 吕宾. 枳实通便汤对慢传输型便秘大鼠结肠墨汁推进率GDNF及NOS mRNA表达的影响. 中国中西医结合杂志 2012; 32: 486-489
- 35 王业皇, 余苏萍, 肖红兵, 吴金萍, 张金浩, 章蓓. 益气润肠液对虚证便秘肛肠动力作用的研究. 南京中医药大学学报(自然科学版) 2000; 16: 17-19
- 36 汪兴伟, 刘海峰, 徐梅, 王国安, 孙永刚, 房殿春. 大黄对慢传输型便秘大鼠结肠肌间神经丛胆碱能神经的影响. 重庆医学 2008; 37: 1685-1686, 1689

## ■同行评价

本文选题有临床指导价值, 内容比较丰富, 可读性较好.

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

# 光敏剂磁性纳米粒子螯合剂在兔VX2肝转移癌模型中的生物学分布

龚健, 刘煜昊, 葛海燕

## ■背景资料

随着纳米技术的发展, 肿瘤磁热疗成为了当前的研究热点, 但由于磁性纳米粒子没有与肿瘤特异性结合的靶向特点, 严重阻碍了肿瘤磁热疗的发展。

龚健, 同济大学附属第十人民医院普外科 上海市 200072  
刘煜昊, 同济大学附属第十人民医院重症监护室 上海市 200072

葛海燕, 同济大学附属东方医院胃肠外科 上海市 200120

龚健, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤物理治疗方面的研究。

作者贡献分布: 研究过程由龚健与刘煜昊操作完成; 数据整理分析由龚健完成; 论文撰写由龚健与葛海燕完成; 实验设计、课题申请由葛海燕完成。

通讯作者: 葛海燕, 教授, 主任医师, 200120, 上海市浦东新区即墨路150号, 同济大学附属东方医院胃肠外科。

gesurgery@163.com

收稿日期: 2013-01-05 修回日期: 2013-01-22

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma

Jian Gong, Yu-Hao Liu, Hai-Yan Ge

Jian Gong, Department of General Surgery, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Yu-Hao Liu, Intensive Care Unit, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Hai-Yan Ge, Department of Gastrointestinal Surgery, Shanghai East Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China

Correspondence to: Hai-Yan Ge, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Shanghai East Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China. gesurgery@163.com

Received: 2013-01-05 Revised: 2013-01-22

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To observe the biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex (PMNCC) in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma.

**METHODS:** After PMNCC was successfully prepared, a rabbit model of VX2 metastatic hepatic carcinoma was developed. PMNCC was administered via the ear vein on the 16th, 18th and 20th day after induction of metastatic carcinoma, and tumor-bearing rabbits were sacrificed on the 22nd day. Tissue specimens were obtained and

the biodistribution of PMNCC was observed by Prussian blue staining, atomic absorption spectroscopy (AAS) and transmission electron microscopy (TEM).

**RESULTS:** Prussian blue staining and TEM analysis showed that the amount of PMNCC in tumor tissue was significantly higher than those in the liver, spleen, or kidney. The mean relative iron concentration detected by atomic absorption spectroscopy in tumor tissue was  $9.09 \text{ mg/L} \pm 2.31 \text{ mg/L}$ , significantly higher than those in other organs (all  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** PMNCC was mainly distributed in tumor tissue in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma, and PMNCC has the ability to carry magnetic nanoparticles into tumor cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex; VX2 metastatic carcinoma; Biodistribution

Gong J, Liu YH, Ge HY. Biodistribution of photosensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex in rabbits with VX2 metastatic hepatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 464-470 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/464.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.464>

## 摘要

**目的:** 观察光敏剂磁性纳米粒子螯合物(photo-sensitizer-magnetic nanoparticle chelate complex, PMNCC)进入兔VX2肝转移癌模型体内的生物学分布情况。

**方法:** 成功制备PMNCC, 建立兔Vx2肝转移癌模型。在成瘤后第16、18、20天经耳缘静脉注射PMNCC, 第22天处死实验兔, 取肿瘤及肝、脾、心、肺、肾组织, 利用普鲁氏染色、原子吸收光谱分析及透射电镜成像检测PMNCC在动物体内的生物学分布情况。

**结果:** 普鲁氏染色与透射电镜成像检测发现

## ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科



PMNCC在肿瘤组织内的摄取量明显高于肝脏、脾脏、肾脏等其他脏器组织, 原子吸收光谱分析检测肿瘤组织中Fe相对浓度为 $9.09 \text{ mg/L} \pm 2.31 \text{ mg/L}$ , 明显高于其他脏器组织(肝脏 $4.43 \text{ mg/L} \pm 1.10 \text{ mg/L}$ 、脾脏 $5.08 \text{ mg/L} \pm 1.35 \text{ mg/L}$ 、肾脏 $3.95 \text{ mg/L} \pm 1.70 \text{ mg/L}$ 、心脏 $3.88 \text{ mg/L} \pm 0.93 \text{ mg/L}$ 、肺脏 $4.08 \text{ mg/L} \pm 1.02 \text{ mg/L}$ ), 差异均有显著统计学意义( $P < 0.01$ )。

**结论:** PMNCC在兔VX2肝转移癌模型体内主要被肿瘤组织摄取, PMNCC具有促进磁性纳米粒子进入肿瘤细胞内的能力。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 光敏剂磁性纳米粒子螯合物; VX2转移癌; 生物学分布

龚健, 刘煜昊, 葛海燕. 光敏剂磁性纳米粒子螯合剂在兔VX2肝转移癌模型中的生物学分布. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 464-470 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/464.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.464>

## 0 引言

肝转移癌的预后极差, 目前手术治疗仍是肝转移癌患者的主要治疗手段, 但是大部分患者在就诊时就已经失去手术指征, 一般只有约10%-15%的患者适合手术切除<sup>[1]</sup>。经过20多年的发展, 以肝动脉栓塞化疗为主的介入技术已成为肝癌非手术治疗的首选方法。然而, 介入治疗的效果也远非理想<sup>[2,3]</sup>。近年来, 随着纳米技术的研究进展, 肿瘤磁热疗(magnetically mediated hyperthermia, MMH)成为了肿瘤治疗的研究热点, 也为肿瘤治疗的发展带来了新契机。磁热疗的特点之一就是靶向性, 这也是肿瘤磁热疗的前提, 靶向性不足将导致严重并发症。我们的前期研究<sup>[4]</sup>已成功将光敏剂与磁性纳米粒子螯合, 并证实利用光敏剂的肿瘤靶向性能将磁性纳米粒子携带入肿瘤组织中。在此基础上, 本研究通过观察PMNCC进入兔VX2肝移植癌模型体内的生物学分布情况, 明确PMNCC在生物体内是否具有良好的靶向性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 采用健康新西兰大白兔: 20只, 雌雄各半, 体质量2.5-3.0 kg, 由同济大学附属同济医院动物实验中心提供并饲养。光敏剂: 主要成分为血卟啉单甲醚(HMME)(10 mg/mL), 避光, -20 °C保存, 由上海市第二军医大学红绿光研究所

提供。磁性纳米粒子: 主要成分为葡聚糖4万色包被的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 粒子, Fe含量为1.32 mmol/mL, 水合粒径: 50 nm, 多分散系数PDI = 0.197, 其型号为061010磁粒, 由上海交通大学纳米材料研究所惠赠。LEICA DM IRB显微镜及成像系统: 徕卡仪器有限公司产品。透射电镜: CM120 Philips公司产品, 电镜成像检测由复旦大学电镜室协助完成。3510型原子吸收光谱仪: 安捷伦科技上海有限公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 光敏剂-纳米磁性螯合剂溶液的制备:** 光敏剂: 10  $\mu\text{L}$ , 纳米磁性粒子: 150  $\mu\text{L}$ , 0.9%NaCl溶液: 10 mL。等比值取光敏剂溶液、纳米磁性粒子溶液、0.9%NaCl溶液, 在PH = 7.35-7.45, 避光的条件下混匀, 37 °C水浴30 min, 分装为10 mL。避光, 使用前配制, 4 °C保存。

**1.2.2 兔VX2肝转移癌模型的建立方法及处理:** 按3%戊巴比妥钠溶液1.0 mL/kg剂量经耳缘静脉麻醉实验兔。取仰卧位, 以剑突为中心备皮, 直径约10 cm, 常规消毒。取正中纵行切口, 长约3 cm, 暴露肝左叶, 轻提该肝叶, 用组织钳一头经肝包膜钝性斜行戳一窦道, 长约1 cm, 将已剪好的直径约1 mm<sup>3</sup>肿瘤组织块2-3块塞入窦道中, 生理盐水纱布压迫窦道口数分钟后明胶海绵止血, 以防止种植的肿瘤组织块脱出流入腹腔, 逐层关腹。术后肌注1 mL硫酸庆大霉素预防感染。在成瘤后第16、18、20天经耳缘静脉注射PMNCC溶液(1 mL/kg), 第22天处死试验兔, 取肿瘤及正常肝、脾、心、肺、肾组织。

**1.2.3 普鲁氏蓝染色检测:** 麻醉成功后切取大小约1 cm<sup>3</sup>的组织块, PBS刷洗, 迅速转移至4 °C预冷的4%多聚甲醛固定液中, 4 °C低温保存, 固定24 h。制成石蜡切片, 经普鲁氏蓝染色中性红复染, 观察各脏器组织内PMNCC聚集及分布情况。

**1.2.4 原子吸收光谱仪检测:** 准确切取组织0.5 g, 剪碎组织, 按1:30加入0.25%胰酶, 4 °C过夜。1 500 r/min离心5 min去除胰酶, 按1:5加入红细胞裂解液, 10 min后3 000 r/min离心10 min去除上清液, 取细胞沉淀。反复加入PBS液冲洗, 离心去除上清液, 直至细胞上清液澄清。加入浓硝酸使细胞沉淀消化, 调控pH值1-2, 使所有铁元素氧化成游离三价铁离子。3 000 r/min高速离心5 min, 取上清液。去离子水定容至10 mL 滤纸过滤使样品澄清。制定标准曲线。根据溶液吸光度(A)值计算铁的浓度。

**1.2.5 电镜检测:** 成功麻醉后活体取样。于载玻片

### ■研究前沿

光敏剂与磁性纳米粒子具有螯合基础, 本研究检测螯合剂在动物模型体内的生物学分布情况, 拟证实螯合剂具有良好的肿瘤靶向性。

## ■相关报道

Basel等利用肿瘤归巢细胞携带磁性纳米粒子治疗胰腺癌小鼠模型,结果显示具有提高肿瘤磁热治疗的作用。

上滴1滴4℃预冷的2.5%戊二醛固定液,快速剪取小块组织,在预冷的固定液内修切,大小不超过1 mm<sup>3</sup>,迅速转移至预冷的4℃固定液内,取材过程在1 min左右完成。常规制作电镜薄片,3%醋酸铀-枸橼酸铅双电子染色,透射电镜观察、拍片。

**统计学处理** 采用SPSS14.0统计学软件对实验结果进行统计学分析,实验数据用mean±SD表示, $P>0.05$ 被认为差异无统计学意义, $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义, $P<0.01$ 被认为差异有显著统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肿瘤大体观察** VX2肝转移癌模型于种植肿瘤组织块后10天左右形成,多为肝脏突起肿块,一个或数个,色白质韧,大小1 cm×1 cm×1 cm至4 cm×4 cm×4 cm不等,与周围边界尚清(图1)。

**2.2 普鲁氏蓝染色检测** PMNCC含有游离Fe,经普鲁氏染色后在光镜下表现为天蓝色颗粒,可呈散在或聚集分布。肿瘤组织中可见到大量天蓝色颗粒聚集沉着,均匀散在分布,明显多于其他脏器组织(图2A),同时脾脏、肝脏中也见到少量的天蓝色颗粒(图2B, C),心肺组织中未见天蓝色颗粒(图2E, F),而在肾小球内发现少量天蓝色颗粒,肾间质中未见明显异常表现(图2D),推测PMNCC经肾脏排泄。

**2.3 原子光谱吸收仪检测** 制定分析检测所需标准曲线。在肿瘤组织中铁相对浓度高达9.09 mg/L±2.31 mg/L,将近为其他脏器组织内的2倍多,分别与肝脏4.43 mg/L±1.10 mg/L、脾脏5.08 mg/L±1.35 mg/L、肾脏3.95 mg/L±1.70 mg/L、心脏3.88 mg/L±0.93 mg/L、肺脏4.08 mg/L±1.02 mg/L中铁相对浓度比较,差异有显著统计学意义,均 $P<0.01$ ( $t$ 值分别为5.762、4.744、5.668、6.625、5.682)。而肝脏、脾脏、肾脏、心脏、肺脏中铁相对浓度之间分别比较,均 $P>0.05$ (图3)。

**2.4 透射电镜成像检测** PMNCC在透射电镜下表现为黑色细颗粒状,电子密度较高,均匀散在分布。肿瘤细胞核较大,有较多伪足,可见大量PMNCC沉积,均匀散在分布于细胞浆与细胞核内,溶酶体内亦可见到一定量的PMNCC(图4A)。同时也有少量PMNCC在脾脏、肝脏内沉积,主要被脾脏中巨噬细胞与肝脏中kupffer细胞所摄取(图4B, C)。在肾脏肾小管管腔内我们也见到PMNCC,同时管腔周围也有少量PMNCC(图

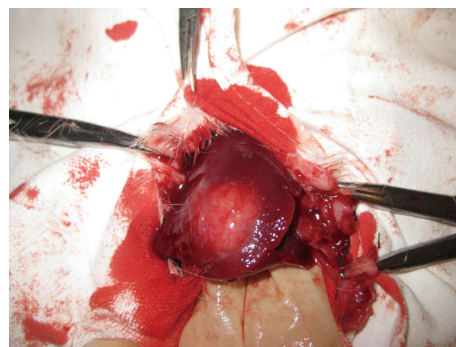


图1 VX2肿瘤兔肝脏模型。肝脏左叶一突起包块,白色质韧,约3 cm×3 cm×4 cm大小。

4D),由此我们推测PMNCC可能经肾脏排泄。心肺细胞超微结构正常,未见异物沉积(图4E, F)。

## 3 讨论

磁热疗是在肿瘤病灶部位引入磁性介质,磁性介质在外加的交变磁场作用下温度升高到41℃以上而杀死周围的肿瘤细胞<sup>[5]</sup>。早在1957年, Gilchrist等<sup>[6]</sup>首先将磁性纳米微粒应用于医学研究,将肿瘤热疗推至了磁靶向热疗的新阶段,但由于当时条件所限,诸如材料、温度测定方法、磁场等,研究结果与临床应用相距甚远。

磁热疗理想的状态是磁性纳米粒子只聚集于肿瘤组织,而不出现在其他脏器组织中,从而将治疗局限于病灶,不损伤到正常组织,具有良好的靶向性是其推广至临床的前提。为此,国内外学者对此做了大量的研究,希望能找到合适的方法携带更多磁性纳米粒子选择性进入肿瘤细胞内。文献报导较多的应用于生物医学领域的磁性粒子的表面修饰分子是葡聚糖分子<sup>[7,8]</sup>。国内学者Ma等<sup>[9]</sup>通过在Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>纳米颗粒表面修饰聚乙二醇,也在一定程度上提高了肿瘤细胞对Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>纳米颗粒的摄取能力。同样, Sonvico等<sup>[10]</sup>及郑元青等<sup>[11]</sup>采用叶酸对γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米粒子进行表面修饰, Kohler等<sup>[12]</sup>使用甲氨喋呤与磁性纳米粒子结合,赵印敏等<sup>[13]</sup>利用血管新生肽修饰的氧化铁纳米粒,均被证实具有一定靶向作用,但在体内的摄入量及实际转运效果均尚不理想。近期,张建超等<sup>[14]</sup>利用负载γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>磁性纳米颗粒及阿霉素的海藻酸钠磁性载药微囊对脑胶质瘤C6细胞热化联合治疗。Basel等<sup>[15]</sup>利用肿瘤归巢细胞携带磁性纳米粒子治疗胰腺癌小鼠模型,亦被证实了潜在的应用价值。

光敏剂可选择性积聚于肿瘤组织内,在以特定波长的激光激活肿瘤组织内浓度相对较高



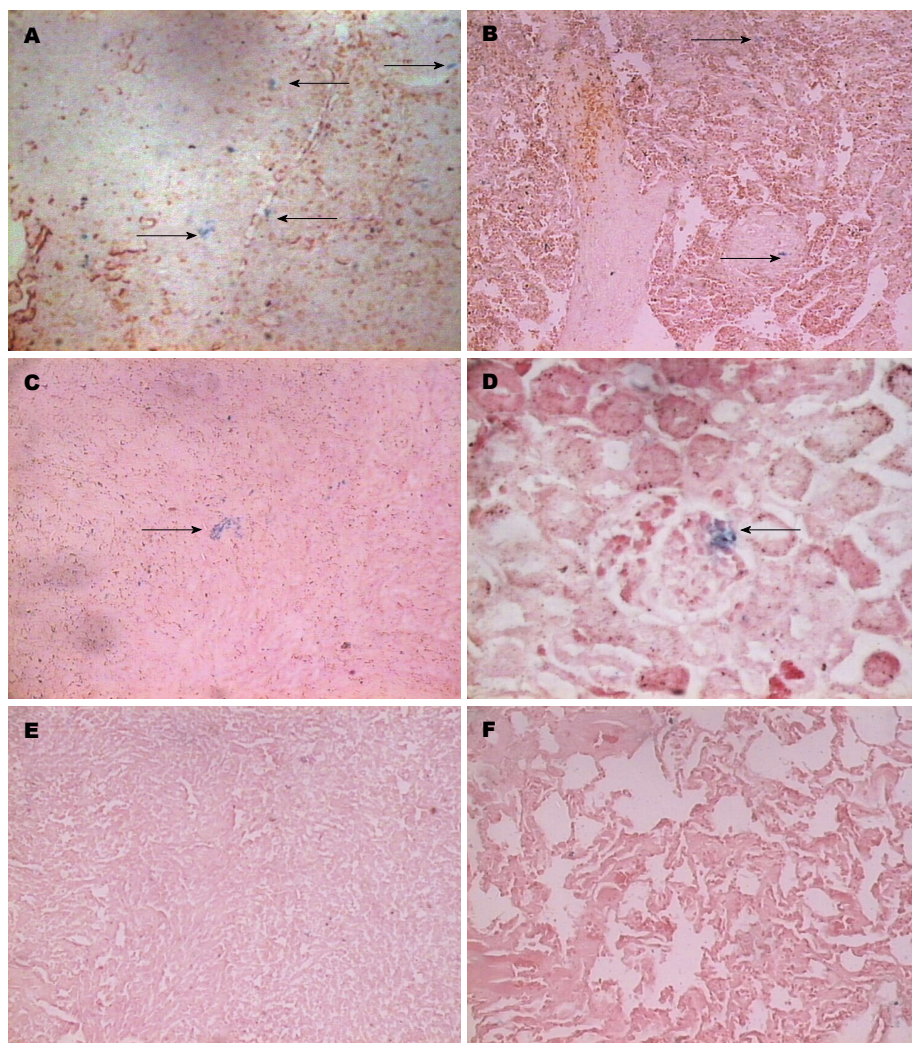


图 2 普鲁氏蓝染色检测PMNCC生物学分布情况(普鲁氏蓝染色中性红复染). A: 肿瘤组织中可见散在分布天蓝色颗粒或小片状沉着, 量较多, 均匀散在分布( $\times 200$ ); B: 脾脏可见天蓝色小颗粒, 散在分布, 量偏少, 大部分组织结构内未见蓝色颗粒( $\times 200$ ); C: 肝脏可见少量散在天蓝色颗粒沉着( $\times 200$ ); D: 肾小球内可见天蓝色颗粒沉着, 周围组织未见明显异常( $\times 400$ ); E: 心脏组织内未见蓝色颗粒沉着( $\times 200$ ); F: 肺脏组织内未见蓝色颗粒沉着( $\times 200$ ). 箭头所指蓝色颗粒为PMNCC.

**■创新盘点**  
本研究独创性的运用光敏剂的亲肿瘤性携带磁性纳米粒子进入肿瘤组织中, 为肿瘤磁热疗靶向性研究方面提供了新的思路.

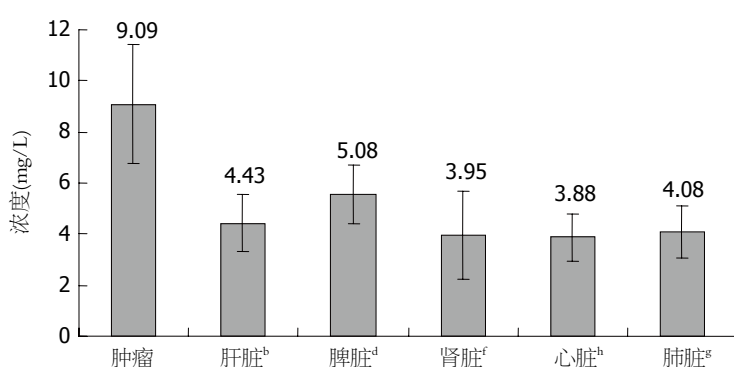


图 3 实验动物体内各个脏器内铁含量分布情况. <sup>b</sup> $P<0.01$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ , <sup>h</sup> $P<0.01$ , <sup>s</sup> $P<0.01$  vs 肝、脾、肾、心、肺内铁相对浓度比较.

的光敏剂, 通过光化学反应产生自由基、单态氧和血栓素A2, 杀伤肿瘤细胞, 即光动力疗法(photodynamic therapy, PDT). 与其他药物相比, 光敏剂自身具有一定的选择性, 能够相对高浓度的聚集在病变组织, 同时治疗时可以将辐射光源局限于病变组织, 因此PDT具有“二次选择性”, 可相对特异性的杀伤病变细胞而不损伤正常组织<sup>[16]</sup>. 目前, PDT已广泛运用于临床诊治中, 包括皮肤肿瘤<sup>[17]</sup>、结肠癌<sup>[18]</sup>、视网膜血管瘤<sup>[19]</sup>、支气管肿瘤<sup>[20]</sup>、胆道肿瘤<sup>[21]</sup>、食道癌<sup>[22]</sup>等多种

疾病.

相对于PDT, MTH目前主要还处于实验室与动物实验研究阶段, 临床上主要尝试应用于前列腺癌、脑胶质细胞瘤等治疗. 2005年, 德国学者Johannsen等<sup>[23]</sup>首次将磁性纳米粒子用于人类前列腺癌热疗的临床实验, 结果证实了磁热疗可以作为复发前列腺癌的微创性治疗方法. 同样, Maier-Hauff等<sup>[24]</sup>对治愈后再发前列腺癌的10名患者注入生物相容性的超顺磁性纳米粒子, 同样取得了确定疗效. 而在早期, 也有将右旋糖



### ■应用要点

磁靶向热疗是一种新型的实体肿瘤治疗方法,利用光敏剂的亲肿瘤性携带磁性纳米粒子进入肿瘤细胞内具有创新性.探索光敏剂磁性纳米粒子螯合剂的生物学分布情况为开展肿瘤磁靶向热疗奠定了理论基础.

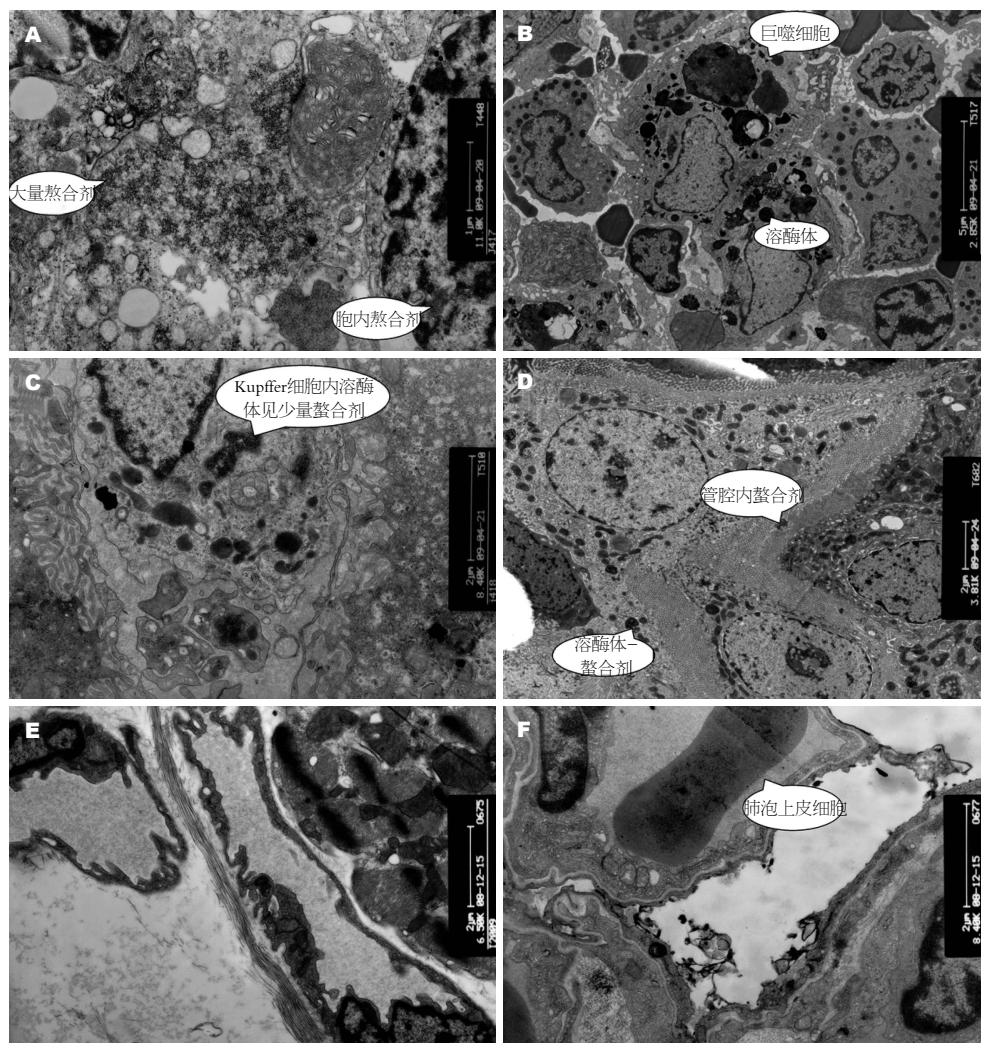


图4 电镜成像检测PMNCC生物学分布情况. A: 肿瘤(11.0K倍), 见细胞核较大, 有较多伪足, 胞浆内、细胞核内有大量螯合剂沉积; B: 脾脏(2.85K倍), 见巨噬细胞内溶酶体里面可见少量异物沉积; C: 肝脏(8.4K倍), 见Kupffer细胞内溶酶体里面可见少量异物沉积; D: 肾脏(3.81K倍), 见肾小管管腔内可见螯合剂沉着, 管腔周围亦可见少量螯合剂沉着; E: 心脏(6.5K倍), 见细胞结构正常, 胞内未见异物沉着; F: 肺脏(8.4K倍), 见细胞结构正常, 胞内未见异物沉着.

酞纳米磁性微粒经静脉注入患者血循环中, 而后再在外加高频交变磁场中进行全身热疗的报道<sup>[25]</sup>. 同样, 利用磁性纳米粒子治疗脑胶质细胞瘤也被证实了其可行性及有效性<sup>[26,27]</sup>.

我们独创性地利用光敏剂的亲肿瘤性将磁性纳米粒子携带入肿瘤细胞内, 为磁热疗的靶向性研究开拓了新的思路, 本实验通过普鲁氏蓝染色及透射电镜成像检测, 证实肝脏肿瘤组织中PMNCC的摄入量明显高于其他脏器组织. 原子吸收光谱检测也提示肿瘤组织中铁含量明显升高, 证实了PMNCC在体内具有良好的肿瘤靶向性.

同时我们发现在脾脏、肝脏等网状内皮系统中, 虽然PMNCC的摄取量较肿瘤组织明显少, 但也有一定量的摄取. 分析原子吸收光谱检测结果也提示脾脏中相对含铁量在各个脏器中最

高, 此结果与许多国内文献报道相符<sup>[28-30]</sup>. 内皮网状系统对PMNCC的摄取可能会对今后推广至临床实际运用中带来一定的不良反应, 这就需要我们进一步检测PMNCC在各个脏器内的代谢动力学情况以及寻求最佳注射剂量, 以在达到治疗效果的同时把对网状内皮系统脏器的损伤减到最小. 在普鲁氏染色与透射电镜成像检测中, 我们还意外发现在肾小球以及肾小管内有少量PMNCC沉着, 因此我们有理由推测可能主要通过肾脏排泄PMNCC.

本研究运用3种检测方法检测, 所得实验结果相一致, 从不同角度证实了PMNCC在兔VX2肝转移癌模型体内主要被肿瘤组织摄取, PMNCC具有强大的携带磁性纳米粒子进入肿瘤细胞内的功能. 这一研究成果将为PMNCC在肿瘤磁热疗中的运用及推广提供理论基础.

#### 4 参考文献

- 1 Moroz P, Jones SK, Gray BN. Arterial embolization hyperthermia in porcine renal tissue. *J Surg Res* 2002; 105: 209-214 [PMID: 12121709 DOI: 10.1006/jsre.2002.]
- 2 Takamatsu S, Matsui O, Gabata T, Kobayashi S, Okuda M, Ougi T, Ikehata Y, Nagano I, Nagae H. Selective induction hyperthermia following transcatheter arterial embolization with a mixture of nano-sized magnetic particles (ferucarbotran) and embolic materials: feasibility study in rabbits. *Radiat Med* 2008; 26: 179-187 [PMID: 18509717 DOI: 10.1007/s11604-007-0212-9]
- 3 Fortin JP, Gazeau F, Wilhelm C. Intracellular heating of living cells through Néel relaxation of magnetic nanoparticles. *Eur Biophys J* 2008; 37: 223-228 [PMID: 17641885 DOI: 10.1007/s00249-007-0197-4]
- 4 葛海燕, 常卓林, 李淑萍, 刘煜昊, 龚健. 光敏剂-磁性纳米粒子螯合剂对磁性纳米粒子在VX2肝转移癌细胞内靶向性分布的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3064-3069
- 5 Moroz P, Jones SK, Gray BN. Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. *Int J Hyperthermia* 2002; 18: 267-284 [PMID: 12079583 DOI: 10.1080/02656730110108785]
- 6 Gilchrist RK, Medal R, Shorey WD, Hanselman RC, Parrott JC, Taylor CB. Selective inductive heating of lymph nodes. *Ann Surg* 1957; 146: 596-606 [PMID: 13470751 DOI: 10.1097/0000658-195710000-00007]
- 7 Kawaguchi T, Hanaichi T, Hasegawa M, Maruno S. Dextran-magnetite complex: conformation of dextran chains and stability of solution. *J Mater Sci Mater Med* 2001; 12: 121-127 [PMID: 15348317]
- 8 Lacava LM, Lacava ZG, Da Silva MF, Silva O, Chaves SB, Azevedo RB, Pelegrini F, Gansau C, Buske N, Sabolovic D, Morais PC. Magnetic resonance of a dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice. *Biophys J* 2001; 80: 2483-2486 [PMID: 11325747 DOI: 10.1016/S0006-3495(01)76217-0]
- 9 Ma M, Zhang Y, Yu W, Shen HY, Zhang HQ, Gu N. Preparation and characterization of magnetite nanoparticles coated by amino silane. *Eng Aspects* 2003; 212: 219-226
- 10 Sonvico F, Mornet S, Vasseur S, Dubernet C, Jaillard D, Degrouard J, Hoebeke J, Duguet E, Colombo P, Couvreur P. Folate-conjugated iron oxide nanoparticles for solid tumor targeting as potential specific magnetic hyperthermia mediators: synthesis, physicochemical characterization, and in vitro experiments. *Bioconjug Chem* 2005; 16: 1181-1188 [PMID: 16173796 DOI: 10.1021/bc050050z]
- 11 郑元青, 董春义, 王贝, 谢英, 廖红东, 李丹, 刘选明, 叶酸-磁性淀粉纳米颗粒的研制及其肿瘤靶向磁热疗效分析. *科学通报* 2009; 54: 2065-2070
- 12 Kohler N, Sun C, Wang J, Zhang M. Methotrexate-modified superparamagnetic nanoparticles and their intracellular uptake into human cancer cells. *Langmuir* 2005; 21: 8858-8864 [PMID: 16142971 DOI: 10.1021/la0503451]
- 13 赵印敏, 栗波, 杨晓君, 唐亮, 周彩存. 靶向血管新生肽修饰的氧化铁纳米粒对荷瘤裸鼠磁热疗的研究. *肿瘤* 2010; 30: 370-375
- 14 张建超, 杨丰忠. 载药磁性微囊用于脑胶质瘤可控热疗的研究. *医学研究杂志* 2012; 41: 153-156
- 15 Basel MT, Balivada S, Wang H, Shrestha TB, Seo GM, Pyle M, Abayaweera G, Dani R, Koper OB, Tamura M, Chikan V, Bossmann SH, Troyer DL. Cell-delivered magnetic nanoparticles caused hyperthermia-mediated increased survival in a murine pancreatic cancer model. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 297-306 [PMID: 22287840 DOI: 10.2147/IJN.S28344.]
- 16 Juarranz A, Jaén P, Sanz-Rodríguez F, Cuevas J, González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 148-154 [PMID: 18321817 DOI: 10.1007/s12094-008-0172-2]
- 17 Wiegell SR, Skødt V, Wulf HC. Daylight-mediated photodynamic therapy of basal cell carcinomas - an explorative study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013 Jan 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23294223 DOI: 10.1111/jdv.12076]
- 18 Hatakeyama T, Murayama Y, Komatsu S, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Inoue K, Nakajima M, Otsuji E. Efficacy of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy using light-emitting diodes in human colon cancer cells. *Oncol Rep* 2013; 29: 911-916 [PMID: 23291627 DOI: 10.3892/or.2013.2220]
- 19 Papastefanou VP, Pilli S, Stinghe A, Lotery AJ, Cohen VM. Photodynamic therapy for retinal capillary hemangioma. *Eye (Lond)* 2013 Jan 4. [Epub ahead of print] [PMID: 23288135 DOI: 10.1038/eye.2012.259.]
- 20 Moghissi K, Dixon K, Gibbins S. Photodynamic therapy for bronchial carcinoid tumours: complete response over a 10-year follow-up. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013 Jan 2. [Epub ahead of print] [PMID: 23284100]
- 21 Pereira SP, Aithal GP, Ragunath K, Devlin J, Owen F, Meadows H. Safety and long term efficacy of porfimer sodium photodynamic therapy in locally advanced biliary tract carcinoma. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2012; 9: 287-292 [PMID: 23200007 DOI: 10.1016/j.pdpdt.2012.03.005]
- 22 Yoon HY, Cheon YK, Choi HJ, Shim CS. Role of photodynamic therapy in the palliation of obstructing esophageal cancer. *Korean J Intern Med* 2012; 27: 278-284 [PMID: 23019392 DOI: 10.3904/kjim.2012.27.3.278]
- 23 Johannsen M, Gneveckow U, Eckelt L, Feussner A, Waldöfner N, Scholz R, Deger S, Wust P, Loening SA, Jordan A. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique. *Int J Hyperthermia* 2005; 21: 637-647 [PMID: 16304715 DOI: 10.1080/02656730500158]
- 24 Maier-Hauff K, Rothe R, Scholz R, Gneveckow U, Wust P, Thiesen B, Feussner A, von Deimling A, Waldöfner N, Felix R, Jordan A. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2007; 81: 53-60 [PMID: 16773216 DOI: 10.1007/s11060-006-9195-0]
- 25 Wyman R. The temporal stability of the *Drosophila* oocyte. *J Embryol Exp Morphol* 1979; 50: 137-144 [PMID: 110902 DOI: 10.1054/mehy.2000.1089]
- 26 Johannsen M, Gneveckow U, Thiesen B, Taymoorian K, Cho CH, Waldöfner N, Scholz R, Jordan A, Loening SA, Wust P. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribu-

#### ■同行评价

本文对光敏剂磁性纳米粒子螯合物(PMNCC)在兔VX2肝转移癌模型体内生物学分布进行了研究, 结果表明肝转移瘤组织内PMNCC的摄入量明显高于其他脏器组织, 为磁热疗的靶向性提供了实验基础。

- tion. *Eur Urol* 2007; 52: 1653-1661 [PMID: 17125906 DOI: 10.1016/j.eururo.]
- 27 Zhao L, Yang B, Wang Y, Yao Z, Wang X, Feng SS, Tang J. Thermochemotherapy mediated by novel solar-planet structured magnetic nanocomposites for glioma treatment. *J Nanosci Nanotechnol* 2012; 12: 1024-1031 [PMID: 22629888 DOI: 10.1166/jnn.2012.4270]
- 28 冯彦林, 谭家驹, 梁生, 孙静, 温广华, 吴校连, 夏姣云. 抗人肝癌<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒的生物学分布和肿瘤细胞抑制实验. *国际放射医学核医学杂志* 2007; 31: 321-324, 328
- 29 李贵平, 汪勇先, 张春富, 张辉. <sup>188</sup>Re标记免疫靶向磁性纳米微粒及其生物学分布. *中华核医学杂志* 2006; 26: 231-235
- 30 尹其华, 刘璐, 顾宁. <sup>59</sup>Fe示踪谷氨酸包被三氧化二铁纳米颗粒的制备及其在小鼠体内的生物学分布. *医学研究生学报* 2005; 18: 312-318

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

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



# 大鼠肠巨噬细胞TREM-1表达对其侵袭力和肠上皮细胞增殖的影响

张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春

张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春, 江苏大学附属医院普外科 江苏省镇江市 212001

张建新, 医学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事胰腺疾病及胃肠道肿瘤方向的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070287

江苏省自然科学基金资助项目, Nos. BK2011484、BK2012704

作者贡献分布: 本研究由张建新、王坤、祝文蕊、沈耀、王平江及党胜春共同完成。

通讯作者: 党胜春, 副教授, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院普外科, dscgu@163.com

电话: 0511-85082208 传真: 0511-85082208

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-02-28

## Effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells

Jian-Xin Zhang, Kun Wang, Wen-Rui Zhu, Yao Shen, Ping-Jiang Wang, Sheng-Chun Dang

Jian-Xin Zhang, Kun Wang, Wen-Rui Zhu, Yao Shen, Ping-Jiang Wang, Sheng-Chun Dang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070287; and the National Natural Science Foundation of Jiangsu Province, Nos. BK2011484 and BK2012704

Correspondence to: Sheng-Chun Dang, Associate Professor, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. dscgu@163.com

Received: 2012-12-24 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To explore the effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells to clarify the possible role of intestinal macrophages in the pathogenesis of intestinal barrier dysfunction (IBD).

**METHODS:** The expression levels of TREM-1 and TNF- $\alpha$  mRNAs in intestinal macrophages were determined by real-time PCR (RT-PCR) *in vitro*. After intestinal macrophages were co-cultured with intestinal epithelial cells in

Transwell chamber, the growth curve of intestinal epithelial cells was determined by MTT assay. The matrigel invasion assay was used to detect the invasion of intestinal macrophages.

**RESULTS:** The expression levels of TREM-1 and TNF- $\alpha$  in the LPS group were significantly increased compared with the control group and LPS + LP17 group (both  $P < 0.05$ ), but showed no significant difference between the control group and LPS + LP17 group ( $P > 0.05$ ). Compared to the control group, the growth of intestinal epithelial cells was inhibited in the LPS group and LPS + LP17 group (both  $P < 0.05$ ), and the inhibitory effect was more significant in the LPS group ( $P < 0.01$ ). The average numbers of invading cells in the three groups were  $29.3 \pm 2.1$ ,  $46.0 \pm 3.6$ , and  $34.7 \pm 3.1$ , respectively. There was a statistically significant difference in the average number of invading cells between the LPS + LP17 group and LPS group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The expression of TREM-1 was inhibited by LP17 in intestinal macrophages, and TREM-1 expression inhibited the invasion of intestinal macrophages to intestinal epithelial cells. TREM-1 may be a new target for treatment of IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Intestinal macrophages; Triggering receptor expressed on myeloid cells-1; Intestinal epithelial cells

Zhang JX, Wang K, Zhu WR, Shen Y, Wang PJ, Dang SC. Effect of TREM-1 expression in intestinal macrophages on their invasion and proliferation of intestinal epithelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 471-477 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/471.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.471>

## 摘要

**目的:** 探讨肠巨噬细胞髓系细胞触发受体-1(triggering receptor expressed on myeloid cells-1, TREM-1)的表达对肠巨噬细胞侵袭

## ■背景资料

肠巨噬细胞对维持肠屏障功能具有重要作用,其活化可以产生大量肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白介素-6等炎症介质,形成级联反应,引起肠屏障功能障碍,研究肠巨噬细胞在肠屏障功能中的作用具有重大意义。

## ■同行评议者

虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

## ■研究前沿

从细胞及分子水平研究肠巨噬细胞髓系细胞触发受体-1(TREM-1)表达水平及其对肠黏膜的影响,探讨TREM-1作为分子靶点治疗肠屏障功能障碍(IBD)的可行性。

力和肠上皮细胞增殖的影响,进一步明确肠巨噬细胞在肠屏障功能障碍(intestinal barrier dysfunction, IBD)中可能的作用。

**方法:** 体外培养肠巨噬细胞及肠上皮细胞, 逆转录-多聚酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测大鼠肠巨噬细胞的TREM-1和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )基因表达水平, 用Tanswell板将二者共培养, MTT法绘制肠上皮细胞生长曲线, Matrigel侵袭实验检测肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭力。

**结果:** 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组TREM-1及TNF- $\alpha$ 的基因表达水平高于LPS+LP17组和空白对照(Control)组(均 $P<0.05$ ); LPS+LP17组与Control组相比无差异。与Control组相比, 两实验组的肠上皮细胞的生长均受到抑制(均 $P<0.05$ ); LPS组肠上皮细胞生长的抑制大于LPS+LP17组( $P<0.05$ )。侵袭实验中3组平均穿膜细胞数分别为 $29.3 \pm 2.1$ 、 $46.0 \pm 3.6$ 和 $34.7 \pm 3.1$ 。LPS组与Control组比较差异具有明显统计学意义( $P<0.01$ ), LPS组与LPS+LP17组相比差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** LP17不但能抑制肠巨噬细胞TREM-1的表达及炎症介质的释放, 还可以抑制肠巨噬细胞对上皮细胞的侵袭。利用LP17阻断TREM-1信号转导可减轻肠巨噬细胞对肠上皮细胞的损害, 有望成为治疗IBD的新靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 肠巨噬细胞; 髓系细胞触发受体-1; 肠上皮细胞

张建新, 王坤, 祝文蕊, 沈耀, 王平江, 党胜春. 大鼠肠巨噬细胞TREM-1表达对其侵袭力和肠上皮细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 471-477 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/471.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.471>

## 0 引言

肠黏膜屏障是机体屏障系统的重要组成部分, 多种因素如炎症介质、氧化应激、微循环障碍、缺血再灌注损伤和细胞凋亡均可导致肠黏膜屏障损害<sup>[1,2]</sup>。一旦黏膜屏障被破坏, 黏膜下层组织将暴露在肠腔复杂的抗原之中, 启动免疫反应, 产生大量细胞因子, 进一步加重肠黏膜损害<sup>[3]</sup>。肠巨噬细胞主要分布在肠黏膜下的固

有层中, 其总数占人体组织中巨噬细胞的绝大部分, 对维持肠屏障功能具有重要作用, 其活化可以产生大量肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症介质, 形成级联反应, 导致细胞功能障碍, 引起肠屏障功能障碍(intestinal barrier dysfunction, IBD)<sup>[4]</sup>。髓系细胞触发受体-1(triggering receptor expressed on myeloid cells-1, TREM-1)主要在中性粒细胞和单核巨噬细胞上表达, 能诱导中性粒细胞和单核细胞分泌TNF- $\alpha$ 等促炎因子<sup>[5-7]</sup>。本文拟通过体外细胞实验, 探讨肠巨噬细胞对肠上皮细胞的影响, 进一步明确肠巨噬细胞在IBD中可能的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SD健康大鼠, 体质量200-250 g, 由江苏大学实验动物中心提供; RPMI 1640培养基、FBS、Penicillin和Streptomycin购自Hyclone公司; 等渗细胞分离液(Percoll solution)购自Biosharp公司; 胶原酶IV购自Worthington公司; LP17多肽购自美国Invitrogen公司; MTT试剂盒购自碧云天公司; Tanswell板购自美国Corning公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 肠巨噬细胞的分离:** 大鼠麻醉后无菌解剖, 迅速取全肠。用预冷PBS(pH 7.4)液冲洗肠腔, 纵向剖开, 置于含1 g/L EDTA的Hanks平衡盐溶液中, 37 °C水浴振荡60 min。弃上清, 用5 g/L胶原酶IV消化2 h, 所得细胞悬液400目筛网过滤。再以Hanks液洗涤, 重悬于500 g/L等渗细胞分离液, 4 °C 2 000 r/min离心15 min, 收集细胞沉淀即为肠巨噬细胞, 以无钙、镁Hanks液洗涤3遍, 用台盼蓝染色, 细胞活力约为85%。计数肠巨噬细胞, 以RPMI 1640培养基(10% FBS, 100  $\mu$ g/mL Penicillin; 100 U/mL Streptomycin)调细胞浓度至 $5 \times 10^5$ /L。

**1.2.2 肠上皮细胞的分离:** 全肠置于含1 g/L EDTA的Hanks平衡盐溶液中, 37 °C水浴振荡30 min。收集上清, 用HBSS清洗2次, 悬于40%等渗的细胞分离液中。4 °C, 1 500 r/min离心15 min。收集上层细胞(含有95%肠上皮细胞), 用HBSS洗3遍, 用台盼蓝染色, 细胞活力约为80%, 以DMEM培养基(10%FBS; 20 ng/mL EGF; 5  $\mu$ g/mL Insulin; 3.2 mmol/L Glutamine; 100  $\mu$ g/mL Penicillin; 100 U/mL Streptomycin)调整细胞密度为 $1 \times 10^5$ 个/mL。细胞培养均置于37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中

培养。

1.2.3 分组: (1)空白对照(Control)组: 肠巨噬细胞不做处理; (2)脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组: 用LPS处理肠巨噬细胞, 培养液LPS终浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ ; (3)LPS+LP17组: 用LPS及LP17联合处理肠巨噬细胞, 培养液LPS终浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ , LP17终浓度为100 ng/mL。

1.2.4 RT-PCR检测大鼠肠巨噬细胞TREM-1和TNF- $\alpha$ 基因表达: 大鼠肠巨噬细胞分离后置于6孔板中培养, 每孔加入2 mL RPMI 1640培养液, 分组、给药, 培养6 h后提取总RNA。分光光度计测定RNA样品在260 nm、280 nm的吸收值, 按RNA浓度 =  $(A_{260}-A_{320}) \times \text{稀释倍数} \times 0.04 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  计算RNA的浓度,  $A_{260/280}$  等于1.8-2.0的RNA样品为纯度合格, 1.2%甲醛变性琼脂糖电泳检测RNA样品完整性。再根据TransScript Reverse Transcriptase反转录试剂盒说明进行操作合成cDNA。TREM-1和TNF- $\alpha$ 的RT-PCR引物由本室设计, 并由上海生工生物工程技术有限公司合成。TREM-1的mRNA引物序列为F: 5'-ACCCTGTTCTGCTCTTCC-3', R: 5'-AACCTCAGTCGGCTTTGT-3'; TNF- $\alpha$ 的mRNA引物序列为F: 5'-AGGAGGAGAAGTTCCCAAAT-3', R: 5'-GCTACGGGCTTGTCCTC-3'。以cDNA为模板, 以上述制备的cDNA为模板, 根据TransStart Top Green qPCR SuperMix说明书进行RT-PCR(25  $\mu\text{L}$ 反应体系)。以GAPDH为内参基因,  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算TREM-1和TNF- $\alpha$ 的基因表达水平。

1.2.5 大鼠肠巨噬细胞和肠上皮细胞共培养: 将大鼠肠上皮细胞以 $1 \times 10^5$ 个/mL的密度接种于24孔板(Transwell板)中, 每孔500  $\mu\text{L}$  DMEM完全培养基; 再将大鼠肠巨噬细胞以 $5 \times 10^5$ 个/mL的密度接种于24孔板的小室中, 每室500  $\mu\text{L}$  RPMI 1640完全培养基, 将两种细胞共培养, 待细胞状态良好时对肠巨噬细胞进行分组给药(每组6个平行孔), 给药后共培养0、6、12、24、48、72 h后终止培养, 在酶联免疫检测仪上检测肠上皮细胞 $A_{490}$ , 以时间为横坐标 $A_{490}$ 值为纵坐标作图, 根据检测值绘制肠上皮细胞生长曲线。

1.2.6 大鼠肠巨噬细胞基质胶侵袭实验: 取生长良好的肠巨噬细胞, RPMI 1640基础培养基轻洗两次; 加入无血清培养基, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L  $\text{CO}_2$ 培养24 h, 收集细胞培养上清; 4  $^{\circ}\text{C}$ , 12 000 r/min离心10 min, 取上清; 0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌; 分装后于-20  $^{\circ}\text{C}$ 保存。取出-20  $^{\circ}\text{C}$ 保存的Matrigel, 冰上过夜融化。吸取100  $\mu\text{L}$  Matrigel加入预冷的

300  $\mu\text{L}$ 无血清培养基中, 充分混匀。取稀释好的Matrigel 50  $\mu\text{L}$ 加入Transwell板上室, 覆盖整个聚碳酸酯膜, 37  $^{\circ}\text{C}$ 静置30 min, 使Matrigel聚合成胶, 37  $^{\circ}\text{C}$ 可保存2 wk。用PBS漂洗处理后的细胞3次。0.25%胰酶消化, 终止消化后用RPMI 1640基础培养基制备单细胞悬液( $5 \times 10^5/\text{mL}$ ), 每组细胞各分为两部分。台盼蓝染色, 细胞活力 $>95\%$ 。Transwell培养板上室加入300  $\mu\text{L}$ 细胞悬液( $5 \times 10^4$ 个)。Transwell培养板下室加入500  $\mu\text{L}$ 趋化因子, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L  $\text{CO}_2$ 培养24 h。用湿棉签轻轻擦去Matrigel凝胶和聚碳酸酯膜上表面的细胞。小心取出上室, 用线拴住, 做好标记, 用冰预冷的甲醇固定30 min。苏木素染色1 min。梯度乙醇脱水(80、95、100 mL/L), 二甲苯透明。小心将聚碳酸酯膜自上室基底切取下来, 置载玻片上中性树脂封片。附着于聚碳酸酯膜下表面的细胞在高倍镜下( $\times 400$ )随机取3个视野计数, 取平均数。

**统计学处理** 利用SPSS17.0软件进行统计分析。计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 多组比较采用One-Way ANOVA, 两两比较采用SNK法检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 大鼠肠巨噬细胞及肠上皮细胞 细胞生长状态良好, 分布均匀, 细胞活力约为80%-85%(图1, 2)。

2.2 肠巨噬细胞TREM-1及TNF- $\alpha$ 的基因表达 经LPS处理后肠巨噬细胞TREM-1的基因表达水平为 $3.71 \pm 0.18$ , TNF- $\alpha$ 基因表达水平为 $6.09 \pm 1.20$ , 与Control组相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 经LPS+LP17处理后肠巨噬细胞TREM-1基因表达水平为 $1.65 \pm 0.47$ , TNF- $\alpha$ 基因表达水平为 $1.77 \pm 0.48$ , 与Control组相比, 无差异( $P > 0.05$ )。LPS组与LPS+LP17组相比, 肠巨噬细胞TREM-1及TNF- $\alpha$ 的基因表达水平均有差异( $P < 0.05$ , 图3)。

2.3 LPS对大鼠肠上皮细胞生长的影响 与空白对照组相比, LPS组及LPS+LP17组肠上皮细胞的生长受到抑制(均 $P < 0.05$ ); 对LPS组肠上皮细胞生长的抑制大于LPS+LP17组( $P < 0.05$ , 图4)。

2.4 肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭 肠巨噬细胞对照组的3个平行样本高倍镜( $\times 400$ )视野下平均穿膜细胞数为 $29.3 \pm 2.1$ , LPS实验组的3个平行样本高倍镜( $\times 400$ )视野下平均穿膜细胞数为 $46.0 \pm 3.6$ , LPS+LP17实验组的3个平行样本高倍镜( $\times 400$ )视野下平均穿膜细胞数为 $34.7 \pm 3.1$ 。LPS组与Control组比较差异具有明显统计

## ■创新盘点

由于肠道环境中存在较多的抗原类物质和各种微生物, 肠巨噬细胞在免疫表型和功能上有显著的特点。结合肠巨噬细胞TREM-1变化在肠道免疫功能中发挥的独特作用, 利用TREM-1的特异性阻断剂干预其表达, 为TREM-1作为IBD分子治疗靶点的提供实验基础及理论依据。



### ■应用要点

本研究进一步明确肠巨噬细胞在IBD中可能的作用, 为治疗IBD提供实验基础及理论依据。

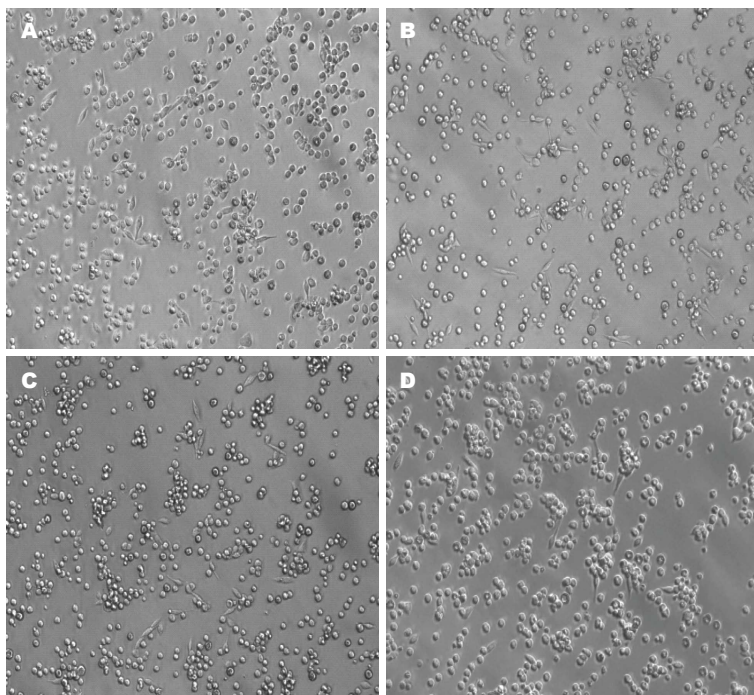


图 1 大鼠肠巨噬细胞( $\times 100$ , 培养 24 h).

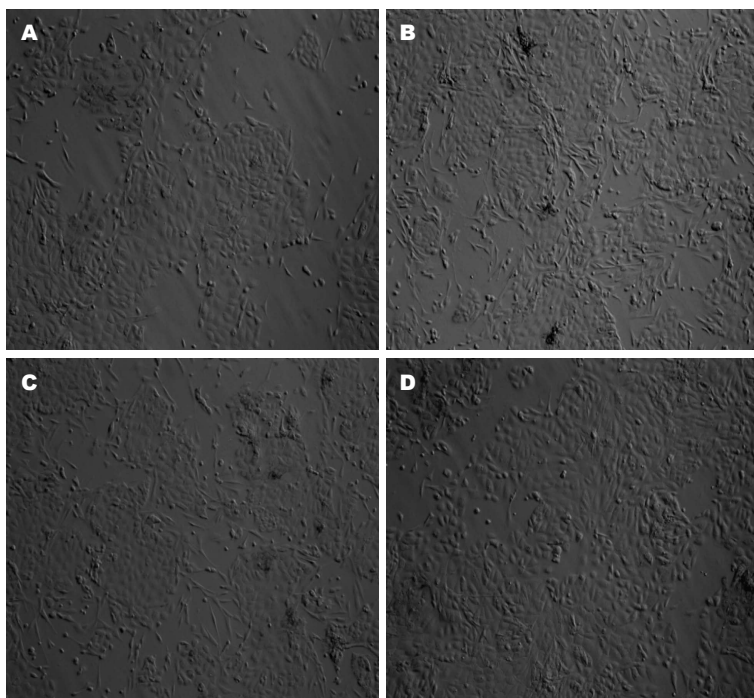


图 2 大鼠肠上皮细胞( $\times 100$ , 培养 6 h).

学意义( $P < 0.01$ ), LPS组与LPS+LP17组相比差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而LPS+LP17组与Control组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表1, 图5).

### 3 讨论

TREM-1为免疫球蛋白超家族成员, 是主要表达于中性粒细胞和单核细胞表面的单次跨膜受体蛋白, 与配体结合后激活TREM-1信号通路, 在炎症级联放大反应和脓毒症发生发展中起重要

作用<sup>[8,9]</sup>. TREM-1激活上调可触发多种炎症相关细胞因子如TNF- $\alpha$ 、IL-6, 诱导中性粒细胞脱颗粒和单核巨噬细胞吞噬作用, 从而放大炎症反应<sup>[10]</sup>. 研究证实, TREM-1分子的活化需要其天然配体与Toll样受体家族(Toll-like receptors, TLR)配体的协同作用<sup>[11,12]</sup>, 其中TLR4的配体LPS的作用最强<sup>[13,14]</sup>. TLR4受体活化后, 其效应蛋白如TNF- $\alpha$ 及白细胞-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )等又能明显上调TREM-1分子在细胞表面的表达<sup>[14]</sup>. TNF- $\alpha$ 已被证实是炎症性肠病时引起肠黏膜屏障功能损伤

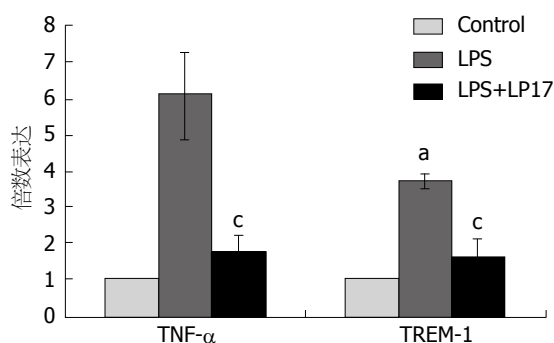


图 3 RT-PCR检测大鼠肠巨噬细胞TNF-α和TREM-1基因表达倍数. TREM-1: 髓系细胞触发受体-1; TNF-α: 肿瘤坏死因子. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs Control组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs LPS组.

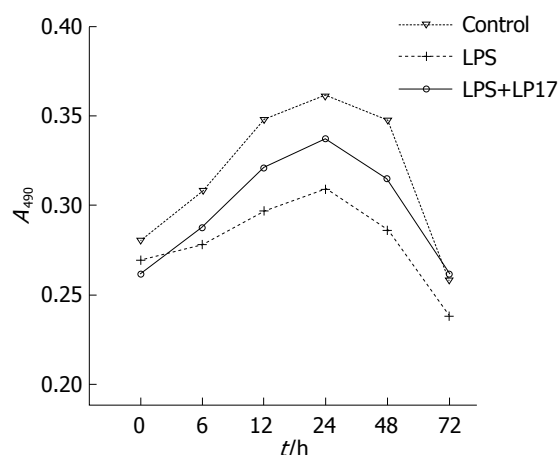


图 4 MTT法检测正常组中不同时间点下大鼠肠上皮细胞的生长曲线.

表 1 各组肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭

分组	穿透Matrigel基质细胞数目
Control组	29.3 ± 2.1
LPS组	46.0 ± 3.6 <sup>b</sup>
LPS+LP17组	34.7 ± 3.1 <sup>c</sup>

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs Control组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs LPS组.

的重要启动因子<sup>[15,16]</sup>. 临床研究表明炎症性肠病患者的TNF-α表达异常增高, 且表达水平与肠黏膜通透性相关, 应用TNF-α抗体可以降低这些患者肠黏膜的通透性<sup>[17]</sup>.

LP17多肽能减弱甚至阻断TREM-1信号通路的激活, 抑制炎症因子过度表达, 调节炎症反应<sup>[12]</sup>. 用LPS刺激小鼠脓毒症模型, 给小鼠注射LP17具有保护作用, 且其保护作用与LP17呈剂量相关性, 说明LP17可能有治疗脓毒症作用<sup>[18]</sup>. 最新研究表明LP17能抑制SAP时血清sTREM-1的表达, 并显著减轻SAP引起的肝、肾功能障

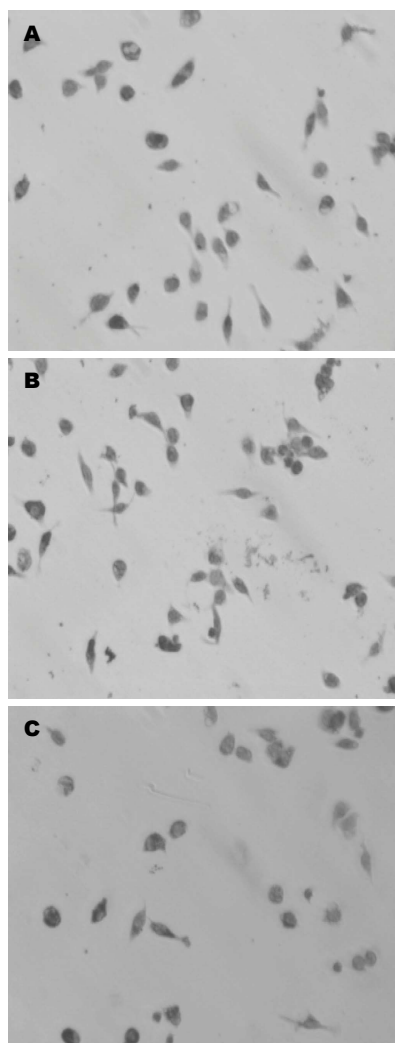


图 5 大鼠肠巨噬细胞实验穿膜细胞. A: Control组; B: LPS组; C: LPS+LP17组.

#### ■名词解释

髓系细胞触发受体-1(TREM-1): 是主要表达于中性粒细胞和单核细胞表面的单次跨膜受体蛋白, 由V型Ig样胞外结构域、含有赖氨酸残基的跨膜结构域及缺乏信号基序的胞浆结构域3部分组成, 与NK细胞受体NKP44、白细胞受体MRF-3和多种免疫球蛋白受体有同源性.

碍<sup>[19]</sup>. 本实验中利用RT-PCR检测肠巨噬细胞中TREM-1及TNF-α的基因表达水平, LPS组肠巨噬细胞培养6 h后TREM-1及TNF-α的mRNA表达水平比空白对照组明显升高, 且二者升高幅度呈正相关. 肠巨噬细胞经LPS+LP17处理后TREM-1及TNF-α的mRNA表达水平比LPS组明显下降, TREM-1的基因表达下降更加明显, 但仍高于空白对照组. 结果显示LP17可以明显抑制LPS刺激肠巨噬细胞TREM-1及TNF-α的基因表达. 说明LP17可与肠巨噬细胞TREM-1配体竞争性结合, 抑制炎症因子过度表达. 提示干预肠巨噬细胞TREM-1表达可防治IBD.

肠上皮细胞间的紧密连接是由紧密连接蛋白构成, 主要包括闭锁蛋白、连接相关分子等跨膜蛋白和闭锁小带(zonula occludens, ZO)、丝状肌动蛋白(F-actin)等<sup>[20,21]</sup>. TNF-α可通过旁分泌形式作用于邻近肠上皮细胞, 一方面TNF-α可激活上皮细胞间的肌球蛋白轻链激酶, 调整紧密连接蛋白Occludin和ZO-1在紧密连接膜微区

### 同行评价

本文有一定的科学及临床意义, 新颖性较好。

的分布, 造成紧密连接处功能障碍<sup>[22,23]</sup>, 增加肠上皮细胞细胞旁的通透性, 是TNF- $\alpha$ 引起肠黏膜屏障通透性增高的主要原因<sup>[24]</sup>; 另一方面TNF- $\alpha$ 通过其受体TNFR1和/或TNFR2途径诱导肠上皮细胞凋亡<sup>[25,26]</sup>, 使肠上皮细胞屏障同一位点上皮细胞脱落, 产生微小腐蚀点, 导致肠黏膜功能紊乱<sup>[27]</sup>. 肠上皮凋亡脱落进一步加剧肠黏膜通透性<sup>[28]</sup>. 另外, 在NF- $\kappa$ B介导下, TNF- $\alpha$ 和INF- $\gamma$ 可上调肠上皮细胞内NOD2基因表达, 提高对LPS的敏感性<sup>[29]</sup>, 从而加重炎症因子对肠上皮细胞的损害。

本文利用Transwell板将巨噬细胞与肠上皮细胞共培养的, 通过LP17及LPS处理肠巨噬细胞, 检测肠上皮细胞的活性及巨噬细胞的对肠上皮细胞的侵袭. 结果显示LPS刺激肠巨噬细胞释放的炎症因子, 可抑制肠上皮细胞的增殖, 利用LP17阻断TREM-1的表达可以减轻炎症因子对肠上皮细胞生长的抑制. 我们的实验还表明LP17可以减少肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭细胞数量, 说明LP17不但能抑制肠巨噬细胞TREM-1的表达, 还可以抑制固有层的肠巨噬细胞向黏膜层迁移, 减轻肠巨噬细胞分泌的炎症因子对肠上皮细胞的损害, 其机制可能与抑制肠巨噬细胞炎症因子的释放, 减弱炎症因子对巨噬细胞的趋化作用有关。

总之, 肠黏膜损伤是个相当复杂的过程, 涉及诸多因素与环节. 肠道细菌移位和炎症介质的过量释放是肠黏膜损伤的主要原因, TREM-1作为炎症放大介质有可能在肠黏膜屏障功能损害中起重要作用, 我们通过探讨肠巨噬细胞TREM-1的表达对肠上皮细胞增殖的影响及肠巨噬细胞对肠上皮细胞的侵袭, 说明利用LP17阻断TREM-1信号转导可减轻肠巨噬细胞对肠上皮细胞的损害, 有望成为治疗IBD的新靶点。

### 4 参考文献

- Rahman SH, Ammori BJ, Holmfeld J, Larvin M, McMahon MJ. Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 26-35; discussion 35-36 [PMID: 12559182]
- Zhang XP, Zhang J, Song QL, Chen HQ. Mechanism of acute pancreatitis complicated with injury of intestinal mucosa barrier. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007; 8: 888-895 [PMID: 18257123 DOI: 10.]
- Fillon S, Robinson ZD, Colgan SP, Furuta GT. Epithelial function in eosinophilic gastrointestinal diseases. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29: 171-178, xii-xiii [PMID: 19141352 DOI: 10.1016/j.jac.2008.09.003]

- Leveau P, Wang X, Sun Z, Börjesson A, Andersson E, Andersson R. Severity of pancreatitis-associated gut barrier dysfunction is reduced following treatment with the PAF inhibitor lexipafant. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 1325-1331 [PMID: 15826603 DOI: 10.1016/j.bcp.2005.01.023]
- Washington AV, Quigley L, McVicar DW. Initial characterization of TREM-like transcript (TLT)-1: a putative inhibitory receptor within the TREM cluster. *Blood* 2002; 100: 3822-3824 [PMID: 12393607 DOI: 10.1182/blood-2002-02-05232002-02-0523]
- Yoshioka N, Taniguchi Y, Yoshida A, Nakata K, Nishizawa T, Inagawa H, Kohchi C, Soma G. Intracellular localization of CD14 protein in intestinal macrophages. *Anticancer Res* 2009; 29: 865-869 [PMID: 19414321]
- Zhang JX, Dang SC, Qu JG, Wang XQ, Chen GZ. Changes of gastric and intestinal blood flow, serum phospholipase A2 and interleukin-1beta in rats with acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3578-3581 [PMID: 15962379]
- Gómez-Piña V, Soares-Schanoski A, Rodríguez-Rojas A, Del Fresno C, García F, Vallejo-Cremades MT, Fernández-Ruiz I, Arnalich F, Fuentes-Prior P, López-Collazo E. Metalloproteinases shed TREM-1 ectodomain from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes. *J Immunol* 2007; 179: 4065-4073 [PMID: 17785845]
- Liao R, Liu Z, Wei S, Xu F, Chen Z, Gong J. Triggering receptor in myeloid cells (TREM-1) specific expression in peripheral blood mononuclear cells of sepsis patients with acute cholangitis. *Inflammation* 2009; 32: 182-190 [PMID: 19396532 DOI: 10.1007/s10753-009-9119-1]
- Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J Immunol* 2000; 164: 4991-4995 [PMID: 10799849]
- Wu M, Peng A, Sun M, Deng Q, Hazlett LD, Yuan J, Liu X, Gao Q, Feng L, He J, Zhang P, Huang X. TREM-1 amplifies corneal inflammation after *Pseudomonas aeruginosa* infection by modulating Toll-like receptor signaling and Th1/Th2-type immune responses. *Infect Immun* 2011; 79: 2709-2716 [PMID: 21555403 DOI: 10.1128/IAI.00144-11]
- Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Bollaert PE, Lozniewski A, Mory F, Levy B, Faure GC. A soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 modulates the inflammatory response in murine sepsis. *J Exp Med* 2004; 200: 1419-1426 [PMID: 15557347 DOI: 10.1084/jem.]
- Radsak MP, Salih HR, Rammensee HG, Schild H. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in neutrophil inflammatory responses: differential regulation of activation and survival. *J Immunol* 2004; 172: 4956-4963 [PMID: 15067076]
- Bleharski JR, Kiessler V, Buonsanti C, Sieling PA, Stenger S, Colonna M, Modlin RL. A role for triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in host defense during the early-induced and adaptive phases of the immune response. *J Immunol* 2003; 170: 3812-3818 [PMID: 12646648]
- Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Hanauer SB. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of in-



- fliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 402-413 [PMID: 14762776]
- 16 Zeissig S, Bojarski C, Buerger N, Mankertz J, Zeit M, Fromm M, Schulzke JD. Downregulation of epithelial apoptosis and barrier repair in active Crohn's disease by tumour necrosis factor alpha antibody treatment. *Gut* 2004; 53: 1295-1302 [PMID: 15306588 DOI: 10.1136/gut.2003.036632]
  - 17 Suenart P, Bulteel V, Lemmens L, Noman M, Geypens B, Van Assche G, Geboes K, Ceuppens JL, Rutgeerts P. Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2000-2004 [PMID: 12190167 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05914.x]
  - 18 Gibot S, Massin F, Alauzet C, Derive M, Montemont C, Collin S, Fremont S, Levy B. Effects of the TREM 1 pathway modulation during hemorrhagic shock in rats. *Shock* 2009; 32: 633-637 [PMID: 19333144 DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181a53842]
  - 19 Kamei K, Yasuda T, Ueda T, Qiang F, Takeyama Y, Shiozaki H. Role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in experimental severe acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 305-312 [PMID: 19787284 DOI: 10.1007/s00534-009-0191-6]
  - 20 Ewert P, Aguilera S, Allende C, Kwon YJ, Albornoz A, Molina C, Urzúa U, Quest AF, Olea N, Pérez P, Castro I, Barrera MJ, Romo R, Hermoso M, Leyton C, González MJ. Disruption of tight junction structure in salivary glands from Sjögren's syndrome patients is linked to proinflammatory cytokine exposure. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 1280-1289 [PMID: 20131287 DOI: 10.1002/art.27362]
  - 21 Diesing AK, Nossol C, Panther P, Walk N, Post A, Klues J, Kreutzmann P, Dänicke S, Rothkötter HJ, Kahlert S. Mycotoxin deoxynivalenol (DON) mediates biphasic cellular response in intestinal porcine epithelial cell lines IPEC-1 and IPEC-J2. *Toxicol Lett* 2011; 200: 8-18 [PMID: 20937367 DOI: 10.1016/j.toxlet.]
  - 22 Li Q, Zhang Q, Wang M, Zhao S, Ma J, Luo N, Li N, Li Y, Xu G, Li J. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha disrupt epithelial barrier function by altering lipid composition in membrane microdomains of tight junction. *Clin Immunol* 2008; 126: 67-80 [PMID: 17964857 DOI: 10.1016/j.clim.2007.08.017]
  - 23 Blikslager AT, Moeser AJ, Gookin JL, Jones SL, Odle J. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiol Rev* 2007; 87: 545-564 [PMID: 17429041 DOI: 10.1016/j.physrev.2007.08.017]
  - 24 Bruewer M, Luegering A, Kucharzik T, Parkos CA, Madara JL, Hopkins AM, Nusrat A. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. *J Immunol* 2003; 171: 6164-6172 [PMID: 14634132]
  - 25 Piguet PF, Vesin C, Guo J, Donati Y, Barazzzone C. TNF-induced enterocyte apoptosis in mice is mediated by the TNF receptor 1 and does not require p53. *Eur J Immunol* 1998; 28: 3499-3505 [PMID: 9842892 DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141]
  - 26 Babu D, Soenen SJ, Raemdonck K, Leclercq G, De Backer O, Motterlini R, Lefebvre RA. TNF- $\alpha$ /cycloheximide-induced oxidative stress and apoptosis in murine intestinal epithelial MODE-K cells. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4414-4425 [PMID: 22721505]
  - 27 Kiesslich R, Duckworth CA, Moussata D, Gloeckner A, Lim LG, Goetz M, Pritchard DM, Galle PR, Neurath MF, Watson AJ. Local barrier dysfunction identified by confocal laser endomicroscopy predicts relapse in inflammatory bowel disease. *Gut* 2012; 61: 1146-1153 [PMID: 22115910 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300695]
  - 28 Gitter AH, Bendfeldt K, Schulzke JD, Fromm M. Leaks in the epithelial barrier caused by spontaneous and TNF- $\alpha$ -induced single-cell apoptosis. *FASEB J* 2000; 14: 1749-1753 [PMID: 10973924]
  - 29 Rosenstiel P, Fantini M, Bräutigam K, Kühbacher T, Waetzig GH, Seeger D, Schreiber S. TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1001-1009 [PMID: 12671897 DOI: 10.1053/gast.2003.50157]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白及mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义

白兴武, 李桃, 齐洁敏

## ■背景资料

胃癌患者的病情进展快, 相当一部分患者在确诊时就已经发生了转移, 尽管现在胃镜的普及和胃癌手术方法的改进使得胃癌的治愈率有所提高, 但5年生存率仍不高, 主要死因是胃癌的浸润和转移, 所以研究胃癌的浸润、转移机制及寻找胃癌的早期诊断指标对胃癌治疗尤其重要。

白兴武, 承德护理职业学院 河北省承德市 067000  
李桃, 齐洁敏, 承德医学院病理解剖学教研室 河北省承德市 067000

白兴武, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 白兴武、李桃及齐洁敏对此文所作贡献均等; 此课题由齐洁敏设计; 研究过程由白兴武与李桃操作完成; 数据分析及本论文写作由白兴武、李桃及齐洁敏完成。

通讯作者: 齐洁敏, 教授, 067000, 河北省承德市双桥区上二道河子, 承德医学院病理解剖学教研室: qijiemin@126.com

收稿日期: 2012-12-17 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Clinical significance of expression of integrin $\alpha 5\beta 1$ in gastric carcinoma

Xing-Wu Bai, Tao Li, Jie-Min Qi

Xing-Wu Bai, Chengde Nursing Vocational College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Tao Li, Jie-Min Qi, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Jie-Min Qi, Professor, Department of Pathology, Chengde Medical College, Shuangqiao District, Chengde 067000, Hebei Province, China. qijiemin@126.com

Received: 2012-12-17 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of integrin  $\alpha 5\beta 1$  in gastric carcinoma and to analyze its relationship with the development and prognosis of gastric carcinoma.

**METHODS:** The expression of integrin  $\alpha 5\beta 1$  protein and mRNA was analyzed using immunohistochemistry and *in situ* hybridization (ISH) in 80 cases of gastric carcinoma and 50 cases of normal stomach tissue. The relationship between integrin  $\alpha 5\beta 1$  expression and clinicopathological parameters of gastric carcinoma was analyzed.

**RESULTS:** The positive rate of integrin  $\alpha 5\beta 1$  protein expression in gastric carcinoma was significantly higher than that in normal stomach

tissue (60% vs 22%,  $P < 0.05$ ). The positive rate of integrin  $\alpha 5\beta 1$  mRNA expression in gastric carcinoma was also significantly higher than that in normal stomach tissue (61.25% vs 24%,  $P < 0.05$ ). The expression of integrin  $\alpha 5\beta 1$  in gastric carcinoma was closely associated with tumor differentiation, TNM stage, lymph node metastasis, and depth of invasion (all  $P < 0.05$ ), but not with age, gender or pathological type (all  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** High expression of integrin  $\alpha 5\beta 1$  has a close relation with the growth, invasion and metastasis of gastric carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Gastric carcinoma; Integrin  $\alpha 5\beta 1$ ; Immunohistochemistry; *In situ* hybridization

Bai XW, Li T, Qi JM. Clinical significance of expression of integrin  $\alpha 5\beta 1$  in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 478-483 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/478.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.478>

## 摘要

**目的:** 探讨整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的表达特点及其在胃癌发生、发展中的作用。

**方法:** 应用免疫组织化学方法及原位杂交法同步检测80例胃癌组织及50例癌旁正常组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 表达情况, 分析其在胃癌组织中表达的特点以及和临床病理指标的关系。

**结果:** (1)胃癌组整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阳性表达率为60%, 高于癌旁正常组(22%), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 胃癌组整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的阳性表达率为61.25%, 高于癌旁正常组(24%), 差别有统计学意义( $P < 0.05$ ); (2)整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织的表达与胃癌患者的年龄、性别、病理类型无关( $P > 0.05$ ), 与癌组织的分化程

## ■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

度、TNM分期、淋巴结转移、浸润深度密切相关( $P<0.05$ ).

**结论:** 胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 高表达与胃癌的生长、浸润和转移密切相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 胃癌; 整合素 $\alpha 5\beta 1$ ; 免疫组织化学; 原位杂交

白兴武, 李桃, 齐洁敏. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白及mRNA在胃癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 478-483  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/478.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.478>

## 0 引言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率居我国消化系恶性肿瘤之首<sup>[1-3]</sup>. 近几年, 随着现代生活的发展, 胃癌出现了年轻化的趋势. 早期胃癌多无症状或仅有轻微症状, 当临床症状明显时, 病变已属晚期. 胃癌转移、复发是患者死亡的主要原因, 也是治疗的最大障碍<sup>[4]</sup>, 所以研究胃癌的浸润、转移机制及寻找胃癌的早期诊断指标, 不仅有利于提高胃癌的诊疗水平而且对于改善预后亦具有十分重要的意义. 胃癌浸润和转移的首要步骤<sup>[5,6]</sup>是癌细胞的黏附力变化, 所以作为细胞黏附分子的整合素 $\alpha 5\beta 1$ <sup>[7]</sup>在胃癌浸润转移中的作用非常重要, 关于整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌中表达情况的研究尚未见报道. 本实验采用免疫组织化学法和原位杂交法检测整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的表达特点, 并阐述其在胃癌的发生、发展中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2011-10/2012-03承德市多家医院手术切除并经病理诊断确诊为胃癌的组织80例, 男51例, 女29例, 平均年龄64.0岁 $\pm$ 8.2岁. 癌灶 $>10$  cm处癌旁正常组织50例, 男31例, 女19例, 平均年龄61.0岁 $\pm$ 7.9岁. 经 $\chi^2$ 检验, 两组之间年龄及性别构成差异无统计学意义. 全组病例术前均未行化疗和放疗且临床资料完整. 所有标本经中性甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, 5  $\mu$ m厚连续切片, 检测mRNA标本所用载玻片均经APES处理, 0.1%DEPC水浸泡.

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学SP法:** 兔抗整合素 $\alpha 5\beta 1$ 多克隆IgG抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 兔免疫组织化学试剂盒为北京四正柏生物科技有限公司产品; 染色步骤严格按照试剂盒使用说明进行, 用已知阳性切片组织作阳性对照, 阴性对照用PBS代替一抗.

**1.2.2 原位杂交:** 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 原位杂交试剂盒及原位杂交专用盖玻片等购自武汉博士德生物工程有限公司. 原位杂交前将实验所需器皿进行RNA酶处理, 液体试剂均以DEPC水配制. 实验步骤按照试剂盒说明书操作, 用已知阳性切片组织作阳性对照, 以预杂交液代替探针作为空白对照.

**1.2.3 结果评定:** 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白阳性表达主要定位于细胞膜和/或细胞浆, 呈黄色颗粒状, 整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的表达位于细胞浆内, 呈棕黄色颗粒状. 表达水平采用阳性细胞数评分和染色强度评分综合确定<sup>[8]</sup>. 阳性细胞数评分标准为: 0分为阳性细胞数 $<10\%$ ; 1分为阳性细胞数 $<25\%$ ; 2分为阳性细胞数 $<50\%$ ; 3分为阳性细胞数 $\geq 50\%$ . 阳性染色强度评分标准为: 0分为阴性, 与背景色完全一致; 1分为弱阳性染色, 呈淡黄色, 略深于背景色; 2分为阳性染色, 呈中等黄色, 明显深于背景色; 3分为强阳性染色, 呈棕黄色或棕褐色, 胞浆内也可见着色. 每张切片总评分为阳性细胞数评分+阳性染色强度评分, 积分0分=阴性(-), 1-2分=低表达(+), 3-4分为中度表达(++), 5-6分为高表达(+++).

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧).

## 2 结果

**2.1 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织、癌旁正常组织中的表达** 免疫组织化学结果: 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白在阴性对照组中无表达. 阳性产物定位于细胞膜和/或细胞浆, 呈棕黄色颗粒或线网状分布. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白在胃癌组织中表达的阳性率为60%, 高于癌旁正常组织(22%), 差异有统计学意义( $P<0.05$ , 表1). 免疫组织化学结果见图1. 原位杂交结果: 整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA阳性信号在癌细胞胞浆内, 为棕黄色颗粒. 阴性对照组无阳性信号检出. 整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA在胃癌组织中表达的阳性率为61.25%, 高于癌旁正常组织(24%), 差

## ■ 研究前沿

目前关于恶性肿瘤的研究中, 浸润、转移机制是研究热点. 胃癌治疗中对浸润、转移指标的研究是重点. 胃癌浸润、转移的首要步骤是癌细胞黏附力的变化, 所以作为细胞黏附分子的整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌浸润、转移中的作用非常重要.



## ■创新盘点

关于整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌中表达情况的研究尚未见报道,本文采用原位杂交技术和免疫组织化学方法分别从基因水平和蛋白水平检测整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达情况,并阐述整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌发生、发展中的作用。

表 1 胃癌组织和癌旁正常组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达 ( $n$ )

项目	组织	$n$	染色结果				阳性率(%)	$P$ 值
			-	+	++	+++		
整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白	胃癌组织	80	32	11	23	14	60.00	<0.05
	癌旁正常组织	50	39	8	3	0	22.00	
整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA	胃癌组织	80	31	12	25	12	61.25	<0.05
	癌旁正常组织	50	38	9	3	0	24.00	

表 2 胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达与临床病理指标的关系

临床病理特征	$n$	整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白			整合素 $\alpha 5\beta 1$ mRNA		
		阳性数( $n$ )	%	$P$ 值	阳性数( $n$ )	%	$P$ 值
年龄(岁)							
<60	25	14	56.0	>0.05	14	56.0	>0.05
$\geq 60$	55	34	61.8		35	63.6	
性别							
男	51	31	60.8	>0.05	30	58.8	>0.05
女	29	17	58.6		19	65.5	
分化程度							
高-中分化	35	11	31.0	<0.05	15	42.8	<0.05
低-未分化	45	37	82.0		34	75.6	
TNM分期							
I、II	42	17	40.5	<0.05	20	47.6	<0.05
III、IV	38	31	81.6		29	76.0	
淋巴结转移							
阴性	29	8	27.6	<0.05	11	38.0	<0.05
阳性	51	40	78.0		38	74.5	
浸润深度							
未达浆膜	44	19	43.0	<0.05	21	47.7	<0.05
浸透浆膜	36	29	80.6		28	77.8	
病理类型							
腺癌	46	28	60.9	>0.05	29	63.0	>0.05
印戒细胞癌	34	20	58.8		20	58.8	

别有统计学意义( $P<0.05$ , 表1). 原位杂交结果见图2.

**2.2 胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的表达与临床病理指标的关系** 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白和整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA在胃癌组织中的表达与胃癌患者的年龄、性别及病理类型无关( $P>0.05$ ). 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白和整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA在胃癌组织的表达与胃癌的分化程度、TNM分期、淋巴结转移、浸润深度密切相关( $P<0.05$ , 表2).

### 3 讨论

恶性肿瘤的浸润和转移<sup>[9]</sup>是肿瘤细胞与宿主细胞之间相互作用的一个复杂、多步骤的过程,

该过程涉及肿瘤细胞的黏附能力、运动能力、增殖能力、对周围基质蛋白水解能力以及肿瘤组织内的肿瘤性血管形成能力等. 肿瘤细胞在向远处转移时首先要脱离原发灶, 黏附在细胞外基质并降解细胞外基质和基底膜, 然后再降解的细胞外基质中移动. 在此过程中细胞黏附分子发挥了非常重要作用.

整合素最早由Richand于1987年提出, 是广泛存在于动植物细胞表面的一类细胞黏附分子<sup>[10,11]</sup>. 整合素都是由 $\alpha$ (120-185 kDa)和 $\beta$ (90-110 kDa)两个亚单位形成的异二聚体, 迄今已发现18种 $\alpha$ 亚单位和9种 $\beta$ 亚单位, 他们按不同的组合构成20余种整合素<sup>[12,13]</sup>. 一般认

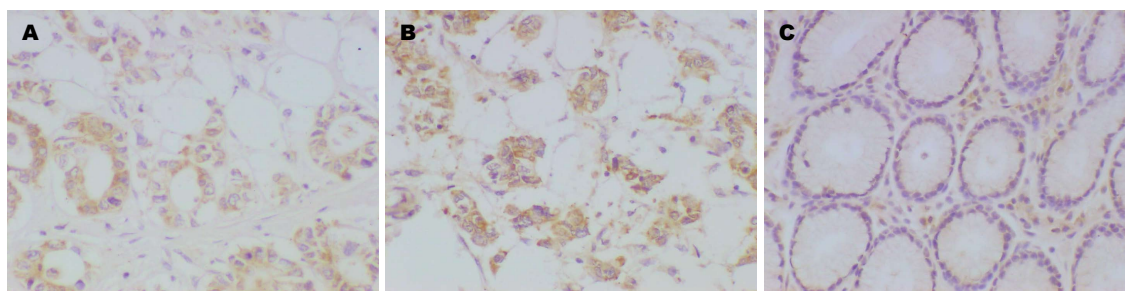


图 1 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达结果(SP  $\times 200$ ). A: 高-中分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阳性表达结果; B: 低-未分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阳性表达结果; C: 癌旁正常胃组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白的阴性表达结果.

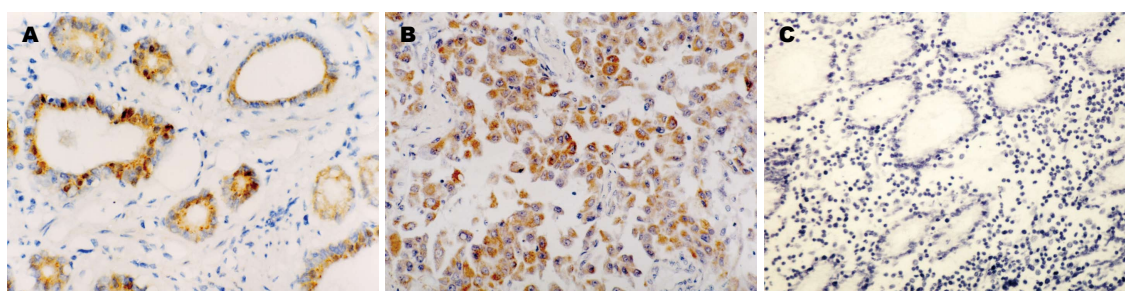


图 2 整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA在胃癌组织和癌旁正常组织中的表达结果(ISH  $\times 200$ ). A: 高-中分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的阳性表达结果; B: 低-未分化胃癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的阳性表达结果; C: 癌旁正常胃组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的阴性表达结果.

**■应用要点**  
研究整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌的关系, 将为胃癌的早期诊断提供新线索, 并且可以作为判断胃癌生物学行为的指标及基因治疗的候选靶点.

为, 整合素在肿瘤的发生发展、浸润转移中主要起两个方面的作用<sup>[14-16]</sup>: 一方面整合素介导肿瘤细胞和细胞外基质的黏附, 可改变基质的成分, 调节基质生物学功能. 从而促进肿瘤细胞的浸润和转移; 在循环系统和血小板、白细胞相互作用, 使肿瘤细胞逃避宿主的免疫监视; 另一方面整合素介导信息从细胞外基质向细胞内传递. 而这些信息往往将影响细胞生长和分化. 整合素的异常信息传递可促进肿瘤细胞生长与远处转移.

整合素 $\alpha 5\beta 1$ 是由 $\alpha 5$ 和 $\beta 1$ 两个亚单位组成的异二聚体<sup>[17]</sup>. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 能使肿瘤的同质性黏附下降, 促使肿瘤细胞从瘤体上脱落, 然后再使肿瘤细胞异质性黏附增强, 加强肿瘤细胞与宿主非肿瘤细胞之间的黏附<sup>[18]</sup>. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 可与细胞外基质的主要组成成分纤维结合蛋白结合<sup>[19]</sup>, 介导细胞与细胞外基质、细胞与细胞间的黏附反应, 并且接受、传导级联信号以及调节细胞的存活、运动、增殖等生物学过程<sup>[20,21]</sup>, 在肿瘤的发生发展和浸润、转移过程中都起着重要作用<sup>[22]</sup>. 另外整合素 $\alpha 5\beta 1$ 还可以通过参与调节基质金属蛋白酶的分泌和活化<sup>[23]</sup>、肿瘤血管发生<sup>[24]</sup>及肿瘤细胞凋亡<sup>[25]</sup>等多方面, 促进肿

瘤侵袭转移. 目前大量的临床和实验研究表明整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在多种肿瘤的发生发展过程中都起着很重要作用, 已有研究表明整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在肝癌<sup>[26]</sup>、肺癌<sup>[27]</sup>、肠癌<sup>[28]</sup>等肿瘤细胞中都有表达, 其蛋白表达水平或极性分布随着肿瘤的发生、发展而变化, 这可能与肿瘤的细胞起源、恶性程度和整合素 $\alpha 5\beta 1$ 作用的多样性相关. Prifti等<sup>[29]</sup>采用免疫组织化学的方法检测了整合素与子宫内膜黏附和迁移的关系, 结果发现, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 参与癌细胞的转移. 迟福生等<sup>[30]</sup>研究整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA在贲门癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系, 发现贲门癌组织中整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的表达明显高于癌旁正常胃黏膜组织, 整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA的表达与癌组织淋巴结转移及病理分期呈正相关, 与癌组织分化程度呈负相关. 然而整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的表达及意义的研究未见报道. 本实验采用免疫组织化学方法与原位杂交技术分别从蛋白水平和基因水平检测整合素 $\alpha 5\beta 1$ 蛋白和整合素 $\alpha 5\beta 1$  mRNA在胃癌及癌旁正常组织中的表达, 并分析整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌临床病理指标间的关系, 所得结论一致, 即整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织中的阳性率高于癌旁正常胃组织, 差别有统计学意

## ■名词解释

细胞黏附分子(CAM): 众多介导细胞间或者细胞与胞外基质间相互接触和结合的分子的统称。黏附分子以受体-配体结合的形式发挥作用, 根据结构特点可分为整合素家族、选择素家族、免疫球蛋白超家族等, 此外还有一些尚未归类的黏附分子。

义( $P<0.05$ ), 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌组织的表达与胃癌的分化程度、TNM分期、淋巴结转移、浸润深度密切相关( $P<0.05$ ), 提示整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的差异性表达在转录之前就已发生, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在胃癌的发生发展、浸润转移中起了重要作用。

综上所述, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌的生物学特性密切相关, 其表达的上调能促进胃癌的发生与浸润进展, 但其调节作用的机制和途径复杂, 有待于进一步研究。深入研究整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与胃癌的关系, 将为胃癌的早期诊断提供新线索, 并且可以作为判断胃癌生物学行为的指标及基因治疗的候选靶点。

## 4 参考文献

- 瞿春莹, 董国芳, 汪余勤, 陈梅梅, 李定国. 78例早期胃癌患者内镜及组织病理学分析. 实用诊断与治疗杂志 2007; 21: 732-733, 736
- 王康磊, 刘绪舜. CD151在消化系统肿瘤中的表达研究进展. 现代肿瘤医学 2012; 20: 1294-1297
- Takeichi M. Cadherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 237-252 [PMID: 2197976 DOI: 10.1146/annurev.bi.59.070190.001321]
- 张莹, 韦敏怡. CD151与肿瘤侵袭和转移的研究进展. 医学综述 2008; 14: 1165-1168
- Cairns RA, Khokha R, Hill RP. Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis: an integrated view. *Curr Mol Med* 2003; 3: 659-671 [PMID: 14601640 DOI: 10.2174/1566524033479447]
- Eble JA, Haier J. Integrins in cancer treatment. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 89-105 [PMID: 16529540 DOI: 10.2174/156800906776056518]
- 赵婕, 顾红燕, 郭青龙. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与恶性肿瘤侵袭转移关系的研究进展. 药学服务与研究 2006; 6: 358-360
- 周业江, 时德, 吴斌. 整合蛋白 $\alpha 5\beta 1$ 的表达与胃癌生物学行为及微血管密度的关系. 中国普外基础与临床杂志 2003; 10: 256-259
- 姜维华, 朱辛明, 杨志平, 朱晴, 马春园, 黄宇鹏, 林明轩. 乙酰肝素酶在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系. 中国老年学杂志 2011; 31: 3262-3263
- 金洁琼, 台秀丽, 相世霞. 整合素 $\beta 1$ 在恶性肿瘤组织中的研究进展. 中国医疗前沿 2011; 6: 27-28
- Berman AE, Kozlova NI, Morozevich GE. Integrins: structure and signaling. *Biochemistry (Mosc)* 2003; 68: 1284-1299 [PMID: 14756624]
- Ahmed N, Pansino F, Clyde R, Murthi P, Quinn MA, Rice GE, Agrez MV, Mok S, Baker MS. Overexpression of  $\alpha(v)\beta 6$  integrin in serous epithelial ovarian cancer regulates extracellular matrix degradation via the plasminogen activation cascade. *Carcinogenesis* 2002; 23: 237-244 [PMID: 11872628]
- Maubant S, Cruet-Hennequart S, Poulain L, Carreiras F, Sichel F, Luis J, Staedel C, Gauduchon P. Altered adhesion properties and  $\alpha v$  integrin expression in a cisplatin-resistant human ovarian carcinoma cell line. *Int J Cancer* 2002; 97: 186-194 [PMID: 11774263]
- 袁建达, 邵志敏, 韩企, 夏沈镇. 整合素亚型 $\alpha 5\beta 1$ 基因抑制乳腺癌增殖和转移的作用. 实用癌症杂志 1999; 14: 1-5
- Gerger A, Hofmann G, Langsenlehner U, Renner W, Weitzer W, Wehrschütz M, Wascher T, Samonigg H, Krippel P. Integrin  $\alpha 2$  and  $\beta 3$  gene polymorphisms and colorectal cancer risk. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 159-163 [PMID: 18836731 DOI: 10.1007/s00384-008-0587-9]
- Cruz-Monserrate Z, O'Connor KL. Integrin  $\alpha 6\beta 4$  promotes migration, invasion through Tiam1 upregulation, and subsequent Rac activation. *Neoplasia* 2008; 10: 408-417 [PMID: 18472958]
- 张雷, 张才全. 整合素与肿瘤. 重庆医学 2003; 32: 1261-1263
- 王肖泽, 王继见. 胃癌转移机制研究新进展. 重庆医学 2010; 39: 479-481
- Podolnikova NP, Yakubenko VP, Volkov GL, Plow EF, Ugarova TP. Identification of a novel binding site for platelet integrins  $\alpha IIb\beta 3$  (GPIIb/IIIa) and  $\alpha 5\beta 1$  in the gamma C-domain of fibrinogen. *J Biol Chem* 2003; 278: 32251-32258 [PMID: 12799374 DOI: 10.1074/jbc.M300410200]
- Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25 [PMID: 1555235 DOI: 10.1016/0092-8674(92)90115-S]
- Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science* 1999; 285: 1028-1032 [PMID: 10446041 DOI: 10.1126/science.285.5430.1028]
- Su JM, Wang LY, Liang YL, Zha XL. Role of cell adhesion signal molecules in hepatocellular carcinoma cell apoptosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4667-4673 [PMID: 16094707]
- Banerji A, Chakrabarti J, Mitra A, Chatterjee A. Effect of curcumin on gelatinase A (MMP-2) activity in B16F10 melanoma cells. *Cancer Lett* 2004; 211: 235-242 [PMID: 15219947 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.02.007]
- Kim S, Bell K, Mousa SA, Varner JA. Regulation of angiogenesis in vivo by ligation of integrin  $\alpha 5\beta 1$  with the central cell-binding domain of fibronectin. *Am J Pathol* 2000; 156: 1345-1362 [PMID: 10751360 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65005-5]
- Plath T, Detjen K, Welzel M, von Marschall Z, Murphy D, Schirner M, Wiedenmann B, Rosewicz S. A novel function for the tumor suppressor p16(INK4a): induction of anoikis via upregulation of the  $\alpha(5)\beta(1)$  fibronectin receptor. *J Cell Biol* 2000; 150: 1467-1478 [PMID: 10995450 DOI: 10.1083/jcb.150.6.1467]
- Zhou GF, Ye F, Cao LH, Zha XL. Over expression of integrin  $\alpha 5\beta 1$  in human hepatocellular carcinoma cell line suppresses cell proliferation in vitro and tumorigenicity in nude mice. *Mol Cell Biochem* 2000; 207: 49-55 [PMID: 10888226 DOI: 10.1023/A:1007034012642]
- 韩其政, 郭其森, 贾慧, 元梅. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 与CD44s在非小细胞肺癌中表达的意义. 现代肿瘤医学 2007; 15: 1563-1566
- 赵丽娟, 万义增, 肖马, 杨京京, 何丽馥, 李敬岩, 娄新华. 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 和E-选择素蛋白在结直肠癌中的表达及意义. 肿瘤防治研究 2011; 38: 799-802
- Prifti S, Zourab Y, Koumouridis A, Bohlmann M, Strowitzki T, Rabe T. Role of integrins in inva-



sion of endometrial cancer cell lines. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 12-20 [PMID: 11748970 DOI: 10.1006/gyno.2001.6410]

30 迟福生, 王振元, 王者生. 贲门癌组织整合素 $\alpha 5 \beta 1$ mRNA表达及其临床病理意义. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 752-754

■同行评价  
本文有一定的新颖性.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

**第一步 作者提交稿件:** 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值

邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁

## ■背景资料

对消化系黏膜下肿瘤的患者进行术前超声内镜实时弹性成像, 按照弹性成像5分法对组织弹性成像进行评分, 经手术或内镜下切除获取消化系黏膜下肿瘤病理诊断。

邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁, 荆州市中心医院消化内科 湖北省荆州市 434020

邹传鑫, 副主任医师, 主要从事消化系疾病的临床诊治工作。

作者贡献分布: 邹传鑫负责研究设计、数据采集与分析以及文章的撰写; 谢明参与研究设计与文章审阅; 戴绍军主要负责数据采集及指导; 汤绍迁提供技术与材料支持。

通讯作者: 谢明, 主任医师, 434020, 湖北省荆州市荆州区荆中路60号, 荆州市中心医院消化内科。

zhouchuanxin@medmail.com.cn

电话: 07168436341

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-23

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors

Chuan-Xin Zou, Ming Xie, Shao-Jun Dai, Shao-Qian Tang

Chuan-Xin Zou, Ming Xie, Shao-Jun Dai, Shao-Qian Tang, Department of Gastroenterology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434020, Hubei Province, China

Correspondence to: Ming Xie, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jingzhou Central Hospital, 60 Jingzhong Road, Jingzhou District, Jingzhou 434020, Hubei Province, China. zhouchuanxin@medmail.com.cn

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-23

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To summarize the real-time EUS elastographic patterns of gastrointestinal submucosal tumors (SMTs) and investigate the potential use of EUS elastography for the differentiation between benign and malignant conditions.

**METHODS:** Thirty-four patients who underwent EUS at our department for SMT between January 2009 and October 2011 were enrolled, and real-time elastography was carried out during conventional EUS examination. Elastographic images were scored 1 to 5 based on the elastographic pattern. The final diagnosis was made based on the histopathology of specimens resected by surgery or endoscopy.

**RESULTS:** The 34 lesions were finally diagnosed as leiomyoma ( $n = 6$ ), lipoma ( $n = 1$ ), liposarcoma ( $n = 1$ ), neurilemmoma ( $n = 1$ ), or

gastrointestinal stromal tumors (GISTs) ( $n = 25$ ). Among the 25 GIST cases with pathological results, 12 were low-risk GISTs, 7 were moderate-risk GISTs, and 6 were high-risk GISTs. The elastographic patterns of benign SMTs tended to be type I, II or III. All moderate-/high-risk GIST showed an elastographic pattern of type IV. There was a significant difference in elastographic pattern between benign and malignant lesions ( $P < 0.001$ ). The sensitivity, specificity and accuracy of real-time EUS elastography in the evaluation of malignant lesions were 92.86%, 95.00% and 94.12%, respectively. There was no significant difference in elastographic pattern between GISTs and leiomyoma.

**CONCLUSION:** There is an apparent difference in elastographic pattern between benign and malignant lesions of upper gastrointestinal SMTs. Real-time EUS elastography may be a promising method for the differentiation of benign and malignant lesions of upper gastrointestinal SMTs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Submucosal tumors; Endoscopic ultrasonography; Elastography; Diagnosis

Zou CX, Xie M, Dai SJ, Tang SQ. Diagnostic value of EUS elastography in detection of gastrointestinal submucosal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 484-489  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484>

## 摘要

**目的:** 初步探讨消化系黏膜下肿瘤的超声内镜实时组织弹性成像特征及其在良恶性鉴别中的价值。

**方法:** 2009-01/2011-10对34例消化系黏膜下肿瘤的患者进行超声内镜实时弹性成像, 按照弹性成像5分法对组织弹性成像进行评分, 后经手术或内镜下切除获取消化系黏膜下肿瘤病理诊断。

**结果:** 34例患者最终诊断为平滑肌瘤6例, 脂

## ■同行评议者

毛高平, 教授, 中国人民解放军空军总医院

脂肪瘤、脂肪肉瘤和神经鞘瘤各1例, 胃肠道间质瘤25例, 其中间质瘤病理低度危险性12例, 中度危险性7例, 高度危险性6例. 弹性成像模式: 良性黏膜下肿瘤的弹性模式多表现为 I、II 和 III 型; 所有的中高度危险性间质瘤表现为 IV 型; 弹性成像分级在良、恶性病变之间差异有统计学意义( $P < 0.001$ ). 诊断恶性病灶的敏感度为92.86%, 特异度为95.00%, 准确率为94.12%. 间质瘤和平滑肌瘤的弹性成像没有明显差别.

**结论:** 消化系黏膜下肿瘤良恶性组织弹性成像呈不同的图像特征, 超声内镜实时组织弹性成像有助于消化系黏膜下肿瘤良恶性病变的鉴别.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 黏膜下肿瘤; 超声内镜; 弹性成像; 诊断

邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 484-489 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/484.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.484>

## 0 引言

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)借助超声探头对消化系黏膜下肿瘤进行探查, 具有探测距离短、干扰小、组织分辨率高等优点, 已成为消化系黏膜下肿瘤的诊断和鉴别诊断的重要手段, 但EUS的B模式灰阶成像区分肿瘤良、恶性特异性差, 导致EUS的诊断价值受到限制. 超声内镜实时组织弹性成像技术(EUS real-time elastograph imaging)就是在EUS检查中对组织弹性量化和可视化的一种最近发展起来的影像技术<sup>[1]</sup>, 在明确病变性质和鉴别病变良恶性方面为EUS提供了有效补充, 表现出优越的性能. 实时组织弹性成像技术已成功应用于甲状腺、前列腺、乳腺、肝脏、胰腺等疾病的诊断<sup>[2,3]</sup>. 该技术的临床应用在国内外尚处于起步阶段, 在消化系黏膜下肿瘤诊断中的应用目前还尚少, 本研究目的旨在初步探讨消化系黏膜下肿瘤的超声内镜弹性成像特征及其在良恶性病变鉴别诊断中的应用价值.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2009-01/2011-10对34例因发现消化系黏膜下肿瘤而于我科行EUS检查的患者同时行超声内镜实时弹性成像检查. 患者男20例, 女14

例, 年龄40-89岁, 平均63.1岁; 黏膜下肿瘤直径0.8-13 cm, 平均3.6 cm; 其中食管黏膜下肿瘤5例, 胃黏膜下肿瘤23例, 十二指肠黏膜下肿瘤6例.

### 1.2 方法

**1.2.1 超声内镜弹性成像检查:** 应用日立公司具有超声实时弹性成像功能的Hitachi EUB-8500型彩色多普勒超声诊断仪及PENTAX公司EG-3630 UR环扫型电子超声内镜(最大末端直径12.1 mm, 工作长度1 250 mm; 扫描范围270度, 超声频率5-10 MHz可变)和EG-3830 UT凸面线阵型电子超声内镜(最大末端直径12.8 mm, 工作长度1 250 mm; 扫描范围120度, 超声频率5-10 MHz可变). 首先应用B模式灰阶成像进行常规探查, 了解病灶的部位、大小、形态及内部回声特征, 然后根据探查结果确定拟行超声弹性成像的目标区域, 将超声影像切换至实时弹性成像模式, 借助呼吸运动、胸、腹腔大动脉搏动及探头的压迫产生加压作用, 从而获取目标部位的弹性成像图像并记录, 以便分析.

**1.2.2 超声内镜弹性成像评价标准:** 根据组织实时弹性成像的图像颜色类型对病变的软硬度做出判断, 其中蓝色代表硬, 红色代表软, 绿色及黄色则介于两者之间. 按照弹性成像5分法<sup>[4-6]</sup>对组织弹性成像进行评价: I型表现为均质绿色, II型表现为绿、黄、红混杂, III型表现为蓝、绿、黄和红色混杂, IV型表现为以蓝色为主, 混杂其他颜色的非均质模式, V型表现为均质蓝色模式.

**统计学处理** 应用SPSS16.0软件进行统计学分析. 良、恶性病变弹性成像分级之间的比较使用秩和检验; 病变直径与病变弹性成像分级之间的比较使用 $\chi^2$ 检验. 以手术或经内镜切除获取消化系黏膜下肿瘤标本的病理学检查为金标准, 计算弹性成像诊断恶性病变的敏感度、特异度和准确率.

## 2 结果

34例患者均成功进行了超声内镜实时弹性成像检查并获得了满意的弹性成像图像, 无操作相关并发症发生. 经手术或内镜切除获取消化系黏膜下肿瘤标本的病理学检查证实为胃肠道间质瘤25例, 平滑肌瘤6例, 脂肪瘤、脂肪肉瘤和神经鞘瘤各1例, 4种组织的超声内镜、病理及免疫组织图像分别见图1-4; 其中间质瘤低度危险性12例, 中度危险性7例, 高度危险性6例(表1).

参照国内外相关文献报道<sup>[7,8]</sup>, 将病理提示

### ■ 相关报道

超声内镜实时组织弹性成像是近年来开始发展的一种技术, 可通过超声内镜检查反映组织的弹性情况. 有些疾病可导致组织硬度改变, 根据其弹性差异, EUS弹性成像可应用于良恶性淋巴结、胰腺或肝脏局灶病变的鉴别, 且对于胃肠道及周围实体性肿瘤的发现与鉴别亦有帮助.



## ■ 创新盘点

超声内镜及实时组织弹性成像能有效诊断上消化道黏膜下肿瘤,并能够有效评估其良恶性。

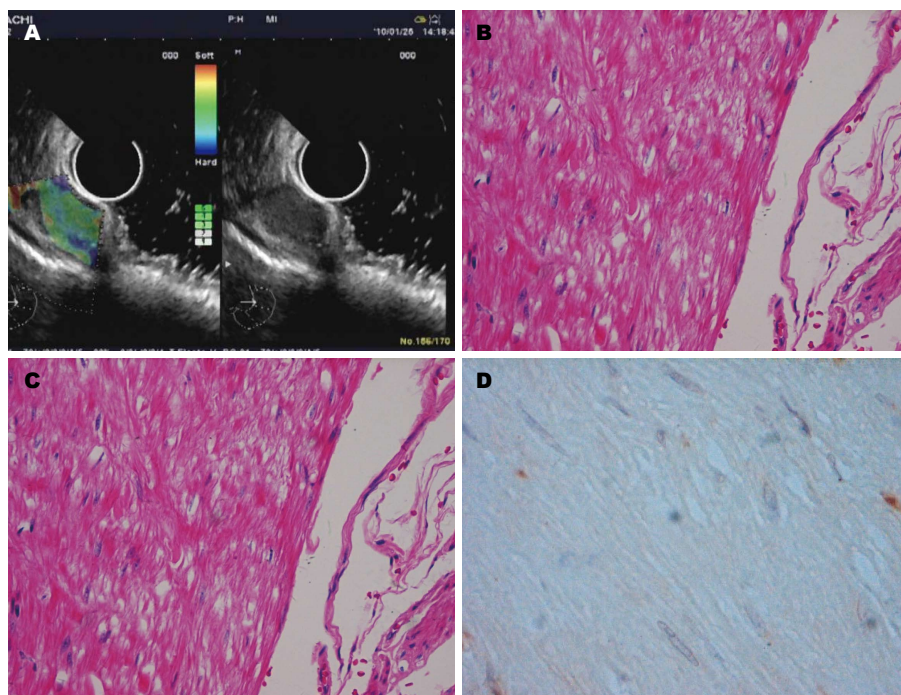


图 1 平滑肌瘤。

A: 弹性成像显示均匀绿色, 弹性评价为 I 型; B: 平滑肌肿瘤细胞 (H&E × 200); C: 肿瘤细胞 Calponin (+) (EnVision 法 × 200); D: 肿瘤细胞 CD117 (-) (EnVision 法 × 200)。

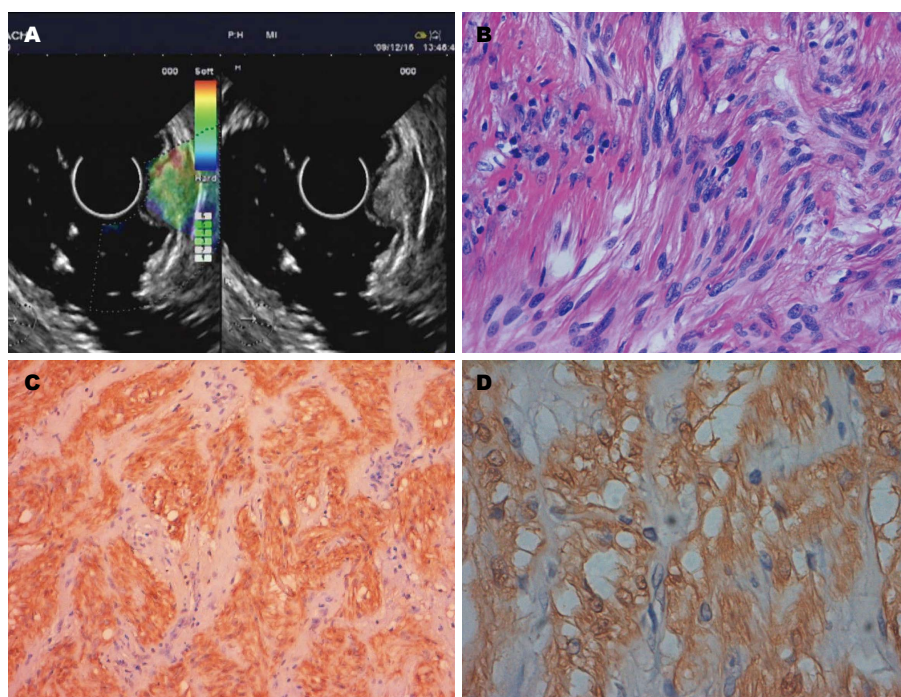


图 2 神经鞘瘤。

A: 弹性成像显示绿红黄相混合, 弹性评价为 II 型; B: 神经鞘瘤细胞 (H&E × 200); C: 肿瘤细胞 S-100 (+) (EnVision 法 × 200); D: 肿瘤细胞 S-100 (++) (EnVision 法 × 200)。

为低度危险性的胃肠道间质瘤按良性病变归类; 而将病理提示为中、高度危险性的胃肠道间质瘤归类为恶性病变。故我们在分组时, 将平滑肌瘤、脂肪瘤、神经鞘瘤和低度危险性胃肠道间质瘤归为良性, 脂肪肉瘤和中、高度危险性胃肠道间质瘤归为恶性病变。以此标准, 消化系黏膜下肿瘤病理和弹性模式的对应关系如下: 良性黏膜下肿瘤的弹性模式多表现为 I、II 和 III 型; 所有的中、高度危险性间质瘤表现为 IV 型 (表 1)。弹性成像分级在良、恶性

病变之间差异有统计学意义 (平均秩次分别为 11.02、26.75,  $P < 0.001$ )。14 个恶性病变中, 13 个表现为 IV 型, 诊断为恶性, 另有 1 个误诊为良性; 20 个良性病变中, 有 1 个表现为 IV 型, 误诊为恶性, 19 个诊断为良性, 诊断恶性病灶的敏感度为 92.86% (13/14), 特异度为 95.00% (19/20), 准确率为 94.12% (32/34)。直径  $< 2$  cm 的病变主要表现为 I 和 II 型; 直径  $> 2$  cm 的病变多表现为 III 和 IV 型 (表 2)。弹性成像分级与病变直径之间线性回归分析有统计学意义 ( $\chi^2 = 13.24$ ,  $P < 0.01$ ), 二者之



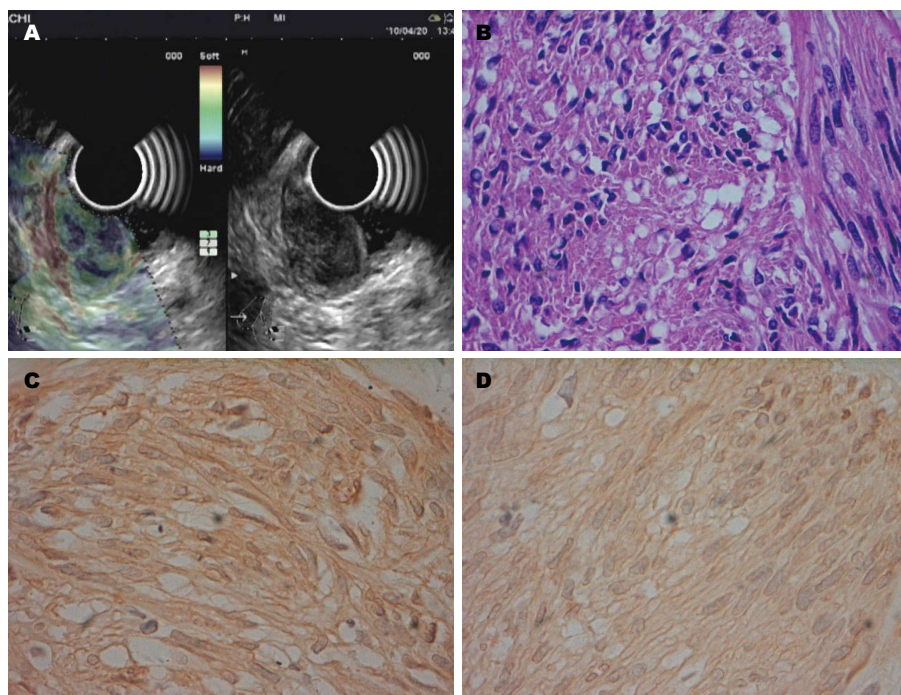


图 3 低度危险性间质瘤. A: 弹性成像显示蓝色与其他颜色混杂, 弹性评价为Ⅲ型; B: 间质瘤(低度危险性)细胞(HE × 400); C: 肿瘤细胞Dog-1(++)(EnVision法 × 200); D: 肿瘤细胞CD117(++)(EnVision法 × 200).

**■应用要点**  
首先应用B模式灰阶成像进行常规探查, 了解病灶的部位、大小、形态及内部回声特征, 然后根据探查结果确定拟行超声弹性成像的目标区域。将超声影像切换至实时弹性成像模式, 借助呼吸运动、胸、腹腔大动脉搏动及探头的压迫产生加压作用, 从而获取目标部位的弹性成像图像并记录。

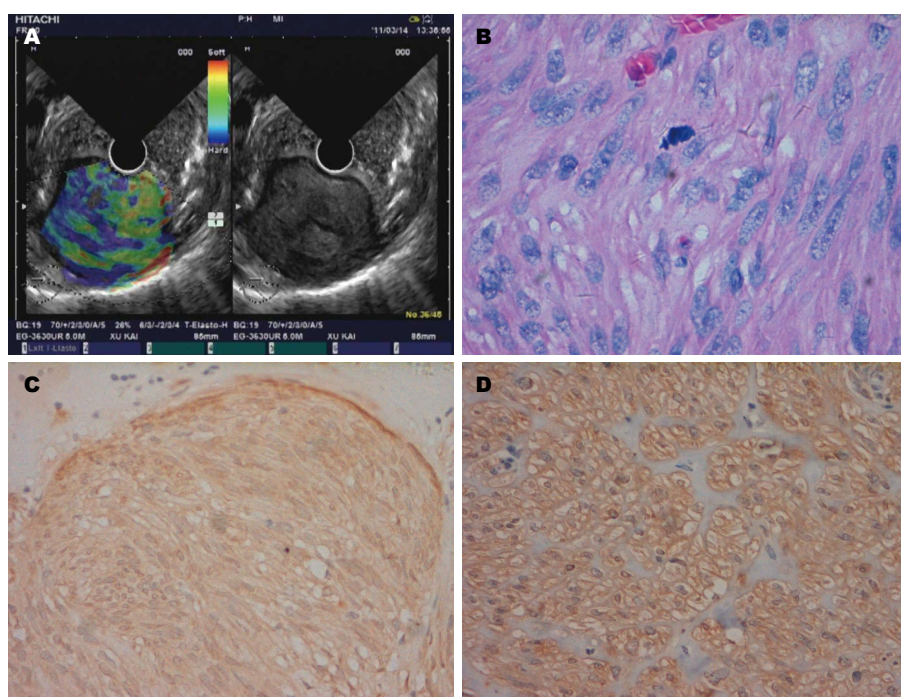


图 4 高度危险性间质瘤. A: 弹性成像显示蓝色与其他颜色相混杂, 以蓝色为主, 弹性评价Ⅳ型; B: 间质瘤(高度危险性)细胞(HE × 400); C: 肿瘤细胞CD117(++)(EnVision法 × 200); D: 肿瘤细胞DOG-1(++)(EnVision法 × 200).

间存在线性相关关系。低度危险性间质瘤和平滑肌瘤的弹性成像没有明显差别。

### 3 讨论

消化系黏膜下肿瘤临床鉴别诊断仍比较困难, 无论其良恶性, 在内镜下表现都很相似, 多为表面光滑的隆起性病变, 普通胃镜的活检往往取材过小、过浅, 不足以确定诊断。而挖掘式取材和圈套活检很不安全, 易出现出血和穿孔等并发症。EUS对诊断胃肠道黏膜下肿瘤和腔外肿瘤

是一种敏感的方法, EUS诊断黏膜下肿瘤的敏感性和准确性分别为95%和87%<sup>[9]</sup>, 然而仅从病变大小、形态、回声强度等方面区分肿瘤良、恶性, EUS检查结果却不能令人满意, 因而近年来开展EUS引导下细针穿刺(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA)进行必要的细胞病理学诊断<sup>[10-14]</sup>。EUS-FNA诊断的总体准确率各文献报道为17%-94%<sup>[13]</sup>, 但EUS-FNA技术为有创性检查, 具有操作难度大、有一定的并发症发生率等缺点, 并且需要在操作

### ■名词解释

**超声内镜弹性成像**: 对生物组织加压使其变形, 由于组织的弹性及软硬度存在差异, 在相同压力作用下, 质地柔软、弹性大的组织加压后变形度大, 质地硬、弹性小的组织行变小, 这种因加压变形所产生的组织位移度差异经量化分析后转化为不同的彩色图像, 弹性大的组织显示为红色, 弹性小的组织显示为蓝色, 弹性系数中等的组织显示为黄色、绿色, 从红色至蓝色的渐变代表组织质地从软到硬。

表 1 上消化道黏膜下肿瘤病理结果与弹性成像比较 (n)

病理结果	弹性成像评价			
	I	II	III	IV
脂肪瘤	1			
神经鞘瘤		1		
平滑肌瘤	4	1	1	
间质瘤(低危)	3	3	5	1
间质瘤(中危)				7
间质瘤(高危)				6
脂肪肉瘤			1	

表 2 上消化道黏膜下肿瘤病灶按直径分组后弹性成像评价 (n)

GIST直径 (cm)	n	弹性成像评价			
		I	II	III	IV
1-2	7	3	2		2
2-3	6			2	4
3-4	5		1	2	2
>4	7			1	6
合计	25	3	3	5	14

过程中有细胞病理学医师在场进行细胞快速固定、染色及病理学诊断, 以指导穿刺的次數及判定穿刺的效果。分化好的肿瘤如消化道间质瘤和淋巴瘤有时单靠细胞学检查亦很难做出正确判断<sup>[14]</sup>, 加之对于体积较小和位置不便于穿刺的肿瘤, 均使EUS-FNA诊断的可行性受到一定限制。故近年来临床上出现了包括造影增强超声内镜及超声内镜弹性成像技术等一系列的新技术, 以提高超声内镜影像学诊断的准确性<sup>[4-6,15]</sup>。

弹性成像技术是对组织物理特性进行描述, 对常规超声图像的信息补充<sup>[16]</sup>。实时弹性成像是组织受到外来振动时进行的运动检测, 这种技术的应用进一步提高超声内镜在临床上的应用价值, 其借助呼吸运动、动脉搏动及适当移动超声探头使探头对目标部位形成压迫, 对采集图像内感兴趣区域进行多种声学参数的测定, 得到组织内部位移, 推算出其应变分布及弹性系数分布成像, 并以相应的颜色显示, 使组织弹性系数(软硬度)得以量化和可视化, 在明确病变性质和鉴别病变良恶性方面提供了有效补充, 有良好的应用前景。肿瘤组织、炎症组织及正常组织因含脂肪和/或胶原的不同而表现出不同的弹性系数及顺应性, 恶性肿瘤更加僵硬而顺应性差, 故超声弹性成像可通过判断不同

病变的组织软硬程度以明确病变的特性和鉴别良恶性<sup>[17]</sup>。目前, 该技术国内外已在临床逐步展开, 国外Hirooka等<sup>[18]</sup>报道了超声内镜弹性成像在胆道及胰腺肿瘤诊断中的应用, 阐述了病变的弹性改变与其病理良恶性相关联。Giovannini等<sup>[4]</sup>报道超声内镜弹性成像在胰腺肿块良恶性鉴别诊断中的敏感度和特异度分别为92.3%和80.0%, 对转移性淋巴结的灵敏度和特异度分别达91.8%和82.5%。

我们对34例消化系黏膜下肿瘤的超声内镜弹性成像进行了初步探讨, 良性黏膜下肿瘤的弹性模式多表现为I、II和III型; 多呈现均一绿色或以绿色为主的影像特征, 提示其组织具有良好的、均匀一致的柔韧性及弹性。中高度危险性间质瘤表现为IV型, 以蓝色为主, 混杂其他颜色的非均质影像, 显示其组织僵硬, 弹性及顺应性均差, 而当其组织内存在局部的出血、坏死或液化时组织质地较软, 故影像呈现蓝色与其他颜色相混杂的特征。上述结果显示良性和恶性黏膜下肿瘤的超声内镜弹性成像呈现出明显不同的影像特征及弹性评价。上消化道黏膜下肿瘤弹性成像很少表现为胰腺肿瘤中出现的均质蓝色V型模式, 这可能与较大病变内部中心发生出血、坏死、囊性变等继发性改变有关。我们的研究显示直径<2 cm的病变主要表现为I和II型; 直径>2 cm的病变多表现为III和IV型, 弹性成像分级与病变直径之间有线形相关关系。国外文献<sup>[19,20]</sup>报道黏膜下肿瘤大小是判断良恶性的重要指标之一, 直径较大的肿瘤, 表现为形状不规则, 边界不清晰, 回声不均匀, 内部可见肿瘤坏死的无回声区域, 多提示肿瘤的恶性倾向。我们的研究显示低度危险性间质瘤和平滑肌瘤的弹性成像没有明显差别。Gheorghe等<sup>[21]</sup>报道弹性成像有助于黏膜下肿瘤的良恶性鉴别, 但无法明确鉴别平滑肌瘤和间质瘤。

总之, 我们的研究初步显示了良恶性黏膜下肿瘤弹性成像差异明显, 超声内镜及实时组织弹性成像能有效诊断上消化道黏膜下肿瘤, 并能够有效评估其良恶性。鉴于其对黏膜下肿瘤良恶性鉴别的准确度和特异度, 超声内镜及实时组织弹性成像应该常规用于黏膜下肿瘤的术前评估<sup>[21]</sup>。但是, 超声内镜弹性成像仍是一种影像学手段, 并不能够完全替代细胞病理学检查, 然而在患者不愿或不能行EUS-FNA时, 该技术将为疾病的鉴别诊断提供更进一步的影像学依据。该法简单, 并可追踪复查, 在患者可耐受的



情况下对人体基本无创, 对消化系黏膜下肿瘤的诊断及治疗具有重要价值。

#### 4 参考文献

- 1 Frey H. [Realtime elastography. A new ultrasound procedure for the reconstruction of tissue elasticity]. *Radiologe* 2003; 43: 850-855 [PMID: 14605701 DOI: 10.1007/s00117-003-0943-2]
- 2 Gietka-Czernel M, Kochman M, Bujalska K, Stachlewska-Nasfeter E, Zgliczyński W. Real-time ultrasound elastography - a new tool for diagnosing thyroid nodules. *Endokrynol Pol* 2010; 61: 652-657 [PMID: 21104638]
- 3 Dudea SM, Giurgiu CR, Dumitriu D, Chiorean A, Ciurea A, Botar-Jid C, Coman I. Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. *Med Ultrason* 2011; 13: 45-53 [PMID: 21390343]
- 4 Giovannini M, Thomas B, Erwan B, Christian P, Fabrice C, Benjamin E, Geneviève M, Paolo A, Pierre D, Robert Y, Walter S, Hanz S, Carl S, Christoph D, Pierre E, Jean-Luc VL, Jacques D, Peter V, Andrian S. Endoscopic ultrasound elastography for evaluation of lymph nodes and pancreatic masses: a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1587-1593 [PMID: 19340900 DOI: 10.3748/wjg.15.1587]
- 5 孙思予, 刘香, 葛楠, 王晟, 刘金刚. 内镜超声弹性成像对消化道肿瘤淋巴结转移的诊断价值初探. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 131-133
- 6 Giovannini M, Hookey LC, Bories E, Pesenti C, Monges G, Delpero JR. Endoscopic ultrasound elastography: the first step towards virtual biopsy? Preliminary results in 49 patients. *Endoscopy* 2006; 38: 344-348 [PMID: 16680632 DOI: 10.1007/s00535-004-1383-0]
- 7 Okubo K, Yamao K, Nakamura T, Tajika M, Sawaki A, Hara K, Kawai H, Yamamura Y, Mochizuki Y, Koshikawa T, Inada K. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *J Gastroenterol* 2004; 39: 747-753 [PMID: 15338368 DOI: 10.1055/s-2006-925158]
- 8 Sakamoto H, Kitano M, Matsui S, Kamata K, Komaki T, Imai H, Dote K, Kudo M. Estimation of malignant potential of GI stromal tumors by contrast-enhanced harmonic EUS (with videos). *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 227-237 [PMID: 21295636 DOI: 10.1016/j.gie.2010.10.011]
- 9 Brand B, Oesterhelweg L, Binmoeller KF, Sriram PV, Bohnacker S, Seewald S, De Weerth A, Soehendra N. Impact of endoscopic ultrasound for evaluation of submucosal lesions in gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 290-297 [PMID: 12038814 DOI: 10.1016/S1590-8658(02)80150-5]
- 10 Papanikolaou IS, Triantafyllou K, Kourikou A, Rösch T. Endoscopic ultrasonography for gastric submucosal lesions. *World J Gastrointest Endosc* 2011; 3: 86-94 [PMID: 21772939 DOI: 10.4253/wjge.v3.i5.86]
- 11 Chatzipantelis P, Salla C, Karoumpalis I, Apessou D, Sakellariou S, Doumani I, Papalioti E, Konstantinou P. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors of the stomach. A study of 17 cases. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 15-20 [PMID: 18392238]
- 12 Varas MJ, Miquel JM, Abad R, Espinós JC, Cañas MA, Fabra R, Bargalló D. [Interventionist endoscopic ultrasonography. A retrospective analysis of 60 procedures]. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 138-144 [PMID: 17516826 DOI: 10.4321/S1130-01082007000300004]
- 13 Dumonceau JM, Polkowski M, Larghi A, Vilmann P, Giovannini M, Frossard JL, Heresbach D, Pujol B, Fernández-Esparrach G, Vazquez-Sequeiros E, Ginès A. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. *Endoscopy* 2011; 43: 897-912 [PMID: 21842456 DOI: 10.1055/s-0030-1256754]
- 14 Pungpapong S, Wallace MB. EUS-guided Trucut needle biopsy: is more tissue really better? *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 602-604 [PMID: 16185977 DOI: 10.1016/j.gie.2005.07.004]
- 15 诸琦, 熊慧芳, 徐凯, 贺益萍, 陈希, 谭继宏, 夏璐. 造影增强超声内镜检查对胰腺占位病变的鉴别诊断初步探讨. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 126-130
- 16 Konofagou EE. Quo vadis elasticity imaging? *Ultrasonics* 2004; 42: 331-336 [PMID: 15047307 DOI: 10.1016/j.ultras.2003.11.010]
- 17 徐凯, 任大宾, 孙晓敏, 王静, 徐萍. 正常胰腺及胰腺占位病变超声内镜弹性成像特点初步研究. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 461-464
- 18 Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Ohno E, Ishikawa T, Itoh Y, Nakamura Y, Hiramatsu T, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Ishigami M, Katano Y, Goto H. Clinical oncology for pancreatic and biliary cancers: Advances and current limitations. *World J Clin Oncol* 2011; 2: 217-224 [PMID: 21611098]
- 19 Belloni M, De Fiori E, Mazzarol G, Curti A, Crosta C. Endoscopic ultrasound and Computed Tomography in gastric stromal tumours. *Radiol Med* 2002; 103: 65-73 [PMID: 11859302]
- 20 Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut* 2000; 46: 88-92 [PMID: 10601061 DOI: 10.1136/gut.46.1.88]
- 21 Gheorghe L, Gheorghe C, Cotruta B, Carabela A. CT aspects of gastrointestinal stromal tumors: adding EUS and EUS elastography to the diagnostic tools. *J Gastrointest Liver Dis* 2007; 16: 346-347 [PMID: 17925934]

#### ■同行评价

本文研究消化系黏膜下肿瘤的弹性成像特征与病变良恶性及病变直径之间的关系, 具有一定的临床意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展

王琳, 李苏宜

## ■背景资料

肿瘤干细胞在肿瘤细胞中所占比例很小, 但与肿瘤转移、复发、耐药等密切相关, 其在肿瘤发生发展中的作用不可小视, 针对该细胞群体的研究至关重要。肿瘤干细胞标志物在分离肿瘤干细胞起着重要作用, 其研究有助于认识和理解肿瘤发生发展的机制, 指导肿瘤的临床治疗。

王琳, 李苏宜, 东南大学附属中大医院肿瘤科 江苏省南京市 210009

南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK11060

作者贡献分布: 本文综述由王琳完成; 李苏宜负责审校。

通讯作者: 李苏宜, 教授, 主任医师, 210009, 江苏省南京市, 东南大学附属中大医院肿瘤科, lisuyi@cscs.org.cn

收稿日期: 2012-12-14 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Progress in research of markers for cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma

Lin Wang, Su-Yi Li

Lin Wang, Su-Yi Li, Department of Oncology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Development Fund of Nanjing City, No. YKK11060

Correspondence to: Su-Yi Li, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. lisuyi@cscs.org.cn

Received: 2012-12-14 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is one of the most common malignant tumors in China, with high morbidity or mortality. In recent years, there has been a growing amount of evidence supporting the existence of a rare proportion of tumor cells termed cancer stem cells (CSCs) in diverse solid malignancies including ESCC. CSCs are closely related to the poor biological behaviors and drug resistance of ESCC. Markers for CSCs play an important role in the separation of CSCs, and the research on CSC markers can help clarify the mechanisms behind tumor development and guide tumor treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Cancer stem cells; Biomarkers

Wang L, Li SY. Progress in research of markers for cancer stem cells in esophageal squamous cell carcinoma. Shijie

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(6): 490-497 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.490>

## 摘要

食管鳞癌是我国最常见一种恶性肿瘤, 其发病率和死亡率一直处于恶性肿瘤的前列。近年来, 愈来愈多证据支持在包括ESCC恶性实体瘤中肿瘤干细胞的存在, 并与其不良生物学行为及药物耐受密切相关。肿瘤干细胞标志物在分离肿瘤干细胞起着重要作用, 其研究有助于认识和理解肿瘤发生发展的机制, 指导肿瘤的临床治疗。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管鳞癌; 肿瘤干细胞; 标志物

王琳, 李苏宜. 食管鳞癌干细胞相关标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 490-497 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.490>

## 0 引言

我国食管癌以食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)为主, 2003-2007年间发病率居恶性肿瘤第6位, 死亡率是第4位<sup>[1,2]</sup>, 复发和转移、肿瘤耐药是治疗失败及死亡主要原因。愈来愈多研究提示ESCC存在肿瘤干细胞, 并与其不良生物学行为及药物耐受密切相关<sup>[3-5]</sup>。

## 1 肿瘤干细胞

恶性肿瘤组织中存在数量极少的具干细胞特征细胞群(不足5%细胞具干细胞特性), 即肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs), 其具有很强的自我更新、无限增殖能力和肿瘤各组分多向分化潜能, 同时能促进肿瘤形成、发展、转移和复发, 且与肿瘤耐药性密切相关。白血病<sup>[6]</sup>、乳腺癌<sup>[7]</sup>、脑肿瘤<sup>[8]</sup>、恶性黑色素瘤<sup>[9]</sup>等均已发现CSCs, 或源于组织正常干细胞发生不断累积的致癌性突变<sup>[10]</sup>, 或源于分化细胞有关基因发生

## ■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

突变, 致其重新获得干细胞特征<sup>[11]</sup>. CSCs标志物是分离鉴定CSCs的特异性标志物, 有助于肿瘤诊断、预后判断、靶点筛选和治疗. 多种实体瘤中存在CSCs生物标志, 如乳腺癌的CD24/CD44、脑胶质瘤的CD133等<sup>[12,13]</sup>. 而ESCC的CSCs生物标志物信息少, 尚未发现肿瘤干细胞特异性细胞表面标志.

## 2 肿瘤干细胞标志物

**2.1 p75NTR** p75NTR是一种低亲和性神经营养素受体(low-affinity p75 neurotrophin receptor, p75NTR), 蛋白分子量约75 kDa, 属I型跨膜肿瘤坏死因子超家族成员, 与NGF、BDNF、NT-3和NT-4等低亲和性结合, 在高亲和力受体Trk存在下被活化, 提高对神经营养因子反应性<sup>[14]</sup>. 正常食管上皮p75NTR阳性细胞具增殖、自我更新及多向分化能力, 经鉴定为食管上皮干细胞<sup>[15]</sup>. 由于肿瘤干细胞与组织干细胞可能具有相同或相似标志, 推测, 食管肿瘤干细胞与食管上皮干细胞二者可能有相似表面标志p75NTR. Okumura等<sup>[16]</sup>免疫组织化学法检测p75NTR阳性人ESCC细胞分布, 证实高、中等分化人ESCC组织p75NTR阳性细胞主要分布在肿瘤侵袭性边缘1-2层, 低分化ESCC组织则呈不规则弥散状分布. Huang等<sup>[17]</sup>采用FACS法, 研究多种ESCC细胞株p75NTR阳性细胞存在比例, 结果为1.6%-3.7%. Sun等<sup>[18]</sup>应用磁珠分选法(magnetic activated cell sorting, MACS)分选出p75NTR阳性细胞, 发现人ESCC中p75NTR阳性细胞具有自我更新、分化、增殖能力, 并具有较强的致瘤能力, p75NTR阳性细胞具有CSCs的特性. 叶仕新等<sup>[19]</sup>发现p75NTR阳性ESCC细胞较阴性细胞具有更强的侵袭性、耐化疗药物能力和致瘤能力, 即具有CSCs特性; p75NTR阳性ESCC细胞中可能富集ESCC的CSCs干细胞.

Huang等<sup>[17]</sup>发现单个p75NTR阳性细胞可在无血清培养基中悬浮生长并形成干细胞球, 可连续传代30代以上, 其增殖子代细胞既有p75NTR阳性细胞又有p75NTR阴性细胞; 而p75NTR阴性细胞只能贴壁生长, 其增殖子代细胞全部为p75NTR阴性细胞, 说明p75NTR阳性细胞具有自我更新、多向增殖分化的能力. 同时p75NTR阳性细胞较p75NTR阴性细胞表现出明显的耐药性; Sun等<sup>[18]</sup>从原代培养的ESCC细胞中分选出p75NTR阳性细胞, 将其移植入免疫缺陷小鼠背部皮下, 发现最低500个即可成瘤,

其肿瘤形成能力大约是p75NTR阴性细胞50倍, 即p75NTR阳性细胞较p75NTR阴性细胞具更强成瘤能力.

由于部分ESCC细胞株中p75NTR阳性细胞高达30.1%, 远高于CSCs正常比例, 推测并非每个p75NTR阳性细胞都是CSCs<sup>[17]</sup>, 而且p75NTR阴性细胞也有一定成瘤能力, Sun等<sup>[18]</sup>就发现p75NTR阴性细胞在软琼脂中也能形成少部分克隆. 部分研究结果未证实p75NTR表达水平与食管癌分级、淋巴结转移等存在联系. 因此, p75NTR并非人食管肿瘤干细胞唯一标志, p75NTR作为ESCC干细胞特异性标志还有待深入研究.

**2.2 Podoplanin** 分子质量为 $38 \times 10^3$ 的podoplanin是I型跨膜糖蛋白<sup>[20]</sup>, 主要表达于淋巴管内皮细胞表面, 血管内皮细胞不表达, 是淋巴管内皮细胞特异性标志物, 其过度表达能提高细胞黏附、迁移功能. 最近发现podoplanin还表达于多种恶性肿瘤细胞表面, 98%鳞状细胞癌如肺癌、喉癌、宫颈癌、皮肤癌及食管癌, 和中枢神经系统肿瘤及生殖细胞肿瘤中均有表达<sup>[21]</sup>, 一般表达在肿瘤边缘单细胞层上. Tong等<sup>[22]</sup>发现正常食管上皮组织基底层极低量表达podoplanin, 认为这小部分细胞可能是正常干细胞或者肿瘤起始细胞; 而ESCC术后组织podoplanin表达阳性率80%(45/56), 高表达率37.5%(21/56). 而Rahadiani等<sup>[23]</sup>则认为正常食管黏膜上皮不表达podoplanin, 食管上皮内瘤样病变组织podoplanin则为阳性, 且只表达在癌巢外缘. 并发现ESCC组织podoplanin高表达率31.1%(11/61). 袁世发等<sup>[24]</sup>发现ESCC组织内淋巴管和肿瘤细胞都有podoplanin表达, 主要位于细胞膜. 表达呈两种模式: 弥散型, 表现为肿瘤组织弥漫性表达; 集中型, 表达于肿瘤增殖区外周.

Rahadiani等<sup>[23]</sup>研究发现培养的食管鳞癌podoplanin阳性细胞传代可产生podoplanin阳性细胞和podoplanin阴性细胞, 而podoplanin阴性细胞传代却只能产生极少量细胞. 为了评估podoplanin在肿瘤发生中的作用, 他们采用基因敲除技术阻断podoplanin在podoplanin阳性的ESCC细胞株KYSE-70和TnT中的表达, ESCC细胞出现化疗药物耐受性下降、侵袭性明显降低及成瘤能力显著低下等变化, 但细胞增殖能力并没有受到影响. 而通过对podoplanin阴性的ESCC细胞株TE-1基因转染过表达podoplanin, 则细胞出现耐药性、侵袭性及成瘤能力显著提

## ■ 研发前沿

白血病、乳腺癌、脑肿瘤、恶性黑色素瘤等均已发现CSCs. CSCs标志物是分离鉴定CSCs的特异性标志物, 有助于肿瘤诊断、预后判断、靶点筛选和治疗. 多种实体瘤中存在CSCs生物标志, 如乳腺癌的CD24/CD44、脑胶质瘤的CD133等.



## ■相关报道

2003年Okumura等研究报道了食管正常干细胞与食管鳞癌干细胞的共同标志物p75NTR; Rahadiani等研究发现podoplanin很有可能是食管鳞癌的另一肿瘤干细胞标志物; Loebinger等发现ABC转运体的添加可使鳞状细胞癌产生耐药。

高等变化。Atsumi等<sup>[25]</sup>利用皮肤SCC细胞系A431得出相似结论,同时他们发现podoplanin(+)的A431细胞与正常鳞状上皮干细胞有共同的音猬因子(sonic hedgehog, SHH)和CD44表达。

为明确podoplanin与ESCC淋巴结转移、肿瘤细胞及患者预后间关系, Rahadiani等<sup>[23]</sup>发现podoplanin的表达与T分期( $P = 0.0018$ )、疾病阶段( $P = 0.0073$ )、淋巴管浸润( $P = 0.0078$ )、血管浸润( $P = 0.0169$ )、肿瘤复发( $P = 0.0102$ )有关,低表达podoplanin与高表达者相比拥有更好的总生存期(overall survival, OS)( $P = 0.0164$ )和无病生存期(disease-free survival, DFS)( $P = 0.0161$ )。Tong等<sup>[22]</sup>对56名术前未经过任何化疗或者放疗的患者进行一项回顾性研究发现podoplanin的表达与淋巴结转移(45% vs 19%,  $P = 0.013$ )、病理分期(60% vs 25%,  $P = 0.025$ )、患者的无病生存时间显著相关,高表达患者的5年无病生存率(5%)显著低于中度及低表达(27%, 54%)患者( $P < 0.001$ )。Chao等<sup>[26]</sup>对113例患者研究发现,高表达podoplanin的患者与低表达podoplanin的患者相比DSS(5年DSS 40% vs 10%,  $P < 0.001$ )和DFS较短。

podoplanin表达可作为患者的淋巴结转移、预后的预测因子,可能是ESCC肿瘤干细胞标志物之一,可与其他标志物联合运用来分离食管鳞癌肿瘤干细胞。同时podoplanin可作为一个新治疗靶标,用于预防食管鳞癌的侵袭转移及其他恶性生物学行为。

**2.3 ABCG2 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)结合转运蛋白G超家族成员2(ATP-Binding cassette transporter 2, ABCG2)属ABC转运蛋白家族成员之一,定位于细胞膜。在正常组织中分布广泛,主要分布于具有分泌和排泄功能的组织如小肠、结肠上皮等。目前研究表明,ABC转运体仅表达在干细胞上,并对于细胞的分化起调节作用,是干细胞标志之一,在对CSC的研究中也发现类似特性<sup>[27]</sup>。根据肿瘤干细胞来源正常干细胞的理论推测,ABCG2可能也是食管鳞癌肿瘤干细胞的标志物。**

正常食管上皮ABCG2表达率约33%-50%<sup>[28,29]</sup>,而ESCC组织ABCG2表达率在各个研究中表达不一,约15.50%-80.26%<sup>[28-31]</sup>,且在ESCC组织中ABCG2阳性细胞的比例是不同的(0-100%)。ABCG2主要位于正常食管上皮组织棘细胞层,为连续性,胞膜着色为主;在癌组织中,ABCG2多为集团状分布,主要定位于癌细胞增殖活跃

区域,癌组织血管内皮见ABCG2表达<sup>[29]</sup>。多形性胶质细胞瘤ABCG2阳性癌细胞较ABCG2阴性癌细胞增殖速度和侵袭能力均明显上调<sup>[32]</sup>。

ABCG2参与肿瘤多药耐药,主要通过主动转运功能将化疗药泵出胞外,推测ABCG2是CSCs耐药相关标志物。侧群细胞是从不同肿瘤和肿瘤细胞株中选取出来具较高克隆形成能力和在免疫缺陷小鼠高致瘤性,是确定及识别CSCs常见方法。鳞状上皮癌细胞(squamous cell carcinomas, SCCs)中存在类干细胞侧群细胞(stem cell-like side population, SP)具有排除Hoechst 33342能力,纯化后SCC-SP体外培养具无限增殖能力和动物体内强致瘤性,添加ABC转运体抑制剂时,SCC-SP对化疗药物表现出敏感性<sup>[33]</sup>。Huang等<sup>[5]</sup>在食管鳞癌细胞系EC9706和EC109中筛选出的SP细胞中发现,ABCG2在SP细胞中表达,但不在非SP细胞中表达。

ESCC组织ABCG2表达高低与患者中位生存期有关,阴性患者比阳性患者中位生存期多得多(49.3 m vs 21.8 m),复发率则较低表达ABCG2者要高<sup>[34]</sup>。此外,ABCG2表达还可能与淋巴结转移有关<sup>[33]</sup>,与肿瘤分化程度、浸润深度关系不确切<sup>[28,29,34]</sup>。

综上所述,ABCG2与ESCC不良预后及化疗耐药的不良生物学效应相关联,同时ABCG2在ESCC中类肿瘤干细胞(SP细胞)的表达提示其可能是肿瘤干细胞的一种标志物,但ABCG2在肿瘤组织表达量变化之大提示我们需要进一步的研究来探明其和食管鳞癌肿瘤干细胞的关系。

**2.4 ALDH1 乙醛脱氢酶1(aldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)是乙醛脱氢酶家族成员之一,将醛类氧化为乙酸,将视黄醇氧化为视黄酸。人类ALDH1基因表达存在于细胞质中,其基因克隆和定位在9q21染色体,相对分子质量为54.86 kDa。ALDH1在干细胞中表达增高,在维持干细胞特性和干细胞分化中起重要作用,保护干细胞免受外源性或内源性药物或毒物伤害。**

ALDH1阳性肿瘤的化疗耐药性可能与ALDH1解毒作用相关,ALDH1能氧化烷化剂环磷酰胺(CTX)的中间代谢产物醛磷酰胺,形成无毒的羧基磷酰胺,而发挥对CTX解毒作用,致肿瘤对CTX耐药<sup>[35]</sup>。报道显示乳腺癌<sup>[36]</sup>、结肠癌及头颈部鳞癌<sup>[37]</sup>ALDH1阳性细胞具肿瘤干细胞特性。国内有实验室采用梯度增加剂量照射法建立了具有干细胞特性食管癌细胞株KYSE150R,并采用基因芯片技术检测到KYSE-

150R细胞中ALDH1各亚型均表达上调,其中以ALDH1A3的升高最显著<sup>[38]</sup>. Wang等<sup>[39]</sup>第1次报道食管鳞癌ALDH1表达情况, 79例ESCC中的12例(15.2%)ALDH1阳性, 与淋巴结转移和预后关系: 相比于ALDH1阴性者, ALDH1者病理分化差( $P = 0.003$ ), 淋巴结转移率高( $P = 0.011$ ), 5年总生存率差(8.3% vs 52.2%,  $P = 0.025$ ). Minato等<sup>[40]</sup>回顾分析152例ESCC患者, 56例直接接受手术, 40例接受新辅助化疗后手术, 56例患者接受化疗. 结果发现, ALDH1阳性是直接手术(RFS,  $P = 0.031$ ; CSS,  $P = 0.044$ )和新辅助化疗(RFS,  $P = 0.026$ ; CSS,  $P = 0.010$ )者不良预后预测因子, 但不能预测化疗(PFS,  $P = 0.654$ ; CSS,  $P = 0.472$ )敏感性.

因此, ALDH1也可能是ESCC的CSCs标志之一, 与ESCC化疗耐药相关联, 还可能与转移等不良临床转归有关, 但还需要进一步的研究.

**2.5 CD分子** CD133是一种跨膜糖蛋白, 是脑胶质瘤<sup>[8,41]</sup>、肝癌<sup>[42,43]</sup>等的CSCs标志物. 郑乃刚等<sup>[44]</sup>用免疫荧光/免疫酶染色检测ESCC细胞系, 发现Eca-109和EC9706中CD133或MDR1阳性率达70%-80%, 强阳性细胞一致率40%, 二者表达强弱程度相符, 说明CD133强阳性细胞其多药耐药性也高, 提示CD133与ESCC的CSCs联系密切. 鉴于学者认为形成细胞球的小CD133阳性表达细胞是胶质瘤肿瘤干细胞的观点<sup>[45]</sup>, 郑乃刚等<sup>[44]</sup>分别检测ESCC组织和细胞学标本CD133强阳性小细胞表达, 结果小CD133阳性表达细胞占癌细胞8%, 癌组织中约4%, 主要位于鳞癌上皮基底层、癌珠周缘或癌灶内; ESCC细胞CD133高表达和ESCC组织CD133阳性细胞特殊定位, 直观揭示CD133阳性细胞具克隆形成潜能. 存在相反研究结论, Hang等<sup>[31]</sup>发现ESCC中CD133表达与肿瘤细胞分化有关, 与低分化ESCC相比, 高分化ESCC过表达CD133, 但与总生存期关系不大, 因此, Hang等推测CD133不能作为食管鳞癌的标志物.

CD44是一种多功能的跨膜糖蛋白, 据外显子不同分为CD44S和CD44V, 参与细胞黏附、运动、增殖、耐药性. CD44v6为上皮间叶细胞转化标志物, 主要在具有转移能力的肿瘤细胞中表达, 参与肿瘤细胞与宿主细胞、肿瘤细胞与宿主基质的黏附, 并可提高肿瘤细胞的转移能力. Shen等<sup>[46]</sup>研究发现, 与邻近组织相比, 其在ESCC组织表达明显增高, 并与肿瘤分化、远处转移、TNM分期有关. Le Bras等<sup>[47]</sup>发现ESCC的

CD44上调与E-Cadherin丢失有关, 促MMP介导肿瘤浸润. Zhao等<sup>[48]</sup>检测ESCC原代细胞系的实体肿瘤干细胞标志物CD44、CD90、CD133、CD271和CD326表达状态, 发现仅有高表达CD44的ESCC细胞具高的成瘤性和耐药性. 郑乃刚等<sup>[44]</sup>检测ESCC组织与细胞系CD44表达, 强阳性细胞占40%, 包含2个亚群: 少数较小CD44阳性细胞亚群定位于鳞癌上皮基底层、癌珠周缘或癌灶内; 较大CD44强阳性细胞亚群主要定位于鳞癌上皮棘细胞层及癌灶中. 据此推测, CD44可能为ESCC的CSCs标志物.

CD166属免疫球蛋白基因超家族成员, 广泛参与多种组织细胞生长发育、参与肿瘤发生发展, 调节MMP-2级联反应而影响肿瘤侵袭. 一项42例ESCC回顾性研究, CD166表达与年龄(60岁为界, 80.1% vs 71.8%,  $P = 0.469$ )、性别(75% vs 80%,  $P = 0.919$ )等无关, 与肿瘤分化程度相关(60%[高分化] vs 90%[中低分化],  $P = 0.031$ ). 在侵袭程度较深(88.9%)以及有淋巴结转移(89.7%)患者中, CD166表达阳性率明显高于侵袭较浅(53.3%,  $P = 0.029$ )和无淋巴结转移(46.2%,  $P = 0.015$ )患者, 其表达可提示预后欠佳<sup>[49]</sup>. 目前还没有关于CD166作为食管鳞癌干细胞标志物的研究.

Sano等<sup>[50]</sup>首次报道CD24的ESCC表达, 他们免疫组织化学分析151例ESCC标本, CD24阳性率40.4%(61/151), 高于癌旁组织, 在胞膜和胞质中均有表达. 与ki-67表达(43/70 vs 18/81,  $P < 0.001$ )、病理分期(9/42 vs 52/109,  $P = 0.018$ )、淋巴结转移(43/85 vs 18/66,  $P = 0.005$ )、血管侵犯(49/89 vs 12/62,  $P < 0.001$ )、无病生存时间( $P < 0.001$ )有关, 多因素回归分析结果提示为独立预后因素( $P = 0.033$ ). CD29即ITGB1, 有研究称其表达与ESCC细胞多西他赛耐药显著相关, 推测过表达可能与化疗耐药有关<sup>[51]</sup>.

CD分子在其他一些实体肿瘤如脑胶质瘤、乳腺癌的肿瘤干细胞的分离鉴别中扮演着重要角色, 而且一些CD分子与肿瘤的耐药、分化相关, 众所周知, 肿瘤干细胞存在天然耐药, 且与肿瘤的复发转移有关. 因此, 一些CD分子也许可辅助鉴别分离肿瘤干细胞, 但作为食管鳞癌干细胞标志物的研究目前还较少, 且还存在一些争议, 需要更多的一系列实验来证实.

**2.6 干细胞转录调控因子** OCT-3/4、SOX2、Nanog都属于干细胞转录调控因子, 调节胚胎及组织的发育, 参与胚胎干细胞和原始细胞的自

#### ■创新盘点

目前食管鳞癌的肿瘤干细胞标志物尚处于研究阶段, 本文搜集了大量关于ESCC干细胞标志物的信息, 并作总结, 为进一步的研究提供理论资料.

## ■应用要点

彻底清除CSCs是根治恶性肿瘤的重要途径。如何识别和分离肿瘤干细胞,为提供临床高效的诊断和治疗分子靶点是摆在我们面前的艰巨任务,积极开展针对ESCC的CSCs标志物靶向研究,将对ESCC临床诊疗进展产生重要意义。

我更新,是维持生命全能性所必需的转录因子,被认为是干细胞标志物<sup>[52]</sup>,但他们在分化或成熟的组织中其表达降低或消失。肿瘤干细胞与干细胞在细胞表型和生物学特性上有很多相似之处,越来越多研究证明, OCT-2/3/4、SOX2、Nanog在肿瘤组织也有表达,可能为CSCs标志物。

2003年Chambers等<sup>[53]</sup>和Mitsui等<sup>[54]</sup>几乎同时在囊胚内细胞群(inner cell mass, ICM)、原始生殖细胞及胚胎干细胞发现一种新转录因子并命名Nanog。最近研究发现精原细胞癌<sup>[55]</sup>、乳腺癌、神经胶质瘤等<sup>[56]</sup>肿瘤细胞也表达Nanog。Du等<sup>[57]</sup>发现,与周围正常组织相比, ESCC组织过表达Nanog的mRNA和蛋白,并与TNM分期和病理组织学分化、淋巴结转移相关。用siRNA降低ESCC细胞系TE-1、Eca109中Nanog表达,可增强化疗药敏感性。Yang等<sup>[58]</sup>在ESCC细胞系EC9706得到同样结果。不过, Li等<sup>[59]</sup>认为Nanog既在肿瘤干细胞中表达也在肿瘤细胞中表达, Nanog表达和肿瘤干细胞关系尚无定论。鉴于肿瘤细胞与胚胎干细胞均有无限增殖及保持低分化状态的特征,提示Nanog可能是调节细胞全能性与自我更新的关键因子。

陈清江等<sup>[60]</sup>应用原位杂交和免疫组织化学法检测正常食管黏膜组织及ESCC组织SOX2 mRNA和蛋白,显示SOX2正常黏膜组织mRNA表达显著低于ESCC组织; SOX2蛋白表达与其mRNA表达一致。ESCC组织SOX2 mRNA和蛋白表达与组织分化程度、浸润深度、TNM分期及淋巴结转移密切相关。Zhou等<sup>[61]</sup>自行培养原代细胞高表达OCT-2/3/4、SOX2、Nanog; 此外,肿瘤干细胞球中一些细胞表达Oct4表明Oct4<sup>+</sup>细胞可能是食管鳞癌干细胞样细胞。Wang等<sup>[4]</sup>已经发现Sox2和Oct4在ESCC中表达并影响癌细胞凋亡、致瘤能力和耐药性等。低分化ESCC细胞系均表达更高水平Oct3/4和Sox2。高Oct3/4和Sox2蛋白表达水平与ESCC高组织学分级和差生存相关。Oct3/4和Sox2在ESCC发生和肿瘤干细胞特性中作用值得进一步研究。

**2.7 其他标志物** HIWI是PIWI在人类的同系物。PIWI是1997年在果蝇的生殖干细胞内被发现的。PIWI家族在进化过程中高度保守,且维持干细胞自我更新、增殖分化、配子发生发育和增殖,及RNAi和转录调控起重要作用,是调节干细胞和生殖细胞关键因子。He等<sup>[3]</sup>首次报道了HIWI在ESCC中的表达情况及其与预后的关系,他们对153例ESCC患者的临床研究发

现, HIWI蛋白阳性表达率达89.5%(137/153), 胞质与胞核均阳性表达,且胞质HIWI的表达水平与分化程度( $P = 0.011$ )、T分期( $P = 0.035$ )、总生存期( $P < 0.001$ )相关,和年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小、淋巴转移、临床分期无关。胞核中HIWI的表达与临床病理特点无关。但胞核中的表达与总生存期无关。胞质高表达HIWI者与低表达者相比肿瘤相关死亡风险增加了2.247倍。陈清江等<sup>[62]</sup>在另一项针对ESCC组织的研究中得出相似结论:食管癌上皮组织和正常食管上皮组织中的HIWI的阳性表达率分别为69.2%(92/133)和6.7%(1/15)( $P < 0.05$ )。食管癌组织中的HIWI表达与食管癌分化程度、临床分期有关( $P < 0.05$ )。同时刘志良等<sup>[63]</sup>在食管鳞癌细胞系Eca109中发现HIWI高表达,降低HIWI的表达后能够减慢食管癌细胞的增殖速度,提示HIWI是ESCC干细胞可能的表面标志。

$\beta$ -catenin蛋白在正常食管组织中包膜大于胞质,而在食管鳞癌标本中,在胞质与胞核中高表达,包膜上低表达<sup>[64]</sup>。 $\beta$ -catenin mRNA表达与病理分期、淋巴结转移及预后相关( $P < 0.05$ ),但蛋白质水平并未显示相关<sup>[65]</sup>。胞膜上 $\beta$ -catenin的表达的减少与可肿瘤的远处转移和不良预后有关<sup>[66]</sup>。

## 3 结论

CSCs在肿瘤发生发展中的作用不可忽视,与肿瘤浸润、复发、转移、耐药等不良生物学效应和肿瘤的不良预后关系密切,彻底清除CSCs是根治恶性肿瘤的重要途径。如何识别和分离肿瘤干细胞,为提供临床高效的诊断和治疗分子靶点是摆在我们面前的艰巨任务,积极开展针对ESCC的CSCs标志物的靶向研究,将对ESCC临床诊疗进展产生重要意义。

## 4 参考文献

- 1 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 赵平. 2003-2007年中国癌症发病分析. 中国肿瘤 2012; 21: 161-170
- 2 张思维, 陈万青, 郑荣寿, 李霓, 曾红梅, 李光琳, 魏文强, 赵平. 2003-2007年中国癌症死亡分析. 中国肿瘤 2012; 21: 171-178
- 3 He W, Wang Z, Wang Q, Fan Q, Shou C, Wang J, Giercksky KE, Nesland JM, Suo Z. Expression of HIWI in human esophageal squamous cell carcinoma is significantly associated with poorer prognosis. BMC Cancer 2009; 9: 426 [PMID: 19995427 DOI: 10.1186/1471-2407-9-426]
- 4 Wang Q, He W, Lu C, Wang Z, Wang J, Giercksky KE, Nesland JM, Suo Z. Oct3/4 and Sox2 are significantly associated with an unfavorable clinical outcome in human esophageal squamous cell carcinoma.



- cinoma. *Anticancer Res* 2009; 29: 1233-1241 [PMID: 19414369 DOI: 10.1038/nm0809-827a]
- 5 Huang D, Gao Q, Guo L, Zhang C, Jiang W, Li H, Wang J, Han X, Shi Y, Lu SH. Isolation and identification of cancer stem-like cells in esophageal carcinoma cell lines. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 465-473 [PMID: 18680391 DOI: 10.1089/scd.2008.0033]
- 6 Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737 [PMID: 9212098 DOI: 10.1038/nm0797-730]
- 7 Wright MH, Calcagno AM, Salcido CD, Carlson MD, Ambudkar SV, Varticovski L. Brca1 breast tumors contain distinct CD44+/CD24- and CD133+ cells with cancer stem cell characteristics. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R10 [PMID: 18241344 DOI: 10.1186/bcr1855]
- 8 Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003; 63: 5821-5828 [PMID: 14522905]
- 9 Fang D, Nguyen TK, Leishear K, Finko R, Kulp AN, Hotz S, Van Belle PA, Xu X, Elder DE, Herlyn M. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res* 2005; 65: 9328-9337 [PMID: 16230395 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1343]
- 10 Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-111 [PMID: 11689955 DOI: 10.1038/35102167]
- 11 Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3983-3988 [PMID: 12629218 DOI: 10.1073/pnas.0530291100]
- 12 Gupta PB, Chaffer CL, Weinberg RA. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat Med* 2009; 15: 1010-1012 [PMID: 19734877 DOI: 10.1038/nm0909-1010]
- 13 Marhaba R, Klingbeil P, Nuebel T, Nazarenko I, Buechler MW, Zoeller M. CD44 and EpCAM: cancer-initiating cell markers. *Curr Mol Med* 2008; 8: 784-804 [PMID: 19075676 DOI: 10.2174/156652408786733667]
- 14 Barker PA, Murphy RA. The nerve growth factor receptor: a multicomponent system that mediates the actions of the neurotrophin family of proteins. *Mol Cell Biochem* 1992; 110: 1-15 [PMID: 1315923]
- 15 Okumura T, Shimada Y, Imamura M, Yasumoto S. Neurotrophin receptor p75(NTR) characterizes human esophageal keratinocyte stem cells in vitro. *Oncogene* 2003; 22: 4017-4026 [PMID: 12821936 DOI: 10.1038/sj.onc.1206525]
- 16 Okumura T, Tsunoda S, Mori Y, Ito T, Kikuchi K, Wang TC, Yasumoto S, Shimada Y. The biological role of the low-affinity p75 neurotrophin receptor in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5096-5103 [PMID: 16951226 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2852]
- 17 Huang SD, Yuan Y, Liu XH, Gong DJ, Bai CG, Wang F, Luo JH, Xu ZY. Self-renewal and chemotherapy resistance of p75NTR positive cells in esophageal squamous cell carcinomas. *BMC Cancer* 2009; 9: 9 [PMID: 19134212 DOI: 10.1186/1471-2407-9-9]
- 18 Sun ZG, Huang SD, Zhang BR, Xu ZY, Liu XH, Gong DJ, Yuan Y. [Isolation and identification of cancer stem cells from human esophageal carcinoma]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2009; 89: 291-295 [PMID: 19563702]
- 19 叶仕新, 曾志勇, 黄盛东, 袁扬, 陈安平, 杨胜生. p75NTR阳性人食管鳞癌细胞的干细胞特性研究. *山东医药* 2012; 52: 41-43
- 20 Breiteneder-Geleff S, Matsui K, Soleiman A, Mera-ner P, Poczewski H, Kalt R, Schaffner G, Kerjaschki D. Podoplanin, novel 43-kd membrane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in pu-romycin nephrosis. *Am J Pathol* 1997; 151: 1141-1152 [PMID: 9327748]
- 21 Wicki A, Lehembre F, Wick N, Hantusch B, Ker-jaschki D, Christofori G. Tumor invasion in the absence of epithelial-mesenchymal transition: podoplanin-mediated remodeling of the actin cytoskeleton. *Cancer Cell* 2006; 9: 261-272 [PMID: 16616332 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.03.010]
- 22 Tong L, Yuan S, Feng F, Zhang H. Role of podo-planin expression in esophageal squamous cell carcinoma: a retrospective study. *Dis Esophagus* 2012; 25: 72-80 [PMID: 21895849 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01211.x]
- 23 Rahadiani N, Ikeda J, Makino T, Tian T, Qiu Y, Mamat S, Wang Y, Doki Y, Aozasa K, Morii E. Tumorigenic role of podoplanin in esophageal squamous-cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1311-1323 [PMID: 20066519 DOI: 10.1245/s10434-009-0895-5]
- 24 袁世发, 同李平, 丰帆, 张洪伟. 食管癌组织podo-planin的表达及其临床意义. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 435-437
- 25 Atsumi N, Ishii G, Kojima M, Sanada M, Fujii S, Ochiai A. Podoplanin, a novel marker of tumor-initiating cells in human squamous cell carcinoma A431. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 36-41 [PMID: 18539139 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.05.163]
- 26 Chao YK, Chuang WY, Yeh CJ, Wu YC, Liu YH, Hsieh MJ, Cheng AJ, Hsueh C, Liu HP. Prognostic significance of high podoplanin expression after chemoradiotherapy in esophageal squamous cell carcinoma patients. *J Surg Oncol* 2012; 105: 183-188 [PMID: 22213642 DOI: 10.1002/jso.22068]
- 27 Mao Q, Unadkat JD. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J* 2005; 7: E118-E133 [PMID: 16146333 DOI: 10.1208/aapsj070112]
- 28 罗俊辉, 邹良健, 黄盛东, 龚德军, 刘广洛. 食管癌组织中ABCG2的表达变化及意义. *山东医药* 2011; 51: 15-17
- 29 马春生, 龚晓瑾, 古力巴哈尔·阿不力米提, 蒲红伟, 陈晓. P-g p和ABCG2在食管鳞状细胞癌中的表达及临床病理意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 728-733
- 30 Tsunoda S, Okumura T, Ito T, Kondo K, Ortiz C, Tanaka E, Watanabe G, Itami A, Sakai Y, Shimada Y. ABCG2 expression is an independent unfavorable prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2006; 71: 251-258 [PMID: 17671398 DOI: 10.1159/000106787]
- 31 Hang D, Dong HC, Ning T, Dong B, Hou DL, Xu WG. Prognostic value of the stem cell markers CD133 and ABCG2 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2012; 25: 638-644 [PMID: 22236447 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01298.x]
- 32 Wang J, Wang X, Jiang S, Lin P, Zhang J, Wu Y, Xiong Z, Ren JJ, Yang H. Partial biological characterization of cancer stem-like cell line (WJ(2)) of human glioblastoma multiforme. *Cell Mol Neurobiol*

## 同行评价

本文搜集了该领域大量关于ESCC干细胞标志物的信息, 内容丰富。

- 2008; 28: 991-1003 [PMID: 18350379 DOI: 10.1007/s10571-008-9273-2]
- 33 Loebinger MR, Giangreco A, Groot KR, Prichard L, Allen K, Simpson C, Bazley L, Navani N, Tibrewal S, Davies D, Jones SM. Squamous cell cancers contain a side population of stem-like cells that are made chemosensitive by ABC transporter blockade. *Br J Cancer* 2008; 98: 380-387 [PMID: 18219291 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604185]
  - 34 Hang D, Dong HC, Ning T, Dong B, Hou DL, Xu WG. Prognostic value of the stem cell markers CD133 and ABCG2 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2012; 25: 638-644 [PMID: 22236447]
  - 35 Sládek NE, Kollander R, Sreerama L, Kiang DT. Cellular levels of aldehyde dehydrogenases (ALDH1A1 and ALDH3A1) as predictors of therapeutic responses to cyclophosphamide-based chemotherapy of breast cancer: a retrospective study. Rational individualization of oxazaphosphorine-based cancer chemotherapeutic regimens. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 309-321 [PMID: 11914911 DOI: 10.1007/s00280-001-0412-4]
  - 36 Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, Jacquemier J, Viens P, Kleer CG, Liu S, Schott A, Hayes D, Birnbaum D, Wicha MS, Dontu G. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 555-567 [PMID: 18371393 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.014]
  - 37 Chen YC, Chen YW, Hsu HS, Tseng LM, Huang PI, Lu KH, Chen DT, Tai LK, Yung MC, Chang SC, Ku HH, Chiou SH, Lo WL. Aldehyde dehydrogenase 1 is a putative marker for cancer stem cells in head and neck squamous cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 385: 307-313 [PMID: 19450560 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.05.048]
  - 38 苏华芳, 万秋燕, 邹燕, 张力, 李海英, 景钊, 吴式琇. 具干细胞特性食管癌耐放射细胞株基因表达分析. *肿瘤学杂志* 2010; 16: 40-45
  - 39 Wang Y, Zhe H, Gao P, Zhang N, Li G, Qin J. Cancer stem cell marker ALDH1 expression is associated with lymph node metastasis and poor survival in esophageal squamous cell carcinoma: a study from high incidence area of northern China. *Dis Esophagus* 2012; 25: 560-565 [PMID: 22098156 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01279.x]
  - 40 Minato T, Yamamoto Y, Seike J, Yoshida T, Yamai H, Takechi H, Yuasa Y, Furukita Y, Goto M, Bando Y, Tangoku A. Aldehyde dehydrogenase 1 expression is associated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 209-217 [PMID: 22847125 DOI: 10.1245/s10434-012-2535-8]
  - 41 Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432: 396-401 [PMID: 15549107 DOI: 10.1038/nature03128]
  - 42 Olempska M, Eisenach PA, Ammerpohl O, Ungelroten H, Fandrich F, Kalthoff H. Detection of tumor stem cell markers in pancreatic carcinoma cell lines. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 92-97 [PMID: 17287174]
  - 43 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 313-323 [PMID: 18371365 DOI: 10.1016/j.stem]
    - 44 郑乃刚, 阎爱华, 吴景兰, 李金萍, 裴迎新, 董子明. 食管鳞癌的肿瘤干细胞标志. *郑州大学学报(医学版)* 2010; 45: 27-30
    - 45 Bertrand J, Begaud-Grimaud G, Bessette B, Verdier M, Battu S, Jauberteau MO. Cancer stem cells from human glioma cell line are resistant to Fas-induced apoptosis. *Int J Oncol* 2009; 34: 717-727 [PMID: 19212677 DOI: 10.3892/ijo.00000198]
    - 46 Shen WD, Ji Y, Liu PF, Xiang B, Chen GQ, Huang B, Wu S. Correlation of E-cadherin and CD44v6 expression with clinical pathology in esophageal carcinoma. *Mol Med Report* 2012; 5: 817-821 [PMID: 22139342 DOI: 10.3892/mmr.2011.693]
    - 47 Le Bras GF, Allison GL, Richards NF, Ansari SS, Washington MK, Andl CD. CD44 upregulation in E-cadherin-negative esophageal cancers results in cell invasion. *PLoS One* 2011; 6: e27063 [PMID: 22069487 DOI: 10.1371/journal.pone.0027063]
    - 48 Zhao JS, Li WJ, Ge D, Zhang PJ, Li JJ, Lu CL, Ji XD, Guan DX, Gao H, Xu LY, Li EM, Soukiasian H, Koeffler HP, Wang XF, Xie D. Tumor initiating cells in esophageal squamous cell carcinomas express high levels of CD44. *PLoS One* 2011; 6: e21419 [PMID: 21731740 DOI: 10.1371/journal.pone.0021419]
    - 49 朱震, 陈兵, 王金泉, 张俊, 陆昕治, 李雄伟. 肿瘤干细胞标志物CD166 CD44v6在食管癌中的表达及其意义. *浙江临床医学* 2012; 14: 519-521
    - 50 Sano A, Kato H, Sakurai S, Sakai M, Tanaka N, Inose T, Saito K, Sohda M, Nakajima M, Nakajima T, Kuwano H. CD24 expression is a novel prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 506-514 [PMID: 19050962 DOI: 10.1245/s10434-008-0252-0]
    - 51 Mori R, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitsui A, Tomoda K, Mori Y, Ogawa R, Katada T, Harata K, Fujii Y. Targeting beta1 integrin restores sensitivity to docetaxel of esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 1345-1351 [PMID: 19020712 DOI: 10.3892/or.00000150]
    - 52 Okumura-Nakanishi S, Saito M, Niwa H, Ishikawa F. Oct-3/4 and Sox2 regulate Oct-3/4 gene in embryonic stem cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 5307-5317 [PMID: 15557334 DOI: 10.1074/jbc.M410015200]
    - 53 Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, Smith A. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 2003; 113: 643-655 [PMID: 12787505 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00392-1]
    - 54 Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, Segawa K, Murakami M, Takahashi K, Maruyama M, Maeda M, Yamanaka S. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 2003; 113: 631-642 [PMID: 12787504 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00393-3]
    - 55 Hart AH, Hartley L, Parker K, Ibrahim M, Looijenga LH, Pauchnik M, Chow CW, Robb L. The pluripotency homeobox gene NANOG is expressed in human germ cell tumors. *Cancer* 2005; 104: 2092-2098 [PMID: 16206293 DOI: 10.1002/cncr.21435]
    - 56 Ben-Porath I, Thomson MW, Carey VJ, Ge R, Bell GW, Regev A, Weinberg RA. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. *Nat Genet* 2008; 40: 499-507 [PMID: 18443585 DOI: 10.1038/ng.127.]

- 57 Du Y, Shi L, Wang T, Liu Z, Wang Z. Nanog siRNA plus Cisplatin may enhance the sensitivity of chemotherapy in esophageal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 1759-1767 [PMID: 22714588 DOI: 10.1007/s00432-012-1253-8]
- 58 Yang L, Zhang X, Zhang M, Zhang J, Sheng Y, Sun X, Chen Q, Wang LX. Increased nanog expression promotes tumor development and Cisplatin resistance in human esophageal cancer cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 30: 943-952 [PMID: 23221432 DOI: 10.1159/000341471]
- 59 Li H, Gao Q, Guo L, Lu SH. The PTEN/PI3K/Akt pathway regulates stem-like cells in primary esophageal carcinoma cells. *Cancer Biol Ther* 2011; 11: 950-958 [PMID: 21467840 DOI: 10.4161/cbt.11.11.15531]
- 60 陈清江, 张明治. SOX2在食管鳞癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1698-1703
- 61 Zhou X, Huang GR, Hu P. Over-expression of Oct4 in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cells* 2011; 32: 39-45 [PMID: 21547540 DOI: 10.1007/s10059-011-2315-5]
- 62 陈艳, 杜亚明. 食管鳞癌组织中HIWI 的表达变化及意义. *山东医药* 2012; 52: 49-50
- 63 刘志良, 石磊芝, 杜亚明. HIWI在食管癌细胞系Eca109中的表达及意义. *山东医药* 2012; 52: 43-45
- 64 Zhou XB, Lu N, Zhang W, Quan LP, Lin DM, Wang QH, Li YL, Xu NZ. [Expression and significance of beta-catenin in esophageal carcinoma]. *Ai Zheng* 2002; 21: 877-880 [PMID: 12478897]
- 65 吕进, 曹秀峰, 朱斌, 纪律, 王冬冬, 李苏卿. Wnt1/ $\beta$ -catenin与食管鳞状细胞癌临床病理及预后的相关性研究. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 979-985
- 66 Hsu PK, Li AF, Wang YC, Hsieh CC, Huang MH, Hsu WH, Hsu HS. Reduced membranous beta-catenin protein expression is associated with metastasis and poor prognosis in squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 1029-1035 [PMID: 18455580 DOI: 10.1016/j.jtcvs.2007.11.007]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》  
(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。



# CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系

夏妍, 张淑云

## ■背景资料

病毒和机体的相互作用决定乙型肝炎病毒(HBV)感染的不同临床表现和转归。机体针对HBV产生的特异性细胞免疫反应显得尤为重要。CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞是哺乳动物适应性免疫应答的协调中心, 在对抗各种外来抗原侵袭的免疫应答中起核心作用。迄今为止已经发现CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞有多种不同的功能亚群, 他们在HBV感染及其临床转归中的作用备受关注。

夏妍, 张淑云, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心  
黑龙江省哈尔滨市 150086

夏妍, 硕士, 主要从事临床病毒感染转归机制的研究。

黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No.12521186

作者贡献分布: 本综述由夏妍完成; 张淑云审校。

通讯作者: 张淑云, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心。zhshuyun136@yahoo.com.cn

电话: 0451-86664393 传真: 0451-86664393

收稿日期: 2012-12-12 修回日期: 2013-01-08

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Changes in CD4<sup>+</sup> T lymphocyte subsets and clinical outcomes of hepatitis B virus infection

Yan Xia, Shu-Yun Zhang

Yan Xia, Shu-Yun Zhang, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Educational Department of Heilongjiang Province, No. 12521186

Correspondence to: Shu-Yun Zhang, Professor, Chief Physician, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zhshuyun136@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-12 Revised: 2013-01-08

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

Various clinical manifestations may develop in people infected with hepatitis B virus (HBV), ranging from asymptomatic infection to acute severe hepatitis B. Some infections become self-limiting when the virus is cleared, while approximately 90% of children and 10% of adults become HBV carriers or patients with chronic hepatitis B, who can further develop cirrhosis and hepatocellular carcinoma. CD4<sup>+</sup> T lymphocytes play a central role in anti-infection immunity and can be divided into different subsets, including Th1, Th2, Treg, Th17, Th22, Th9 and Tfh. These T lymphocyte subsets all come from the same progenitor cells (Th0), although they have particular differentiation pathway and secrete different kinds of cytokines. Furthermore, they are able to interact with each other and change into each other. Particularly, the balance

of Th1/Th2 and Th17/Treg play a vital role in determining the clinical outcomes of HBV infection.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatitis B virus; CD4<sup>+</sup> T cell subsets; Outcome; Th1/Th2; Th17/Treg

Xia Y, Zhang SY. Changes in CD4<sup>+</sup> T lymphocyte subsets and clinical outcomes of hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 498-507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/498.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.498>

## 摘要

人体感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)后可有无症状的隐性感染、急性乙型肝炎和急性重型乙型肝炎等多种临床表现。此后有的清除病毒, 表现为自限性HBV感染, 而约90%的儿童和10%的成人则转为HBV携带者或慢性乙型肝炎, 并可进一步发展成肝硬化和肝细胞癌。CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞在抗感染免疫中起核心作用。他有Th1、Th2、Treg、Th17、Th22、Tfh和Th9等多种亚群, 均可来自于同一祖细胞(Th0), 有着各自的分化途径和分泌不同的细胞因子, 起着不同的作用。但彼此又相互作用和相互转化, 尤其是Th1/Th2和Th17/Treg的平衡在HBV感染的临床转归中发挥着重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 乙型肝炎病毒; CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群; 转归; Th1/Th2; Th17/Treg

夏妍, 张淑云. CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群与HBV感染不同临床转归的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(6): 498-507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/498.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.498>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染仍是世界范围内的公共健康问题。人体感染HBV后可有不同的临床表现和转归, 可表现为无症状

## ■同行评议者

王凯, 教授, 山东大学齐鲁医院肝病科

的隐性感染、急性乙型肝炎和急性重型乙型肝炎, 随后有的清除病毒, 表现为自限性HBV感染, 而在儿童约90%、成人约10%则转为HBV携带者或慢性乙型肝炎, 其中慢性乙型肝炎与肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的形成密切相关<sup>[1]</sup>。长期的基础研究和临床实践表明HBV感染的不同临床转归主要与病毒感染时的年龄、感染途径, 以及病毒载量、基因型和宿主免疫状态等有关, 特别是与机体针对HBV产生的特异性细胞免疫反应相关<sup>[2]</sup>。以往对HBV感染研究认为, 在HBV清除过程中CD8<sup>+</sup>细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)对靶细胞的杀伤起主要作用, CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞起辅助作用。而HBV感染免疫缺陷小鼠的研究证实了CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的诱导需要CD4<sup>+</sup>T细胞的存在, 缺失则会影响CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的启动<sup>[3]</sup>。Bertolotti等<sup>[4]</sup>报道CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞在HBV感染免疫清除中发挥重要作用, 在缺少CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞时CTL的活性降低以及机体免疫产生的抗体无法达到完全清除HBV的需求进而导致感染的持续。这也与基础免疫学的研究相一致, 即CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞是哺乳动物适应性免疫应答的协调中心, 在对抗各种外来抗原侵袭的免疫应答中起核心作用<sup>[5]</sup>。迄今为止已经发现CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞有多种不同的功能亚群, 在HBV感染中不同CD4<sup>+</sup>T细胞亚群的激活可能导致机体对HBV产生不同的免疫反应, 从而导致不同的临床表现和转归, 因此在HBV感染过程中弄清楚各亚群所发挥的作用是很关键的。

## 1 CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的种类和功能

1986年Mosmann等<sup>[6]</sup>通过对小鼠的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞研究发现活化的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞分泌的细胞因子谱不同, 遂将CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞分为Th1和Th2两种细胞亚群。1991年Romagnani等<sup>[7]</sup>在人体T淋巴细胞研究中也发现了Th1和Th2细胞亚群的存在, 以此为起端进一步研究发现体内初始CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞(Th0细胞)受到外来抗原刺激后能够增殖分化为7种不同的功能亚群, 而且这些CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群有着各自不同的转录因子, 在不同的分化环境中其所分泌的细胞因子谱也不同。

1.1 Th1细胞 参与Th1细胞分化的细胞因子主要有白介素(interleukin, IL)-12、IL-18、IL-27和干扰素-γ(Interferon-γ, IFN-γ), 其中IL-12起主要作用。Th0细胞首先在IFN-γ和IL-27的作用下表

达IL-12受体, 在IL-12的刺激下激活信号分子STAT4协同转录因子T-bet表达; 与此同时IL-12还能诱导选择性表达在小鼠Th1细胞的IL-18受体<sup>[8]</sup>。IL-18通过上调IL-12受体协同IL-12诱导IFN-γ产生<sup>[9]</sup>。IFN-γ可以通过增强Th1细胞信号分子STAT1促使T-bet的表达增加, 后者与Th1细胞表面IFN-受体结合, 形成正反馈; IFN-γ同时也对Th17和Th2的分化起负调节作用<sup>[10]</sup>。

T-bet是Szabo等<sup>[11]</sup>于2000年发现的Th1细胞亚群的特异性转录因子。在Th1细胞分化过程中T-bet具有促进分化的作用, 主要通过STAT1依赖的途径调控IFN-γ基因表达, 进而产生大量IFN-γ, 而后者又可以逆向调控T-bet表达水平形成正反馈, 使IFN-γ大量增多<sup>[12]</sup>; T-bet同时也是IL-12 Rβ2强有力的激活剂, 能够加大IL-12对Th0细胞的反应, 进一步促进Th0向Th1细胞分化<sup>[13]</sup>。T-bet调节Th1细胞分化的重要性也在T-bet基因敲除小鼠中得到了证实<sup>[14]</sup>。T-bet对Th2细胞的抑制功能主要表现在能够直接抑制Th2细胞特异转录因子GATA3的表达, 拮抗GATA3对Th1细胞分化的抑制作用; 抑制IL-4、IL-5、IL-12等Th2型细胞因子的产生, 确保Th0向Th1细胞分化的顺利进行<sup>[11]</sup>。

Th1细胞产生的主要细胞因子有IFN-γ、肿瘤坏死因子-β(tumor necrosis factor-β, TNF-β)和IL-2R。他们参与细胞介导的免疫反应、抵抗细菌感染、介导迟发型超敏反应, 以及加强对病毒等细胞内致病因子的清除。

1.2 Th2细胞 Harrington等<sup>[15]</sup>于2006年研究发现Th2细胞分化主要通过IL-4/IL-4R信号使Th0细胞的STAT-6激活, 促进GATA-3的表达。IL-4在促进Th2细胞分化的同时也抑制Th17细胞的分化。

GATA-3是1993年发现的具有锌指结构的GATA家族中的成员, 是Th2细胞特异性转录因子。一方面GATA-3强烈激活IL-5启动子, 能直接上调IL-4和IL-5等Th2类细胞因子的表达; 另一方面GATA-3协同转录因子MAF与STAT6共同促进IL-4、IL-5和IL-13表达, 并能以STAT6和IL-4非依赖的方式诱导内源性GATA-3的产生, 形成Th2分化的正反馈使Th2细胞分化增多<sup>[16]</sup>。此外, GATA-3还可以通过抑制STAT4合成和活化下调T-bet, 进而抑制Th1细胞分化和IFN-γ产生<sup>[13]</sup>。

Th2细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-13等细胞因子, 其主要功能为促进体液免疫反应, 中和胞外病原体; Th2细胞与B细胞的增

## ■研发前沿

CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞在抗感染免疫中起核心作用。目前研究发现CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞有多种不同功能亚群, 各亚群对HBV感染自然进程、疾病进展的影响越来越被重视。

## ■相关报道

从最早的Th1/Th2和Th17/Treg与HBV感染相关疾病的报道,到最新发现的Treg细胞3个亚群和Th22细胞在HBV感染相关疾病中的作用,人们对CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群与HBV感染性疾病的研究从未间断。CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群在急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝细胞癌中发挥作用的认知不断得到巩固与更新。

殖、成熟和抗体生成有关,可增强抗体介导的体液免疫应答,参与自身免疫性疾病的发病。

1.3 Treg细胞 Sakaguchi等<sup>[17]</sup>于1995年通过小鼠模型描述了一类新的T细胞亚群即调节性T细胞(T regulatory cell, Treg),随后在人体中也发现了高表达CD25的天然Treg细胞。目前已经发现Treg细胞的多种形式。按其起源可分为起源于胸腺的天然型Treg(natural Treg, nTreg)和由转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )诱导的诱导性Treg细胞(induced/inducible Treg, iTreg),iTreg主要通过分泌TGF- $\beta$ 对Th1、Th2的分化起抑制作用。nTreg主要通过细胞之间的直接接触发挥抑制CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T细胞增殖和分泌细胞因子的作用,并通过TGF- $\beta$ 和IL-10抑制树突细胞和单核细胞功能<sup>[18]</sup>。迄今尚缺乏区分nTreg和iTreg的特征性标志物,两者可能存在协同效应<sup>[19]</sup>。

Foxp3是Treg细胞最特异的转录因子,与其发育、功能密切相关以及在一定程度上可反映Treg的水平和功能活性<sup>[20]</sup>。Foxp3的主要功能是可以介导与Treg细胞功能密切的分子表达,如CD25、CTLA-4和CD103等。最近Miyara等<sup>[21]</sup>根据Foxp3的表达、细胞表面分子以及Foxp3的甲基化程度将人CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T细胞分成3群具有不同表型和功能的亚群即:CD45RA<sup>+</sup>FOXP3lo静息态Treg(resting Treg, rTreg)细胞,CD45RA-FOXP3hi活动态Treg(activated Treg, aTreg)细胞和CD45RA-FOXP3lo非Treg(nonsuppressive T cells, nonTreg)细胞。rTreg和aTreg代表Treg的不同分化阶段并且在体外有抑制功能,non-Treg主要负责细胞因子的分泌,无抑制功能;该研究还发现在脐带血、健康成年人以及免疫抑制疾病的患者外周血中这3种亚群的表达有明显的差异。Treg是维持免疫自稳的中心<sup>[22]</sup>,在慢性炎症性疾病以及调节过敏性炎症中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。

1.4 Th17细胞 Park、Harrington和Langrish等<sup>[24-26]</sup>于2005年分别发现Th17细胞。Th17细胞主要由Th0细胞在TGF- $\beta$ 与IL-6共同作用下分化而来,并抑制其向Th1和Th2分化。一方面IL-6/IL-6R信号通过激活STAT3与ROR $\gamma$ t共同诱导IL-17和IL-23R表达分化成Th17细胞<sup>[27]</sup>;另一方面IL-21与TGF- $\beta$ 协同,在IL-17存在时促进STAT-3和ROR $\gamma$ t表达,增强IL-17分泌,后者又与转录因子ROR $\gamma$ t协同,正反馈于已分化的Th17细胞,使Th17细胞量扩增<sup>[28]</sup>。可见,TGF- $\beta$ 在Th17细胞分化中发挥着重要的作用。而2010年发表在Nature

上的一篇文章的观点与以往出现了矛盾,作者通过体外分化实验证实,在没有外源性TGF- $\beta$ 1,以及采用中和抗体完全阻断内源性TGF- $\beta$ 1活性的条件下,仅仅依靠IL-1 $\beta$ 、IL-6和IL-23联合作用就可以诱导出Th17细胞,从而证实体内Th17细胞的分化可能存在不依赖于TGF- $\beta$ 1的途径<sup>[29]</sup>。

Ivanov等<sup>[30]</sup>于2006发现Th17细胞特征性转录因子ROR $\gamma$ t,后者主要与STAT-3共同作用上调IL-17的表达<sup>[31]</sup>。Th17细胞产生的主要细胞因子有IL-17A、IL-17F、IL-21和IL-22。主要功能是参与某些自身免疫病、移植排斥反应等疾病过程;特别在抵御胞外细菌感染发挥重要作用<sup>[32-34]</sup>。

1.5 Th22细胞 Duhen等<sup>[35]</sup>和Trifari等<sup>[36]</sup>于2009年分别报道一群与皮肤免疫功能相关的亚群,其分泌的主要细胞因子是IL-22。Th22有两种分化途径:一种是由记忆性T细胞分化而来,另一种通过由pDC、IL-6和TNF诱导初始CD4<sup>+</sup>T细胞分化而来。TGF- $\beta$ 能够抑制Th22的分化,加入IL-1 $\beta$ 后,能够诱导Th17细胞的分化<sup>[35]</sup>。目前已知IL-22与病毒感染、牛皮癣、克罗恩病、间质性肺疾病以及类风湿性关节炎等疾病发生、发展相关<sup>[37-39]</sup>。

1.6 Tfh细胞 Tfh细胞是Breitfeld等<sup>[40]</sup>和Schaerli等<sup>[41]</sup>于2000年分别发现的一类CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群,主要存在于次级淋巴器官的淋巴滤泡,主要功能是辅助B细胞参与体液免疫<sup>[42]</sup>。Tfh细胞的特征性转录因子为Bcl-6,主要通过分泌IL-21和IL-4等影响B细胞分化进而影响抗体产生<sup>[43]</sup>。但是Tfh细胞对B细胞的辅助作用是如何实现的,以及对其他的淋巴细胞是否也有辅助作用,还有待继续研究。目前已在淋巴瘤、自身免疫病中发现Tfh细胞标志物的表达异常增高<sup>[44,45]</sup>,在感染性疾病中,有研究发现在蠕虫感染中Tfh细胞表达也增高<sup>[46]</sup>。

1.7 Th9细胞 Dardalhon等<sup>[47]</sup>和Veldhoen等<sup>[48]</sup>于2008年分别报道一类可分泌大量IL-9的新的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群。Th9细胞可由两条途径分化而来,一条是IL-4联合TGF- $\beta$ 刺激CD4<sup>+</sup>初始T细胞,另一条是TGF- $\beta$ 作用于Th2细胞使之转化为Th9,但是后者需要IL-4和TGF- $\beta$ 参与<sup>[48]</sup>。目前研究发现Th9型细胞因子主要与哮喘性疾病的严重程度成正相关<sup>[49]</sup>。

## 2 CD4<sup>+</sup>T细胞亚群具有可塑性

如上所述,CD4<sup>+</sup>T细胞每种亚群都具有相对特



异的转录因子、细胞因子和特定的免疫学功能,然而各亚群也不是独立存在的,在不同疾病环境下其具有一定的可塑性,主要表现在以下几方面。

2.1 不同CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群可分泌同一种细胞因子 前面已述IL-10是Th2型细胞因子但是Th1、Th17、Th9和Treg细胞也可分泌;IL-9并非Th9特异细胞因子, Th2和Th17也能够分泌;IFN- $\gamma$ 和IL-4除了由Th1和Th2细胞分泌外,也可由Tfh细胞分泌;Th17和Th22都能够分泌IL-22<sup>[50]</sup>等。

2.2 CD4<sup>+</sup>T细胞各亚群有可能相互转换 Lee等<sup>[51]</sup>研究发现在自身免疫性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠模型中, Th17细胞除了表达转录因子ROR $\gamma$ t还表达T-bet, 而且在IL-12的刺激下出现了Th17细胞相关细胞因子和转录因子消失而Th1细胞相关基因表达的现象。Martin-Orozco等<sup>[52]</sup>通过实验发现糖尿病小鼠体内一半的Th17细胞是Th17/IFN- $\gamma$ 双阳性细胞, 后者是处于Th1细胞向Th17细胞分化还是相反方向分化还有待继续研究。还有报道在淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis, LCM)感染时, GATA3和T-bet均在Th2细胞表达并有IL-4和IFN- $\gamma$ 产生<sup>[53]</sup>。在TGF- $\beta$ 缺乏和IL-6存在的情况下, Treg细胞可以转化为Th17细胞<sup>[54]</sup>, 并且Voo等<sup>[55]</sup>在人的外周血中也分离出可以分泌IL-17的Treg细胞; Th1细胞和Th17细胞以及Treg细胞和Th17细胞的密切关系可能是机体维持免疫平衡的一种表现, 这种转化可能使免疫应答增强进而清除病原。

2.3 同一细胞因子对多个亚群具有影响 IL-9是Th9型细胞因子, 其具有调节Th17细胞和Treg分化及其功能的作用<sup>[56]</sup>。最近发现Th17细胞在IL-23作用下也能够分泌IL-9, 并且后者与TGF- $\beta$ 相互协作可以诱导Th0细胞向Th17细胞分化<sup>[57,58]</sup>。Th17产生的IL-21能够在体外促进Th9细胞的成熟和分化。Li等研究发现在EAE中IL-9除了能够促进Th1和Th17细胞分化<sup>[59,60]</sup>外, 在体外还能够增强Treg细胞的抑制功能, 导致效应细胞的增加进而使EAE病情加重<sup>[61]</sup>。Th9与Th1、Th17、Treg在自身免疫性疾病中密切相关这也与基础免疫研究相一致。

### 3 各亚群及其相互关系与HBV感染转归的相关性

每种亚群发挥的免疫效应不同, 故在HBV感染中也扮演不同角色, 而且各亚群之间的相互关系在HBV感染中也发挥重要作用。

3.1 Th1细胞和Th2细胞与HBV感染的关系 Th1型细胞因子反映特异性细胞免疫的存在与复苏<sup>[62]</sup>。IFN- $\gamma$ 等能够促进CTL的细胞不良反应, 特异性杀伤HBV感染的肝细胞, 使HBV感染表现为急性一过性炎症反应, 在促进HBV感染清除过程中起着关键作用, 在急性乙型肝炎患者体内IFN- $\gamma$ 的表达增高, 提示Th1细胞反应增强, 机体有效的特异性细胞免疫反应增强, 故机体对病毒清除能力增加形成急性自限性感染<sup>[63]</sup>。Th2型细胞因子主要与病毒的持续感染相关, IL-4能促使CTL杀伤效力下降和IFN- $\gamma$ 减少, 机体不能充分发挥特异性细胞免疫反应, 病毒清除能力下降, 进而导致HBV感染的慢性化<sup>[64]</sup>。

Th1/Th2细胞免疫反应失衡是HBV慢性感染的重要机制之一。国内外对Th1/Th2的研究相对成熟。研究表明: HBcAg和HBeAg刺激外周血单个核细胞后分别引起 IL-2、IFN- $\gamma$ 和IL-4、IL-10分泌增加<sup>[65]</sup>, 即HBcAg倾向诱导Th1细胞分化, 而HBeAg倾向诱导Th2细胞分化。Manigold等<sup>[66]</sup>研究证实HBcAg能诱导IL-18的产生, IL-18的功能主要是促进IFN- $\gamma$ 的产生, IL-18的分泌量与HBcAg呈剂量依赖性, 而慢性乙型肝炎患者血清中HBV的载量越大, IFN- $\gamma$ 的产生就越少。此研究还发现在HBeAg阴性患者, HBcAg对IL-18的诱导作用比HBeAg阳性患者更为明显。另一个HBeAg的转基因鼠的实验则发现, HBeAg可通过Fas-FasL介导的细胞凋亡机制优先清除HBcAg和HBeAg特异的Th1细胞, 从而阻碍了Th1细胞发挥清除效应, 导致感染慢性化<sup>[67]</sup>。Th1细胞功能低下是HBV相关肝硬化、原发性肝癌发生的重要危险因素, 研究发现, INF- $\gamma$ 是一种很强的抗纤维化因子, 可显著抑制细胞外ECM合成, 促进胶原降解, 进而抑制肝硬化的形成; 在肝癌组织中Th1型细胞因子也表达弱, Th2类细胞因子表达强的, 肝癌组织局部微环境处于免疫抑制状态, 肿瘤细胞易发生免疫逃逸, Th1/Th2失衡加速肝硬化、肝癌的发生发展<sup>[68]</sup>。

3.2 Th17细胞和Treg细胞与HBV感染相关疾病的关系 Th17和Treg细胞在分化过程中有着密切的联系, 并且两者在机体的免疫反应中起着对立统一关系, 在HBV感染中两者发挥的作用不同, 而且两者比例失衡也与HBV感染引起的慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝癌密切相关。

目前在人类乙型肝炎病情进展过程中, 宿主对病毒特异性Th17细胞免疫反应的调节机制仍不是十分明确, 高表达的Th17细胞亚群与HBV

### ■创新盘点

本文全面系统地介绍了CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的分化和各亚群的相互作用。从CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群角度系统地综述了各亚群与急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎、肝硬化和肝细胞癌之间的关系。

### ■应用要点

通过本文可较全面地了解CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群种类、分化和相互转化的关系,并了解他们在HBV感染中的意义。

感染的进展及肝脏的炎症损伤程度密切相关<sup>[69]</sup>。体外用HBcAg刺激慢性HBV感染者的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞发现IL-17和IL-6表达均增多,而且基础免疫已经证实Th17细胞的分化需要IL-6的参与,IL-17是Th17产生的相对特异的细胞因子,该实验结果提示HBcAg能够促进Th17型细胞分化发挥免疫作用<sup>[70]</sup>。还有研究发现Th17细胞能够抑制T淋巴细胞的细胞不良反应,增加HBV病毒的持续感染<sup>[71]</sup>。HBV的持续感染是肝硬化最常见的原因之一,肝纤维化是肝硬化的前期病变,肝星状细胞活化是肝纤维化形成的关键。肝星状细胞活化可分泌巨噬细胞炎症蛋白-2(macrophage inflammatory protein 2, MIP-2)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等一些趋化因子,后者一方面与IL-17在功能上相互促进,进一步促进肝纤维化的形成;另一方面这些趋化因子也可引起白细胞在损伤的肝小叶聚集,加速肝纤维化的进程<sup>[72]</sup>。Marra等<sup>[73]</sup>也证明在慢性活动性乙型肝炎患者的肝脏组织中MCP-1的表达明显高于正常人,以上研究提示Th17细胞在肝硬化进程中可能起重要作用。目前在HCC的研究中有两种结论:一种研究认为Th17细胞的增多是HCC患者总生存率和无病生存率的独立影响因素,HCC患者肿瘤细胞中CCR6的配体CCL20表达显著增加,CCL20与Th17细胞上的CCR6结合,在肿瘤局部诱导Th17细胞增殖,并使外周血循环中的Th17细胞向肿瘤部位聚集<sup>[74]</sup>,这可能是一个Th17细胞与肿瘤细胞相互作用而致使肿瘤不断恶化的过程;而Zhang等<sup>[75]</sup>的研究认为Th17细胞分泌CXCL-9、CXCL-10等趋化因子,能够吸引Th1、CD8<sup>+</sup>T细胞和自然杀伤细胞等效应细胞聚集于肿瘤组织中杀伤肿瘤细胞,对肿瘤细胞发挥间接杀伤效应,此外CXCL-9和CXCL-10还有抗肿瘤血管生成的作用,故认为Th17对肿瘤生长有一定的抑制作用。

Treg细胞在急性和慢性HBV病毒感染阶段对抗病毒T细胞反应起抑制作用。较高的Treg细胞数对HBV的清除造成了障碍<sup>[76,77]</sup>,可能是由Treg下调特异性CTL的免疫能力造成HBV感染的持续存在<sup>[78]</sup>。对于新发现的Treg细胞的3个亚群Zhang等<sup>[79]</sup>研究发现:aTreg在慢性活动性乙型肝炎和慢加急性肝衰(acute on chronic liver failure, ACLF)患者中选择性增加,HBcAg能促进aTreg表达,并且与DNA载量成正相关,这可能与慢性HBV患者体内清除HBV的能力弱有关;

在ACLF患者外周血和肝组织中nTreg显著增高,rTreg降低,这意味着nTreg与严重的肝损伤相关;rTreg与肝损伤关系不密切。提示:分别检测Treg细胞的不同亚群可以对HBV的感染状态做更准确的描述,根据Treg细胞的各亚群特点避免免疫耐受,激活机体的免疫应答,有可能成为乙型肝炎治疗的一种新方法。在乙型肝炎肝硬化、肝癌的研究中随着对Treg研究的不断深入,发现Treg细胞与肝硬化和肝癌的分期有关<sup>[80]</sup>。而且越来越多的证据表明Treg细胞通过多种机制,参与了肝癌的形成和发展,减少Treg细胞数量能够增强HBV阳性的肝癌患者的抗肿瘤免疫功能,是肝癌预后的独立危险因子<sup>[81,82]</sup>。

Treg细胞和Th17细胞的平衡状态是新发现的在抑制过度免疫应答和促进免疫炎症性反应中起重要作用的一对细胞。在HBV感染过程中Treg细胞可以抑制HBcAg诱导的Th17细胞亚群的增殖、分化,并且Treg细胞高表达的Foxp3分子也参与宿主对HBcAg诱导的Th17细胞亚群增殖、分化的抑制过程,造成Th17/Treg失衡<sup>[83]</sup>。在乙型肝炎导致的肝硬化和肝癌的研究中发现,HBsAg阳性、HBeAg阳性的慢性乙型肝炎患者维持Treg/Th17平衡能够促进肝星状细胞活化,进一步加快HBV肝硬化的进程,加大罹患肝癌的风险<sup>[84]</sup>。

**3.3 Th22细胞与HBV感染引起的相关疾病的关系** 由Th22细胞分泌的IL-22与HBV感染引起的相关疾病之间的关系近年成为研究的热点,IL-22能够通过JAK-STAT途径激活STAT3,STAT3的激活导致抗氧化蛋白、急性时相反应蛋白、促有丝分裂蛋白和抗凋亡蛋白的上调,显著改善刀豆蛋白A引起的肝细胞损伤、坏死和凋亡,从而起到保护肝脏的作用。研究表明在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和急性乙型肝炎(acute hepatitis B, AHB)患者的肝内IL-22表达增加<sup>[85,86]</sup>。在急性乙型肝炎时,IL-22通过促进非抗原特异性炎症细胞浸润,从而加大抗原特异性CTL细胞介导的肝细胞损伤,最终在HBV感染者肝内表现为促炎作用,亦可通过STAT3上调促存活和增殖反应进而保护肝细胞免受损伤。在慢性乙型肝炎时,T细胞一方面介导抗病毒免疫,另一方面也导致肝脏炎症损伤,后者又会引起肝细胞保护性细胞因子的代偿性增加,进而阻止炎症发展和修复肝脏损伤起抗炎的作用。IL-22也能够促进癌的发生,IL-22受体信号通路被激活后,肝细胞的迁

移能力和增殖能力增加进而能够促使肝组织再生, 同时激活的肝细胞抗凋亡能力增强、增殖活性增加和肝癌易感性增加<sup>[87]</sup>。通过对IL-22转基因小鼠和IL-22基因敲除小鼠的研究发现, IL-22转基因小鼠肝切除后的再生速度加快, 并且对二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱导肝细胞癌的易感性增加, 可能与高浓度的IL-22有关; 而在IL-22基因敲除小鼠, DEN诱导肝细胞癌形成的易感性却明显低于IL-22转基因小鼠, IL-22能够诱导和促进肝癌的发生<sup>[85,88]</sup>。HBV感染时, IL-22的上调可能既提高了肝细胞的存活率, 又加速肝炎向肝癌细胞的转化。在急性乙型肝炎IL-22短期升高可能会促进损伤肝细胞的存活, 从而起到保护肝脏的作用, 在慢性乙型肝炎IL-22的长期刺激可能促进肝炎向肝癌的发展。

IL-22可能既有抗炎作用也有促炎作用, 既能促进肝细胞生长也能导致肝癌形成, IL-22的这种双重功能可能在不同的环境下发挥的作用也有所不同。总之, IL-22与HBV感染相关疾病的关系还需进一步阐明, IL-22在治疗肝炎和预防肝癌方面的前景也值得探索。

**3.4 Tfh与乙型肝炎的关系** Tfh与乙型肝炎关系研究的较少。Feng等<sup>[89]</sup>于2011年发现Tfh细胞参与了HBV相关免疫性反应, HBV感染者外周血以及HBV转基因鼠脾脏均有不同程度的Tfh细胞增高, 而用阿德福韦酯治疗后的慢性乙型肝炎患者外周血Tfh频率下降, 提示Tfh可能与HBV感染者发挥免疫活动的积极状态有关。目前还未见Th9与HBV感染的相关报道。

## 4 结论

近年来, 随着对CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞功能亚群研究不断深入, 发现CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞功能亚群可能在不同疾病微环境下, 具有一定可塑性并且能够相互转化。有些亚群能加大HBV清除力度, 有些却与慢性化、肝硬化和肝癌密切相关, 这些亚群的不同功能及其不同表达量可能是引起HBV感染不同结局的关键因素。但是至今在HBV感染中各亚群如何相互转化、各亚群转化途径以及所需的微环境还不是十分明确。因此研究清楚HBV感染不同阶段各亚群变化特点及其相互关系, 在HBV感染者中营造恰当的分化环境, 使Th0细胞的分化向有利于HBV清除方向进行漂移, 将会是指导研发抗病毒药物和治疗性疫苗的新方向, 可能会成为治疗HBV的新手段。

## 5 参考文献

- 1 Pol S. [Natural history of hepatitis B infection]. *Presse Med* 2006; 35: 308-316 [PMID: 16493335 DOI: 10.1016/S0755-4982(06)74576-6]
- 2 Shi YH, Shi CH. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3099-3105 [PMID: 19575488 DOI: 10.3748/wjg.15.3099]
- 3 Yang PL, Althage A, Chung J, Maier H, Wieland S, Isogawa M, Chisari FV. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 798-802 [PMID: 20080755 DOI: 10.1073/pnas.0913498107]
- 4 Bertolotti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut* 2012; 61: 1754-1764 [PMID: 22157327 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301073.]
- 5 Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008; 112: 1557-1569 [PMID: 18725574 DOI: 10.1182/blood-2008-05-078154.]
- 6 Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-2357 [PMID: 2419430]
- 7 Romagnani S. Human TH1 and TH2 subsets: doubt no more. *Immunol Today* 1991; 12: 256-257 [PMID: 1680337 DOI: 10.1016/0167-5699(91)90120-I]
- 8 Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccinni MP, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. *J Exp Med* 1993; 177: 1199-1204 [PMID: 8096238 DOI: 10.1084/jem.177.4.1199]
- 9 Hwang ES, Szabo SJ, Schwartzberg PL, Glimcher LH. T helper cell fate specified by kinase-mediated interaction of T-bet with GATA-3. *Science* 2005; 307: 430-433 [PMID: 15662016 DOI: 10.1126/science.1103336]
- 10 Bettelli E, Sullivan B, Szabo SJ, Sobel RA, Glimcher LH, Kuchroo VK. Loss of T-bet, but not STAT1, prevents the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 2004; 200: 79-87 [PMID: 15238607 DOI: 10.1084/jem.20031819]
- 11 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669 [PMID: 10761931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80702-3]
- 12 Lighvani AA, Frucht DM, Jankovic D, Yamane H, Aliberti J, Hissong BD, Nguyen BV, Gadina M, Sher A, Paul WE, O'Shea JJ. T-bet is rapidly induced by interferon-gamma in lymphoid and myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 15137-15142 [PMID: 11752460 DOI: 10.1073/pnas.261570598]
- 13 Usui T, Nishikomori R, Kitani A, Strober W. GATA-3 suppresses Th1 development by downregulation of Stat4 and not through effects on IL-12Rbeta2 chain or T-bet. *Immunity* 2003; 18: 415-428 [PMID: 12648458 DOI: 10.1016/S1074-7613(03)00057-8]
- 14 Szabo SJ, Sullivan BM, Stemmann C, Satoskar AR, Sleckman BP, Glimcher LH. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002; 295: 338-342 [PMID: 11786644 DOI: 10.1126/science.1065543]

## ■名词解释

祖细胞: 在彻底分化前, 能转化成某种中间细胞, 这种中间细胞被称作祖细胞或前体细胞。祖细胞属于成体干细胞, 是未分化的多能或专能干细胞。



## ■同行评价

本文创新点明确,能够结合国内外研究报告进行综合分析,结构合理,具有一定的参考价值。

- 15 Harrington NP, Surujballi OP, Prescott JF. Cervine (*Cervus elaphus*) cytokine mRNA quantification by real-time polymerase chain reaction. *J Wildl Dis* 2006; 42: 219-233 [PMID: 16870845]
- 16 Djuretic IM, Levanon D, Negreanu V, Groner Y, Rao A, Ansel KM. Transcription factors T-bet and Runx3 cooperate to activate *Ifng* and silence *Il4* in T helper type 1 cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 145-153 [PMID: 17195845 DOI: 10.1038/ni1424]
- 17 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164 [PMID: 7636184]
- 18 Vigouroux S, Yvon E, Biagi E, Brenner MK. Antigen-induced regulatory T cells. *Blood* 2004; 104: 26-33 [PMID: 15026316 DOI: 10.1182/blood-2004-01-0182]
- 19 Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor? *Immunity* 2009; 30: 626-635 [PMID: 19464985 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.05.002.]
- 20 Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-352 [PMID: 15785760 DOI: 10.1038/ni1178]
- 21 Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, Parizot C, Taflin C, Heike T, Valeyre D, Mathian A, Nakahata T, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M, Amoura Z, Gorochoy G, Sakaguchi S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 2009; 30: 899-911 [PMID: 19464196 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.019.]
- 22 Zhou X, Bailey-Bucktrout SL, Jeker LT, Penaranda C, Martínez-Llordella M, Ashby M, Nakayama M, Rosenthal W, Bluestone JA. Instability of the transcription factor Foxp3 leads to the generation of pathogenic memory T cells in vivo. *Nat Immunol* 2009; 10: 1000-1007 [PMID: 19633673 DOI: 10.1038/ni.1774.]
- 23 Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 253-257 [PMID: 12658273 DOI: 10.1038/nri1032]
- 24 Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005; 6: 1133-1141 [PMID: 16200068 DOI: 10.1038/ni1261]
- 25 Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1123-1132 [PMID: 16200070 DOI: 10.1038/ni1254]
- 26 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233-240 [PMID: 15657292 DOI: 10.1084/jem.20041257]
- 27 Zhou L, Ivanov IL, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, Levy DE, Leonard WJ, Littman DR. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol* 2007; 8: 967-974 [PMID: 17581537 DOI: 10.1038/ni1488]
- 28 Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. *Immunol Rev* 2008; 223: 87-113 [PMID: 18613831 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00628.x.]
- 29 Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Tato CM, McGeachy MJ, Konkel JE, Ramos HL, Wei L, Davidson TS, Bouladoux N, Grainger JR, Chen Q, Kanno Y, Watford WT, Sun HW, Eberl G, Shevach EM, Belkaid Y, Cua DJ, Chen W, O'Shea JJ. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- $\beta$  signalling. *Nature* 2010; 467: 967-971 [PMID: 20962846 DOI: 10.1038/nature09447]
- 30 Ivanov IL, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelletier A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell* 2006; 126: 1121-1133 [PMID: 16990136 DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.035]
- 31 Brüstle A, Heink S, Huber M, Rosenplänter C, Stadelmann C, Yu P, Arpaia E, Mak TW, Kamradt T, Lohoff M. The development of inflammatory T(H)-17 cells requires interferon-regulatory factor 4. *Nat Immunol* 2007; 8: 958-966 [PMID: 17676043 DOI: 10.1038/ni1500]
- 32 Klimczak A, Lange A. Th17 mediated alloreactivity is facilitated by the pre-transplant microbial burden of the recipient. *Bone Marrow Res* 2012; 2012: 960280 [PMID: 23091728 DOI: 10.1155/2012/960280]
- 33 Ngalamika O, Zhang Y, Yin H, Zhao M, Gershwin ME, Lu Q. Epigenetics, autoimmunity and hematologic malignancies: a comprehensive review. *J Autoimmun* 2012; 39: 451-465 [PMID: 23084980 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.09.002]
- 34 Dubin PJ, Kolls JK. Interleukin-17A and interleukin-17F: a tale of two cytokines. *Immunity* 2009; 30: 9-11 [PMID: 19144313 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.12.010]
- 35 Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 857-863 [PMID: 19578369 DOI: 10.1038/ni.1767]
- 36 Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 864-871 [PMID: 19578368 DOI: 10.1038/ni.1770]
- 37 Wolk K, Witte E, Hoffmann U, Doecke WD, Endesfelder S, Asadullah K, Sterry W, Volk HD, Wittig BM, Sabat R. IL-22 induces lipopolysaccharide-binding protein in hepatocytes: a potential systemic role of IL-22 in Crohn's disease. *J Immunol* 2007; 178: 5973-5981 [PMID: 17442982]
- 38 Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1037-1046 [PMID: 15818686 DOI: 10.1002/art.20965]
- 39 Whittington HA, Armstrong L, Uppington KM, Millar AB. Interleukin-22: a potential immunomodulatory molecule in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 220-226 [PMID: 15039135 DOI: 10.1165/rcmb.2003-0285OC]
- 40 Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, Ellwart J, Sallusto F, Lipp M, Förster R. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell

- follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med* 2000; 192: 1545-1552 [PMID: 11104797 DOI: 10.1084/jem.192.11.1545]
- 41 Schaerli P, Willmann K, Lang AB, Lipp M, Loetscher P, Moser B. CXCR chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function. *J Exp Med* 2000; 192: 1553-1562 [PMID: 11104798 DOI: 10.1084/jem.192.11.1553]
  - 42 Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Follicular helper T cells: lineage and location. *Immunity* 2009; 30: 324-335 [PMID: 19303387 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.003]
  - 43 Johnston RJ, Poholek AC, DiToro D, Yusuf I, Eto D, Barnett B, Dent AL, Craft J, Crotty S. Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation. *Science* 2009; 325: 1006-1010 [PMID: 19608860 DOI: 10.1126/science.1175870]
  - 44 Rodríguez-Pinilla SM, Atienza L, Murillo C, Pérez-Rodríguez A, Montes-Moreno S, Roncador G, Pérez-Seoane C, Domínguez P, Camacho FI, Piris MA. Peripheral T-cell lymphoma with follicular T-cell markers. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 1787-1799 [PMID: 18779728 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817f123e]
  - 45 Rodríguez Pinilla SM, Roncador G, Rodríguez-Peralto JL, Mollejo M, García JF, Montes-Moreno S, Camacho FI, Ortiz P, Limeres-González MA, Torres A, Campo E, Navarro-Conde P, Piris MA. Primary cutaneous CD4<sup>+</sup> small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma expresses follicular T-cell markers. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 81-90 [PMID: 18987541 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31818e52fe]
  - 46 King IL, Mohrs M. IL-4-producing CD4<sup>+</sup> T cells in reactive lymph nodes during helminth infection are T follicular helper cells. *J Exp Med* 2009; 206: 1001-1007 [PMID: 19380638 DOI: 10.1084/jem.20090313]
  - 47 Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, Mitsdoerffer M, Strom TB, Elyaman W, Ho IC, Khoury S, Oukka M, Kuchroo VK. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3<sup>+</sup> T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 1347-1355 [PMID: 18997793 DOI: 10.1038/ni.1677]
  - 48 Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, Helmby H, Westendorf A, Buer J, Martin B, Wilhelm C, Stockinger B. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 2008; 9: 1341-1346 [PMID: 18931678 DOI: 10.1038/ni.1659]
  - 49 Xing J, Wu Y, Ni B. Th9: a new player in asthma pathogenesis? *J Asthma* 2011; 48: 115-125 [PMID: 21294663 DOI: 10.3109/02770903.2011.554944]
  - 50 O'Shea JJ, Paul WE. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4<sup>+</sup> T cells. *Science* 2010; 327: 1098-1102 [PMID: 20185720 DOI: 10.1126/science.1178334]
  - 51 Lee YK, Turner H, Maynard CL, Oliver JR, Chen D, Elson CO, Weaver CT. Late developmental plasticity in the T helper 17 lineage. *Immunity* 2009; 30: 92-107 [PMID: 19119024 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.11.005]
  - 52 Martin-Orozco N, Chung Y, Chang SH, Wang YH, Dong C. Th17 cells promote pancreatic inflammation but only induce diabetes efficiently in lymphopenic hosts after conversion into Th1 cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 216-224 [PMID: 19130584 DOI: 10.1002/eji.200838475]
  - 53 Hegazy AN, Peine M, Helmstetter C, Panse I, Fröhlich A, Berghaler A, Flatz L, Pinschewer DD, Radbruch A, Löhning M. Interferons direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3(+)T-bet(+) cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions. *Immunity* 2010; 32: 116-128 [PMID: 20079668 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.12.004]
  - 54 Beriou G, Costantino CM, Ashley CW, Yang L, Kuchroo VK, Baecher-Allan C, Hafler DA. IL-17-producing human peripheral regulatory T cells retain suppressive function. *Blood* 2009; 113: 4240-4249 [PMID: 19171879 DOI: 10.1182/blood-2008-10-183251]
  - 55 Voo KS, Wang YH, Santori FR, Boggiano C, Wang YH, Arima K, Bover L, Hanabuchi S, Khalili J, Marinova E, Zheng B, Littman DR, Liu YJ. Identification of IL-17-producing FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 4793-4798 [PMID: 19273860 DOI: 10.1073/pnas.0900408106]
  - 56 Elyaman W, Bradshaw EM, Uyttenhove C, Dardalhon V, Awasthi A, Imitola J, Bettelli E, Oukka M, van Snick J, Renauld JC, Kuchroo VK, Khoury SJ. IL-9 induces differentiation of TH17 cells and enhances function of FoxP3<sup>+</sup> natural regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 12885-12890 [PMID: 19433802 DOI: 10.1073/pnas.0812530106]
  - 57 Nowak EC, Weaver CT, Turner H, Begum-Haque S, Becher B, Schreiner B, Coyle AJ, Kasper LH, Noelle RJ. IL-9 as a mediator of Th17-driven inflammatory disease. *J Exp Med* 2009; 206: 1653-1660 [PMID: 19596803 DOI: 10.1084/jem.20090246]
  - 58 Locksley RM. Nine lives: plasticity among T helper cell subsets. *J Exp Med* 2009; 206: 1643-1646 [PMID: 19635860 DOI: 10.1084/jem.20091442]
  - 59 Li H, Nourbakhsh B, Ciric B, Zhang GX, Rostami A. Neutralization of IL-9 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by decreasing the effector T cell population. *J Immunol* 2010; 185: 4095-4100 [PMID: 20805418 DOI: 10.4049/jimmunol.1000986]
  - 60 Jäger A, Dardalhon V, Sobel RA, Bettelli E, Kuchroo VK. Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes. *J Immunol* 2009; 183: 7169-7177 [PMID: 19890056 DOI: 10.4049/jimmunol.0901906]
  - 61 Elyaman W, Bassil R, Bradshaw EM, Orent W, Lahoud Y, Zhu B, Radtke F, Yagita H, Khoury SJ. Notch receptors and Smad3 signaling cooperate in the induction of interleukin-9-producing T cells. *Immunity* 2012; 36: 623-634 [PMID: 22503540 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.01.020]
  - 62 Hultgren C, Milich DR, Weiland O, Sällberg M. The antiviral compound ribavirin modulates the T helper (Th) 1/Th2 subset balance in hepatitis B and C virus-specific immune responses. *J Gen Virol* 1998; 79: 2381-2391 [PMID: 9780043]
  - 63 Mizukoshi E, Sidney J, Livingston B, Ghany M, Hoofnagle JH, Sette A, Rehermann B. Cellular immune responses to the hepatitis B virus polymerase. *J Immunol* 2004; 173: 5863-5871 [PMID: 15494540]
  - 64 Jiang R, Feng X, Guo Y, Lu Q, Hou J, Luo K, Fu N. T helper cells in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 422-424

- [PMID: 11940380]
- 65 Milich DR, Schödel F, Hughes JL, Jones JE, Peterson DL. The hepatitis B virus core and e antigens elicit different Th cell subsets: antigen structure can affect Th cell phenotype. *J Virol* 1997; 71: 2192-2201 [PMID: 9032353]
  - 66 Manigold T, Böcker U, Chen J, Gundt J, Traber P, Singer MV, Rossol S. Hepatitis B core antigen is a potent inducer of interleukin-18 in peripheral blood mononuclear cells of healthy controls and patients with hepatitis B infection. *J Med Virol* 2003; 71: 31-40 [PMID: 12858406 DOI: 10.1002/jmv.10445]
  - 67 Milich DR, Chen MK, Hughes JL, Jones JE. The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid: a mechanism for persistence. *J Immunol* 1998; 160: 2013-2021 [PMID: 9469465]
  - 68 Chen L, Zhang Q, Chang W, Du Y, Zhang H, Cao G. Viral and host inflammation-related factors that can predict the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2012; 48: 1977-1987 [PMID: 22325840 DOI: 10.1016/j.ejca.2012.01.015]
  - 69 Wu W, Li J, Chen F, Zhu H, Peng G, Chen Z. Circulating Th17 cells frequency is associated with the disease progression in HBV infected patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 750-757 [PMID: 20492330 DOI: 10.1111/j.1440-1746.20]
  - 70 Zhang F, Yao S, Yuan J, Zhang M, He Q, Yang G, Gao Z, Liu H, Chen X, Zhou B. Elevated IL-6 receptor expression on CD4+ T cells contributes to the increased Th17 responses in patients with chronic hepatitis B. *Virol J* 2011; 8: 270 [PMID: 21639870 DOI: 10.1186/1743-422X-8-270]
  - 71 Hou W, Kang HS, Kim BS. Th17 cells enhance viral persistence and inhibit T cell cytotoxicity in a model of chronic virus infection. *J Exp Med* 2009; 206: 313-328 [PMID: 19204109 DOI: 10.1084/jem.20082030]
  - 72 Gao B, Waisman A. Th17 cells regulate liver fibrosis by targeting multiple cell types: many birds with one stone. *Gastroenterology* 2012; 143: 536-539 [PMID: 22842060 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.07.031]
  - 73 Marra F, Annunziato F. Immunomodulation: a new approach to the therapy of cirrhosis? *Gut* 2010; 59: 868-869 [PMID: 20581231 DOI: 10.1136/gut.2009.203109]
  - 74 Kuang DM, Peng C, Zhao Q, Wu Y, Chen MS, Zheng L. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma promote expansion of memory T helper 17 cells. *Hepatology* 2010; 51: 154-164 [PMID: 19902483 DOI: 10.1002/hep.23291]
  - 75 Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, Wu C, Li SP, Zheng L. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009; 50: 980-989 [PMID: 19329213 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.033]
  - 76 Stoop JN, van der Molen RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B. *Virology* 2007; 361: 141-148 [PMID: 17184802 DOI: 10.1016/j.virol.2006.11.018]
  - 77 You J, Zhuang L, Zhang YF, Chen HY, Sriplung H, Geater A, Chongsuvivatwong V, Piratvisuth T, McNeil E, Yu L, Tang BZ, Huang JH. Peripheral T-lymphocyte subpopulations in different clinical stages of chronic HBV infection correlate with HBV load. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3382-3393 [PMID: 19610139 DOI: 10.3748/wjg.15.3382]
  - 78 Akbar SM, Horiike N, Chen S, Michitaka K, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Mechanism of restoration of immune responses of patients with chronic hepatitis B during lamivudine therapy: increased antigen processing and presentation by dendritic cells. *J Viral Hepat* 2011; 18: 200-205 [PMID: 20367796 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2010.01300.x]
  - 79 Zhang M, Zhou J, Zhao T, Huang G, Tan Y, Tan S, Fu X, Niu W, Meng G, Chen X, Shang X, Liu D, Ni B, Wang L, Wu Y. Dissection of a circulating and intrahepatic CD4(+)Foxp3(+) T-cell subpopulation in chronic hepatitis B virus (HBV) infection: a highly informative strategy for distinguishing chronic HBV infection states. *J Infect Dis* 2012; 205: 1111-1120 [PMID: 22357657 DOI: 10.1093/infdis/jis011]
  - 80 Tran DQ, Andersson J, Wang R, Ramsey H, Unutmaz D, Shevach EM. GARP (LRRC32) is essential for the surface expression of latent TGF-beta on platelets and activated FOXP3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 13445-13450 [PMID: 19651619 DOI: 10.1073/pnas.0901944106]
  - 81 Zhao W, Su W, Kuang P, Zhang L, Liu J, Yin Z, Wang X. The role of hepatic stellate cells in the regulation of T-cell function and the promotion of hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2012; 41: 457-464 [PMID: 22641338 DOI: 10.3892/ijo.2012.1497]
  - 82 Zhang HH, Mei MH, Fei R, Liu F, Wang JH, Liao WJ, Qin LL, Wei L, Chen HS. Regulatory T cells in chronic hepatitis B patients affect the immunopathogenesis of hepatocellular carcinoma by suppressing the anti-tumour immune responses. *J Viral Hepat* 2010; 17 Suppl 1: 34-43 [PMID: 20586932]
  - 83 Li J, Wu W, Peng G, Chen F, Bai M, Zheng M, Chen Z. HBcAg induces interleukin-10 production, inhibiting HBcAg-specific Th17 responses in chronic hepatitis B patients. *Immunol Cell Biol* 2010; 88: 834-841 [PMID: 20498672 DOI: 10.1038/icb.2010.63]
  - 84 Li J, Qiu SJ, She WM, Wang FP, Gao H, Li L, Tu CT, Wang JY, Shen XZ, Jiang W. Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17 (Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis. *PLoS One* 2012; 7: e39307 [PMID: 22745730 DOI: 10.1371/journal.pone.0039307]
  - 85 Park O, Wang H, Weng H, Feigenbaum L, Li H, Yin S, Ki SH, Yoo SH, Dooley S, Wang FS, Young HA, Gao B. In vivo consequences of liver-specific interleukin-22 expression in mice: Implications for human liver disease progression. *Hepatology* 2011; 54: 252-261 [PMID: 21465510 DOI: 10.1002/hep.24339]
  - 86 Zhang Y, Cobleigh MA, Lian JQ, Huang CX, Booth CJ, Bai XF, Robek MD. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2011; 141: 1897-1906 [PMID: 21708106 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.051]
  - 87 Wang Z, Yang L, Jiang Y, Ling ZQ, Li Z, Cheng Y, Huang H, Wang L, Pan Y, Wang Z, Yan X, Chen Y. High fat diet induces formation of spontaneous liposarcoma in mouse adipose tissue with overexpression of interleukin 22. *PLoS One* 2011; 6: e23737 [PMID: 21897855 DOI: 10.1371/journal.pone.0023737]
  - 88 Jiang R, Tan Z, Deng L, Chen Y, Xia Y, Gao Y, Wang X, Sun B. Interleukin-22 promotes human



hepatocellular carcinoma by activation of STAT3. *Hepatology* 2011; 54: 900-909 [PMID: 21674558 DOI: 10.1002/hep.24486]  
89 Feng J, Lu L, Hua C, Qin L, Zhao P, Wang J, Wang

Y, Li W, Shi X, Jiang Y. High frequency of CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup> TFH cells in patients with immune-active chronic hepatitis B. *PLoS One* 2011; 6: e21698 [PMID: 21750724 DOI: 10.1371/journal.pone.0021698]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

# 百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

**本刊讯** 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊。12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文。12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

# 脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展

廖金卯, 胡小宣

## ■背景资料

肝硬化的基础内科治疗不理想, 人脐血间充质干细胞移植作为近年来开展起来的一种全新的治疗手段, 为肝硬化患者的治疗带来希望。

廖金卯, 胡小宣, 湖南省人民医院肝病内科 湖南省长沙市 410006

廖金卯, 硕士, 主要从事肝硬化的治疗。

作者贡献分布: 本文综述由廖金卯完成; 胡小宣审校。

通讯作者: 胡小宣, 教授, 主任医师, 410006, 湖南省长沙市解放西路61号, 湖南省人民医院肝病内科。hxx5527392@sina.com  
电话: 0731-83928059

收稿日期: 2012-12-22 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-02-28

## Transplantation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis: Research progress

Jin-Mao Liao, Xiao-Xuan Hu

Jin-Mao Liao, Xiao-Xuan Hu, Department of Hepatology, People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410006, Hunan Province, China

Correspondence to: Xiao-Xuan Hu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410006, Hunan Province, China. hxx5527392@sina.com

Received: 2012-12-22 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-02-28

## Abstract

Cirrhosis is a serious threat to human health. Currently, there have been no available radical measures that can effectively block the process of this disease. The research progress in the field of stem cells brings an opportunity for the treatment of cirrhosis. Having a wide variety of sources, weak immunogenicity, and strong proliferation and differentiation ability, human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells have been demonstrated to be promising in the treatment of liver cirrhosis. This article reviews the biological characteristics of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells and their application in the treatment of cirrhosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cord blood; Mesenchymal stem cells; Liver cirrhosis; Transplantation

Liao JM, Hu XX. Transplantation of umbilical cord

blood-derived mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis: Research progress. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(6): 508-513 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.508>

## 摘要

肝硬化是严重威胁人类健康的疾病之一, 目前尚无一种能够普遍开展的有效阻断该疾病进程的根治措施。干细胞领域的研究进展为肝硬化的治疗带来了契机。具有来源广泛、免疫原性弱、增殖分化能力强等优势的人脐血间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)已在相关的基础及临床研究报道中展现出诱人临床应用价值。本文就脐血MSCs的生物学特性及其在治疗肝硬化方面的应用研究作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 脐血; 间充质干细胞; 肝硬化; 移植

廖金卯, 胡小宣. 脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 508-513 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.508>

## 0 引言

肝硬化是各种慢性肝病发展的终末期表现, 以肝纤维组织增生, 假小叶形成为典型特征, 此时正常的肝细胞大量受损破坏, 肝实质细胞数量减少, 当肝脏受到的损害超过其代偿功能时, 将导致肝其合成、储备、解毒、免疫等各项功能的严重不足, 随之产生一系列与之相应的临床症状和表现, 严重威胁人们的健康。目前对于肝硬化尚缺乏有效的治疗措施, 肝移植由于种种条件的限制, 阻碍了其在临床的广泛开展。寻求和探索一种新的肝硬化治疗技术成为了人们努力的方向。干细胞领域的研究探索, 使具有来源广泛、免疫原性弱、增殖分化能力强等优势的人脐血MSCs在治疗终末期肝病方面, 展现出诱人的临床应用价值, 有望为相关终末期肝病的治疗带来突破<sup>[1-5]</sup>。

## ■同行评议者

徐洪, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

## 1 脐血MSCs的生物学特性

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是机体内存在的一类具有自我增殖和多向分化潜能<sup>[6-9]</sup>的多能干细胞. 大量研究表明MSCs能向各个胚层来源的多种细胞分化, 具有强大的可塑性. 在一定的微环境中MSCs可被诱导分化为肝细胞、成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、骨骼肌细胞等<sup>[10-18]</sup>, 在组织工程、基因工程以及临床应用上有着很大的应用价值. 目前科研工作者已经在骨髓<sup>[19]</sup>、脂肪<sup>[20]</sup>、皮肤<sup>[21]</sup>、脑<sup>[22]</sup>等许多组织中分离出了MSCs, 且普遍认为骨髓是其最主要的来源. 然而骨髓的采集是有创性操作, 会给取材者带来痛苦, 且所采集的MSCs的增殖能力、数量与供者的年龄及身体条件等相关. 自2000年Erices等<sup>[23]</sup>首次从人类脐血中分离出MSCs以后, 人们发现脐血MSCs与其他来源的MSCs相比具有来源广、采集方便、取材无痛苦、免疫原性低、更原始、增值分化能力更强以及不涉及伦理问题等优点.

MSCs在形态上类似成纤维细胞, 呈梭形平行排列或漩涡样生长, 其核浆比值大, 核仁明显. 目前研究认为, 脐血MSCs具有多种细胞表面抗原, 但无特异性的表面抗原特征, 据已有的报道, 迟作华等<sup>[24]</sup>总结了脐血MSCs表达的主要分子, 包括: (1)黏附分子: 如CD13、CD44、CD51、CD54等; (2)整合素家族: 如CD29、CD49b、CD49e等; (3)其他: 如CD90、CD105、HLA-ABG、ASMA、CD73等. 但不表达CD34、CD45、CD2、CD3、CD4、CD8、CD14、CD15、CD16、CD19、CD24、CD33、CD38、CD117、CD133、CD135等造血谱系的细胞标记, 也不表达B7-1、B7-2及HLA-DR抗原等. 目前主要通过观察细胞形态, 检测免疫表型以及观察其多向分化功能等对其进行鉴定<sup>[25,26]</sup>.

## 2 脐血MSCs的分离与培养

目前脐血MSCs的分离方法主要有密度梯度离心、羟乙基淀粉沉降法、单克隆抗体流式细胞仪分析法、免疫磁珠分选法等. 羟乙基淀粉沉降法, 存在细胞回收率低、所需时间较长, 操作复杂等不足; 单克隆抗体流式细胞仪分析法、免疫磁珠分选法通过识别不同的细胞表面分子标记而分选细胞, 所分离细胞的纯度和活力均较高, 但由于所需费用较多, 而限制了在实验研究中广泛应用; 密度梯度离心法: 此方法最初从脐带血中分离出的是单个核细胞层, 需要再依

据MSCs体外培养贴壁生长的特性, 使用细胞贴壁筛选法将其从单个核细胞中分离出来. 此法简单有效, 节省时间, 成本低, 对细胞的损伤小, 且能较好的保持细胞活性, 但最初成分相对复杂、纯度不高, 需进行后续的培养纯化<sup>[27]</sup>.

人脐血MSCs的培养目前还没有形成统一确定的培养条件, 存在多种因素影响细胞的分离和培养, 如胎龄、收集的脐带血量、单个核细胞数、脐血分离时间、接种的细胞密度、传代和换液的时间以及培养基的选择等. DMEM低糖培养基联合胎牛血清是目前常用的培养条件. 但是研究认为, 在某些情况下胎牛血清促MSCs分化的作用要强于促进其增殖的作用, 因此在以细胞扩增为目的的培养时, 选择低血清或无血清培养基可能更适宜<sup>[28]</sup>. Bieback等<sup>[29]</sup>研究表明, 从脐血中提取MSCs需要注意: 收集的脐血应尽早进行处理, 以不超过15 h为宜; 每份脐血量不能少于33 mL; 脐血中所含单个核细胞的数不能少于 $1 \times 10^8$ . 此外, Campagnoli等<sup>[30]</sup>指出, 相比足月儿, 在早产儿的脐血中所含的MSCs可能更原始, 有更强的增殖分化能力, 脐血中MSCs数量也会随着妊娠时间的延长而逐渐减少. 因此, 早期报道脐血中分离不出MSCs可能与此相关.

## 3 脐血MSCs在肝硬化方面的应用

3.1 肝纤维化及肝硬化的损伤与修复机制 正常情况下, 肝脏的各种细胞和细胞外基质有着精确的比例和特定的空间结构, 通过各种细胞因子的信号调控, 而维持一个相对稳定的微环境. 肝脏受损后, 典型的修复过程涉及两个时期: 一个是再生期, 新生的肝细胞替代受损肝细胞发挥作用. 新生肝细胞来源包括: (1)成熟肝细胞, 通过有限的有丝分裂补充肝细胞的数量, 其增殖能力及修复作用有限; (2)肝前体细胞, 其分类上属于专能干细胞的一种, 肝脏受损时可定向增殖分化为肝细胞或胆管上皮细胞参与肝脏修复, 能起到一定的代偿修复作用, 但肝内的所含数量有限, 在增殖分化能力上可能弱于多能干细胞; (3)非肝源性多能干细胞, 如脐血MSCs、骨髓MSCs等, 此类细胞具有强大的增殖分化能力, 数量有限但在肝损害的微环境下可以增殖分化出较多的肝细胞, 因此是理想的肝脏修复原料<sup>[31]</sup>. 另一个则是纤维组织增生期, 该阶段纤维结缔组织代替了肝正常的实质组织. 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是形成肝纤

### ■研发前沿

在治疗肝硬化方面, 脐血间充质干细胞发挥治疗作用的机制是目前研究的热点, 其远期安全性需进一步探讨.



## ■相关报道

国内利用脐血干细胞移植治疗肝硬化的基础及临床研究正相继开展,胡小宣等均证实采用脐血干细胞治疗肝硬化患者可以取得一定的疗效。

维化的最主要细胞,在肝脏受到刺激而被激活时,一系列细胞因子、生长因子、趋化因子均参与到了纤维化形成的过程中,如IL-13、IL-21、MMPs、TIMPs、TGF- $\beta$ 1、PDGF、VEGF等<sup>[32]</sup>,使得细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成增加,胶原合成过多,此外,肝Kupffer细胞和肝细胞自身亦有合成胶原的功能。这些代偿尽管初期是有益的,但若持续进行,修复过程会导致ECM的过度积累,而最终导致肝硬化和肝衰竭<sup>[33]</sup>。

3.2 脐血间充质干细胞的移植途径 移植途径的选择可能会直接影响到移植细胞的归巢定植量,进而影响治疗效果。临床上细胞的移植途径主要包括经股动脉介入移植、门静脉移植、肝内移植、脾内移植、外周静脉移植、腹腔移植等。

3.2.1 经股动脉介入移植:在X线监视下,股动脉穿刺插管至肝动脉,将制备好的脐血MSCs沿导管从肝动脉缓慢注入。由于介入技术广泛开展,此种方法操作熟练,在临床上开展也较多。

3.2.2 门静脉移植:门静脉血液中含有丰富的促进细胞生长的营养成分,移植的细胞经血流到达肝血窦后,可缓慢向肝索迁移,并在肝脏损伤所释放的细胞因子诱导下在肝内定植,重复的门静脉移植可增加细胞在肝内定植数,起到更好的治疗效果,相比外周血更具有优势<sup>[34]</sup>。但门静脉移植时具有出血倾向,受到凝血功能的限制,且肝硬化时如果门脉压显著增高,移植的细胞可随侧支循环较多分散到其他部位。

3.2.3 肝内移植:此方法也是进行干细胞移植的治疗途径之一,但由于具有出血倾向,以及移植的细胞可能直接进入中央静脉而使产生肺栓塞的风险增加,故临床上很少开展。

3.2.4 脾内移植:可减少因肝脏微环境严重破坏,而导致的移植细胞不易存活;可降低因门静脉直接注射而导致的栓塞的风险,但脾内定植的细胞多呈结节样生长,且对于肝脏损伤的确切疗效尚不明确。

3.2.5 外周静脉移植:此方法移植的细胞是否会因在全身的分散定植而增加致癌性,是否会由于肺脏的滤筛等而导致最终归巢细胞数量不足,以及能否最终发挥治疗的效果,仍没有确切定论。

3.2.6 腹腔移植:腹腔移植简单,但所需细胞量大,可能导致腹腔内粘连,移植的细胞难直接进入受损肝脏,疗效待考证,且在腹腔内所处环境存活时间不长。

3.3 脐血MSCs的在治疗肝硬化方面的应用研究

3.3.1 基础研究:间充质干细胞作为一种具有横

向分化能力的多能干细胞,近年来大量研究表明在合适的培养条件下其在体内外均可以向肝细胞分化。2000年,日本学者Oh等<sup>[35]</sup>使用大鼠骨髓干细胞,加入不同浓度的HGF进行体外诱导培养之后检测到了鼠源性CK18、CK8、AFP等肝细胞特异性标志,发现了骨髓干细胞可以分化为肝样细胞;2002年, Danet等<sup>[2]</sup>经过体外实验证实脐血干细胞也是可以向肝细胞分化的,随后Hong等<sup>[3]</sup>提出了同样的观点。任红英等<sup>[36]</sup>通过实验指出,脐血MSCs不仅可以在体外分化为有功能的肝样细胞,而且证实了其免疫原性低。2003年, Kakinuma等<sup>[37]</sup>通过报道指出,脐血MSCs在体外和体内均可诱导成为肝样细胞。Beerheide等<sup>[38]</sup>将从脐带血中分离的MSCs荧光标记后移植到严重联合免疫缺陷(severe combined immunodeficiency disease, SCID)大鼠的肝脏内,移植后1 wk检测发现移植的细胞已整合到SCID鼠的肝脏组织里面,并检出了人源性的白蛋白的表达。Tang等<sup>[39]</sup>还通过脐血干细胞移植的动物实验指出,移植的脐带血干细胞不仅对老鼠的重型肝炎具有疗效,而且对合并的心肌损伤也有治疗作用。

目前对于移植的MSCs发挥治疗作用的具体机制还不是很明确。部分研究认为脐血MSCs产生治疗作用的机制可能包括:(1)直接分化:在肝脏微环境的影响下定植,增殖,并分化成为肝细胞,发挥作用,改善肝功能;(2)旁分泌途径:在肝损伤环境中MSCs可以分泌不同水平的细胞因子相互影响,表现出抗炎症反应的作用,并可能激活肝内的肝干细胞,促进肝细胞再生<sup>[40]</sup>;(3)细胞融合:MSCs可能直接与肝细胞融合,进而启动细胞的增殖过程;(4)抑制产生细胞外基质的HSC的活化,有研究表明在体外HSC的增殖活性会受到MSCs的明显抑制<sup>[41]</sup>;(5)直接降解肝内过量沉积的ECM,减轻肝纤维化。Yamamoto等<sup>[42]</sup>通过实验证明MSCs通过高表达基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)而降解ECM,逆转肝纤维化;(6)激活受损肝细胞,在一定程度上启动内源性肝细胞增殖过程等。基础研究的开展给脐血干细胞的临床应用提供了理论指导。

3.3.2 临床应用研究:脐血干细胞移植在肝病治疗方面的临床研究证实,经干细胞治疗后的患者,其临床一般情况好转,肝功能改善。胡小宣等<sup>[43]</sup>统计了34例失代偿期肝硬化患者经脐血干细胞移植治疗后的效果,术后1 mo, 32例患者食欲改善, 29例患者体力好转, 28例腹胀减轻。25

例并发腹水患者术后1 mo, 15例腹水明显减少, 9例腹水消失。术后6 mo血清白蛋白(albumin, ALB)逐渐升高, 由 $30.9 \text{ g/L} \pm 0.6 \text{ g/L}$ 升至 $35.5 \text{ g/L} \pm 2.5 \text{ g/L}$ ; 丙氨酸氨基转移酶(alanine amino-transferase, ALT)由 $57 \text{ U/L} \pm 7 \text{ U/L}$ 降至 $46 \text{ U/L} \pm 10 \text{ U/L}$ ; 总胆红素由 $47 \mu\text{mol/L} \pm 5 \mu\text{mol/L}$ 下降至 $25 \mu\text{mol/L} \pm 4 \mu\text{mol/L}$ ; 凝血酶原时间由 $(17.9 \pm 0.7)$ 降至 $(16.4 \pm 1.3)$ ; 术后未发现严重不良反应, 提示脐血干细胞移植安全可行, 可不同程度改善肝功能。Zhang等<sup>[44]</sup>统计20例肝硬化失代偿期患者脐血干细胞移植的临床疗效, 患者腹腔积液减少率为75%, 乏力好转率为80%, 肝病面容、肝掌及蜘蛛痣减轻率为70%。乔飞等<sup>[45]</sup>、杨宏丽等<sup>[46]</sup>采用脐血干细胞移植治疗肝硬化也均取得了一定疗效。上述研究报道虽然存在纳入病例数较少, 暂无法长期追踪观察进行疗效评价等局限性, 但是初步临床疗效是积极肯定的, 这均表明脐血间充质干细胞移植不失为治疗肝硬化、终末期肝病的另一种有效治疗选择。

**3.4 脐血MSCs移植的安全性** 安全性是细胞移植治疗应用于临床前需要特别关注的问题, 目前对于安全性的探讨包括多个方面: 如: (1)血栓性微血管病(thrombotic microangiopathies, TMA): 是指以病理表现为微血管内皮损伤、官腔狭窄和微血栓形成的一组疾病, 严重的可导致多器官功能衰竭, 病死率高<sup>[47]</sup>。在干细胞移植的过程中, 由于细胞的体外分离、培养, 原始的一些生物学特性可能受到干预, 细胞移植后可能在各种细胞因子的作用下而导致血管内皮细胞的损害, 诱发TMA<sup>[48]</sup>; (2)免疫排斥: 目前认为脐血MSCs作为一种较原始细胞, 不表达MHC II类分子, 低表达或不表达MHC I类分子, 免疫源性很低, 可逃脱宿主的免疫排斥反应, 并有可能成为同种异体细胞移植的来源; (3)致癌作用: 这是细胞移植治疗后的一个很重要的问题, 也是近年来研究者所关注的, 在肿瘤起源学说中有人指出“肿瘤细胞的产生可能最初来源于异常分化的干细胞”<sup>[49]</sup>。原始的MSCs在整个体内的含量都较少, 一份脐血所能直接提取的MSCs有限, 需要通体外的适当扩增才能满足移植的需求, 然而, 在离开自身脐血环境下的分离培养、传代扩增等, 都会对细胞产生一定的影响, 随着时间的延长, 损伤可能导致细胞染色体结构的变化, 当最后累积的损伤到达一定程度时而导致有害基因突变。Kunkel等<sup>[50]</sup>指出, 在细胞过程中, 每一次分裂就有一次基因突变的可能。遗传

性状的改变最终可能使移植的干细胞出现意想不到的分化, 甚至瘤样分化。

## 4 结论

脐血MSCs自身的独特优势和其在基础及临床上的研究进展, 使之在治疗肝硬化方面显示了诱人的临床应用前景。然而在此技术成熟的开展前所亟待解决的问题也还有很多: (1)MSCs经提取后是进行直接体内移植还是体外培养较纯化后进行移植? (2)MSCs提取的最佳方式、体外培养的最适应环境, 能否达成统一的执行标准? (3)移植的最佳细胞数目, 移植的最佳时间、反复移植的疗效评价标准? (4)移植细胞的归巢定植的具体机制? (5)移植细胞发挥治疗作用的具体机制? (6)远期安全性的评价? 是否会具有致癌作用? 等都是需要继续努力的方向。为使脐血MSCs作为种子细胞, 在临床终末期肝病的治疗道路上发挥决定性作用, 不断的研究和探索工作任重而道远。

## 5 参考文献

- 1 Capla JM, Grogan RH, Callaghan MJ, Galiano RD, Tepper OM, Ceradini DJ, Gurtner GC. Diabetes impairs endothelial progenitor cell-mediated blood vessel formation in response to hypoxia. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 59-70 [PMID: 17255657 DOI: 10.1097/01.prs.0000244830.16906.3f]
- 2 Danet GH, Luongo JL, Butler G, Lu MM, Tenner AJ, Simon MC, Bonnet DA. C1qR defines a new human stem cell population with hematopoietic and hepatic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 10441-10445 [PMID: 12140365 DOI: 10.1073/pnas.162104799]
- 3 Hong SH, Gang EJ, Jeong JA, Ahn C, Hwang SH, Yang IH, Park HK, Han H, Kim H. In vitro differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 330: 1153-1161 [PMID: 15823564 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.03.086]
- 4 陈海鸥, 胡小宣, 刘红娟, 钱林. 脐血干细胞移植治疗肝硬化的疗效观察. *中华肝病杂志* 2010; 18: 537-538
- 5 Jung KH, Shin HP, Lee S, Lim YJ, Hwang SH, Han H, Park HK, Chung JH, Yim SV. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model. *Liver Int* 2009; 29: 898-909 [PMID: 19422480 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02031.x]
- 6 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49 [PMID: 12077603 DOI: 10.1038/nature00870]
- 7 Yang CC, Shih YH, Ko MH, Hsu SY, Cheng H, Fu YS. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete

## ■应用要点

国内外脐血间充质干细胞移植治疗肝硬化取得了很大进展, 但诸多问题仍亟待解决。

## ■名词解释

间充质干细胞: 干细胞家族的重要成员, 来源于发育早期的中胚层和外胚层, 是可形成多种细胞类型的多能干细胞, 但不具备发育为完整个体的能力。

- transection of the rat spinal cord. *PLoS One* 2008; 3: e3336 [PMID: 18852872 DOI: 10.1371/journal.pone.0003336]
- 8 Chang SJ, Weng SL, Hsieh JY, Wang TY, Chang MD, Wang HW. MicroRNA-34a modulates genes involved in cellular motility and oxidative phosphorylation in neural precursors derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *BMC Med Genomics* 2011; 4: 65 [PMID: 21923954 DOI: 10.1186/1755-8794-4-65]
- 9 Zhao Z, Chen Z, Zhao X, Pan F, Cai M, Wang T, Zhang H, Lu JR, Lei M. Sphingosine-1-phosphate promotes the differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into cardiomyocytes under the designated culturing conditions. *J Biomed Sci* 2011; 18: 37 [PMID: 21645412 DOI: 10.1186/1423-0127-18-37]
- 10 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147 [PMID: 10102814 DOI: 10.1126/science.284.5411.143]
- 11 Ni WF, Yin LH, Lu J, Xu HZ, Chi YL, Wu JB, Zhang N. In vitro neural differentiation of bone marrow stromal cells induced by cocultured olfactory ensheathing cells. *Neurosci Lett* 2010; 475: 99-103 [PMID: 20347932 DOI: 10.1016/j.neulet.2010.03.056]
- 12 Gang EJ, Hong SH, Jeong JA, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, Ahn C, Han H, Kim H. In vitro mesenchymal potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 102-108 [PMID: 15358221 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.06.111]
- 13 Goodwin HS, Bicknese AR, Chien SN, Bogucki BD, Quinn CO, Wall DA. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 581-588 [PMID: 11760145 DOI: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11760145]
- 14 Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, Ahn C, Han H, Kim H. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22: 617-624 [PMID: 15277707 DOI: 10.1634/stemcells.22-4-617]
- 15 Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103: 1669-1675 [PMID: 14576065 DOI: 10.1182/blood-2003-05-1670]
- 16 Kim JW, Kim SY, Park SY, Kim YM, Kim JM, Lee MH, Ryu HM. Mesenchymal progenitor cells in the human umbilical cord. *Ann Hematol* 2004; 83: 733-738 [PMID: 15372203 DOI: 10.1007/s00277-004-0918-z]
- 17 Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, Sano M, Takahashi T, Hori S, Abe H, Hata J, Umezawa A, Ogawa S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999; 103: 697-705 [PMID: 10074487 DOI: 10.1172/JCI5298]
- 18 Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, Chen JR, Chen YP, Lee OK. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 2004; 40: 1275-1284 [PMID: 15562440 DOI: 10.1002/hep.20469]
- 19 Krampera M, Marconi S, Pasini A, Galiè M, Rigotti G, Mosna F, Tinelli M, Lovato L, Anghileri E, Andreini A, Pizzolo G, Sbarbati A, Bonetti B. Induction of neural-like differentiation in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, fat, spleen and thymus. *Bone* 2007; 40: 382-390 [PMID: 17049329 DOI: 10.1016/j.bone.2006.09.006]
- 20 Hoogduijn MJ, Crop MJ, Peeters AM, Van Osch GJ, Balk AH, Ijzermans JN, Weimar W, Baan CC. Human heart, spleen, and perirenal fat-derived mesenchymal stem cells have immunomodulatory capacities. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 597-604 [PMID: 17784833 DOI: 10.1089/scd.2006.0110]
- 21 Bernard BA. [Human skin stem cells]. *J Soc Biol* 2008; 202: 3-6 [PMID: 18460303 DOI: 10.1051/jbio: ]
- 22 Jordan PM, Ojeda LD, Thonhoff JR, Gao J, Boehning D, Yu Y, Wu P. Generation of spinal motor neurons from human fetal brain-derived neural stem cells: role of basic fibroblast growth factor. *J Neurosci Res* 2009; 87: 318-332 [PMID: 18803285 DOI: 10.1002/jnr.21856]
- 23 Erices A, Conget P, Minguel JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109: 235-242 [PMID: 10848804 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.01986.x]
- 24 迟作华, 张涇. 脐带血间充质干细胞的研究进展. 国际生物医学工程杂志 2006; 29: 29-34
- 25 Chang YJ, Tseng CP, Hsu LF, Hsieh TB, Hwang SM. Characterization of two populations of mesenchymal progenitor cells in umbilical cord blood. *Cell Biol Int* 2006; 30: 495-499 [PMID: 16731010 DOI: 10.1016/j.cellbi.2005.12.009]
- 26 Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, Rice C, Bradley B, Hows JM. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol* 2003; 121: 368-374 [PMID: 12694261 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04284.x]
- 27 金光鑫, 吴德全. 脐带血间充质干细胞研究进展. 国际移植与血液净化杂志 2006; 4: 45-48
- 28 程范军, 邹萍, 仲照东, 郭荣, 肖娟. 人脐血间充质干/祖细胞的生长特征. 中国实验血液学杂志 2003; 11: 565-568
- 29 Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22: 625-634 [PMID: 15277708 DOI: 10.1634/stemcells.22-4-625]
- 30 Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood* 2001; 98: 2396-2402 [PMID: 11588036 DOI: 10.1182/blood.V98.8.2396]
- 31 Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology* 2001; 33: 738-750 [PMID: 11230756 DOI: 10.1053/jhep.2001.21900]
- 32 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
- 33 Serrano AL, Mann CJ, Vidal B, Ardite E, Perdiguer E, Muñoz-Cánoves P. Cellular and molecular mechanisms regulating fibrosis in skeletal muscle repair and disease. *Curr Top Dev Biol* 2011; 96: 167-201 [PMID: 21621071 DOI: 10.1016/B978-0-12-385940-2.00007-3]
- 34 Haga J, Wakabayashi G, Shimazu M, Tanabe M, Takahara T, Azuma T, Sato Y, Hakamata Y, Ko-



- bayashi E, Kitajima M. In vivo visualization and portally repeated transplantation of bone marrow cells in rats with liver damage. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 319-328 [PMID: 17521242 DOI: 10.1089/scd.2006.0086]
- 35 Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, Inoue Y, Sakaguchi M, Tsuji T, Shima N, Higashio K, Namba M. Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 500-504 [PMID: 11118315 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3985]
- 36 任红英, 赵钦军, 邢文, 杨少光, 卢士红, 任倩, 张磊, 韩忠朝. 脐带间充质干细胞体外分化为有功能的低免疫原性肝细胞样细胞. *中国医学科学院学报* 2010; 32: 190-194
- 37 Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, Watanabe M, Shimizu-Saito K, Hara Y, Teramoto K, Arii S, Sato C, Takase K, Yasumizu T, Teraoka H. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 2003; 21: 217-227 [PMID: 12634418 DOI: 10.1634/stemcells.21-2-217]
- 38 Beerheide W, von Mach MA, Ringel M, Fleckenstein C, Schumann S, Renzing N, Hildebrandt A, Brenner W, Jensen O, Gebhard S, Reifenberg K, Bender J, Oesch F, Hengstler JG. Downregulation of beta2-microglobulin in human cord blood somatic stem cells after transplantation into livers of SCID-mice: an escape mechanism of stem cells? *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 294: 1052-1063 [PMID: 12074584 DOI: 10.1016/S0006-291X(02)00596-X]
- 39 Tang XP, Yang X, Zhang M, Wang WL, Chen LM. [Clinical and experimental study of the therapeutic effect of umbilical cord blood stem cell transplantation on liver failure and heart damage in severe viral hepatitis patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2005; 13: 259-263 [PMID: 15850511]
- 40 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982 DOI: 10.1371/journal.pone.0000941]
- 41 Kim WH, Matsumoto K, Bessho K, Nakamura T. Growth inhibition and apoptosis in liver myofibroblasts promoted by hepatocyte growth factor leads to resolution from liver cirrhosis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1017-1028 [PMID: 15793283 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62323-1]
- 42 Yamamoto N, Terai S, Ohata S, Watanabe T, Omori K, Shinoda K, Miyamoto K, Katada T, Sakaida I, Nishina H, Okita K. A subpopulation of bone marrow cells depleted by a novel antibody, anti-Liv8, is useful for cell therapy to repair damaged liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 1110-1118 [PMID: 14706657 DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.12.044]
- 43 胡小宣, 陈海鸥, 钱林, 刘莉, 陈峰, 张征, 刘洪娟. 经肝动脉脐血干细胞移植治疗肝硬化的临床应用. *中华全科医生杂志* 2011; 10: 58-60
- 44 Zhang LX, Xing LH, Zhag LL, Tao QQ, Liu Y, Guo LJ, Huang YH. The therapeutic effect of the umbilical blood stem cell transplantation in the patients with cirrhosis. *Chinese General Practice* 2010; 13: 2680-2682
- 45 乔飞, 张馨, 盛云峰, 耿家宝, 陈小军, 钟晶, 赵颖, 隋云华, 何长伦, 高蕾, 汪茂荣. 脐带血干细胞治疗肝硬化失代偿期疗效观察. *中国肝脏病杂志* 2011; 3: 10-13
- 46 杨宏丽, 于发涛, 李桂杰, 陈自平, 李坤, 徐昌青. 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化86例疗效观察. *山东医药* 2010; 50: 16-17
- 47 Uccelli A, Pistoia V, Moretta L. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol* 2007; 28: 219-226 [PMID: 17400510 DOI: 10.1016/j.it.2007.03.001]
- 48 胡菱, 韩明子, 薛洪璐, 景德怀. 干细胞移植的安全性分析. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 18-20
- 49 Tsai RY. A molecular view of stem cell and cancer cell self-renewal. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 684-694 [PMID: 15010332 DOI: 10.1016/j.biocel.2003.10.016]
- 50 Kunkel TA, Bebenek K. DNA replication fidelity. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 497-529 [PMID: 10966467 DOI: 10.1146/annurev.biochem.69.1.497]

## ■同行评价

本文综述了脐血MSCs移植治疗肝硬化的进展, 具有较好的参考价值; 文章内容较为全面, 基本涵盖脐血MSCs机制、临床等方面的研究进展。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## ●消息●

# 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

# 胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系

杨梓琪, 樊利芳

## ■背景资料

胆管癌是原发于肝内或肝外胆管上皮的恶性肿瘤, 近年来其发病率在全球范围内升高, 表皮生长因子受体(EGFR)的信号传导关乎细胞的凋亡、增殖、分化、迁移和周期循环, 与肿瘤的形成和恶化息息相关, 综合阐述胆管癌EGFR信号通路、*k-ras*基因及其有效的靶向治疗方法, 对于发展胆管癌治疗的新方向具有十分重要的意义。

杨梓琪, 樊利芳, 武汉大学基础医学院病理教研室 湖北省武汉市 430071

杨梓琪, 主要从事消化系统疾病的病理研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81000987

作者贡献分布: 本文综述由杨梓琪完成; 樊利芳审核。

通讯作者: 樊利芳, 副教授, 430071, 湖北省武汉市东湖路185号, 武汉大学基础医学院病理教研室. lifangfan@whu.edu.cn  
电话: 027-68759735

收稿日期: 2012-09-27 修回日期: 2012-11-11

接受日期: 2012-11-23 在线出版日期: 2013-02-28

## EGFR signaling pathway and targeted therapy for cholangiocarcinoma

Zi-Qi Yang, Li-Fang Fan

Zi-Qi Yang, Li-Fang Fan, Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81000987

Correspondence to: Li-Fang Fan, Associate Professor, Department of Pathology, School of Basic Medical Science, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China. lifangfan@whu.edu.cn

Received: 2012-09-27 Revised: 2012-11-11

Accepted: 2012-11-23 Published online: 2013-02-28

## Abstract

Cholangiocarcinoma has a poor prognosis and is difficult to detect in early stage. Overexpression of epidermal growth factor receptor (EGFR) plays an important role in the evolution of malignant tumors, and EGFR-targeted therapy has become a hotspot in cancer treatment. Various monoclonal antibodies and small molecule tyrosine kinase inhibitors targeting EGFR have been developed. Currently, there have been only very few reported clinical trials that assessed the efficacy of EGFR-targeted drugs in the management of cholangiocarcinoma. A comprehensive description of the EGFR signaling pathway and EGFR-targeted treatment for cholangiocarcinoma has great significance for the treatment of this malignancy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cholangiocarcinoma; EGFR signaling

pathway; *k-ras*; Cetuximab; Tyrosine kinase inhibitors; Targeted therapy

Yang ZQ, Fan LF. EGFR signaling pathway and targeted therapy for cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 514-520 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/514.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.514>

## 摘要

胆管癌早期诊断困难, 预后差。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的过表达在恶性肿瘤的演进中起重要作用。以EGFR为靶点进行靶向治疗已成为肿瘤治疗的热点, 研究人员已开发出针对EGFR家族的一些抗体及抑制剂, 并进行细胞学实验及临床试验, 取得了初步效果。目前用于EGFR靶向性治疗肿瘤的药物主要分为两类: EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶拮抗剂。这些EGFR靶向性治疗药物在胆管癌方面的研究, 主要限于体外实验阶段, 临床仅有极少量试验性报道。因此, 综合阐述胆管癌EGFR信号通路、对其有效的靶向治疗方法及*k-ras*等基因的状况对于EGFR靶向治疗和胆管癌预后的影响, 对于发展胆管癌治疗的新方向、深入胆管癌临床治疗的研究具有十分重要的意义。

© 2013版权归Baishideng所有。

关键词: 胆管癌; 表皮生长因子受体信号通路; *k-ras*; 西妥昔; 酪氨酸酶抑制剂; 靶向治疗

杨梓琪, 樊利芳. 胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 514-520 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/514.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.514>

## 0 引言

胆管癌是原发于肝内或肝外胆管上皮的恶性肿瘤, 过去曾被认为是少见病, 但近年来随着影像诊断技术的发展, 胆管癌的检出率不断增高, 其发病率在全球范围内升高<sup>[1-3]</sup>。在肝脏原发性肿瘤中, 肝内胆管癌的发病率仅次于肝癌<sup>[4,5]</sup>。因胆

■同行评议者  
陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科

管癌常规化疗效果不佳, 其治疗以手术为主, 由于胆管癌所处的解剖位置特殊及其向周围组织、血管、神经浸润的特点, 外科根治性切除率低, 切除率仅为33.7%, 治疗后5年生存率仅3.7%-4.0%, 且其发病机制仍不清楚<sup>[6]</sup>。目前认为, 胆管癌的发生发展是多因素、多步骤的病理过程<sup>[7]</sup>。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的信号传导关乎细胞的凋亡、增殖、分化、迁移和细胞周期循环, 与肿瘤的形成和恶化息息相关, 早在20多年前, Mendelsohn等<sup>[8]</sup>就提出EGFR可以作为肿瘤治疗的靶点。近年来受到研究者的关注, 以EGFR为靶点进行靶向治疗已成为肿瘤治疗的热点<sup>[9]</sup>。通过对EGFR结构的分析, 选择其特定部位作为靶点, 通过干扰EGFR信号传导, 如小分子酪氨酸激酶抑制剂、单克隆抗体及基因治疗等来抗肿瘤的疗法不断出现, 成为国内外研究的焦点。研究人员已开发出针对EGFR家族的一些抗体及抑制剂, 并进行细胞学实验<sup>[10]</sup>及临床试验<sup>[11,12]</sup>, 虽取得了初步效果, 但对于其在胆管癌治疗方面的应用却很有限。因此, 综合阐述胆管癌EGFR信号通路、*k-ras*基因及其有效的靶向治疗方法, 对于发展胆管癌治疗的新方向、胆管癌临床治疗的深入研究具有十分重要的意义。

## 1 EGFR信号通路

EGFR是位于细胞膜的蛋白激酶受体, 属Erb-B酪氨酸蛋白激酶家族, 由胞外区、跨膜区及胞内区3部分组成。EGFR膜外区域由配体结合位点和两个富含半胱氨酸区域所构成, 能结合具有激动功能的多种配体, 主要有表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和转化生长因子- $\alpha$ (transforming growth factor- $\alpha$ , TGF- $\alpha$ )。EGFR与配体结合后发生二聚化, 导致其胞质区中的酪氨酸残基磷酸化, 从而激活了受体胞内酪氨酸蛋白激酶的活性, 使C末端特异的酪氨酸残基磷酸化, 为细胞内信号转导因子提供结合位点, 由此启动Ras/MAPK、PI3K/Akt、PLC- $\gamma$ 、JAK/STAT等多条信号转导途径, 调节细胞增殖和分化<sup>[13,14]</sup>。其过度激活可促进肿瘤细胞增殖, 抑制肿瘤细胞凋亡, 促进肿瘤血管生成及提高侵袭能力<sup>[15]</sup>。EGFR被激活后发生酪氨酸残基磷酸化, 激活下游的Ras信号, 诱导MEK/ERK1/2的磷酸化。当EGFR发生基因数目扩增或点突变时, 引起自身结构性激活, 还可通过PI3K介导的信号激活下游的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶

Akt, 活化的Akt通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白Bad、Caspase 9、核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、GSK-3、FKHR、p21Cip1及p27Kip1等, 进而调节细胞的增殖、分化、凋亡及迁移。PI3K/Akt信号通路某些成员突变所导致的功能获得或功能缺失可引起细胞转化<sup>[16]</sup>。

人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)是一种具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因, 对PI3K/Akt通路活性起负调控作用, PTEN功能减弱或缺失时, 可引起EGFR下游通路中的Akt过度活化, 降低细胞对凋亡的敏感性<sup>[17]</sup>。

## 2 EGFR信号通路与胆管癌

EGFR在许多上皮组织、间质以及神经源性组织稳定表达。EGFR的过表达在恶性肿瘤的演进中起重要作用。EGFR在多株胆管癌细胞系及胆管癌组织手术切除组织表达, 胆管癌EGFR表达率约46%-60%<sup>[18]</sup>, 我们前期用免疫组织化学法检测56例胆管癌EGFR表达率为76.4%<sup>[19]</sup>。在一项大样本(236例)回顾性研究报道肝内胆管癌EGFR表达率为27.5%, 肝外胆管癌则仅为8.5%<sup>[20]</sup>。胆管癌EGI-1、HuH8、OZ、FK-1、KMBC及QBC939细胞株和人胆管癌上皮细胞株均表达EGFR<sup>[12,21,22]</sup>。胆管癌EGFR突变率较低约13.6%-17.0%。我们前期用高融合曲线法检测56例胆管癌, 无一例发生EGFR突变<sup>[19]</sup>。

对于胆管癌EGFR扩增的研究, Paule等<sup>[23]</sup>在对9例无法手术切除的胆管癌患者进行姑息治疗时检测其EGFR, 发现所有病例均为EGFR高表达但无基因扩增。在另一项对221例胆管癌患者的回顾性研究中发现, EGFR过表达率为8.1%, 同时进一步对过表达的肿瘤细胞通过荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测其EGFR扩增, 发现扩增率高达77%。但在对此大样本中的28例肝内胆管癌患者单独进行基因检测时, 其ErbB-2和EGFR表达率为21.4%, 未发现伴随基因扩增, 提示在对胆管癌患者选择化学治疗时应以原癌基因ErbB-2编码的185 kDa的细胞膜受体(human epidermal growth factor receptor-2, ErbB-2)和EGFR的过表达为检测指标<sup>[24]</sup>。

关于EGFR信号通路在胆管癌发病机制中的作用, 近年有少量报道: 胆管癌细胞株KMBC表达EGFR的配体EGF和TGF- $\alpha$ 。TGF- $\alpha$ 依赖方

## ■研究前沿

EGFR靶向药物结合放化疗在临床上用于治疗EGFR阳性肿瘤已经取得了一定的疗效。但这些EGFR靶向性治疗药物在胆管癌方面的研究, 主要限于体外实验阶段, 目前仅发现4例临床试验性报道, 其临床应用还有待进一步的研究。



## ■相关报道

Sprinzl等报道对1例不能进行手术切除的胆管癌患者联合应用西妥昔单抗和细胞毒性化疗药,呈现出良好的治疗效果;Lubner等报道一项联合应用埃罗替尼和阿瓦斯汀治疗49例晚期胆管癌患者的II期临床研究,4项报道均取得了一定的效果。

式激活EGFR在体内外促进胆管上皮增生,而TGF- $\alpha$ 激活的EGFR具有潜在的促细胞有丝分裂作用,胆酸主要通过TGF- $\alpha$ 依赖方式激活EGFR,诱导EGFR磷酸化<sup>[21]</sup>。因而胆酸刺激胆管上皮并激活EGFR信号通路,可能在胆管癌的发生机制中起着重要作用<sup>[25]</sup>。

## 3 *k-ras*基因与胆管癌

与胆管癌有关的*ras*基因主要是*k-ras*,其次为*n-ras*。文献报道胆管癌*k-ras*突变率约4.7%-54.0%,且地区差异较大<sup>[26,27]</sup>。*k-ras*突变主要位于第12和第13位密码子。Boberg等<sup>[28]</sup>发现原发性硬化性胆管炎发展而来的胆管癌患者中*k-ras*突变率为33%,而原发性硬化性胆管炎患者的胆管组织未发现*k-ras*突变。Isa等<sup>[29]</sup>应用限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)法对23例肝内胆管癌的*k-ras*基因进行分析,发现*k-ras*基因突变率为39.1%(9/23),伴有淋巴结转移的患者发生*k-ras*突变率与无淋巴结转移的患者相比有显著性差异,而发生*k-ras*基因突变的患者其生存期显著低于无突变的患者。这些研究结果提示,*k-ras*基因点突变与胆管癌的生物行为密切相关,*k-ras*基因点突变可能是判断胆管癌预后的一个独立性指标。

近年来多个大样本临床研究显示:西妥昔单抗(cetuximab)联合无论是以奥沙利铂(oxaliplatin)还是以伊立替康(irinotecan)为基础的化疗,都只能使*k-ras*野生型患者受益,而不能使*k-ras*突变型的患者受益,提示*k-ras*突变可作为预测cetuximab疗效的分子标志。*k-ras*突变作为抗EGFR单抗疗效阴性预测因子已得到广泛共识,欧洲药品评价局(European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA)、美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)及美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)均建议接受抗EGFR单抗治疗前需要检测*k-ras*基因状态,仅限于*k-ras*野生型患者接受抗EGFR单抗治疗。

## 4 EGFR靶向治疗

近年来,随着肿瘤分子生物学的深入研究,尤其是分子信号通路对肿瘤细胞增殖和生长作用机制的阐明,开发了特异性靶点的药物治疗。目前用于EGFR靶向性治疗肿瘤的药物主要分为两类:EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶拮抗剂。

4.1 EGFR单克隆抗体 抗EGFR单抗能结合其胞外结构域,通过封闭配体结构域来竞争受体结合,从而阻滞配体诱导的EGFR酪氨酸激酶活化。抗EGFR单克隆抗体能特异性识别EGFR,因此他对该受体具有高度选择性。目前已有3种抗EGFR单克隆抗体西妥昔(cetuximab)、帕尼单抗(panitumumab)和泰欣生(nimotuzumab)上市,与其他化疗药物相比,这些抗体具有靶向性强、不良反应相对较小的特点,在临床上取得了较好的疗效。Cetuximab是2004-02美国食品药品监督管理局批准上市的抗EGFR人/鼠嵌合单克隆抗体,他可竞争性地与EGFR结合,以阻止EGF激活受体,抑制下游信号传导从而干扰肿瘤生长、侵袭和转移以及细胞修复和血管生成<sup>[30]</sup>。cetuximab可增加在常规化疗药物治疗失败结直肠癌患者无进展生存期、总生存期和改善生活质量<sup>[31]</sup>。但如前文所述,*k-ras*突变作为抗EGFR单抗疗效阴性预测因子已得到广泛共识,*k-ras*突变可作为预测cetuximab疗效的分子标志。

另外近期研究显示,鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌性同源体B1基因(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)和PTEN的基因状态也可影响EGFR分子靶向药物疗效,PTEN对肿瘤细胞的调控与脂质酶的磷酸化有密切关系。转染前后肿瘤细胞的凋亡率有显著意义的改变也提示PTEN可使细胞停滞于G<sub>1</sub>期<sup>[32]</sup>。此结果与国内外的报道一致<sup>[33,34]</sup>。BRAF突变或PTEN基因缺失的患者对cetuximab治疗均无反应。另有研究报道,EGFR基因扩增可影响EGFR单抗的疗效<sup>[35]</sup>。

4.2 小分子酪氨酸激酶抑制剂 吉非替尼(gefitinib)和埃罗替尼(erlotinib)作为小分子酪氨酸激酶抑制剂,可抑制EGFR自磷酸化和下游的信号传导,抑制肿瘤细胞的生长及血管生成<sup>[36,37]</sup>。

小分子酪氨酸激酶抑制剂常用于非小细胞肺癌的临床治疗。2004年,美国FDA批准盐酸erlotinib用于一线化疗失败的局部晚期或转移性非小细胞肺癌的治疗<sup>[38]</sup>。其主要的作用机制为,可逆性地与ATP竞争,选择性地阻断人EGFR酪氨酸激酶并降低EGFR的自身磷酸化作用,从而导致细胞生长停止并走向凋亡;对EGFR过度表达的肿瘤细胞的EGFR自身磷酸化有明显的抑制作用;能选择性地抑制EGF介导的肿瘤细胞增殖<sup>[39-41]</sup>。临床试验发现,gefitinib疗效的个体差异较大,其对非吸烟肺腺癌女性患者的效果较好,与欧洲同类患者相比,gefitinib对日本患

者的疗效更佳. 美国和日本科学家联合对119例原发性非小细胞肺癌患者的EGFR基因测序发现, EGFR的突变与患者的临床特征有密切关系, 在疗效较好的日本女性肺腺癌患者中的发生率更高, 最高突变率达57%<sup>[42]</sup>. 有效的大样本临床研究显示: EGFR突变的非小细胞肺癌患者对gefitinib、erlotinib治疗敏感, 有效率在70%以上; 而无EGFR突变的患者对gefitinib、erlotinib治疗有效率在10%以下<sup>[43]</sup>. 此外, 很多EGFR突变的病例服用gefitinib后的生存时间明显延长<sup>[44,45]</sup>. 因此, 晚期非小细胞肺癌选择小分子酪氨酸激酶抑制剂之前进行EGFR基因突变检测应是必要的.

而对于小分子酪氨酸激酶抑制剂对于肝癌和胆管癌的抑制作用, 多停留在体外细胞实验阶段, 关于其临床应用进展, 目前仅有两例报道, 1例为联合gefitinib、卡培他滨(capecitabine)及塞来昔布(celecoxib)治疗39例晚期实体瘤患者的I期临床试验<sup>[46]</sup>, 另一为联合应用erlotinib和阿瓦斯汀(bevacizumab)治疗49例晚期胆管癌患者的II期临床研究<sup>[47]</sup>, 均取得了一定的效果.

## 5 胆管癌EGFR靶向治疗现状

**5.1 胆管癌EGFR靶向治疗体外研究** 对于EGFR单克隆抗体在胆管癌靶向治疗的体外研究, Werneburg等<sup>[21]</sup>发现, 胆管癌细胞株KMBC表达EGFR的配体EGF和TGF- $\alpha$ , 胆酸主要通过TGF- $\alpha$ 依赖方式激活EGFR, 诱导EGFR磷酸化, 这种作用可被EGFR抗体阻断.

2011年, Xu等<sup>[10]</sup>检测4株胆管癌细胞株EGFR表达和*k-ras*等位基因, 发现4株细胞均表达EGFR, 仅EGI-1细胞株有*k-ras*基因突变. 用EGFR单抗西妥昔单抗处理EGI-1细胞株和1株野生型*k-ras*胆管癌细胞, 发现西妥昔不能影响细胞生长, 但可促进EGI-1细胞株的凋亡, 提示*k-ras*基因表型可影响西妥昔疗效.

对于小分子酪氨酸激酶抑制剂在胆管癌治疗中的体外研究, Yoon等<sup>[48]</sup>发现, 与肝癌细胞株比较, EGF可持续激活胆管癌细胞株的EGFR, 导致MAPK激活, 促进细胞增生, 而这种作用可被激酶抑制剂阻断. Gefitinib可诱导胆管癌TFK-1细胞凋亡, 并可通过诱导G<sub>1</sub>期阻滞, 剂量依赖性抑制细胞增殖. 细胞放射线暴露后给予gefitinib处理, 则可降低细胞存活率<sup>[49]</sup>. Yoshikawa等<sup>[50]</sup>对4株胆管癌细胞株使用凡德他尼(vandetanib, 一种激酶抑制剂), 仅TKKK株敏感, 而TKKK株为唯一同时具有*k-ras*野生型和EGFR扩增的细胞

株, 提示K-ras和EGFR为可能的小分子激酶抑制剂治疗的疗效预测因子.

EGFR和ErbB-2的双重抑制剂NVP-AEE788可显著抑制人胆管癌细胞的生长, 还可显著缩小嵌合体鼠模型肿瘤体积, 其机制主要为celecoxib(COX-2抑制剂)可抑制QBC939细胞增殖, 促进细胞凋亡, 诱导细胞周期阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期. 联合用药则可显著降低p-MAPK、p-Akt及PGE2表达. 提示celecoxib和erlotinib均可抑制胆管癌细胞的生长, 而联合用药具有协同作用, 能同时阻断EGFR和COX-2信号通路, 在胆管癌治疗中具有一定应用前景<sup>[21]</sup>.

**5.2 EGFR靶向药物治疗胆管癌临床实验** 对于EGFR靶向治疗在胆管癌治疗中的应用, 目前只有少量文献报道: Sprinzl等<sup>[51]</sup>报道对一例不能进行切除的胆管癌患者联合应用cetuximab和细胞毒性化疗药, 呈现出良好的治疗效果. 69例患者接受每两周1次的吉西他滨(gemcitabine, 1 000 mg/m<sup>2</sup>)和1次/wk的cetuximab(250 mg/m<sup>2</sup>)姑息化疗. 整个化疗为9.7 mo, 结果提示对于肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)患者, 细胞毒性化疗结合cetuximab可显著延长生存期, 并且提高患者的生活质量.

Paule等<sup>[23]</sup>对9例EGFR表达但无扩增、无法手术切除且对一线化疗药吉西他滨-奥沙利铂无反应的肝内胆管癌患者联合使用cetuximab和gemcitabine进行姑息治疗: 对患者使用首次用量400 mg/m<sup>2</sup>, 以后用量250 mg/m<sup>2</sup>(每周第1天)的cetuximab, 并给予1 000 mg/m<sup>2</sup>[以10 mg/(m<sup>2</sup>·min)滴速输注, 每3 wk的第1天]的gemcitabine和85 mg/m<sup>2</sup>(4 h输注, 每3 wk的第1天)的奥沙利铂. 治疗3 mo时, 3例患者有部分反应, 3例病情稳定, 3例病情恶化. 6 mo时, 电子计算机X射线断层扫描技术(computed tomography, CT)显示1例患者有完全反应, 1例部分反应, 1例病情稳定, 6例病情恶化, 其中5例患者死亡, 9例患者中剩余的4例患者的平均随访时间为11 mo. 治疗期间, 无治疗导致的死亡、贫血和神经毒现象. 自治疗日起的中位生存期为10 mo. 由此可见, 即使对于无EGFR扩增的胆管癌患者, cetuximab与gemcitabine联合使用对于早期胆管癌的治疗仍具有良好的耐受性且能够改善生存质量. 因此, cetuximab有望成为对一线化疗药无反应的肝内胆管癌患者的姑息治疗药物.

在联合gefitinib、capecitabine及celecoxib治疗39例晚期实体瘤患者(含2例胆管癌, EGFR突

## ■创新盘点

对于EGFR单抗和小分子酪氨酸激酶抑制剂对于肝癌和胆管癌的抑制作用的研究, 多停留在细胞实验阶段, 关于其临床应用进展, 目前仅有4例报道, 本文将重要的胆管癌EGFR靶向治疗体外实验和4例临床试验报导进行总结概括, 认为联合应用EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂对于胆管癌患者的姑息治疗具有一定的意义.

## ■应用要点

抗EGFR单抗和小分子酪氨酸激酶抑制剂在许多实体肿瘤治疗中显著,但对于不同类型肿瘤需要设计不同研究终点和化疗方案,EGFR靶向治疗虽已成为肿瘤治疗的热点,但对于特定的肿瘤临床治疗应该采取何种最佳个性化治疗方案仍有待深入研究,本文就胆管癌的EGFR靶向治疗的体内、外研究现状进行总结,旨在帮助研究者理清思路,探讨胆管癌EGFR靶向治疗新方案。

变或基因扩增检测结果未知)的I期临床试验中,1例胆管癌患者表现出可证实的部分反应<sup>[46]</sup>。另一项联合应用erlotinib和bevacizumab, (VEGF抑制剂)治疗49例晚期胆管癌患者的II期临床研究显示,约12%患者表现出确切反应,且携带野生型*k-ras*或EGFR内显子多态性低重复与预后改善相关,提示联合应用erlotinib和bevacizumab可能是晚期胆管癌治疗的新方案<sup>[47]</sup>。

## 6 结论

尽管EGFR靶向药物结合放化疗在临床上用于治疗EGFR阳性肿瘤已经取得了一定的疗效,为肿瘤患者带来了新的曙光。但这些EGFR靶向性治疗药物在胆管癌的研究,主要限于体外实验阶段,临床仅有极少量试验性报道,EGFR靶向性治疗药物在胆管癌的临床应用还有待进一步研究,比如EGFR在胆管癌发病机制中的作用、与酪氨酸激酶抑制剂疗效相关的EGFR基因扩增与突变情况、与EGFR单克隆抗体疗效密切相关的*k-ras*和BRAF基因突变及PTEN失活情况等。因此,深入系统地研究胆管癌的EGFR信号转导通路在胆管癌的发生发展中的作用,对胆管癌的靶向治疗有着极其重要的临床意义。

## 7 参考文献

- Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67530-7]
- Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 115-125 [PMID: 15192785 DOI: 10.1055/s-2004-828889]
- Patel T. Increasing incidence and mortality of primary intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States. *Hepatology* 2001; 33: 1353-1357 [PMID: 11391522 DOI: 10.1053/jhep.2001.25087]
- Khan SA, Taylor-Robinson SD, Toledano MB, Beck A, Elliott P, Thomas HC. Changing international trends in mortality rates for liver, biliary and pancreatic tumours. *J Hepatol* 2002; 37: 806-813 [PMID: 12445422 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00297-0]
- Shaib YH, El-Serag HB, Davila JA, Morgan R, McGlynn KA. Risk factors of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a case-control study. *Gastroenterology* 2005; 128: 620-626 [PMID: 15765398 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.12.048]
- Taylor-Robinson SD, Toledano MB, Arora S, Keegan TJ, Hargreaves S, Beck A, Khan SA, Elliott P, Thomas HC. Increase in mortality rates from intrahepatic cholangiocarcinoma in England and Wales 1968-1998. *Gut* 2001; 48: 816-820 [PMID: 11358902 DOI: 10.1136/gut.48.6.816]
- Berthiaume EP, Wands J. The molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 127-137 [PMID: 15192786 DOI: 10.1055/s-2004-828890]
- Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2787-2799 [PMID: 12860957 DOI: 10.1200/JCO.2003.01.504]
- Lemmon MA. The EGF receptor family as therapeutic targets in breast cancer. *Breast Dis* 2003; 18: 33-43 [PMID: 15687687]
- Xu L, Hausmann M, Dietmaier W, Kellermeier S, Pesch T, Stieber-Gunckel M, Lippert E, Klebl F, Rogler G. Expression of growth factor receptors and targeting of EGFR in cholangiocarcinoma cell lines. *BMC Cancer* 2010; 10: 302 [PMID: 20565817 DOI: 10.1186/1471-2407-10-302]
- Huang TW, Wang CH, Hsieh CB. Effects of the anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab on cholangiocarcinoma of the liver. *Onkologie* 2007; 30: 129-131 [PMID: 17341899 DOI: 10.1159/000098853]
- Wiedmann MW, Mössner J. Molecular targeted therapy of biliary tract cancer--results of the first clinical studies. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 834-850 [PMID: 20388063 DOI: 10.2174/138945010791320818]
- Hendriks BS, Orr G, Wells A, Wiley HS, Lauffenburger DA. Parsing ERK activation reveals quantitatively equivalent contributions from epidermal growth factor receptor and HER2 in human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 6157-6169 [PMID: 15572377 DOI: 10.1074/jbc.M410491200]
- de Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P, Baak JP. Expression of growth factors, growth-inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. II: Correlations with proliferation and angiogenesis. *J Pathol* 1998; 184: 53-57 [PMID: 9582527 DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199801)184:1<53::AID-PATH6>3.0.CO;2-7]
- Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med* 2005; 353: 172-187 [PMID: 16014887 DOI: 10.1056/NEJM-ra044389]
- Adjei AA. Blocking oncogenic Ras signaling for cancer therapy. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1062-1074 [PMID: 11459867 DOI: 10.1093/jnci/93.14.1062]
- Downes CP, Bennett D, McConnachie G, Leslie NR, Pass I, MacPhee C, Patel L, Gray A. Antagonism of PI 3-kinase-dependent signalling pathways by the tumour suppressor protein, PTEN. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 846-851 [PMID: 11709086 DOI: 10.1042/BST0290846]
- Xu LB, Liu C, Gao GQ, Yu XH, Zhang R, Wang J. Nerve growth factor-beta expression is associated with lymph node metastasis and nerve infiltration in human hilar cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2010; 34: 1039-1045 [PMID: 20119692 DOI: 10.1007/s00268-010-0417-4]
- Fan LF, Datta V, Riley-Portuges A, Lopategui J, Lin F, Xu H, Wang HL. EGFR expression and K-ras mutation in cholangiocarcinoma: implication in EGFR-targeted therapies. *Mod Pathol* 2010; 23: 354a
- Yoshikawa D, Ojima H, Iwasaki M, Hiraoka N, Kosuge T, Kasai S, Hirohashi S, Shibata T. Clinicopathological and prognostic significance of EGFR, VEGF, and HER2 expression in cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2008; 98: 418-425 [PMID: 18087285 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604129]
- Werneburg NW, Yoon JH, Higuchi H, Gores GJ. Bile acids activate EGF receptor via a TGF-alpha-



- dependent mechanism in human cholangiocyte cell lines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G31-G36 [PMID: 12606307]
- 22 李勤裕, 施敏敏, 杨卫平, 彭承宏. 埃罗替尼和塞来昔布协同抑制胆管癌细胞生长. *外科理论与实践* 2010; 15: 398-405
  - 23 Paule B, Herelle MO, Rage E, Ducreux M, Adam R, Guettier C, Bralet MP. Cetuximab plus gemcitabine-oxaliplatin (GEMOX) in patients with refractory advanced intrahepatic cholangiocarcinomas. *Oncology* 2007; 72: 105-110 [PMID: 18025804 DOI: 10.1159/111117]
  - 24 Nakazawa K, Dobashi Y, Suzuki S, Fujii H, Takeda Y, Ooi A. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers. *J Pathol* 2005; 206: 356-365 [PMID: 15892172 DOI: 10.1002/path.1779]
  - 25 Alpini G, Glaser S, Robertson W, Phinzy JL, Rodgers RE, Caligiuri A, LeSage G. Bile acids stimulate proliferative and secretory events in large but not small cholangiocytes. *Am J Physiol* 1997; 273: G518-G529 [PMID: 9277433]
  - 26 Tannapfel A, Benicke M, Katalinic A, Uhlmann D, Köckerling F, Hauss J, Wittekind C. Frequency of p16(INK4A) alterations and K-ras mutations in intrahepatic cholangiocarcinoma of the liver. *Gut* 2000; 47: 721-727 [PMID: 11034592]
  - 27 Kakar S, Burgart LJ. Tumours of the biliary system. *Current Diagnostic Pathology* 2005; 11: 34-43 [DOI: 10.1016/j.cdip.2004.10.007]
  - 28 Boberg KM, Schrupf E, Bergquist A, Broomé U, Pares A, Remotti H, Schjölberg A, Spurkland A, Clausen OP. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: K-ras mutations and Tp53 dysfunction are implicated in the neoplastic development. *J Hepatol* 2000; 32: 374-380 [PMID: 10735605 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80386-4]
  - 29 Isa T, Tomita S, Nakachi A, Miyazato H, Shimoji H, Kusano T, Muto Y, Furukawa M. Analysis of microsatellite instability, K-ras gene mutation and p53 protein overexpression in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 604-608 [PMID: 12063950]
  - 30 Burtess B. The role of cetuximab in the treatment of squamous cell cancer of the head and neck. *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5: 1085-1093 [PMID: 16050785 DOI: 10.1517/14712598.5.8.1085]
  - 31 Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, Zalberg JR, Tu D, Au HJ, Berry SR, Krahn M, Price T, Simes RJ, Tebbutt NC, van Hazel G, Wierzbicki R, Langer C, Moore MJ. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 2040-2048 [PMID: 18003960 DOI: 10.1056/NEJMoa071834]
  - 32 刘民锋, 徐立宁, 左右, 罗剑, 郭伟, 董涇青, 邹声泉. 体外转染PTEN抑制胆管癌QBC939细胞生长及下调mTOR表达的研究. *中国普通外科杂志* 2006; 15: 181-184
  - 33 Ramaswamy S, Nakamura N, Vazquez F, Batt DB, Perera S, Roberts TM, Sellers WR. Regulation of G1 progression by the PTEN tumor suppressor protein is linked to inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2110-2115 [PMID: 10051603 DOI: 10.1073/pnas.96.5.2110]
  - 34 汤聪, 孙华文, 李子禹, 邹声泉. 导入PTEN基因抑制胰腺癌细胞体外生长的研究. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 242-243
  - 35 Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Finocchiaro G, Skokan M, Gajopathy S, Carnaghi C, Rimassa L, Rossi E, Ligorio C, Di Tommaso L, Holmes AJ, Toschi L, Tallini G, Destro A, Roncalli M, Santoro A, Jänne PA. Primary resistance to cetuximab therapy in EGFR FISH-positive colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2008; 99: 83-89 [PMID: 18577988 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604439]
  - 36 Solomon B, Hagekyriakou J, Trivett MK, Stacker SA, McArthur GA, Cullinan C. EGFR blockade with ZD1839 ("Iressa") potentiates the antitumor effects of single and multiple fractions of ionizing radiation in human A431 squamous cell carcinoma. Epidermal growth factor receptor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 55: 713-723 [PMID: 12573759 DOI: 10.1016/S0360-3016(02)04357-2]
  - 37 Bunn PA, Franklin W. Epidermal growth factor receptor expression, signal pathway, and inhibitors in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 2002; 29: 38-44 [PMID: 12422312 DOI: 10.1053/sonc.2002.35646]
  - 38 Laskin JJ, Sandler AB. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumours. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 1-17 [PMID: 14766123 DOI: 10.1016/j.ctrv.2003.10.002]
  - 39 Hirata A, Ogawa S, Kometani T, Kuwano T, Naito S, Kuwano M, Ono M. ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 2002; 62: 2554-2560 [PMID: 11980649]
  - 40 Dazzi C, Cariello A, Maioli P, Solaini L, Scarpi E, Rosti G, Lanzanova G, Marangolo M. Prognostic and predictive value of intratumoral microvessels density in operable non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 1999; 24: 81-88 [PMID: 10444058 DOI: 10.1016/S0169-5002(99)00036-7]
  - 41 何伍, 凌霄. 小分子EGFR酪氨酸激酶抑制剂研究进展. *中国药理学杂志* 2007; 42: 1685-1688
  - 42 Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497-1500 [PMID: 15118125 DOI: 10.1126/science.1099314]
  - 43 Mitsudomi T, Kosaka T, Yatabe Y. Biological and clinical implications of EGFR mutations in lung cancer. *Int J Clin Oncol* 2006; 11: 190-198 [PMID: 16850125 DOI: 10.1007/s10147-006-0583-4]
  - 44 Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, Horio Y, Hida T, Mori S, Hataoka S, Shinoda M, Takahashi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer with postoperative recurrence. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2513-2520 [PMID: 15738541 DOI: 10.1200/JCO.2005.00.992]
  - 45 Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6829-6837 [PMID: 15998907 DOI: 10.1200/JCO.2005.01]
  - 46 Lam ET, O'Bryant CL, Basche M, Gustafson DL,

## ■名词解释

表皮生长因子受体(EGFR): 一种糖蛋白, 属于酪氨酸激酶型受体, 细胞膜贯穿, 靠与配体结合激活, 表皮生长因子和转化生长因子- $\alpha$  激活后, EGFR由单体转化为二聚体, 并可以激活他位于细胞内的激酶通路。其过表达在恶性肿瘤的演进中起重要作用。

## ■同行评价

本文阐述EGFR信号通路、*k-ras*基因及EGFR两种靶向治疗药物(EGFR单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂)在胆管癌治疗中的作用,较为系统的介绍胆管癌EGFR信号通路与靶向治疗的关系,对胆管癌的靶向治疗有着一定的临床指导意义。

- Serkova N, Baron A, Holden SN, Dancey J, Eckhardt SG, Gore L. A phase I study of gefitinib, capecitabine, and celecoxib in patients with advanced solid tumors. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 3685-3694 [PMID: 19074845 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0436]
- 47 Lubner SJ, Mahoney MR, Kolesar JL, Loconte NK, Kim GP, Pitot HC, Philip PA, Picus J, Yong WP, Horvath L, Van Hazel G, Erlichman CE, Holen KD. Report of a multicenter phase II trial testing a combination of biweekly bevacizumab and daily erlotinib in patients with unresectable biliary cancer: a phase II Consortium study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3491-3497 [PMID: 20530271 DOI: 10.1200/JCO.2010.28.4075]
- 48 Yoon JH, Gwak GY, Lee HS, Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ. Enhanced epidermal growth factor receptor activation in human cholangiocarcinoma cells. *J Hepatol* 2004; 41: 808-814 [PMID: 15519654 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.07.016]
- 49 Yabuuchi S, Katayose Y, Oda A, Mizuma M, Shirasou S, Sasaki T, Yamamoto K, Oikawa M, Rikiyama T, Onogawa T, Yoshida H, Ohtuska H, Motoi F, Egawa S, Unno M. ZD1839 (IRESSA) stabilizes p27Kip1 and enhances radiosensitivity in cholangiocarcinoma cell lines. *Anticancer Res* 2009; 29: 1169-1180 [PMID: 19414361]
- 50 Yoshikawa D, Ojima H, Kokubu A, Ochiya T, Kasai S, Hirohashi S, Shibata T. Vandetanib (ZD6474), an inhibitor of VEGFR and EGFR signalling, as a novel molecular-targeted therapy against cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1257-1266 [PMID: 19319137 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604988]
- 51 Sprinzl MF, Schimanski CC, Moehler M, Schadmand-Fischer S, Galle PR, Kanzler S. Gemcitabine in combination with EGF-Receptor antibody (Cetuximab) as a treatment of cholangiocarcinoma: a case report. *BMC Cancer* 2006; 6: 190 [PMID: 16846514 DOI: 10.1186/1471-2407-6-190]

编辑 翟欢欢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次,影响因子0.873,综合评价总分88.5分,分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位,分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位;其他指标:即年指标0.219,他引率0.89,引用刊数619种,扩散因子8.84,权威因子2 144.57,被引半衰期4.7,来源文献量758,文献选出率0.94,地区分布数26,机构分布数1,基金论文比0.45,海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# TNF $\alpha$ 通过TNFR1/PKC $\alpha$ 和TNFR2信号通路诱导人肾小球系膜细胞IP<sub>3</sub>R1的表达

王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 刘沛

王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 江西省南昌大学附属医院九江市第一人民医院消化科 江西省九江市 332000  
刘沛, 中国医科大学附属一院肝病中心 辽宁省沈阳市 110001

王育蓉, 副主任医师, 主要从事肝脏疾病临床与实验方面的研究。  
江西省卫生厅科研基金资助项目, No. 20123192

作者贡献分布: 本课题由王育蓉、孙辉及刘沛合作设计; 整个实验及操作由王育蓉、章欢及李翠红完成; 数据整理由章欢与李翠红完成; 论文撰写由王育蓉完成。

通讯作者: 王育蓉, 副主任医师, 332000, 江西省九江市塔岭南路48号, 江西省南昌大学附属医院九江市第一人民医院消化科。  
hldwyr2010@163.com

电话: 0792-8508798

收稿日期: 2012-10-17 修回日期: 2012-11-21

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-02-28

## TNF $\alpha$ induces IP<sub>3</sub>R1 expression via TNFR1/PKC $\alpha$ and TNFR2 signaling pathways in human mesangial cells

Yu-Rong Wang, Huan Zhang, Hui Sun, Cui-Hong Li, Pei Liu

Yu-Rong Wang, Huan Zhang, Hui Sun, Cui-Hong Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiujiang First People's Hospital, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

Pei Liu, Center for Liver Diseases, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Research Foundation of Health Bureau of Jiangxi Province, No. 20123192

Correspondence to: Yu-Rong Wang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiujiang First People's Hospital, 48 Taling South Road, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China. hldwyr2010@163.com

Received: 2012-10-17 Revised: 2013-11-21

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the role of PKC and TNFR in TNF $\alpha$ -induced expression of IP<sub>3</sub>R1 in human mesangial cells (HMCs).

**METHODS:** Quantitative real-time polymerase chain reaction and immunoblot assay were used to examine the effect of TNF $\alpha$  treatment on IP<sub>3</sub>R1 mRNA and protein expression. Depletion of PKC with PMA, treatment with PKC kinase

inhibitors, and overexpression of dominant negative mutant of PKC $\alpha$  were used to examine the role of PKC in TNF $\alpha$ -induced expression of IP<sub>3</sub>R1 in HMCs. The expression of total PKC $\alpha$  and p-PKC $\alpha$  was assayed by Western blot. The contribution of TNFR1 and TNFR2 to PKC $\alpha$  activation and TNF $\alpha$ -induced IP<sub>3</sub>R1 expression was also detected by Western blot.

**RESULTS:** Treatment with TNF $\alpha$  increased IP<sub>3</sub>R1 mRNA and protein expression in HMCs, and this effect could be blocked by prolonged incubation with PMA, Safigol treatment and transfection with domain negative PKC $\alpha$  construct. TNF $\alpha$  could promote PKC $\alpha$  autophosphorylation. Both anti-TNFR1 and TNFR2 antibodies attenuated TNF $\alpha$ -induced IP<sub>3</sub>R1 expression, while only anti-TNFR1 antibody attenuated TNF $\alpha$ -induced PKC $\alpha$  activity.

**CONCLUSION:** TNF $\alpha$  increases the expression of IP<sub>3</sub>R1 through the TNFR1/PKC $\alpha$  and TNFR2 signaling pathways in HMCs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatorenal syndrome; Tumor necrosis factor  $\alpha$ ; IP<sub>3</sub>R1; PKC $\alpha$ ; Tumor necrosis factor receptor

Wang YR, Zhang H, Sun H, Li CH, Liu P. TNF $\alpha$  induces IP<sub>3</sub>R1 expression via TNFR1/PKC $\alpha$  and TNFR2 signaling pathways in human mesangial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 521-526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/521.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.521>

## 摘要

**目的:** 探讨肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF $\alpha$ )对人肾小球系膜细胞(human mesangial cells, HMCs)IP<sub>3</sub>R1蛋白和mRNA表达的影响及PKC和肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)在此信号通路中的作用, 以期对肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)肾小球滤过率下降的发生机制和防治思路提供理论依据。

## ■背景资料

肝肾综合征(HRS)发生时肾脏血流量明显减少, 其主要原因是肾脏血管收缩, 具体机制不十分清楚。肾小球系膜细胞内有丰富的IP<sub>3</sub>R1, IP<sub>3</sub>与IP<sub>3</sub>R1结合, 促进细胞内储备Ca<sup>2+</sup>释放, 引起肾血流减少。TNF $\alpha$ 是引起重症肝炎发生的重要细胞因子, 那么TNF $\alpha$ 能否上调人肾小球系膜细胞IP<sub>3</sub>R1表达? 在此信号转导事件中, 蛋白激酶C及肿瘤坏死因子受体的作用如何? 为解决这一问题, 本文研究了TNF $\alpha$ 对人肾小球系膜细胞IP<sub>3</sub>R1表达的影响并深入研究TNF $\alpha$ 上调IP<sub>3</sub>R1表达的信号转导机制。

## ■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科



## ■相关报道

肝肾综合征时TNF $\alpha$ 浓度升高,许多文献报道TNF $\alpha$ 可通过多种机制参与病理状态时的血管收缩.文献报道,动物模型及在神经元细胞中,TNF $\alpha$ 可上调IP<sub>3</sub>R1的表达.

**方法:**用实时定量PCR和免疫印记法检测IP<sub>3</sub>R1 mRNA和蛋白表达的情况,并分别用PMA耗竭内源性蛋白激酶C(endogenous protein kinase C, PKC), PKC $\alpha$ 特异性抑制剂Safingol和PKC $\delta$ 特异性抑制剂Rottlerin及HA-DN-PKC $\alpha$ 质粒转染干预上述诱导实验.同时,用免疫印记法检测TNF $\alpha$ 对PKC $\alpha$ 和p-PKC $\alpha$ 的表达的影响.此外,免疫印记法检测TNFR对PKC $\alpha$ 的活化及IP<sub>3</sub>R1蛋白表达的影响.

**结果:**TNF $\alpha$ 作用HMCs后, IP<sub>3</sub>R1蛋白和mRNA表达均明显增加. PMA、PKC $\alpha$ 抑制剂Safingol, HA-DN-PKC $\alpha$ 质粒转染均能明显阻断TNF $\alpha$ 诱导的IP<sub>3</sub>R1蛋白的上调,而PKC $\delta$ 抑制剂Rottlerin无明显阻断作用. TNF $\alpha$ 刺激HMCs,各不同时间组总PKC $\alpha$ 蛋白表达无明显差异,而TNF $\alpha$ 刺激8 h p-PKC $\alpha$ 蛋白表达明显增加. TNFR1抗体+TNF $\alpha$ 组和TNFR2抗体+TNF $\alpha$ 组, IP<sub>3</sub>R1蛋白表达均有明显的不同程度的下降. TNFR1抗体+TNF $\alpha$ 组p-PKC $\alpha$ 蛋白表达明显下降,而TNFR2抗体+TNF $\alpha$ 组, p-PKC $\alpha$ 蛋白表达无明显变化.

**结论:**TNF $\alpha$ 能上调HMCs中IP<sub>3</sub>R1蛋白及IP<sub>3</sub>R1 mRNA的表达. 活化的PKC $\alpha$ 可能在TNF $\alpha$ 上调IP<sub>3</sub>R1的表达中起重要作用. TNF $\alpha$ 可能通过TNFR1/PKC $\alpha$ 途径及TNFR2途径上调IP<sub>3</sub>R1的表达.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:**肝肾综合征; 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; I型1,4,5-三磷酸肌醇受体; 蛋白激酶C $\alpha$ ; 肿瘤坏死因子受体

王育蓉, 章欢, 孙辉, 李翠红, 刘沛. TNF $\alpha$ 通过TNFR1/PKC $\alpha$ 和TNFR2信号通路诱导人肾小球系膜细胞IP<sub>3</sub>R1的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 521-526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/521.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.521>

## 0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是重症肝病的严重并发症,病死率高达70%. 目前认为肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)下降是HRS的主要发病机制<sup>[1]</sup>. 1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP<sub>3</sub>R)是胞内钙贮库, IP<sub>3</sub>R与IP<sub>3</sub>结合后发生构象改变,内质网中的储备钙被释放到细胞质中,胞质游离Ca<sup>2+</sup>浓度升高引起细胞收缩<sup>[2]</sup>. 肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs)收缩可导致GFR下降<sup>[3]</sup>. 国内外研究表明高表达的I型1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP<sub>3</sub>R1)介导Ca<sup>2+</sup>失

衡、细胞收缩敏感性增加,与许多疾病的进展如房颤、哮喘、阿尔茨海默及帕金森氏病等关系密切<sup>[4-6]</sup>. TNF $\alpha$ 与重型肝炎发生发展密切相关<sup>[7]</sup>. 体外实验表明TNF $\alpha$ 可上调IP<sub>3</sub>R1表达<sup>[6,8,9]</sup>. TNF $\alpha$ 可诱导神经元细胞IP<sub>3</sub>R1表达;在肝硬化大鼠及暴发性肝衰竭小鼠模型中,肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs)IP<sub>3</sub>R1蛋白表达明显增加.

综上所述,我们认为TNF $\alpha$ 通过上调IP<sub>3</sub>R1表达,为胞内IP<sub>3</sub>提供足够的IP<sub>3</sub>R,促进GMCs内Ca<sup>2+</sup>释放,引起GMCs收缩,导致GFR下降,这可能是HRS时肾脏对缩血管物质发生高敏的分子基础. 为深入探讨IP<sub>3</sub>R1表达的分子机制,我们以人肾小球系膜细胞(human mesangial cells, HMCs)为研究对象,探讨TNF $\alpha$ 对IP<sub>3</sub>R1表达的影响,并进一步研究PKC及TNFR在此信号通路中的作用,希望能在揭示肝肾综合征GFR下降的分子机制方面有所突破,并为干预肝肾综合征发生发展的新策略提供理论基础及作用靶点.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** HMCs和人肾小球系膜细胞专用培养基(mesangial cell medium, MCM)(4201): science cell公司; TNF $\alpha$ 、兔抗人TNFR1、兔抗人TNFR2抗体: R&D公司; 兔抗人I型IP<sub>3</sub>R抗体: Chemicon International公司; Rottlerin、Safingol: Calbiochen公司; TRIzol: Invitrogen公司; 引物合成,逆转录试剂盒ExScript<sup>TM</sup> RT Reagent Kit、PCR试剂盒SYBR<sup>®</sup> premix EX Taq<sup>TM</sup>: Takara公司; 人野生型PKC $\alpha$ (pHACE-WT-PKC $\alpha$ )质粒,活性失活PKC $\alpha$ (pHACE-DN-PKC $\alpha$ )质粒及pCD-NA3.0质粒由韩国大学博士惠赠(经大连宝生物工程有测序分析).

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及给药:**应用MCM将原代HMCs细胞在37℃、5%CO<sub>2</sub>恒温培养箱中进行培养,适时换液,消化传代,取4-8代细胞做后继实验. 待细胞生长到约80%-90%融合时,吸弃旧培养基,换成无血清(free serum medium, FSM)MCM同步饥饿24 h后继续加药处理.

不同细胞模型分组: (1)分为不同时间(0、2、4、8、24 h)组, TNF $\alpha$ (100 ng/mL)刺激HMCs,实时定量PCR和免疫印迹检测IP<sub>3</sub>R1 mRNA和蛋白表达; (2)多种信号抑制剂预处理HMCs分组: TNF $\alpha$ 处理0 h组(T0h组); TNF $\alpha$ 处理24 h组(T24h组); Rottlerin/Safingol单独处理组; TNF $\alpha$ +抑制

剂组. PKC $\delta$ 特异性抑制剂Rottlerin(5  $\mu$ mol/L), PKC $\alpha$ 特异性抑制剂Safingol(5  $\mu$ mol/L)预处理血清饥饿的HMCs 1 h后, 再予TNF $\alpha$ 刺激24 h; (3) 质粒转染分组: TNF $\alpha$ 处理0 h组(T0h组); 空载体组(pCDNA3.0)+TNF $\alpha$ ; DN-PKC $\alpha$ +TNF $\alpha$ ; WT-PKC $\alpha$ +TNF $\alpha$ 每组设3个孔; (4) 正常对照组(T0h组); TNF $\alpha$ 刺激8 h或24 h组(T8h, T24h); TNFR1抗体+TNF $\alpha$ 组(TR1+T组); TNFR2抗体+TNF $\alpha$ 组(TR2+T组).

1.2.2 实时定量PCR: 细胞总RNA提取, 反转录为cDNA. 采用SYBR Green I 荧光染料嵌合法, 分别制作目的基因(IP $_3$ R1)和管家基因(GAPDH)的标准曲线. 检测各实验组中IP $_3$ R1目的基因的相对表达量. 引物: IP $_3$ R1-F: 5'-ACAGGGTTTCGC-CATGTTGAC-3'; IP $_3$ R1-R: 5'-AGGCTCAGTG-GCTCATGCCTA-3'; GAPDH-F: 5'-GCACC-GTCAAGGCTGAGAAC-3'; GAPDH-R: 5'-TG-GTGAAGACGCCAGTGGA-3'. IP $_3$ R1/GAPDH mRNA的相对表达量 = IP $_3$ R1基因拷贝数/GAPDH基因拷贝数, 校正结果以T0h为1, 其余组与之比较.

1.2.3 Western blot: 提取细胞总蛋白, 经SDS-PAGE电泳后, 电转移至PVDF膜后加一抗孵育过夜; 加二抗室温孵育2 h; TBST洗膜3次, ECL发光法检测. 以分子量45 kDa的 $\beta$ -actin作为内参, 应用数码凝胶成像软件分析. 目的蛋白含量 = 目的蛋白灰度值/同一样本 $\beta$ -actin灰度值.

1.2.4 质粒瞬时转染: 质粒转化(转化大肠杆菌DH5 $\alpha$ 感受态菌)、扩增、氨苄青霉素筛选、小提质粒后酶切鉴定、测序证明(TAKARA公司完成)相应质粒为野生型或显性负突变体进一步中提质粒, -20  $^{\circ}$ C冻存备用. 采用脂质体瞬时转染, 制备转染试剂、转染试剂/空载体、转染试剂/重组质粒转染复合物. 转染复合物加到各个培养瓶中并轻轻摇动. 每组重复3次. 转染操作按说明书进行. 转染后培养48 h, 分析结果.

**统计学处理** 实验数据以mean $\pm$ SD表示, 计量资料各组间的比较采用方差分析, 所有数据均在SPSS15.0软件分析处理,  $P<0.05$ 被认为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 实时定量PCR及Western blot检测IP $_3$ R1 mRNA和蛋白的表达 与对照组相比, TNF $\alpha$ 处理后2 h到8 h IP $_3$ R1 mRNA表达逐渐增加, 于8 h达高峰( $P<0.01$ , 图1A); IP $_3$ R1蛋白表达于TNF $\alpha$ 刺

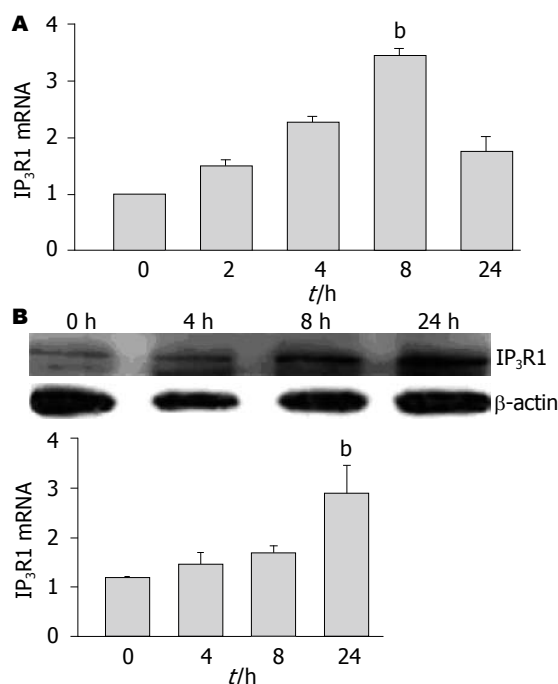


图1 TNF $\alpha$ 刺激HMCs不同时间IP $_3$ R1 mRNA和IP $_3$ R1蛋白的表达. <sup>a</sup> $P<0.01$  vs T0h组.

激4 h开始升高, 至24 h IP $_3$ R1蛋白表达增加达高峰( $P<0.01$ , 图1B).

2.2 Western blot检测PKC信号抑制剂对IP $_3$ R1蛋白表达的影响 PMA预处理耗竭内源性PKC(传统型PKC、cPKC和新型PKC、nPKC), 再予TNF $\alpha$ 刺激, IP $_3$ R1蛋白表达明显下降( $P<0.01$ , 图2A). PMA刺激HMCs 24 h后, 总PKC的表达与对照组相比明显下降(图2B), 证实了PMA 24 h孵育对内源性PKC的耗竭作用. 说明cPKC和/或nPKC可能参与人系膜细胞中IP $_3$ R1蛋白的表达. 为进一步探究PKC亚型在IP $_3$ R1蛋白表达中的作用, PKC $\alpha$ 和PKC $\delta$ 的选择性抑制剂Safingol和Rottlerin预处理HMCs 1 h后, 再予TNF $\alpha$ 刺激, Sa+T组IP $_3$ R1蛋白表达明显下降( $P<0.01$ ); 而rot+T组IP $_3$ R1蛋白表达无明显变化( $P>0.05$ , 图3), 提示PKC $\alpha$ 可能参与人系膜细胞中TNF $\alpha$ 上调IP $_3$ R1的表达.

2.3 Western blot检测质粒瞬时转染对IP $_3$ R1蛋白表达的影响 与T24h组比较, pHACE-WT-PKC $\alpha$ +TNF $\alpha$ 组IP $_3$ R1蛋白表达明显增加( $P<0.01$ ), 而pHACE-DN-PKC $\alpha$ +TNF $\alpha$ 组IP $_3$ R1蛋白表达明显降低( $P<0.01$ ); 与T0h比较, T24h组和pCDNA3.0组+TNF $\alpha$ 组IP $_3$ R1蛋白表达均明显增加, 而此两组间比较无明显差异( $P>0.05$ ), 说明质粒的转染并不影响细胞的活性(图4).

2.4 Western blot检测TNF $\alpha$ 对PKC $\alpha$ 和p-PKC $\alpha$ 蛋

### ■ 创新盘点

目前对肝肾综合征时肾血管收缩机制的研究主要集中在多种神经体液因素对血流动力学的影响方面, 而对其分子水平发病机制及胞内信号转导机制还知之甚少. 在人系膜细胞中, TNF $\alpha$ 对IP $_3$ R1表达的影响及相应的信号转导机制国内外还没有相关报道.

## ■应用要点

本文发现TNF $\alpha$ 明显上调IP<sub>3</sub>R1蛋白及mRNA表达, TNF $\alpha$ 可通过TNFR1/PKC $\alpha$ 途径及非依赖PKC $\alpha$ 的TNFR2信号转导途径上调IP<sub>3</sub>R1的表达, 为进一步深入研究肾脏血管收缩机制提供了帮助。

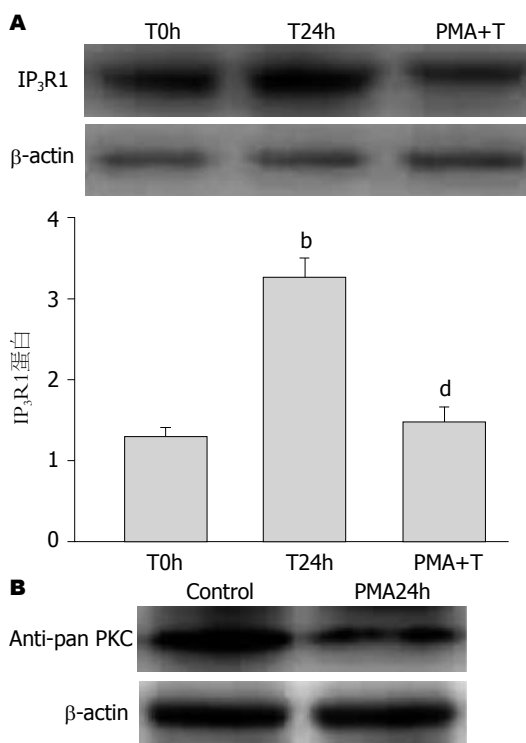


图2 PMA预处理HMCs 24 h后, Western blot检测IP<sub>3</sub>R1蛋白表达的变化。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T0h组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs T24h组。

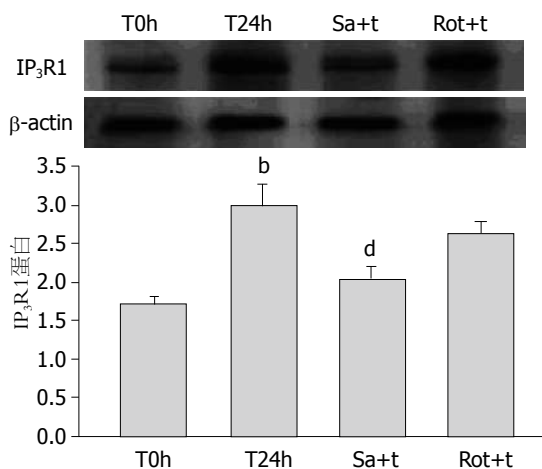


图3 Western blot检测PKC抑制剂对IP<sub>3</sub>R1蛋白表达的影响。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T0h组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs T24h组。

白表达的影响 TNF $\alpha$ 处理各时间组PKC $\alpha$ 蛋白表达无明显差异( $P > 0.05$ , 图5A)。TNF $\alpha$ 刺激HMCs 8 h, p-PKC $\alpha$ 蛋白表达明显增加( $P < 0.01$ , 图5B)。

2.5 Western blot检测TNFR1和TNFR2在p-PKC $\alpha$ 和IP<sub>3</sub>R1蛋白表达中的作用 与T24h组比较, TNFR1抗体+TNF $\alpha$ 组和TNFR2抗体+TNF $\alpha$ 组, IP<sub>3</sub>R1蛋白表达均有明显下降( $P < 0.01$ , 图6A); 与T8h组比较, TNFR1抗体+TNF $\alpha$ 组p-PKC $\alpha$ 蛋白表达明显下降( $P < 0.01$ ); 而TNFR2抗体+TNF $\alpha$ 组, p-PKC $\alpha$ 蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ , 图6B)。

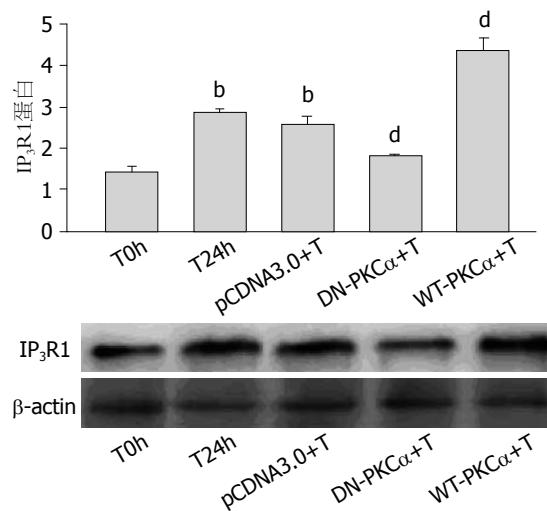


图4 Western blot检测质粒转染对IP<sub>3</sub>R1蛋白表达的影响。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T0h组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs T24h组。

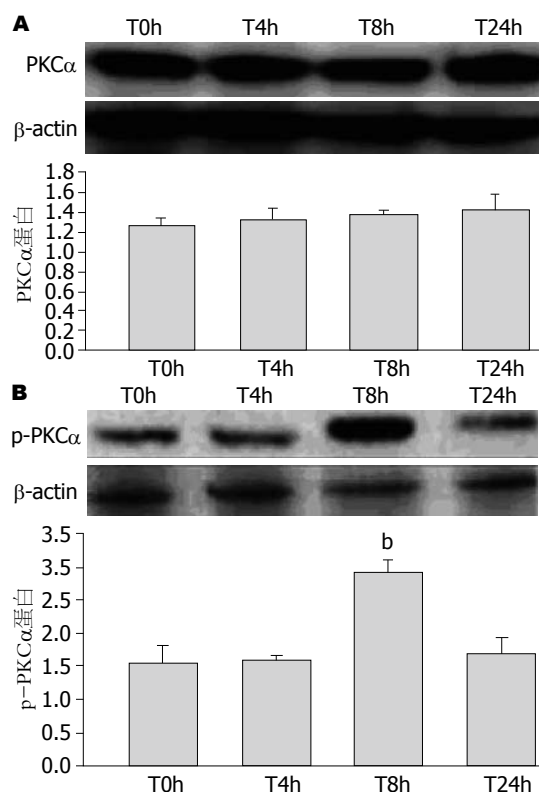


图5 Western blot检测TNF $\alpha$ 对PKC $\alpha$ 蛋白和p-PKC $\alpha$ 蛋白表达的影响。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T0h组。

## 3 讨论

IP<sub>3</sub>R是对第二信使IP<sub>3</sub>应答的一种普遍存在的胞内Ca<sup>2+</sup>释放通道, 研究表明IP<sub>3</sub>R数目和结构的变化会影响细胞内Ca<sup>2+</sup>信号的幅度和频率, 直接影响细胞收缩, 并与多种疾病发生发展密切相关, 如转化生长因子 $\beta$ 下调IP<sub>3</sub>R1表达, 降低GMCs和肾脏平滑肌收缩的敏感性, 与糖尿病肾病发生发展密切相关<sup>[10]</sup>; 肝硬化动物模型中肾小球系



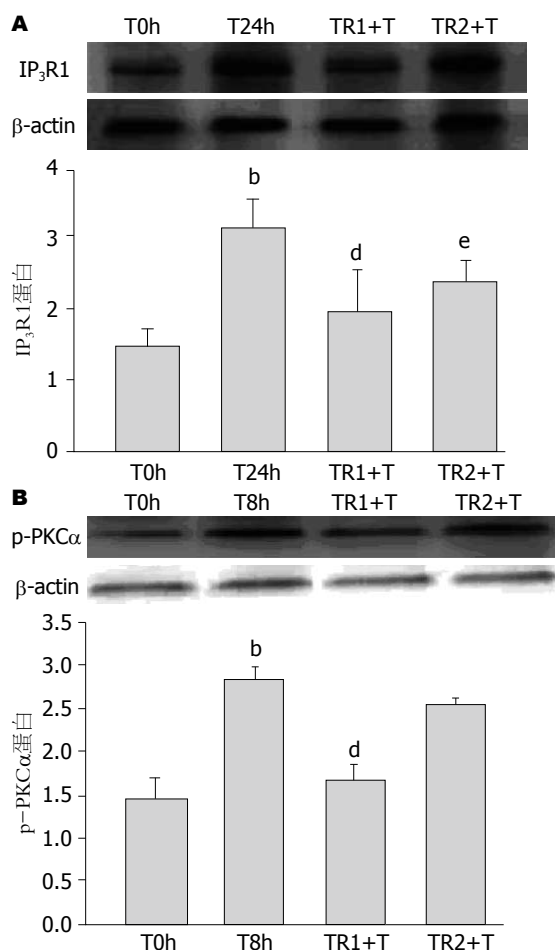


图6 TNFR1抗体或TNFR2抗体预处理HMCs后对IP $_3$ R1和p-PKC $\alpha$ 蛋白表达的影响。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T0h组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs T24h(T8h)组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs T24h组。

膜细胞和入球小动脉平滑肌中IP $_3$ R1表达增加可能与肾脏低灌注有关<sup>[8,9]</sup>。肾脏IP $_3$ R1主要存在于肾小球系膜细胞、血管平滑肌细胞<sup>[11]</sup>。

系膜细胞在肾脏疾病中不仅是主要的靶细胞,也是病变过程的主要参与者。重型肝炎患者血清中TNF $\alpha$ 明显增加<sup>[7]</sup>。本实验中,我们首先应用实时定量PCR方法和免疫印迹法,从基因和蛋白水平验证了TNF $\alpha$ 可上调HMCs的IP $_3$ R1表达,这与国内动物实验及国外学者在神经元细胞中研究结果是一致的<sup>[6]</sup>。IP $_3$ R1 mRNA在时相上首先出现表达升高,是IP $_3$ R1蛋白表达增加的始动因素。

蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)是一类钙和磷脂依赖性磷酸化激酶,广泛分布于各组织和器官中。文献表明系膜细胞的舒缩功能也与PKC激活有密切关系,激活的PKC可通过调节系膜细胞骨架分布来影响肾小球滤过功能<sup>[11]</sup>。PKC家族至少包括12种亚型<sup>[12]</sup>,其中PKC $\alpha$ 约占肾脏PKC的1/3,对维持肾脏生理功能有重要的

作用<sup>[11]</sup>。本实验中,我们利用PMA耗竭内源性敏感的PKC这一特性<sup>[13]</sup>,及选择性化学抑制剂的方法初步确定了PKC $\alpha$ 参与TNF $\alpha$ 上调IP $_3$ R1的表达。通过瞬时转染pHACE-DN-PKC $\alpha$ 质粒,使PKC $\alpha$ 活性失活,排除化学抑制剂潜在影响其他蛋白的因素,IP $_3$ R1的表达明显下降,进一步证实了活化的PKC $\alpha$ 在上调IP $_3$ R1表达中的重要作用。继续的实验结果:TNF $\alpha$ 刺激HMCs 8 h, p-PKC $\alpha$ 表达明显增加,表明TNF $\alpha$ 以时间依赖性活化PKC $\alpha$ , PKC $\alpha$ 蛋白Thr638位点的磷酸化代表PKC $\alpha$ 的活化<sup>[14]</sup>,但PKC $\alpha$ 总蛋白无明显变化,说明TNF $\alpha$ 增加了PKC $\alpha$ 从非磷酸化转变成磷酸化的形式,活化的PKC $\alpha$ 参与了下游IP $_3$ R1的表达。

TNF $\alpha$ 主要通过DAG和非DAG依赖的途径如活化胆绿素还原酶、活性氧、酪氨酸等途径活化PKC $\alpha$ <sup>[15-17]</sup>。而在HMCs中, TNF $\alpha$ 是通过何种途径活化PKC $\alpha$ 进而促进IP $_3$ R1的表达? TNF $\alpha$ 作为一种多效性细胞因子,是通过与TNFR结合才得以实现的。TNF $\alpha$ 两种受体TNFR1和TNFR2均存在于多种组织细胞和免疫细胞表面,他们胞外结构区有30%的同源性,但胞内结构区差别很大,提示他们在细胞内信号传递上有差异,并可诱发不同的生物学作用<sup>[18]</sup>。本实验中,我们利用特异性抗TNFR的单克隆抗体封闭细胞表面TNF $\alpha$ 受体,研究TNFR的作用。有趣的是,我们发现两组单克隆抗体封闭组,IP $_3$ R1表达都不同程度地明显下降,抗TNFR1组下调IP $_3$ R1蛋白达53%,而抗TNFR2组下调IP $_3$ R1蛋白42%,此结果表明了TNFR1和TNFR2都参与了IP $_3$ R1表达的上调,那么, TNFR与PKC $\alpha$ 活化的关系如何?我们发现抗TNFR1单克隆抗体封闭组, p-PKC $\alpha$ 显著减少,而抗TNFR2单克隆抗体封闭组p-PKC $\alpha$ 表达无明显变化,说明TNFR1介导了PKC $\alpha$ 的活化,文献表明: TNF $\alpha$ 可通过TNFR1胞内特定部位,即接头蛋白FAN,活化PC-PLC, PC-PLC水解细胞膜磷脂酰胆碱生成胆碱和DAG进而活化PKC<sup>[19]</sup>。

综上所述,我们认为人系膜细胞中, TNF $\alpha$ 至少可通过TNFR1/PKC $\alpha$ 途径及非依赖PKC $\alpha$ 的TNFR2信号传导途径上调IP $_3$ R1的表达,高表达的IP $_3$ R1为胞内IP $_3$ 提供足够的IP $_3$ R,促进胞内Ca<sup>2+</sup>释放,增加肾小球系膜细胞收缩,导致GFR下降,进而促进HRS的发生与发展。但在TNF $\alpha$ 上调IP $_3$ R1表达的信号事件中, TNFR1与TNFR2的具体作用机制,是独立作用或存在相互作用,或者与其他信号分子相关联等问题目前尚不清楚,仍有待于进一步实验研究。

#### ■名词解释

肝肾综合征:又称功能性肾功能衰竭,是指严重肝脏疾病患者体内代谢产物的损害,血液动力学的改变及血流量的异常,导致肾脏血流量的减少和滤过率降低所引起,而其肾脏并无解剖和组织学方面的病变。临床表现为进行性少尿、无尿、氮质血症、低钠血症等症候群。

## ■同行评价

本文立题新颖,实验方法较先进,实验依据充分,实验结果能客观证实研究结论,学术价值较好.研究结果对于探讨肝肾综合征的发病机制有一定的理论价值.

## 4 参考文献

- 1 Lata J. Hepatorenal syndrome. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4978-4984 [PMID: 23049205 DOI: 10.3748/wjg.v18.i36.4978]
- 2 Taylor CW, da Fonseca PC, Morris EP. IP(3) receptors: the search for structure. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 210-219 [PMID: 15082315 DOI: 10.1016/j.tibs.2004.02.010]
- 3 Yao J, Kitamura M, Oite T. [Characteristics of glomerular mesangial cells]. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 2008; 50: 554-560 [PMID: 18767481]
- 4 Brightling C, Berry M, Amrani Y. Targeting TNF- $\alpha$ : a novel therapeutic approach for asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 5-10; quiz 11-12 [PMID: 18036647 DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.028]
- 5 Liang X, Xie H, Zhu PH, Hu J, Zhao Q, Wang CS, Yang C. Enhanced activity of inositol-1,4,5-trisphosphate receptors in atrial myocytes of atrial fibrillation patients. *Cardiology* 2009; 114: 180-191 [PMID: 19602879 DOI: 10.1159/000228584]
- 6 Park KM, Yule DI, Bowers WJ. Impaired TNF- $\alpha$  control of IP3R-mediated Ca<sup>2+</sup> release in Alzheimer's disease mouse neurons. *Cell Signal* 2010; 22: 519-526 [PMID: 19922794 DOI: 10.1016/j.cellsig.2009.11.006]
- 7 Lu JW, Wang H, Yan-Li J, Zhang C, Ning H, Li XY, Zhang H, Duan ZH, Zhao L, Wei W, Xu DX. Differential effects of pyrrolidine dithiocarbamate on TNF- $\alpha$ -mediated liver injury in two different models of fulminant hepatitis. *J Hepatol* 2008; 48: 442-452 [PMID: 18215436 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.10.014]
- 8 Wen Y, Cui W, Liu P. Type I inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors increase in kidney of mice with fulminant hepatic failure. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2344-2348 [PMID: 17511035]
- 9 王静艳, 孙锦春, 吕飒, 刘沛. 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 增强大鼠肾小球前小动脉平滑肌细胞内I型1,4,5-三磷酸肌醇受体表达. *中华内科学杂志* 2002; 41: 86-89
- 10 Sharma K, Deelman L, Madesh M, Kurz B, Ciccone E, Siva S, Hu T, Zhu Y, Wang L, Henning R, Ma X, Hajnoczky G. Involvement of transforming growth factor- $\beta$  in regulation of calcium transients in diabetic vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F1258-F1270 [PMID: 12876066]
- 11 Tuttle KR, Anderberg RJ, Cooney SK, Meek RL.

- Oxidative stress mediates protein kinase C activation and advanced glycation end product formation in a mesangial cell model of diabetes and high protein diet. *Am J Nephrol* 2009; 29: 171-180 [PMID: 18781061 DOI: 10.1159/000154470]
- 12 Zeng L, Webster SV, Newton PM. The biology of protein kinase C. *Adv Exp Med Biol* 2012; 740: 639-661 [PMID: 22453963 DOI: 10.1007/978-94-007-2888-2\_28]
  - 13 Govekar RB, Kawle PD, Advani SH, Zingde SM. Reduced PKC  $\alpha$  Activity Induces Senescent Phenotype in Erythrocytes. *Anemia* 2012; 2012: 168050 [PMID: 22988493]
  - 14 Kim JM, Noh EM, Kwon KB, Kim JS, You YO, Hwang JK, Hwang BM, Kim BS, Lee SH, Lee SJ, Jung SH, Youn HJ, Lee YR. Curcumin suppresses the TPA-induced invasion through inhibition of PKC $\alpha$ -dependent MMP-expression in MCF-7 human breast cancer cells. *Phytomedicine* 2012; 19: 1085-1092 [PMID: 22921746 DOI: 10.1016/j.phymed.2012.07.002]
  - 15 Pal D, Outram SP, Basu A. Novel regulation of protein kinase C- $\eta$ . *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 836-841 [PMID: 22892130 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.163]
  - 16 Zhang Z, Cui W, Li G, Yuan S, Xu D, Hoi MP, Lin Z, Dou J, Han Y, Lee SM. Baicalein protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity through activation of Keap1/Nrf2/HO-1 and involving PKC $\alpha$  and PI3K/AKT signaling pathways. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 8171-8182 [PMID: 22838648 DOI: 10.1021/jf301511m]
  - 17 Miralem T, Lerner-Marmarosh N, Gibbs PE, Tudor C, Hagen FK, Maines MD. The human biliverdin reductase-based peptide fragments and biliverdin regulate protein kinase C $\delta$  activity: the peptides are inhibitors or substrate for the protein kinase C. *J Biol Chem* 2012; 287: 24698-24712 [PMID: 22584576 DOI: 10.1074/jbc.M111.326504]
  - 18 Cabal-Hierro L, Lazo PS. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cell Signal* 2012; 24: 1297-1305 [PMID: 22374304 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.02.006]
  - 19 Bertram A, Ley K. Protein kinase C isoforms in neutrophil adhesion and activation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2011; 59: 79-87 [PMID: 21298489 DOI: 10.1007/s00005-011-0112-7]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011 年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿,保证稿件尽快公平、公正的处理,《世界华人消化杂志》编辑部研究决定,从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费.审稿周期及发表周期不变.(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 食管覆膜支架置入治疗恶性肿瘤所致的食管气管瘘21例

王宝明, 杨海山

王宝明, 杨海山, 吉林大学第三临床医院放射科 吉林省长春市 130021

王宝明, 中国医科大学附属第四医院放射科 辽宁省沈阳市 110032

王宝明, 主治医师, 主要从事介入治疗方向的研究。

作者贡献分布: 王宝明与杨海山对此文所作贡献均等; 此论文由杨海山设计; 研究过程由王宝明与王刚等操作完成。

通讯作者: 王宝明, 主治医师, 110032, 辽宁省沈阳市崇山东路4号, 中国医科大学附属第四医院放射科。

wangbaoming1976@126.com

收稿日期: 2012-10-08 修回日期: 2013-02-19

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-02-28

## Treatment of malignant esophagorespiratory fistula with metallic stents: An analysis of 21 cases

Bao-Ming Wang, Hai-Shan Yang

Bao-Ming Wang, Hai-Shan Yang, Department of Radiology, the Third Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Bao-Ming Wang, Department of Interventional Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, Liaoning Province, China

Correspondence to: Bao-Ming Wang, Attending Physician, Department of Interventional Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, Liaoning Province, China. wangbaoming1976@126.com

Received: 2012-10-08 Revised: 2013-02-19

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To assess the efficacy and safety of metallic stent implantation in the treatment of malignant esophagorespiratory fistula.

**METHODS:** Twenty-one patients with malignant esophagorespiratory fistula were included in this study. They had pulmonary infection, dystrophia and choke before stent implantation. The stent was introduced under DSA guidance. The success rate, complication rate and curative effect were observed.

**RESULTS:** Stents were placed successfully in 21 patients. Dysphagia was relieved and the food intake ability was improved in all 21 patients. The mean KPS increased significantly from 40.0

$\pm 10.8$  before stent placement to  $70.3 \pm 14.0$  one week after placement ( $P < 0.01$ ). The median survive time was 30 weeks.

**CONCLUSION:** Stent implantation under DSA guidance is a safe and effective treatment for malignant esophagorespiratory fistula, and it can improve patients' life quality and clinical symptoms.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Metallic stent; Esophagorespiratory fistula

Wang BM, Yang HS. Treatment of malignant esophagorespiratory fistula with metallic stents: An analysis of 21 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 527-530  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/527.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.527>

## 摘要

**目的:** 观察与评价金属覆膜支架置入治疗食管气管瘘的疗效。

**方法:** 21例食管气管瘘患者, 术前伴明显的肺部感染、营养不良及进食呛咳等症状, 在DSA导引下经口置入金属覆膜支架, 观察支架置入疗效和并发症等指标。

**结果:** 21例患者成功置入支架21枚, 支架置入术后患者进食困难均有改善, 肺部感染得到明显控制, 支架置入后患者KPS评分由 $40.0 \pm 10.8$ 增加至 $70.3 \pm 14.0$  ( $P < 0.01$ ), 随访平均生存时间30 wk(4-80 wk)。

**结论:** DSA导引下金属覆膜支架置入术对食管气管瘘患者是有效、安全的治疗手段, 能改善症状, 提高患者的生存质量, 延长生存时间。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 金属支架; 食管气管瘘

王宝明, 杨海山. 食管覆膜支架置入治疗恶性肿瘤所致的食管气管瘘21例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(6): 527-530  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.527>

## ■背景资料

食管癌是一种以进行性吞咽困难为主要症状的常见的消化系统恶性肿瘤。我国是食管癌最高发地区, 每年约有25万新发病例, 该病死亡率占我国恶性肿瘤死亡率的第4位, 部分患者发生食管气管瘘, 严重影响患者生存质量及生存时间。

## ■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科



## ■研发前沿

带膜金属内支架的置入,可以有效解决食管气管瘘患者的进食、控制吸入性肺炎、防止窒息,可以延长患者的生存时间,提高患者的生存质量。

## 0 引言

食管气管瘘(esophagobronchial fistula, ERF)是晚期食管恶性肿瘤常见并发症之一,多数患者死于肺部严重感染和营养不良导致的衰竭。近年来金属覆膜支架置入术在恶性肿瘤所致的食管气管瘘方面取得了较为满意的疗效。2007-05/2012-02我们对21例ERF患者采用食管内金属覆膜支架置入治疗,现对21例患者的疗效及随访情况报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 21例ERF均为本院收治患者,其中男17例,女4例。平均年龄50.2岁(40-72岁)。18例经胃镜和病理证实为食管鳞癌,3例经支气管镜确认为中心型肺癌穿透食管。患者均伴有肺部感染、进食水后呛咳,2例为食管癌术后复发,瘘口均发生在食管病灶范围内。

**1.2 方法** 所有患者术前均行肺CT及食管造影(泛影葡胺)检查明确瘘口位置及食管病变长度。用利多卡因凝胶作咽喉部及食管表面麻醉后,在DSA监视下,将导丝及5F-cobra导管通过病变段并送入胃腔,撤出导丝,造影明确导管远端位于胃内,缓慢后撤导管,同时缓慢注入少量造影剂,显示瘘口位置后,更换长加强导丝至胃腔内,再根据病变的长度选择合适的支架。支架长度选择以超过病变两侧各2 cm为标准,形态为中央呈圆柱形,两端为喇叭开口的哑铃型。将支架释放器沿导丝送入病变段,支架要完全覆盖病灶,定位准确后完成支架释放操作,释放动作要缓慢,待支架完全释放后退置管器。术前、术后1 wk应用KPS功能状态评分标准对患者进行评估。

**统计学处理** 配对数据应用SPSS13.0软件进行分析。

## 2 结果

21例患者术前口服泛影葡胺造影,均可见造影剂外溢至气管。术中泛影葡胺造影,均可见造影剂外溢至气管(图1A),支架置入后患者口服造影剂,可见瘘口封闭(图1B, C)。

21例ERF中,21例1次置入食管覆膜支架成功,成功率100%,其中2例系支架移位导致瘘口暴露,重新置入覆膜支架成功,2例患者出现呼吸困难,1例经吸氧、对症治疗后好转,1例置入一枚气管支架。支架置入后禁食3 d,3 d后进食均无呛咳,成功置入支架后,21例肺部感染术后得到有效控制。KPS功能状态评分:术前

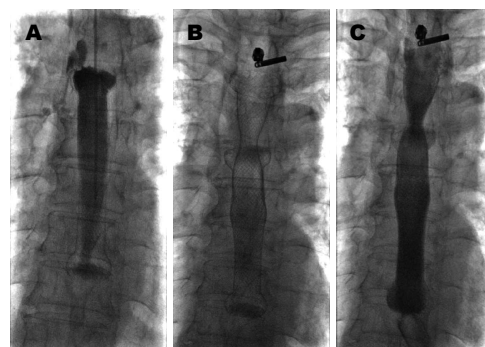


图1 患者食管造影检查结果。A: 患者曾置入食管支架一枚,造影可见原支架上方造影剂外溢至气管; B: 在原支架上方再次置入覆膜支架一枚; C: 患者口服造影剂,未见造影剂外溢,瘘口封闭。

患者 $40.0 \pm 10.8$ ,术后1 wk患者KPS评分 $70.3 \pm 14.0(P < 0.01)$ 。对所有患者进行随访,其中,2例失访,其余18例随访至2012-08,生存时间4-80 wk,平均30 wk。

## 3 讨论

食管气管瘘是临床上非常棘手的急、重病症之一,恶性肿瘤所致的食管气管瘘主要继发于食管癌侵犯气管,其次为中心型肺癌向食管侵犯,本组21例患者,食管癌为18例,中心型肺癌3例。恶性肿瘤所致的食管气管瘘很难自行愈合,由于食物及分泌物误吸常引起反复肺内严重感染及频发刺激性呛咳,危及患者生命,并严重影响患者日常生活及休息,生活质量极差,多数患者因营养不良、吸入性肺炎、窒息而在短期内死亡,其自然病程仅为1-4 wk<sup>[1-5]</sup>。

**3.1 治疗方法及疗效** 传统外科的方法包括胃肠食管旁路手术、胃肠造瘘术等,但此类患者多恶性消耗,一般状态欠佳,对手术耐受力差,且手术费用高、风险大、并发症较多。胃空肠营养管置入仅能解决食物误吸问题,无法解决唾液及食管分泌物误吸。Frimberger首先用自膨式金属支架对食管恶性狭窄进行治疗,为食管癌姑息性治疗的新途径<sup>[6-8]</sup>。金属覆膜支架置入术可有效封堵瘘口、同时解决食管狭窄、恢复经口进食、改善全身状况、提高生存质量、延长生存时间的目的。本组21例,成功置入食管覆膜支架21枚,金属带膜支架置入后,患者吞咽困难、进食呛咳等症状迅速消失,生存时间平均提高到30 wk,本组患者KPS功能状态评分:术前患者 $40.0 \pm 10.8$ ,术后1 wk患者KPS评分 $70.3 \pm 14.0(P < 0.01)$ ,有统计学意义。

## ■创新盘点

本文在术前评估及术中治疗具体方案选择方面更为细致,减少患者痛苦,降低了手术风险。

**3.2 术前检查** 本组21例, 术前均行胸部CT及食管造影检查。CT检查可明确肿瘤与周围组织的关系, 要特别注意肿瘤对周围血管的侵犯情况, CT还可显示肿瘤的长度与大小, 纵隔与肺部的感染程度, 并可以了解气管有无狭窄及狭窄的程度, 对确定治疗方案至关重要。如肿瘤压迫气管较重, 应首先行气管内支架置入后, 再行食管内覆膜支架置入术封堵瘘口。对气管狭窄程度不重的患者, 根据CT评估, 选用直径较小的支架不至于对气管产生较重的压迫。对于怀疑有食管气管瘘的患者, 行食管造影检查时, 造影剂应禁用钡剂, 钡剂误吸入肺后一般不易排出, 可采用泛影葡胺等含碘造影, 即使少量进入肺内, 也可吸收。食管造影可以了解食管病变的位置、长度及瘘口的部位、瘘的严重程度, 了解瘘口近端食管扩张情况, 对于选择支架长度有重要意义。

**3.3 支架置入注意事项** 覆膜支架置入治疗食管气管瘘最重要的是要精确定位, 食管支架两端要超出食管病变2 cm。术中需经导管造影进一步明确瘘口位置, 并明确病变近端及远端情况, 并证实导管全程位于消化道内, 避免将支架远端置入纵隔或气管。

食管气管瘘患者多合并食管狭窄, 对于这类患者置入覆膜支架后, 我们认为最好慎用球囊扩张, 球囊扩张可能引起瘘口扩大及大出血等并发症, 如食管重度狭窄, 支架植入后膨胀不佳, 支架直径<1 cm, 可用<15 mm球囊扩张, 如置入支架后支架直径>1 cm, 可不予扩张, 支架多可在3 d左右进一步展开, 满足进食要求。

我们认为支架置入成功后, 患者禁食是非常必要的, 支架置放成功后支架与食管壁间可能暂时贴合不良<sup>[9-11]</sup>, 因为狭窄段上方食管常伴有不同程度的扩张, 且食管肿瘤表面多凹凸不平, 与光滑支架间往往有潜在的小间隙, 不能与支架上端很好贴合, 过早进食可能造成食物残留在支架食管壁之间, 易反复感染, 同时过早进食, 促进食管蠕动可增加支架移位风险。禁食后, 食管逐渐弹性回缩, 同时支架充分展开, 两者间逐渐贴合良好, 可降低上述风险。本组21例患者经禁食3 d后逐渐由全流食过渡到软食。

**3.4 并发症** 支架移位是术后较常见并发症, 在胃癌术后复发所致的食管气管瘘中发生率更高, 因为合并食管气管瘘患者需置入覆膜支架, 加膜支架比普通支架光滑, 与食管间摩擦阻力小, 较容易发生移位, 本组2例发生移位。我们认为

最好不用球囊扩张支架, 充分利用金属支架本身明显的膨胀性, 尽量贴伏在食管壁上, 既保证解决狭窄和堵漏的需要, 又能增加支架与食管壁之间的摩擦阻力, 防止移位的发生<sup>[12-14]</sup>。另外支架长度的选择很重要, 我们认为两端各留出2 cm撑在未受病变累及的食管壁上, 以保持支架的稳定。尽可能选用两端均带喇叭口的支架。

本组中2例患者术后出现呼吸困难, 主要因为肿瘤对气管压迫较重, 随着支架置入、扩张, 进一步加重了气管的狭窄程度, 支架置入后, 患者因胸痛不敢用力咳嗽, 使痰液堵塞狭窄的气道加重呼吸困难, 1例经吸氧、化痰、对症治疗后好转, 1例置入一枚气管支架后呼吸困难缓解。

总之, 带膜金属内支架的置入, 可以有效解决食管气管瘘患者的进食、控制吸入性肺炎、防止窒息, 可以提高患者的生存率及生存质量。

#### 4 参考文献

- 1 吴在德, 吴肇汉. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 349-353
- 2 Chen J, Chen ZM, Pang LW, Zhu YJ, Chen G, Ma QY, Miao F. Deployment of self-expanding metallic stents under fluoroscopic guidance in patients with malignant esophagorespiratory fistula. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 64-68 [PMID: 21510288]
- 3 He J, Gu D, Wu X, Reynolds K, Duan X, Yao C, Wang J, Chen CS, Chen J, Wildman RP, Klag MJ, Whelton PK. Major causes of death among men and women in China. *N Engl J Med* 2005; 353: 1124-1134 [PMID: 16162883 DOI: 10.1056/NEJMsa050467]
- 4 Siddaiah L, Adhyapak S, Jaydev S, Shetty G, Varghese K, Patil C, Iyengar S. Intra-aortic balloon pump in toxic myocarditis due to aluminum phosphide poisoning. *J Med Toxicol* 2009; 5: 80-83 [PMID: 19415593 DOI: /10.1007/BF03161093]
- 5 李牧, 郑民, 王玮. 带膜支架材料治疗晚期食管癌30例. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 1511-1514
- 6 徐德亮. 覆膜支架治疗食管气管瘘的临床应用. *中国内镜杂志* 2010; 16: 1219-1221
- 7 Darbari A, Tandon S, Chaudhary S, Bharadwaj M, Kumar A, Singh GP. Esophageal injuries due to aluminum phosphide tablet poisoning in India. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2008; 16: 298-300 [PMID: 18670022]
- 8 Balazs A, Galambos Z, Kupcsulik PK. Characteristics of esophagorespiratory fistulas resulting from esophageal cancers: a single-center study on 243 cases in a 20-year period. *World J Surg* 2009; 33: 994-1001 [PMID: 19288038 DOI: 10.1007/s00268-009-9988-3]
- 9 赵剑波, 曾庆乐, 陈勇, 何晓峰, 卢伟, 梅雀林, 李彦豪. 食管支架术后支架贴壁不良综合征的初步探讨. *介入放射学杂志* 2010; 19: 141-145
- 10 Kim KR, Shin JH, Song HY, Ko GY, Kim JH, Yoon HK, Sung KB. Palliative treatment of malignant esophagopulmonary fistulas with covered expandable metallic stents. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: W278-W282 [PMID: 19770295 DOI: 10.2214/AJR.08.2176]
- 11 周政, 邹建伟, 朱晓黎, 刘一之. 全覆膜支架治疗不同

**■应用要点**  
DSA导引下金属覆膜支架植入, 在治疗治疗恶性食管气管瘘应用前景广泛。

## ■同行评价

本技术应用前景  
广泛,值得推广。

原因食管瘘的有效性及安全性分析. 介入放射学杂志 2011; 20: 403-406

12 贾广志, 尹华, 张子东, 李建明, 白淑芳, 高同锁. 加膜支架对食管气管瘘的临床应用. 放射学实践 2002; 17: 219-221

13 刘变英, 潘胜武, 栗彤, 雷宇峰, 尹海萍. 金属带膜支架治疗多种类型食管瘘. 中华消化杂志 2000; 20:

139-140

14 Homann N, Nofzt MR, Klingenberg-Nofzt RD, Ludwig D. Delayed complications after placement of self-expanding stents in malignant esophageal obstruction: treatment strategies and survival rate. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 334-340 [PMID: 17597412 DOI: 10.1007/s10620-007-9862-9]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

**本刊讯** 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, V<sub>max</sub>不能写Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*ln*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *Vd*, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.



## 黑龙江地区丙型肝炎病毒的基因亚型

杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云

杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心 黑龙江省哈尔滨市 150086  
作者贡献分布: 杜博与金茜对此文献均等, 完成所有检测和资料整理; 刘伟与李兴库实施了技术指导; 于雪源完成了数据统计; 张淑云实施了本文的设计、指导及撰写论文。  
通讯作者: 张淑云, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心。zhshuyun136@yahoo.com.cn  
电话: 0451-86664393 传真: 0451-86664393  
收稿日期: 2012-12-12 修回日期: 2013-01-20  
接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

### Analysis of hepatitis C virus subgenotypes in patients in Heilongjiang province

Bo Du, Xi Jin, Wei Liu, Xing-Ku Li, Xue-Yuan Yu, Shu-Yun Zhang

Bo Du, Xi Jin, Wei Liu, Xing-Ku Li, Xue-Yuan Yu, Shu-Yun Zhang, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China  
Correspondence to: Shu-Yun Zhang, Professor, Chief Physician, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zhshuyun136@yahoo.com.cn  
Received: 2012-12-12 Revised: 2013-01-20  
Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

### Abstract

**AIM:** To analyze the distribution of different hepatitis C virus (HCV) subgenotypes in Heilongjiang province, China.

**METHODS:** Serum samples from 1 313 patients with HCV infection, including 627 (47.75%) males and 686 (52.25%) females, were subgenotyped using multiplex nested PCR assay. The associations of HCV subgenotypes with gender, age, viral load, and ALT level were analyzed.

**RESULTS:** Of 1 313 patients, 927 (70.60%) were successfully subgenotyped. Among typable subgenotypes, 1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup> was found in 388 (41.86%) cases, 2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup> in 318 (34.30%) cases, 1b+2a in 197 (21.25%) cases, and 1a+/2b in 24 (2.59%) cases. The percentage of patients with 2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup> subgenotype was significantly higher in females (37.50%) and patients with HCVRNA of (1.000-9.999) ×

10<sup>4</sup> (54.55%), ALT level >200 (60.87%) or ≤ 40 (41.02%) (all *P* < 0.05). The percentage of patients with 1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup> subgenotype was significantly lower in patients with HCVRNA of (1.000-9.999) × 10<sup>4</sup> (24.24%) or ALT level >200 (13.04%) (both *P* < 0.05).

**CONCLUSION:** Genotypes 1b and 2a are the most prevalent genotypes in Heilongjiang province. The distribution of different HCV subgenotypes is associated with gender, viral load, and ALT level.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatitis C virus; PCR; Subgenotype

Du B, Jin X, Liu W, Li XK, Yu XY, Zhang SY. Analysis of hepatitis C virus subgenotypes in patients in Heilongjiang province. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 531-536  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/531.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.531>

### 摘要

**目的:** 分析黑龙江地区丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)基因型的流行特征和相关的影响因素, 以便对HCV感染的控制和个体化治疗提供依据。

**方法:** 采用型特异性巢式多重PCR法对外周血血浆中HCV基因亚型1a、1b、2a和2b进行检测, 分析HCV基因亚型的组成及其与性别、年龄、HCV RNA定量和丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平的关系。

**结果:** 通过对1 313例HCV感染者外周血血浆标本的检测和分析, HCV基因亚型检出率为70.60%(927/1 313), 其中以1b、2a和1b与2a混合感染为主, 尚包括少量分别与1a和2b的混合感染, 即1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>为388例(41.86%)、2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>为318例(34.30%)和1b+2a为197例(21.25%), 单纯1a或2b以及二者混合(1a+/2b)仅检出24例, 占2.59%。2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>在女性组(37.50%)、HCV RNA(1.000-9.999) × 10<sup>4</sup>组(54.55%)、ALT水平>200组(60.87%)和≤40组(41.02%)比率均较相应的其他各组有意义的增高(*P* < 0.05),

### ■背景资料

丙型肝炎病毒(HCV)感染是造成慢性肝炎、肝硬化及肝癌的重要原因之一。目前HCV感染仍然是全球性健康问题。HCV在长期进化过程中已形成1-6个基因型和100多个基因亚型, HCV 1型和2型呈世界流行, 但其也在不断演变。通过采用综合和个体化治疗方案, 已使持续病毒反应(SVR)率大大提高, HCV 2/3型达95%, 1型达79%, 在巴基斯坦HCV 2型已消失。HCV基因型的检测和动态分析备受关注。

### ■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

## ■ 研发前沿

为了更好地指导HCV感染的预防和治疗,除了对感染者进行基因型的检测外,更要全面检测和动态分析不同人群中HCV基因型的变化趋势,同时要积极开展个体遗传相关基因的检测和研究,制定有效的预防和个体化治疗方案。

而1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>在HCV RNA(1.000-9.999)×10<sup>4</sup>组(24.24%)和ALT水平>200组(13.04%)均较相应的其他各组有意义的降低( $P<0.05$ ),未发现与年龄有关。

**结论:**本地区HCV主要流行株是1b和2a,其分布可能与性别、HCV RNA水平和ALT水平有关,随着医疗条件的改善和联合治疗的开展,本地区HCV感染有望得到较好的控制。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 丙型肝炎病毒; PCR; 基因分型

杜博, 金茜, 刘伟, 李兴库, 于雪源, 张淑云. 黑龙江地区丙型肝炎病毒的基因亚型. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 531-536  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/531.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.531>

## 0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是造成慢性肝炎、肝硬化及肝癌的重要原因之一。目前HCV感染仍然是全球性健康问题。HCV RNA全长约9.6 kb, 易发生变异, 在长期的进化中形成了不同的基因型(genotype)、基因亚型(subgenotype)、病毒株(isolate)和准种(quasispecies), 核酸序列差异率>30%为不同基因型, 差异率在15%-30%之间为不同基因亚型<sup>[1-3]</sup>。1974年Goldfield<sup>[4]</sup>首次报道了非甲非乙型肝炎, 启动了对其病因的探索。尤其是在1982-1988年期间美国Chiron公司Houghton实验室的研究人员Choo等<sup>[5]</sup>用分子杂交和克隆等技术, 在感染的黑猩猩血液标本中获得了一种能导致非甲非乙型肝炎的病毒片断, 并正式将其命名为“丙型肝炎病毒(HCV)”。1991年国际病毒命名委员会将HCV归入了黄病毒科(Flavivirus)丙型肝炎病毒属<sup>[5,6]</sup>。1993年Simmonds等<sup>[7]</sup>通过对NS5B区扩增测序后进行系统进化树分析, 确定了6种基因型和一系列基因亚型。2005年将其作为国际通用的命名方法, 即以阿拉伯数字1-6表示基因型, 以小写的英文字母(abc等)表示基因亚型<sup>[8]</sup>。目前已报道的较公认的基因型有6种, 基因亚型已超过100种<sup>[9]</sup>。国内外研究表明, HCV不同基因(亚)型在地区分布、传播途径、疾病进展和抗病毒治疗上均有差异, 基因分型及动态变化已成为制定HCV感染防控策略的重要依据<sup>[3,10-13]</sup>。为了解黑龙江地区HCV基因型分布状况, 探讨HCV基因型流行特征, 以便更好地指导HCV感染的治疗和预防,

我们对本地区1 313例HCV感染患者外周血血浆标本进行了HCV基因亚型的检测和分析。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2009-06/2011-12就诊于哈尔滨医科大学附属第二医院的HCV感染患者1 313例, 均为抗-HCV阳性和拟进行抗病毒治疗。其中男627例, 女686例, 年龄12-87岁, 平均50.68岁±11.14岁。HCV感染诊断符合《丙型肝炎防治指南》(2004)。TRIzol购自北京博迈德科技发展有限公司; AMV反转录试剂盒购自ABI公司; Taq DNA聚合酶购自Fermentas公司; HCV RNA型特异性引物引自文献[14], 由南京金思特科技有限公司合成。引物序列如下: P1: 5'-ATGTACCCCATGAGGTCGGC-3'; P2: 5'-CGCGCGACTAGGAAGACTTC-3'; P共用: 5'-AGGAAGACTTCCGAGCGGTC-3'; Plα型: 5'-TGCCTTGGGGATAGGCTGAC-3'; Plb型: 5'-GAGCCATCCTGCCACCCCA-3'; P2a型: 5'-CCAAGAGGGACGGGAACCTC-3'; P2b型: 5'-ACCCTCGTTTCCGTACAGAG-3'。

**1.2 方法** 根据试剂使用说明书采用TRIzol法提取HCV感染患者外周血血浆中病毒RNA和进行AMV反转录; 参考文献[14]进行巢式多重PCR扩增; 取第二轮PCR扩增产物10 μL和MarkerDL2000 10 μL, 经3%琼脂糖凝胶电泳, Tanon凝胶成像系统成像、保存和观察结果。

**统计学处理** 数据处理采用统计学软件SPSS17.0, 计数资料的比较均采用 $\chi^2$ 检验(chi-square test), 计量资料比较采用秩和检验(rank-sum test), 其中基因型在年龄以及HCV RNA和ALT水平上总体比较使用Kruskal-Wallis检验, 组间比较使用Mann-Whitney检验,  $P<0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HCV基因亚型电泳结果** 采用型特异性巢式多重PCR法对HCV RNA进行1a、1b、2a和2b基因亚型检测, 电泳结果见图1, 1a: 49 bp; 1b: 144 bp; 2a: 174 bp; 2b: 123 bp。

**2.2 1 313例HCV感染者病毒基因亚型分布** 在1 313例患者HCV RNA基因亚型检测中, 927例检出基因型, 检出率为70.60%, 其中以1b、2a和1b与2a混合感染为主, 尚包括少量分别与其他型(1a/2b)的混合感染, 即1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>为388例(41.86%)、2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>为318例(34.30%)和1b+2a为197例(21.25%), 单纯1a或2b以及二者混合(1a+/2b)仅

表 1 不同性别的HCV感染者外周血中病毒基因亚型分布情况及比较  $n(\%)$ 

性别		检出(率)	1b <sup>+</sup> /2a <sup>-</sup>	2a <sup>+</sup> /1b <sup>-</sup>	1b+2a	1a+/2b
男	627(47.75)	439(70.02)	194(44.19)	135(30.75)	100(22.78)	10(2.28)
女	686(52.25)	488(71.14)	194(39.75)	183(37.50) <sup>a</sup>	97(19.88)	14(2.87)
合计	1313	927(70.60)	388(41.86)	318(34.30)	197(21.25)	24(2.59)

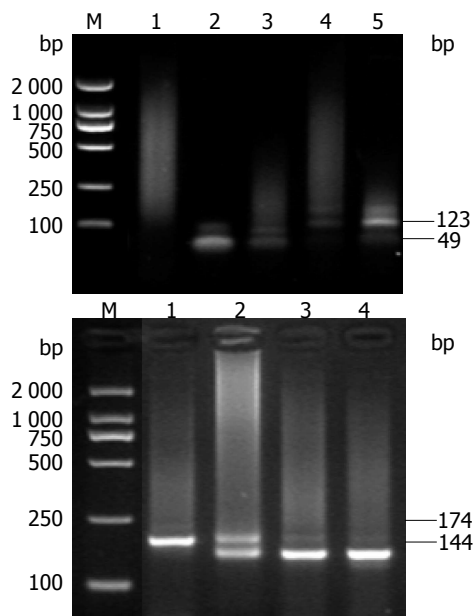
<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 男性组.

图 1 HCV 4种基因亚型电泳结果图示. 1a: 49 bp; 1b: 144 bp; 2a: 174 bp; 2b: 123 bp.

检出24例, 占2.59%(图2).

2.3 不同性别HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中, 男627例, 占47.75%, 检出HCV基因亚型439例, 检出率为70.02%; 女686例, 占52.25%, 检出HCV基因亚型488例, 检出率为71.14%. 男女比例匹配. 在两组中基因亚型分布总体未见差异( $\chi^2 = 5.383$ ,  $P = 0.146$ ), 只是2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>在女性组中比例明显高于男性组, 有统计学意义( $\chi^2 = 4.670$ ,  $P = 0.031$ , 表1).

2.4 不同年龄的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中1 283份有年龄记录, 其中906例检出HCV基因亚型, 检出率70.62%, 与总检出率70.60%未有明显差异( $\chi^2 = 0.000$ ,  $P = 0.994$ ). 通过进一步的分层分析, 各基因亚型组在不同年龄组中的比率也均未见差异( $\chi^2 = 11.754$ ,  $P = 0.860$ ). 又通过秩检验1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>、2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>、1b+2a和1a+/2b 4组年龄秩均值分别为459.71、449.50、447.28和457.46, 总体上也未见统计学差异( $\chi^2 = 0.400$ ,  $P = 0.940$ ). 基因亚型分布可能与年龄无关. 在不同年龄段HCV基因

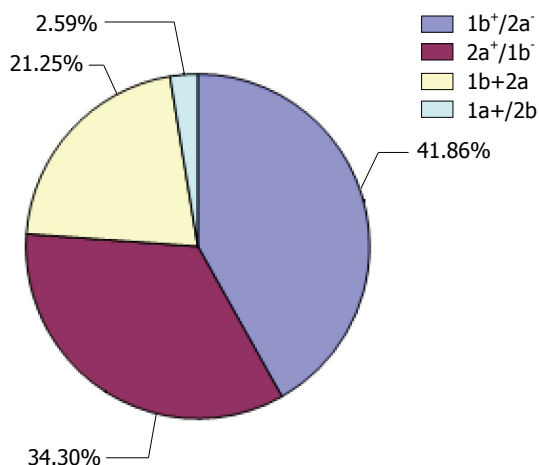


图 2 黑龙江省HCV基因亚型分布情况.

亚型分布见表2.

2.5 不同HCV RNA水平的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中548例有HCV RNA定量记录, 其中407例检出HCV基因亚型, 检出率74.27%, 与总检出率70.60%未有明显差异( $\chi^2 = 2.563$ ,  $P = 0.109$ ). 在不同HCV RNA水平上HCV基因亚型总体分布见表3, 差异显著( $\chi^2 = 34.001$ ,  $P = 0.003$ ), 主要体现在 $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组中1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>比率较其他各组显著降低(24.24% vs 48.28%,  $\chi^2 = 5.382$ ,  $P = 0.020$ ; 24.24% vs 40.00%,  $\chi^2 = 4.797$ ,  $P = 0.029$ ; 24.24% vs 38.93%,  $\chi^2 = 4.219$ ,  $P = 0.040$ ; 24.24% vs 57.14%,  $\chi^2 = 7.901$ ,  $P = 0.005$ ), 而2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>比率较其他各组则显著增高(54.55% vs 26.67%,  $\chi^2 = 6.457$ ,  $P = 0.011$ ; 54.55% vs 31.54%,  $\chi^2 = 9.715$ ,  $P = 0.002$ ; 54.55% vs 35.88%,  $\chi^2 = 6.273$ ,  $P = 0.012$ ; 54.55% vs 14.29%,  $\chi^2 = 10.440$ ,  $P = 0.001$ ). 又通过秩检验1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>、2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>、1b+2a和1a+/2b 4组的HCV RNA水平秩均值分别为214.26、192.52、213.10和131.27, 总体上未见统计学差异( $\chi^2 = 7.342$ ,  $P = 0.062$ ).

2.6 不同ALT水平的HCV感染者病毒基因亚型分布情况 在1 313例患者中535例有ALT水平记录, 其中401例检出HCV基因亚型, 检出率74.95%, 与总检出率70.60%未有明显差异( $\chi^2 = 3.560$ ,  $P =$

## ■ 相关报道

赵璐等较全面地综述了HCV基因型在我国和世界上的流行情况; I-Shyan等较系统地分析了HCV感染治疗的影响因素.



## ■创新盘点

本研究在检测本地区流行的HCV基因型的同时,更用不同的统计学方法分析了HCV基因型与不同HCV RNA和ALT水平的相关性。

表 2 不同年龄的HCV感染者病毒基因亚型分布情况  $n(\%)$ 

年龄(岁)	$n$	检出(率)	1b <sup>+</sup> /2a <sup>-</sup>	2a <sup>+</sup> /1b <sup>-</sup>	1b+2a	1a+/2b
<20	8	8(100.00)	4(50.00)	3(37.50)	1(12.50)	0(0)
20-29	49	36(73.47)	10(27.78)	18(50.00)	7(19.44)	1(2.78)
30-39	122	91(74.59)	35(38.46)	29(31.87)	24(26.37)	3(3.30)
40-49	365	243(66.58)	109(44.86)	83(34.16)	44(18.10)	7(2.88)
50-59	471	343(72.82)	140(40.82)	118(34.40)	78(22.74)	7(2.04)
60-69	226	155(68.58)	68(43.87)	51(32.90)	32(20.65)	4(2.58)
≥70	42	30(71.43)	12(40.00)	11(36.66)	5(16.67)	2(6.67)
合计	1 283	906(70.62)	378(41.72)	313(34.55)	191(21.08)	24(2.65)

表 3 不同HCV RNA水平的HCV感染者病毒基因亚型分布和比较  $n(\%)$ 

HCV RNA(copies/mL)	$n$	检出(率)	1b <sup>+</sup> /2a <sup>-</sup>	2a <sup>+</sup> /1b <sup>-</sup>	1b+2a	1a+/2b
$\leq 1.000 \times 10^3$	65	29(44.62)	14(48.28)	10(34.48)	2(6.90)	3(10.34)
$(1.001-9.999) \times 10^3$	47	30(63.83)	10(33.33)	8(26.67)	10(33.33)	2(6.67)
$(1.000-9.999) \times 10^4$	92	66(71.74)	16(24.24) <sup>a</sup>	36(54.55) <sup>c</sup>	12(18.18)	2(3.03)
$(1.000-9.999) \times 10^5$	170	130(76.47)	52(40.00)	41(31.54)	35(26.92)	2(1.54)
$(1.000-9.999) \times 10^6$	150	131(87.33)	51(38.93)	47(35.88)	32(24.43)	1(0.76)
$\geq 1.000 \times 10^7$	24	21(87.50)	12(57.14)	3(14.29)	5(23.81)	1(4.76)
合计	548	407(74.27)	155(38.08)	145(35.63)	96(23.59)	11(2.70)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs  $\leq 1.000 \times 10^3$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^5$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^6$ 和 $\geq 1.000 \times 10^7$ 组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs  $(1.001-9.999) \times 10^3$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^5$ 、 $(1.000-9.999) \times 10^6$ 和 $\geq 1.000 \times 10^7$ 组。

表 4 不同ALT水平的HCV感染者病毒基因亚型分布情况  $n(\%)$ 

ALT水平( $\mu$ /L)	$n$	检出(率)	1b <sup>+</sup> /2a <sup>-</sup>	2a <sup>+</sup> /1b <sup>-</sup>	1b+2a	1a+/2b
$\leq 40$	248	178(71.77)	63(35.39)	73(41.02) <sup>c</sup>	35(19.66)	7(3.93)
41-80	157	126(80.25)	57(45.24)	35(27.78)	33(26.19)	1(0.79)
81-200	99	74(74.75)	31(41.89)	22(29.73)	20(27.03)	1(1.35)
>200	31	23(74.19)	3(13.04) <sup>a</sup>	14(60.87) <sup>e</sup>	6(26.09)	0(0)
合计	535	401(74.95)	154(38.40)	144(35.92)	94(23.44)	9(2.24)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs  $\leq 40$ 组、41-80组和81-200组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 81-200组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 41-80组和81-200组。

0.059)。在不同ALT水平上HCV基因亚型总体分布见表4, 差异显著( $\chi^2 = 20.612$ ,  $P = 0.014$ ), 主要体现在ALT水平>200组中1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>比率较其他各组均显著降低( $\leq 40$ 组: 13.04% vs 35.39%,  $\chi^2 = 4.613$ ,  $P = 0.032$ ; 41-80组: 13.04% vs 45.24%,  $\chi^2 = 8.381$ ,  $P = 0.004$ ; 81-200组: 13.04% vs 41.89%,  $\chi^2 = 6.414$ ,  $P = 0.011$ ); 而2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>比率较41-80组和81-200组均显著增高(60.87% vs 27.78%,  $\chi^2 = 9.650$ ,  $P = 0.002$ ; 60.87% vs 29.73%,  $\chi^2 = 7.290$ ,  $P = 0.007$ )。在ALT水平 $\leq 40$ 组2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>比率较81-200组有意义的增高(41.02% vs 29.73%,  $\chi^2 = 5.641$ ,  $P = 0.018$ )。又通过秩检验1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>、2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>、1b+2a

和1a+/2b 4组的ALT水平秩均值分别为203.05、192.39、220.20和103.17, 在总体上也有统计学差异( $\chi^2 = 9.835$ ,  $P = 0.020$ ), 但组间(1b<sup>+</sup>/2a<sup>-</sup>、2a<sup>+</sup>/1b<sup>-</sup>和1b+2a)两两比较并无差异, 只是分别与1a+/2b组之间比较有差异( $u = -2.565$ ,  $P = 0.010$ ;  $u = -2.241$ ,  $P = 0.025$ ;  $u = -2.786$ ,  $P = 0.005$ )。说明主要HCV基因型分布在ALT水平秩均值上无差异, 但在不同ALT水平上有差异。

## 3 讨论

我们对本地区1 313例慢性HCV感染患者外周血中HCV基因型1a、1b、2a和2b检测结果的回顾

性分析发现, 在检出的基因型中以1b(41.86%)、2a(34.30%)及二者的混合型(21.25%)为主, 1a和2b少见, 说明该地区流行的HCV基因型是1b和2a, 高达97%, 与我国HCV基因型的分布相符<sup>[3,15]</sup>, 反映了该地区HCV基因型的流行特征和趋势. 根据报道1b和2a的感染比率已逐年下降<sup>[16,17]</sup>, 2a在巴基斯坦等国家已根除<sup>[15]</sup>. 一方面原因是1b和2a的传播主要与输血、血液制品的应用、手术和拔牙或牙处理等传统传播途径有关, 随着医疗政策的完善和医疗条件的改善, 二者的感染比率已逐年下降; 另外一个重要原因是2a对抗病毒治疗有持续的高反应性<sup>[18,19]</sup>, 尤其是目前的联合治疗又大大提高了1b对抗病毒治疗的反应性, 由原来的40%升高到70%以上<sup>[20-22]</sup>. 所以本地区HCV感染有望得到较好的控制.

我们也分析了基因型分布与性别、年龄、HCV RNA水平和ALT水平等的关系, 发现了一些有意义的差异, 如2a在女性组、HCV RNA  $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组、ALT水平>200组和 $\leq 40$ 组比率均有意义的增高, 而1b在HCV RNA  $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组和ALT水平>200组均有意义的降低, 但未发现与年龄有关. 在Yan等<sup>[16]</sup>对中国东南地区1 208例患者的基因型分布情况和变化的报道中, 2a在女性中比例较高, Roman等<sup>[23]</sup>也有类似的报道. Yan等<sup>[16]</sup>认为主要基因型分布与HCV RNA平均水平无关, 但我们与Ali和Rong等<sup>[24,25]</sup>的研究均发现主要基因型分布在不同HCV RNA水平上是有差异的, 这可能与资料的选择和统计学方法有关, 本研究资料的秩和检验的秩均值也未发现主要基因型分布与HCV RNA水平有关. 同样的原因也可能说明主要基因型分布在不同ALT水平上有差异, 但在秩和检验的秩均值中未发现差异的现象<sup>[26]</sup>. 据报道基因型分布在年龄上的差异主要是由于当地优势传播途径的变化, 使得年轻人中以3型和6型为主, 而30或40岁以上感染的HCV仍以亚型1b和2a为主<sup>[16]</sup>. 在本研究中, 我们只检测了1型和2型, 但检出率达70%以上, 且以1b和2a为主, 说明本地区未发生优势传播途径的变化, 所以未发现基因型分布与年龄有关. 但70.60%的检出率略显低, 分析其原因: (1)未严格控制HCV RNA的含量, 有较低或未检出者影响了检出率; (2)可能存在其他基因型或本地区特征性基因型, 有必要开展进一步研究; (3)方法学需要改进<sup>[27]</sup>.

总之, 通过本研究了解了本地区HCV主要流行株是1b和2a. 2a在女性组、HCV RNA

$(1.000-9.999) \times 10^4$ 组、ALT水平>200组和 $\leq 40$ 组比率均有意义的增高, 而1b在HCV RNA  $(1.000-9.999) \times 10^4$ 组和ALT水平>200组均有意义的降低, 未发现与年龄有关. 随着医疗条件的改善和联合治疗的开展, 本地区HCV感染有望得到较好的控制, 但也面临着巨大挑战<sup>[28-30]</sup>.

#### 4 参考文献

- 1 Negro F, Alberti A. The global health burden of hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 2: 1-3 [PMID: 21651699 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02537.x]
- 2 Alghamdi AS, Sanai FM, Ismail M, Alghamdi H, Alswat K, Alqutub A, Altraif I, Shah H, Alfaleh FZ. SASLT practice guidelines for the management of hepatitis C virus infection: summary of recommendations. *Saudi J Gastroenterol* 2012; 18: 293-298 [PMID: 23006455 DOI: 10.4103/1319-3767.101121]
- 3 赵璐, 冯悦, 夏雪山. HCV基因型的差异性流行与进化. *遗传* 2012; 34: 666-672
- 4 Goldfield M. Some epidemiologic studies of transfusion-associated hepatitis. *Infusionstherapie* 1974; 1: 645-649 [PMID: 4219402]
- 5 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-362 [PMID: 2523562]
- 6 Houghton M. Discovery of the hepatitis C virus. *Liver Int* 2009; 29 Suppl 1: 82-88 [PMID: 19207970 DOI: 10.1111/j.1478-3231]
- 7 Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, Beall E, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993; 74: 2391-2399 [PMID: 8245854 DOI: 10.1099/0022-1317-74-11-2391]
- 8 Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy DG, Okamoto H, Pawlotsky JM, Penin F, Sablon E, Shin-I T, Stuyver LJ, Thiel HJ, Viazov S, Weiner AJ, Widell A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42: 962-973 [PMID: 16149085 DOI: 10.1002/hep.20819]
- 9 Attaullah S, Khan S, Ali I. Hepatitis C virus genotypes in Pakistan: a systemic review. *Virol J* 2011; 8: 433 [PMID: 21902822 DOI: 10.1186/1743-422X-8-433]
- 10 Alexopoulou A, Papatheodoridis GV. Current progress in the treatment of chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6060-6069 [PMID: 23155334 DOI: 10.3748/wjg.v18.i42.6060]
- 11 Mangia A, Mottola L. What's new in HCV genotype 2 treatment. *Liver Int* 2012; 32 Suppl 1: 135-140 [PMID: 22212584 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02710.x]
- 12 Tian D, Li L, Liu Y, Li H, Xu X, Li J. Different HCV genotype distributions of HIV-infected individuals in Henan and Guangxi, China. *PLoS One* 2012; 7: e50343 [PMID: 23226265 DOI: 10.1371/journal.pone.0050343]
- 13 Cho EJ, Jeong SH, Han BH, Lee SU, Yun BC, Park ET. Hepatitis C virus (HCV) genotypes and the influence of HCV subtype 1b on the progression of

#### ■名词解释

准种: 感染者体内形成的以一个优势株为主的相关突变株病毒群.

## ■同行评价

本文思路清晰, 设计合理, 能与临床密切结合, 有一定实用意义.

- chronic hepatitis C in Korea: a single center experience. *Clin Mol Hepatol* 2012; 18: 219-224 [PMID: 22893873 DOI: 10.3350/cmh.2012.18.2.219]
- 14 陈玮, 谢祥红, 周建丽, 王海滨. 多重PCRHCV基因分型检测方法的建立及初步应用. *传染病信息* 2007; 20: 163-164
- 15 Sievert W, Altraif I, Razavi HA, Abdo A, Ahmed EA, Alomair A, Amarapurkar D, Chen CH, Dou X, El Khayat H, Elshazly M, Esmat G, Guan R, Han KH, Koike K, Largen A, McCaughan G, Mogawer S, Monis A, Nawaz A, Piratvisuth T, Sanai FM, Sharrara AI, Sibbel S, Sood A, Suh DJ, Wallace C, Young K, Negro F. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 2: 61-80 [PMID: 21651703 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02540.x]
- 16 Yan Z, Fan K, Wang Y, Fan Y, Tan Z, Deng G. Changing pattern of clinical epidemiology on hepatitis C virus infection in southwest china. *Hepat Mon* 2012; 12: 196-204 [PMID: 22550528 DOI: 10.5812/hepatmon.857]
- 17 Butt S, Idrees M, Shahid M, Amin I, Younas S, Afzal S, Akbar H, Ur Rehman I. Change in hepatitis C virus clades: a cross-sectional study of chronic HCV patients in Pakistan from 2000-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30: 669-672 [PMID: 21210169 DOI: 10.1007/s10096-010-1138-1]
- 18 Idrees M, Riazuddin S. A study of best positive predictors for sustained virologic response to interferon alpha plus ribavirin therapy in naive chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 5 [PMID: 19152711 DOI: 10.1186/1471-230X-9-5]
- 19 Grassi E, Aghemo A. How to optimize HCV therapy in genotype 2 patients. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 35-40 [PMID: 23286844 DOI: 10.1111/liv.12056]
- 20 Asselah T. Triple therapy with boceprevir or telaprevir for prior HCV non-responders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 455-462 [PMID: 23199504 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.09.003]
- 21 Jesudian AB, Jacobson IM. Optimal treatment with telaprevir for chronic HCV infection. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 3-13 [PMID: 23286840 DOI: 10.1111/liv.12079]
- 22 I-Shyan S, Chun-Yen L, Wen-Juei J, Chang-Wen H, Chien-Hao H, Ji-Yih C. Patients younger than forty years old with hepatitis C virus genotype-1 chronic infection had treatment responses similar to genotype-2 infection and not related to interleukin-28B polymorphism. *Ann Hepatol* 2013; 12: 62-69 [PMID: 23293195]
- 23 Roman F, Hawotte K, Struck D, Ternes AM, Servais JY, Arendt V, Hoffman P, Hemmer R, Staub T, Seguin-Devaux C, Schmit JC. Hepatitis C virus genotypes distribution and transmission risk factors in Luxembourg from 1991 to 2006. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1237-1243 [PMID: 18300350 DOI: 10.3748/wjg.14.1237]
- 24 Ali A, Nisar M, Ahmad H, Saif N, Idrees M, Bajwa MA. Determination of HCV genotypes and viral loads in chronic HCV infected patients of Hazara Pakistan. *Virol J* 2011; 8: 466 [PMID: 21982599 DOI: 10.1186/1743-422X-8-466]
- 25 Rong X, Lu L, Wang J, Xiong H, Huang J, Chen J, Huang K, Xu R, Wang M, Zhang X, Guo T, Liu Y, Gao G, Fu Y, Nelson KE. Correlation of Viral Loads with HCV Genotypes: Higher Levels of Virus Were Revealed among Blood Donors Infected with 6a Strains. *PLoS One* 2012; 7: e52467 [PMID: 23285053 DOI: 10.1371/journal.pone.0052467]
- 26 Zhang GY, Pu SB, Yu XY, Yang J, Shi JF, Xu AL, Guo ZH, Qiao MG, Zhang J, Jing YZ. [Study on hepatitis C virus genotypes in Yantai district, Shandong province]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2012; 26: 259-262 [PMID: 23189838]
- 27 Cai Q, Zhao Z, Liu Y, Shao X, Gao Z. Comparison of three different HCV genotyping methods: Core, NS5B sequence analysis and line probe assay. *Int J Mol Med* 2013; 31: 347-352 [PMID: 23241873 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1209]
- 28 Nucara S, Caroleo B, Guadagnino V, Perrotti N, Trapasso F. Natural history and clinical response: "it's the virus, stupid, or is it the host?". *BMC Infect Dis* 2012; 12 Suppl 2: S6 [PMID: 23173731 DOI: 10.1186/1471-2334-12-S2-S6]
- 29 Petta S, Craxi A. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients: predictors of response. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 23-29 [PMID: 23286842 DOI: 10.1111/liv.12053]
- 30 Chopra A, Klein PL, Drinnan T, Lee SS. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients: management of side-effects. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 30-34 [PMID: 23286843 DOI: 10.1111/liv.12080]

编辑 李军亮 电编 闫晋利





# 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例

邢霖远, 余祖江

邢霖远, 余祖江, 郑州大学第一附属医院感染科 河南省郑州市 450052

邢霖远, 硕士, 主要从事病毒性肝炎抗病毒治疗的研究.

作者贡献分布: 本研究由邢霖远与余祖江共同完成.

通讯作者: 余祖江, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院感染科. 18037688733@163.com

收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-01-27

接受日期: 2013-01-29 在线出版日期: 2013-02-28

## Causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: An analysis of 127 cases

Ji-Yuan Xing, Zu-Jiang Yu

Ji-Yuan Xing, Zu-Jiang Yu, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Zu-Jiang Yu, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, China. 18037688733@163.com

Received: 2013-01-07 Revised: 2013-01-27

Accepted: 2013-01-29 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF) and discuss independent risk factors for death associated with HBV-ACLF.

**METHODS:** Clinical data for 127 patients with HBV-ACLF were retrospectively analyzed. Univariate analysis was initially performed to identify significant factors affecting death in patients with HBV-ACLF. The identified significant factors were then included in multivariate and unconditioned Logistic regression analysis.

**RESULTS:** Logistic regression analysis revealed that total bilirubin, blood ammonia, creatinine and blood sodium were significantly associated with death in patients with HBV-ACLF ( $EXP = 1.025, 1.063, 0.611, 1.047$ , all  $P < 0.05$ ). Patients often died from a variety of complications, including hepatorenal syndrome (27%) and hepatic encephalopathy (21%).

**CONCLUSION:** Total bilirubin, blood ammonia and creatinine are independent risk factors for death associated with HBV-ACLF, while blood sodium is an independent protective factor.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatitis B virus; Liver failure; Hepatitis B

Xing JY, Yu ZJ. Causes of death in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: An analysis of 127 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 537-540  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/537.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.537>

## 摘要

**目的:** 分析乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)的死因, 探讨引起HBV-ACLF死亡的独立危险因素.

**方法:** 回顾性分析乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者127例的临床资料. 以 $t$ 检验筛选出有统计学意义的危险因素, 再进行Logistic回归分析影响死亡的危险因素.

**结果:** 经单因素分析和多因素非条件Logistic回归分析结果显示, 两组间血清总胆红素、血氨、血肌酐、血钠的差异有显著性( $EXP$ 值分别为1.025、1.063、0.611、1.047, 均 $P < 0.05$ ). 死亡组患者均死于多种并发症, 其中, 肝肾综合征27%、肝性脑病21%.

**结论:** 血清总胆红素、血氨、血肌酐是HBV-ACLF患者死亡的独立危险因素, 血钠是独立保护因素.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 乙型肝炎病毒; 肝衰竭; 乙型肝炎

邢霖远, 余祖江. 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 537-540  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i6.537>

## ■背景资料

乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)是指在慢性肝病(通常是指肝硬化)的基础上, 在急性损伤因素的作用下, 短期(2-4 wk)内发生急性肝功能失代偿的一种严重的临床综合征, 临床表现为黄疸、凝血机制障碍和多脏器功能衰竭等, 经积极救治后, 病死率仍很高. HBV-ACLF是我国肝衰竭中最常见的类型, 占80%-90%.

## ■同行评议者

赵秀英, 副教授, 首都医科大学附属北京佑安医院; 白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心; 彭亮, 副主任医师, 中山大学附属第三医院感染科

## ■ 研发前沿

血肌酐是肝衰竭晚期肝肾综合征并发的检测指标之一,肾功能受损是肝衰竭晚期最严重的并发症之一。有资料证明,严重肝病时的肾功能衰竭与内毒素血症密切相关。

## 0 引言

乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure, HBV-ACLF)是指在慢性肝病(通常是指肝硬化)的基础上,在急性损伤因素的作用下,短期(2-4 wk)内发生急性肝功能失代偿的一种严重的临床综合征,临床表现为黄疸、凝血机制障碍和多脏器功能衰竭等,经积极救治后,病死率仍很高。HBV-ACLF是我国肝衰竭中最常见的类型,占80%-90%<sup>[1]</sup>。目前,对于HBV-ACLF的内科治疗还缺乏特效药物和手段,多采取综合治疗措施,积极防治各种并发症。我们通过采用Logistic回归分析HBV-ACLF死亡的独立危险因素,以期为该病的早期防治提供一定的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2005-05/2012-09郑州大学第一附属医院感染科HBV-ACLF患者127例的临床病例资料,其中男84例,年龄11-77岁,住院时间13-74 d。每份病历按统一的调查表格进行登记,记录患者住院号、姓名、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、肝功能、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)、肌酐、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、总胆红素(total bilirubin, TB)、血氨、终末期肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)评分<sup>[2]</sup>、Child-Pugh评分<sup>[3]</sup>、住院经过及疾病转归。其中BMI、MELD评分、Child-Pugh评分标准如下: BMI = 体质量(kg)/身高(m<sup>2</sup>)。肝、肾功能检测采用深圳Mindray BS-400型全自动生化分析仪,试剂购自日本和光纯药。凝血酶原活动度(PTA)检测采用德国BE公司Compact全自动血凝分析仪,试剂为美国生产的Biopool配套试剂。血氨检测采用日本产YM3PA4130型血氨分析仪和随仪器配用的血氨测定试纸条。AFP检测采用罗氏p800全自动生化分析仪放射免疫法测定。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 以在院内死亡或自动出院随访至死亡为终点判断。存活组为出院时症状体征基本消失,肝功能明显改善(血清总胆红素<50 μmol/L, PTA>40%);死亡组为患者在院内死亡或自动出院后随访至死亡。将所收集患者临床病例资料分为存活组与死亡组,其中存活组患者76例,死亡组患者51例。

**1.2.2 诊断标准:** 患者诊断符合2006年中华医学会感染病学分会及肝病学会修订的《肝衰竭

表 1 Child-Pugh评分标准

临床生化指标	1分	2分	3分
肝性脑病	无	1-2	3-4
腹水	无	轻度	中、重度
总胆红素(μmol/L)	<34	34-51	>51
白蛋白(g/L)	>35	28-35	<28
凝血酶原延长(s)	<4	4-6	>6

诊疗指南》,排除合并有其他病毒性肝炎、药物及酒精性肝损害,遗传代谢性肝脏疾病、自身免疫性疾病、肿瘤;或合并严重的心、脑、肺、肾等脏器器质性病变及中、重度肝性脑病和合并胃肠道出血者。

**1.2.3 MELD评分标准:** 统计所有患者的肌酐、胆红素、国际标准化比值,按照以下公式进行计算:  $R = 9.6 \times \ln(\text{肌酐mg/dL}) + 3.8 \times \ln(\text{胆红素mg/dL}) + 11.2 \times \ln(\text{INR}) + 6.4 \times \text{病因}$ , 结果取整数(胆汁淤积性和酒精性肝硬化为0,病毒等其他原因肝硬化为1)。Child-Pugh评分标准见表1。

**1.2.4 患者临床资料收集:** 对于两组患者分别收集治疗前、治疗中和病情最重时肝肾功能、凝血酶原活动度、甲胎蛋白、国际标准化比值、血氨、血钠等指标,对诊断为慢加急性肝衰竭时的各项基线数据进行以下分析,同时对两组并发症进行统计,进行构成比分析。

**统计学处理** 使用SPSS17.0软件对患者临床病例资料进行t检验,将单因素分析后差异性显著的指标进行多因素非条件Logistic回归分析,计算出独立危险因素的EXP值,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组间HBV-ACLF各指标单因素分析** 两组患者在年龄、BMI、总胆红素、血氨、甲胎蛋白、血钠、血肌酐、凝血酶原活动度、MELD评分等指标均有统计学意义( $P < 0.05$ ), Child-Pugh评分无统计学意义(表2)。

**2.2 两组间各指标的多因素非条件Logistic回归分析** 将上述两组间HBV-ACLF死亡因素有意义的9个变量进行多因素非条件Logistic回归分析,结果显示:总胆红素、血肌酐、血氨是HBV-ACLF死亡的独立危险因素,血钠是HBV-ACLF死亡的独立保护因素。其他指标未进入方程(表3)。

**2.3 两组死因构成比分析** 存活组76例患者均未出现以下5种并发症。死亡组51例患者均死于

表 2 各指标对于生存组与死亡组之间的差异性比较

	存活组	死亡组	P值
年龄(岁)	41.11 ± 8.43	46.80 ± 9.69	0.001
体质指数	29.85 ± 1.09	20.13 ± 2.17	0
总胆红素TB(μmol/L)	292.50 ± 85.54	514.20 ± 163.13	0
血氨(μmol/L)	39.93 ± 21.65	77.88 ± 28.41	0
甲胎蛋白(ng/mL)	37.17 ± 46.89	13.78 ± 13.79	0.001
血钠(mmol/L)	137.10 ± 4.23	131.85 ± 3.18	0
凝血酶原活动度(%)	26.81 ± 7.40	14.90 ± 5.20	0
血肌酐(μmol/L)	100.41 ± 33.56	143.80 ± 42.49	0
MELD评分	20.22 ± 2.23	30.01 ± 1.29	0.001
Child-Pugh评分	3.00 ± 1.32	4.00 ± 1.11	0.122

## ■ 相关报道

目前研究证明: 甲胎蛋白、凝血酶原活动度、MELD评分对于判断HBV-ACLF的预后及转归均具有重要意义。

表 3 两组间各指标的多因素非条件Logistic回归分析

因素	B	SE	Wald	P值	EXP	EXP值95%CI
总胆红素	0.025	0.008	9.373	0.002	1.025	1.009–1.041
血氨	0.062	0.023	7.243	0.007	1.063	1.017–1.112
血钠	-0.493	0.162	9.263	0.002	0.611	0.444–0.839
血肌酐	0.046	0.020	5.274	0.022	1.047	1.007–1.089

B: 偏回归系数; SE: 偏回归系数的标准误; Wald: 统计量; EXP: 优势比; EXP值95%CI: 优势比的可信区间。

多种并发症, 其中, 肝肾综合征27%、肝性脑病21%、上消化道出血10%、重度感染12%、电解质紊乱10%、合并两种或以上20%。

### 3 讨论

肝衰竭是多种因素引起的严重肝脏损害, 导致肝脏合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿, 出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群。可分为4类: 急性肝衰竭、亚急性肝衰竭、慢加急性肝衰竭和慢性肝衰竭。慢加急性肝衰竭是我国肝衰竭中最常见的类型之一<sup>[4,5]</sup>, 其中HBV感染占绝对主导地位<sup>[6]</sup>。本研究对于引起HBV-ACLF死亡的临床资料及各实验室指标进行回顾性分析, 探讨引起该病死亡的独立危险因素, 指导临床治疗。由于临床限制, 本研究的病例资料样本量较小, 还不能进行大样本的统计分析。目前研究证明: 甲胎蛋白、凝血酶原活动度、MELD评分对于判断HBV-ACLF的预后及转归均有重要意义<sup>[7-9]</sup>。而本研究对于上述指标结果显示, 未进入Logistic回归方程, 这可能是几种指标综合作用的结果。

肝脏是胆红素摄取、结合、代谢及排泄的

场所, 一旦肝细胞病变, 其功能发生障碍, 导致血中胆红素升高。有研究显示随着血氨浓度升高, 重型肝炎的预后越差, 病死率越高。重型肝炎合并肝性脑病患者血氨浓度明显高于未合并肝性脑病的患者, 其变化随肝细胞损伤程度加重而增加, 死亡者达到最高水平, 提示血氨浓度升高是发生肝性脑病的重要预测性指标<sup>[10]</sup>。血肌酐是肝衰竭晚期肝肾综合征并发症的检测指标之一, 肾功能受损是肝衰竭晚期最严重的并发症之一。有资料证明, 严重肝病时的肾功能衰竭与内毒素血症密切相关<sup>[11]</sup>。全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)是促成ACLF患者发生多脏器衰竭的重要原因, 与内毒素血症有关的中性粒细胞吞噬功能缺陷与并发感染、器官功能衰竭及病死率具有显著相关性<sup>[12,13]</sup>。本组资料发现血清总胆红素、血氨、血肌酐对于HBV-ACLF患者死亡是独立危险因素, 以上指标有助于判断HBV-ACLF的预后和转归, 指导临床综合性治疗。肝衰竭患者常合并低钠血症, 加重肝性脑病, 导致病情恶化, 甚至死亡<sup>[14]</sup>。失代偿期肝硬化常发生机体水平衡紊乱, 导致水潴留和稀释性低钠血症, 腹水患者稀释性低钠血症的发生率可达30%, 严重低



## ■同行评价

本文文献引用合理, 结果可靠, 选题虽然不新颖, 但对临床医师有一定指导意义。

钠血症常提示预后不良<sup>[15]</sup>。而HBV-ACLF患者出现稀释性低钠血症更难以纠正, 本组资料显示血钠是HBV-ACLF死亡的独立保护因素, 有助于在临床上实施有效干预稀释性低钠血症的治疗至关重要。

对于本研究, 由于临床资料局限性, 缺乏大样本的统计分析, 我们将继续收集关于HBV-ACLF的临床资料, 以期下一步进行大样本的统计分析, 获得更可靠的结果。HBV-ACLF症状复杂, 进展迅速, 病死率高, 预后不良, 原则上强调早期诊断, 早期治疗, 积极防治各种并发症。血氨、总胆红素、血肌酐、血钠作为HBV-ACLF死亡的独立因素, 在临床上应着重监测, 对于判断患者预后及转归有重要意义, 采取综合治疗, 高度警惕常见并发症的发生, 可给予积极预防性治疗, 降低病死率。

## 4 参考文献

- 1 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 643-646
- 2 刘青, 王泰岭. 应用MELD系统预测慢性重型肝炎的预后及其治疗效果. 中华医学杂志 2005; 85: 1773-1777
- 3 宋春辉, 陈黎明, 徐长江, 陈菊梅. 应用两种评分系统对409例肝硬化和重型肝炎病例的评估分析. 胃肠病学和肝病杂志 2007; 16: 73-75
- 4 宋传芳, 刘冰熔. 急性肝衰竭的综合治疗. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3237-3243
- 5 徐贞秋, 徐龙, 龙涛, 程欣. 慢加亚急(急)性肝衰竭与慢性肝衰竭的临床分析. 中外医疗 2009; 27: 52
- 6 刘晓燕, 胡瑾华, 王慧芬, 陈菊梅. 1977例急性、亚急性、慢加急性肝衰竭患者的病因与转归分析. 中华肝脏病杂志 2008; 16: 772-775
- 7 夏刚, 李显勇. 甲胎蛋白含量在慢加急性肝衰竭中的临床意义. 华西医学 2009; 24: 916-917
- 8 肖时湘, 韩涛, 阚志超. 凝血酶原活动度等指标与慢性重型肝炎预后. 天津医科大学学报 2007; 13: 104, 110
- 9 陈学兵, 朱霞, 唐红. 终末期肝病3种评分体系对急性肝衰竭患者预后的评估. 世界华人消化杂志 2011; 19: 855-859
- 10 李晓光, 于永光, 王丽艳, 郭欣, 王连明. 血氨检测在临床肝脏疾病中的应用价值. 国际检验医学杂志 2012; 33: 1340-1342
- 11 韩德五. 肝功能衰竭发病机制的研究-肠源性内毒素血症假说. 肝脏病杂志 1995; 3: 134-137
- 12 Sen S, Williams R, Jalan R. The pathophysiological basis of acute-on-chronic liver failure. *Liver* 2002; 22 Suppl 2: 5-13 [PMID: 12220296]
- 13 Mookerjee RP, Stadlbauer V, Lidder S, Wright GA, Hodges SJ, Davies NA, Jalan R. Neutrophil dysfunction in alcoholic hepatitis superimposed on cirrhosis is reversible and predicts the outcome. *Hepatology* 2007; 46: 831-840 [PMID: 17680644]
- 14 郭俊芝, 刘近春. 肝硬化低钠血症转归分析. 山西医药杂志 2005; 34: 15-16
- 15 方嘉庆, 谢渭芬, 陈岳祥. 肝硬化患者稀释性低钠血症的发生机制及治疗进展. 国际消化病杂志 2010; 30: 71-72, 89

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压在肝切除术中的应用

董志涛, 罗昆仑, 吴国忠, 李界明, 周脉涛

董志涛, 罗昆仑, 吴国忠, 李界明, 中国人民解放军第101医院普通外科 江苏省无锡市 214044

周脉涛, 中国人民解放军第101医院麻醉科 江苏省无锡市 214044

董志涛, 主治医师, 主要从事肝胆外科的相关研究。

南京军区医学科技创新课题基金资助项目, No. 10MA008

作者贡献分布: 本课题由董志涛、罗昆仑、吴国忠、李界明及周脉涛设计; 研究过程由董志涛、罗昆仑、吴国忠、李界明及周脉涛操作完成; 研究所用分析工具由董志涛提供; 数据分析由董志涛与罗昆仑完成; 论文写作由董志涛、罗昆仑、吴国忠及李界明完成。

通讯作者: 罗昆仑, 教授, 214044, 江苏省无锡市兴源北路101号, 中国人民解放军第101医院普通外科。luokl2011@126.com  
电话: 0510-85142114 传真: 0510-85142057

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-19

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure in hepatectomy

Zhi-Tao Dong, Kun-Lun Luo, Guo-Zhong Wu, Jie-Ming Li, Mai-Tao Zhou

Zhi-Tao Dong, Kun-Lun Luo, Guo-Zhong Wu, Jie-Ming Li, Department of General Surgery, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China

Mai-Tao Zhou, Department of Anesthesiology, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Innovation Research Fund of the Nanjing Military Region, No. 10MA008

Correspondence to: Kun-Lun Luo, Professor, Department of General Surgery, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China. luokl2011@126.com

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-19

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure (LCVP) in hepatectomy, and to analyze its effect on liver and kidney function and systemic haemodynamics.

**METHODS:** The clinical data for 44 patients with liver diseases who underwent hepatectomy from January 2008 to January 2011 at our hospital

were retrospectively analyzed. The patients were randomly divided into an experimental group (group A,  $n = 22$ ) and a control group (Group B,  $n = 22$ ). When patients in Group A underwent hepatectomy, the central venous pressure (CVP) was controlled between 2-4 mm Hg (1 mmHg = 0.133 kPa) and blood pressure  $\geq 90$  mmHg, and selective semi-hepatic vascular occlusion was performed. Conventional surgical treatment was given to patients in group B. Intraoperative blood loss, blood pressure, heart rate, changes in liver and kidney function, postoperative hospital stay, and postoperative complications were compared between the two groups.

**RESULTS:** Intraoperative blood loss was significantly lower in group A than in group B ( $350.2 \text{ mL} \pm 175.4 \text{ mL}$  vs  $450.3 \text{ mL} \pm 135.1 \text{ mL}$ ,  $P < 0.05$ ). Serum alanine aminotransferase (ALT) was significantly better in group A than in group B on postoperative days 1 and 3 (day 1:  $514.3 \text{ U/L} \pm 215.6 \text{ U/L}$  vs  $720.2 \text{ U/L} \pm 350.7 \text{ U/L}$ ,  $P < 0.05$ ; day 3:  $360.1 \text{ U/L} \pm 146.4 \text{ U/L}$  vs  $489.1 \text{ U/L} \pm 231.5 \text{ U/L}$ ,  $P < 0.05$ ). Serum albumin (ALB) on postoperative day 1 was significantly higher in group A than in group B ( $37.5 \text{ g/L} \pm 2.2 \text{ g/L}$  vs  $35.4 \text{ g/L} \pm 3.9 \text{ g/L}$ ,  $P < 0.05$ ). There were no statistical differences in intraoperative blood pressure ( $131.1 \text{ mmHg} \pm 18.8 \text{ mmHg}$  vs  $129.2 \text{ mmHg} \pm 14.7 \text{ mmHg}$ ,  $P > 0.05$ ), heart rate ( $83.1 \text{ times/min} \pm 11.2 \text{ times/min}$  vs  $75.4 \text{ times/min} \pm 12.3 \text{ times/min}$ ,  $P > 0.05$ ), postoperative renal function ( $P > 0.05$ ), hospital stay ( $11.3 \text{ d} \pm 2.4 \text{ d}$  vs  $12.1 \text{ d} \pm 2.2 \text{ d}$ ,  $P > 0.05$ ) or rate of complications ( $18.2\%$  vs  $22.7\%$ ,  $P > 0.05$ ) between the two groups.

**CONCLUSION:** During hepatectomy, selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure is effective in reducing intraoperative blood loss, protecting liver function, reducing ischemia-reperfusion injury, and has no significant influence on renal function, postoperative hospital stay and systemic hemodynamics.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

## ■背景资料

肝脏切除术目前应用日益广泛, 临床上常用的阻断方法为阻断第一肝门法(Pringle法), 但此方法对肝脏功能影响较大, 易引起缺血再灌注损伤。另外, 肝门阻断后肝脏手术过程中出血主要来自肝静脉, 如何预防肝静脉出血已成为减少术中出血量的关键。本研究主要探讨选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压在肝切除术中的应用安全性及有效性, 以寻找减少肝切除手术出血的安全有效的方法。

## ■同行评议者

赵青川, 教授, 主任医师, 西京医院消化外科

## ■ 研究前沿

近年来各种肝血流阻断技术不断被报道,研究证实选择性半肝血流阻断技术可以有效地减少术中出血,减少缺血再灌注损伤。而低中心静脉压技术可以降低下腔静脉压力,降低肝静脉的压力和肝窦内的压力,可以减少肝静脉出血。

**Key Words:** Liver; Hepatectomy; Central venous pressure

Dong ZT, Luo KL, Wu GZ, Li JM, Zhou MT. Application of selective semi-hepatic vascular occlusion combined with low central venous pressure in hepatectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 541-546 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/541.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.541>

## 摘要

**目的:** 探讨选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术(low central venous pressure, LCVP)在肝切除术中的应用及对肝肾功能及全身血流动力学的影响。

**方法:** 2008-01/2011-01施行肝切除术的患者44例,随机分为实验组(A组, 22例)和常规手术组(B组, 22例)。A组切肝时经药物处理使低中心静脉压(central venous pressure, CVP)维持在2-4 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)、收缩压 $\geq$  90 mmHg,同时根据肝切除的不同部位选择行半肝血流阻断,对照组则按常规手术处理。比较两组术中出血量、心率、血压、肝肾功能、术后住院时间及术后并发症。

**结果:** A组和B组术中出血量分别为350.2 mL $\pm$ 175.4 mL和450.3 mL $\pm$ 135.1 mL,差异有统计学意义( $P<0.05$ ); A组术后第1天,第3天ALT指标明显好于B组两组,差异有统计学意义(第1天: 514.3 U/L $\pm$ 215.6 U/L vs 720.2 U/L $\pm$ 350.7 U/L,  $P<0.05$ ; 第3天: 360.1 U/L $\pm$ 146.4 U/L vs 489.1 U/L $\pm$ 231.5 U/L,  $P<0.05$ ), A组术后第1天白蛋白水平与B组相比差异有统计学意义(37.5 g/L $\pm$ 2.2 g/L vs 35.4 g/L $\pm$ 3.9 g/L,  $P<0.05$ )。两组术中心率(83.1次/min $\pm$ 11.2次/min vs 75.4次/min $\pm$ 12.3次/min,  $P>0.05$ )、术后收缩压(131.1 mmHg $\pm$ 18.8 mmHg vs 129.2 mmHg $\pm$ 14.7 mmHg,  $P>0.05$ )、肾功能( $P>0.05$ )、住院时间(11.3 d $\pm$ 2.4 d vs 12.1 d $\pm$ 2.2 d,  $P>0.05$ )及并发症率(18.2% vs 22.7%,  $P>0.05$ )差异均无统计学意义。

**结论:** 在肝切除术中,选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术可以有效地减少术中出血量,保护肝功能,减少缺血再灌注损伤,且对患者肾功能,术后住院时间及全身血流动力学无影响。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 肝; 肝切除术; 中心静脉压

董志涛, 罗昆伦, 吴国忠, 李界明, 周脉涛. 选择性半肝血

流阻断联合低中心静脉压肝切除术中的应用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(6): 541-546 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/541.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.541>

## 0 引言

肝脏外科手术风险较高,术中出血是影响肝切除手术效果的主要原因之一。大量研究表明手术死亡率与术中出血量相关,大量失血可增加术后并发症的发生率和死亡率,也是肿瘤术后复发的高危因素之一。目前临床上常用的肝血流阻断方法为阻断第一肝门法(Pringle法),但此方法对肝功能影响较大,可引起肝脏缺血再灌注损伤。此外,阻断入肝血流后,出血主要来自肝静脉,如何控制肝静脉出血亦是手术的关键。本研究主要探讨选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压(low central venous pressure, LCVP)技术在肝切除术中对术中出血量,肝肾功能及全身血流动力学的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2008-01/2011-01由我院同一组医生施行肝切除术的患者44例,根据美国麻醉医师协会麻醉分级(ASA)为I-II级,其中:男29例,女15例,年龄21-75岁,随机分为实验组及对照组,其中:实验组(A组)22例:男15例,女7例,年龄34-72岁,中位年龄56岁,体质量50 kg $\pm$ 18 kg,术前肝功能Child-Pugh分级:A级16例,B级6例;包括:原发性肝癌14例(其中右肝癌6例,左肝癌8例),合并肝炎后肝硬化8例,肿瘤直径7.5 cm $\pm$ 2.1 cm。右肝血管瘤2例、右肝脓肿1例、左肝内胆管结石3,右肝内胆管结石2例;行左肝外叶切除6例,左半肝切除5例,右前叶切除4例,右后叶切除4例,右半肝切除3例。对照组(B组)22例:男14例,女8例,年龄31-71岁,中位年龄54岁,体质量52 kg $\pm$ 13 kg,术前肝功能Child-Pugh分级A级17例,B级5例。其中原发性肝癌12例(其中右肝癌5例,左肝癌7例),合并肝炎后肝硬化6例,肿瘤直径6.9 cm $\pm$ 3.1 cm、右肝血管瘤2例,左肝血管瘤1例、左肝内胆管结石4例,右肝内胆管结石3例。行左肝外叶切除5例,左半肝切除7例,右前叶切除2例,右后叶切除4例,右半肝切除4例。所有病例均行超声及增强CT检查。两组性别构成、年龄、体质量、肝硬化例数和Child-Pugh分级,手术方式差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

病例排除标准:术前合并有贫血(Hb $<$ 100 g/L)、



表 1 两组手术及术后恢复情况 ( $n = 22$ )

分组	术中出血(mL)	输血(mL)	手术时间(min)	肝门阻断时间(min)	术后住院时间(d)
A组	350.2 ± 175.4	312.6 ± 155.3	132.2 ± 25.3	17.3 ± 5.6	11.3 ± 2.4
B组	450.3 ± 135.1	370.1 ± 125.4	125.1 ± 21.7	18.4 ± 7.2	12.1 ± 2.2
<i>t</i> 值	2.085	1.931	1.680	1.010	1.730
<i>P</i> 值	0.027	0.082	0.215	0.162	0.179

## ■ 相关报道

冯龙等报道控制性低中心静脉压技术应用在精准肝切除手术中可明显降低术中出血量且对患者肾功能无明显影响。

高血压、糖尿病、心肺功能异常、凝血功能异常、肾功能不全、肝功能明显异常、腹腔脏器粘连严重, 肝门部血管解剖变异, 肿瘤侵犯肝门。

## 1.2 方法

**1.2.1 手术方法:** A组行半肝血流阻断, 通过Glisson鞘膜外途径, 不解剖第一肝门, 在第一肝门横沟上缘, 直角钳紧贴Glisson鞘膜外向后、下方分离。在食指的引导下, 直角钳在门静脉分支部和尾状叶包膜后向前穿出, 引入右肝蒂阻断带; 直角钳经左肝蒂, 小网膜囊后向前穿出, 引入左肝蒂阻断带; 切肝时, 将阻断带收紧, 即可阻断左或右肝蒂。半肝血流阻断后可见清晰的左右半肝分界线。B组应用常规Pringle法切肝, 两组均间歇性阻断血流, 每次阻断时间 $\leq 20$  min, 间隔5 min; 术中处理: A组麻醉后采取15度头低倾斜位<sup>[1]</sup>, 从麻醉插管开始到肝切除完成, 控制输液速度 $\leq 75$  mL/h, 尿量 $\geq 25$  mL, 收缩压 $\geq 90$  mmHg, 静脉使用硝酸甘油0.5-2.0 mg, 控制CVP在2-4 mmHg之间, 如效果欠佳, 可加用呋塞米10-20 mg, 如血压偏低可调节硝酸甘油的剂量及间断液体冲击。肿瘤切除并充分止血后, 用晶体液和胶体液恢复容量。术中当出血量超过全身血容量的25%或血红蛋白 $< 80$  g/L时开始输血。B组手术麻醉方法同A组, 术中连续监测CVP、血压及心率, 不使用硝酸甘油。

**1.2.2 检测及观察指标:** (1)用Datex多功能监护仪连续监测肝切除术前及术毕时血压、心率及中心静脉压; (2)术中出血量: 手术结束时根据吸引瓶中血量和纱布吸血量之和计算患者术中总出血量; (3)肝蒂阻断时间、输血量、总手术时间及术后住院时间; (4)术前及术后第1、3、7天的肝肾功能指标, 包括: 总胆红素(total bilirubin, TBIL)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)、尿素(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr); (5)术后并发症的发生率。

**统计学处理** 采用SPSS软件12.0, 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 组间比较采用*t*检验或秩和检

验, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

两组患者手术均顺利进行, 无围手术期死亡, 无术后肝衰及术后出血的发生。

**2.1 两组手术及术后恢复情况** 如表1所示A组术中出血量与B组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组术中输血量、肝门阻断时间、手术时间及术后住院时间比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.2 术后肝肾功能的比较** 如表2所示, A组: 术后1 d及3 d ALT与B组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 术后1 d白蛋白水平与B组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); BUN、Cr、TBIL在术后各时间点比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 血流动力学变化** A组在肝切除术前收缩压水平及中心静脉压水平与B组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组患者肝切除术后血流动力学差异无明显统计学意义( $P > 0.05$ , 表3)。

**2.4 并发症** 术后并发症主要有肺部感染、膈下积液和胸腔积液, A组4例、B组5例, 两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组未发生术中下腔静脉及肝静脉出血和空气栓塞。术后并发膈下积液共4例, 均经超声引导下穿刺抽液治愈。胸腔积液2例, 一例自愈, 另一例经抽液治愈。肺部感染3例, 均经对症治疗后治愈。术后无大出血、胆瘘、肝功能衰竭、死亡等其他并发症发生(表4)。

## 3 讨论

肝切除手术中出血直接影响到治疗效果和并发症的发生率。有资料表明术中出血量与患者手术后病死率有密切关系<sup>[2]</sup>, 而大量输血可增加术后感染并发症的发生率和死亡率, 也是恶性肿瘤术后复发的危险因素。因此, 各种减少肝切除术中出血量的方法已经广泛应用于临床, 以减少术后并发症及术后肿瘤复发的发生。各种肝血流阻断方法先后应用于临床, 包括入肝血流

## ■创新盘点

目前肝癌切除手术中单独应用半肝血流阻断技术或者应用Pringle法联合低CVP技术的报道较多,但半肝血流阻断联合低CVP技术联合应用报告较少。

表 2 两组术前、术后肝肾功能指标的比较分析

分组	ALT(U/L)	ALB(g/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	BUN( $\mu$ mol/L)	Cr( $\mu$ mol/L)
A组					
术前	32.7 $\pm$ 14.4	42.1 $\pm$ 5.6	15.3 $\pm$ 4.8	4.7 $\pm$ 1.4	62 $\pm$ 12
术后1 d	514.3 $\pm$ 215.6 <sup>a</sup>	37.5 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	23.6 $\pm$ 9.2	4.9 $\pm$ 1.2	64 $\pm$ 12
术后3 d	360.1 $\pm$ 146.4 <sup>a</sup>	35.2 $\pm$ 2.8	24.1 $\pm$ 8.7	5.2 $\pm$ 1.1	58 $\pm$ 11
术后7 d	124.5 $\pm$ 83.3	36.8 $\pm$ 2.7	19.5 $\pm$ 3.8	4.8 $\pm$ 1.2	54 $\pm$ 14
B组					
术前	34.3 $\pm$ 12.4	41.6 $\pm$ 4.8	16.3 $\pm$ 3.8	4.6 $\pm$ 1.1	63 $\pm$ 14
术后1 d	720.2 $\pm$ 350.7	35.4 $\pm$ 3.9	25.7 $\pm$ 10.2	4.8 $\pm$ 1.4	65 $\pm$ 12
术后3 d	489.1 $\pm$ 231.5	34.5 $\pm$ 2.6	23.3 $\pm$ 9.4	5.3 $\pm$ 1.3	61 $\pm$ 13
术后7 d	130.4 $\pm$ 24.8	36.5 $\pm$ 3.6	20.7 $\pm$ 4.9	4.7 $\pm$ 1.2	57 $\pm$ 15

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs B组, ALT: 谷丙转氨酶; ALB: 白蛋白; TBIL: 总胆红素; BUN: 尿素; Cr: 肌酐。

表 3 两组血流动力学指标的变化

分组	心率(次/min)		收缩压(mmHg)		中心静脉压(mmHg)	
	肝切除前	术毕	肝切除前	术毕	肝切除前	术毕
A组	83.1 $\pm$ 11.2	89.4 $\pm$ 13.3	96.2 $\pm$ 5.10	131.1 $\pm$ 18.80	3.2 $\pm$ 0.6	7.8 $\pm$ 1.1
B组	75.4 $\pm$ 12.3	91.5 $\pm$ 15.2	122.5 $\pm$ 24.3	129.2 $\pm$ 14.70	8.1 $\pm$ 1.5	8.2 $\pm$ 1.4
<i>t</i> 值	1.560	1.120	2.214	1.430	2.839	0.958
<i>P</i> 值	0.069	0.139	0.021	0.368	0.005	0.174

表 4 两组并发症情况比较分析 ( $n = 22$ )

分组	并发症 $n$ (%)	肺部感染	胸腔积液	膈下积液	胆瘘	术后出血	肝衰竭
A组	4(18.2)	1	1	2	0	0	0
B组	5(22.7)	2	1	2	0	0	0

阻断法、全肝血流阻断法和绕肝提拉法肝血流阻断。目前临床上使用最多的还是Pringle法和半肝血流阻断法,但Pringle法最大缺点是肝脏热缺血损害明显<sup>[3]</sup>,半肝血流阻断法的优点是保留了健侧肝脏正常血供,尤其是肠系膜血流仍可通过健侧肝脏回流入体循环,不会发生因肝门阻断造成的肠菌及内毒素移位和肠黏膜损伤,既可以减少术中失血<sup>[4]</sup>,同时也避免了健侧肝脏的缺血-再灌注损伤,半肝阻断技术可以有效延长肝血流阻断时间,国外报道可延长至60 min<sup>[5]</sup>。术者可以从容对肝断面进行精细处理,有效防止肝切除术后肝断面出血、胆瘘、膈下感染的发生。术后肝功能损害轻,恢复快,可降低肝功能衰竭发生率,尤其适用于肝硬化和慢性肝病患者<sup>[6]</sup>。

当肝门阻断后,出血的风险主要来自分离肝实质过程中肝静脉和肝短静脉的出血。尽管全

肝血流阻断或者阻断下腔静脉能减少肝静脉血流,但是操作复杂,创伤较大,对全身血流动力学影响较大,可能会增加并发症的发生率<sup>[7]</sup>。文献报道,CVP的降低可减少肝切除手术出血<sup>[8,9]</sup>,所导致的大量出血。依据泊肃叶层流公式知道,肝静脉血管损伤引起的出血量与血管壁的压差和血管半径的4次方成正比( $Q = \Delta p r^4$ ),当CVP下降时,下腔静脉压力随之下降,肝静脉的压力和肝窦内的压力亦随之下降,使血管壁的压差降低,同时也缩小了血管半径,因而能明显降低患者术中的出血量<sup>[10]</sup>。术中低CVP可以使腔静脉及其分支静脉塌陷,利于肝脏后侧和主要静脉的解剖,因此在横断肝实质时的出血量大为减少,节省了手术时间,还可使由于无意损伤的静脉特别是肝静脉主干导致的大出血变得更容易控制。目前临床肝切除术中的低CVP一般是指CVP $< 5$  mmHg<sup>[11]</sup>,结合国内外研究现状,我们将

CVP水平设置在2-4 mmHg之间。

综合两种方法各自的优点, 本研究将选择性半肝血流阻断联合低技术应用于肝切除术中, 取得了预期的效果。A组出血量明显少于对照组, 而手术时间及住院时间无明显延长, 并发症指标差异无统计学意义, 说明在采用半肝血流阻断联合低CVP技术, 可以明显减少术中出血量, 有利于手术操作及患者的恢复。A组术后ALT、ALB水平均低于单一应用Pringle法, 说明选择性半肝血流阻断技术可以减轻肝脏的缺血再灌注损伤, 对肝功能损害较轻<sup>[12]</sup>。术后两组肾功能及血流动力学指标差异无统计学意义, 说明在低中心静脉压状态下各组织器官仍可以得到有效的灌注, 不会对肾功能造成影响, 对全身血流动力学亦无明显影响<sup>[13]</sup>, 是安全可靠的。

本研究结果显示, 半肝血流阻断联合低中心静脉压技术有以下优点<sup>[14,15]</sup>: (1)降低下腔静脉压力, 有效减少术中肝静脉及肝短静脉出血; (2)防止健侧肝脏缺血再灌注损伤, 可减少对肝功能的损害<sup>[16]</sup>, 尤其适合肝硬化和慢性肝病患者; (3)操作简便, 不需解剖肝门部, 降低了手术风险, 尤其适用基层医院开展; (4)可延长阻断时间, 从容对肝断面进行精细处理, 减少术后并发症的发生; (5)本研究术中控制CVP的技术并不复杂, 在一般医院即能开展实施; (6)可保持全身血流动力学稳定, 对其他脏器功能影响较小。

但该联合技术应用时需注意以下几个问题: (1)术前需通过影像学了解肝门部血管解剖有无变异; (2)注意预防肾功能损害: 术中收缩压维持在90 mmHg以上; 术中每小时尿量至少25 mL; 肝切除后立即扩容; (3)术中防止静脉栓塞: 头低脚高位增加回心血流量; 尽快缝合肝脏断面; 麻醉时避免使用笑气, 并加强呼气末CO<sub>2</sub>的监测。

本研究结果显示, 选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术在肝切除术中是安全、有效的, 可操作性强, 有进一步临床研究及应用价值。

#### 4 参考文献

- Sand L, Rizell M, Houlitz E, Karlsen K, Wiklund J, Odenstedt Hergès H, Stenqvist O, Lundin S. Effect of patient position and PEEP on hepatic, portal and central venous pressures during liver resection. *Acta Anaesthesiol Scand* 2011; 55: 1106-1112 [PMID: 22092208 DOI: 10.1111/j.1399-6576.2011.02502.x]
- Hanazaki K, Kajikawa S, Shimozawa N, Matsushita A, Machida T, Shimada K, Yazawa K, Koide N, Adachi W, Amano J. Perioperative blood transfusion and survival following curative hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 524-529 [PMID: 15816471]
- Kaneko H, Tamura A, Ishii T, Maeda T, Katagiri T, Ishii J, Kubota Y, Suzuki T, Tsuchiya M, Otsuka Y, Yamazaki K, Watanabe M, Tatsuo T. Bacterial translocation in small intestinal ischemia-reperfusion injury and efficacy of Anti-CINC antibody treatment. *Eur Surg Res* 2007; 39: 153-159 [PMID: 17337893 DOI: 10.1159/000100328]
- Furrer K, Deoliveira ML, Graf R, Clavien PA. Improving outcome in patients undergoing liver surgery. *Liver Int* 2007; 27: 26-39 [PMID: 17241378 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01416.x]
- Wen T, Chen Z, Yan L, Li B, Zeng Y, Wu G, Zheng G. Continuous normothermic hemihepatic vascular inflow occlusion over 60 min for hepatectomy in patients with cirrhosis caused by hepatitis B virus. *Hepatol Res* 2007; 37: 346-352 [PMID: 17441807 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00061.x]
- Ercolani G, Ravaioli M, Grazi GL, Cescon M, Del Gaudio M, Vetrone G, Zanella M, Pinna AD. Use of vascular clamping in hepatic surgery: lessons learned from 1260 liver resections. *Arch Surg* 2008; 143: 380-387; discussion 388 [PMID: 18427026 DOI: 10.1001/archsurg.143.4.380]
- Fu SY, Lau WY, Li AJ, Yang Y, Pan ZY, Sun YM, Lai EC, Zhou WP, Wu MC. Liver resection under total vascular exclusion with or without preceding Pringle manoeuvre. *Br J Surg* 2010; 97: 50-55 [PMID: 20013928 DOI: 10.1002/bjs.6841]
- Uchiyama K, Ueno M, Ozawa S, Hayami S, Kawai M, Tani M, Mizumoto K, Haba M, Hatano Y, Yamae H. Half clamping of the infrahepatic inferior vena cava reduces bleeding during a hepatectomy by decreasing the central venous pressure. *Langenbecks Arch Surg* 2009; 394: 243-247 [PMID: 18343943 DOI: 10.1007/s00423-008-0297-3]
- Alkozai EM, Lisman T, Porte RJ. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. *Clin Liver Dis* 2009; 13: 145-154 [PMID: 19150318 DOI: 10.1016/j.cld.2008.09.012]
- Vassiliou I, Arkadopoulos N, Stafyla V, Theodoraki K, Yiallourou A, Theodosopoulos T, Kotis G, Fragoulidis G, Kotsis T, Smyrniotis V. The introduction of a simple maneuver to reduce the risk of postoperative bleeding after major hepatectomies. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 552-556 [PMID: 19381431 DOI: 10.1007/s00534-009-0100-z]
- Smyrniotis V, Kostopanagiotou G, Theodoraki K, Tsantoulas D, Contis JC. The role of central venous pressure and type of vascular control in blood loss during major liver resections. *Am J Surg* 2004; 187: 398-402 [PMID: 15006570 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2003.12.001]
- Tsujita E, Taketomi A, Kitagawa D, Itoh S, Harimoto N, Gion T, Kohnoe S, Maehara Y. Selective hepatic vascular exclusion for the hepatic resection of HCC. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 527-530 [PMID: 17523313]
- Ryu HG, Nahm FS, Sohn HM, Jeong EJ, Jung CW. Low central venous pressure with milrinone during living donor hepatectomy. *Am J Transplant* 2010; 10: 877-882 [PMID: 20420642 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03051.x]
- Feng ZY, Xu X, Zhu SM, Bein B, Zheng SS. Effects of low central venous pressure during preanhepatic phase on blood loss and liver and renal function in liver transplantation. *World J Surg* 2010; 34: 1864-1873 [PMID: 20372900 DOI: 10.1007/s00268-

#### ■应用要点

选择性半肝血流阻断联合低中心静脉压技术在肝切除术中是安全、有效的, 可操作性强, 有进一步临床研究及应用价值。



## ■同行评价

本文对临床工作具有一定的指导意义。

- 010-0544-y]
- 15 Figueras J, Llado L, Ruiz D, Ramos E, Busquets J, Rafecas A, Torras J, Fabregat J. Complete versus selective portal triad clamping for minor liver resections: a prospective randomized trial. *Ann*

*Surg* 2005; 241: 582-590 [PMID: 15798459 DOI: 10.1097/01.sla.0000157168.26021.b8]

- 16 周松, 薛小军, 李冉冉, 陈达丰, 陈文有, 刘广欣, 柯恩明, 郑硕云. 肝断面血流阻断器在肝癌切除术中的应用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 790-794

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

### 1 修回稿信件

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

### 2 稿件修改

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

### 3 版权

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

# 内镜胆道金属支架联合鼻胆管引流姑息性治疗恶性胆道梗阻

韩今朝, 秦鸣放

韩今朝, 天津医科大学研究生院 天津市 300070  
秦鸣放, 天津市南开医院, 天津微创外科中心 天津市 300100  
韩今朝, 硕士, 主要从事中西医结合的临床研究。  
作者贡献分布: 韩今朝与秦鸣放对此文所作贡献均等; 此研究由韩今朝与秦鸣放设计; 研究过程由秦鸣放操作完成; 资料采集与数据分析由韩今朝完成; 论文写作由韩今朝完成。  
通讯作者: 秦鸣放, 教授, 300100, 天津市南开区三纬路, 天津市南开医院, 天津微创外科中心。 ila157@yahoo.com.cn  
电话: 022-27435266  
收稿日期: 2012-12-19 修回日期: 2013-01-20  
接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-02-28

## Endoscopic metal biliary endoprosthesis combined with endoscopic nasobiliary drainage for palliative treatment of malignant biliary obstruction

Jin-Zhao Han, Ming-Fang Qin

Jin-Zhao Han, Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China  
Ming-Fang Qin, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin Minimally Invasive Surgery Center, Tianjin 300100, China  
Correspondence to: Ming-Fang Qin, Professor, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin Minimally Invasive Surgery Center, Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. ila157@yahoo.com.cn  
Received: 2012-12-19 Revised: 2013-01-20  
Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-02-28

## Abstract

**AIM:** To explore the clinical effect of endoscopic metal biliary endoprosthesis (EMBE) combined with endoscopic nasobiliary drainage (ENBD) in the palliative treatment of malignant biliary obstruction.

**METHODS:** The clinical data for 68 patients with malignant biliary obstruction who underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) for EMBE and ENBD from April 2010 to October 2012 were reviewed and analyzed.

**RESULTS:** ERCP and biliary stent placement were successful in 64 of 68 cases, and the suc-

cess rate was 94.12%. Jaundice obviously subsided in 95.31% of patients one week after stent placement. Postoperatively, liver function was improved significantly. There were 5 cases of complications, including hyperamylasemia in 3 cases, acute pancreatitis in 1 case and acute cholangitis in 1 case. Fifty-eight patients were followed postoperatively, and their average survival time was 10 mo  $\pm$  2.30 mo (3-26 mo). The half-year, 1-year and 2-year survival rates were 67.24% (39/58), 43.10% (25/58) and 5.17% (3/58), respectively. The average stent patency time was 4 mo  $\pm$  2.26 mo (0-9 mo).

**CONCLUSION:** EMBE combined with ENBD can effectively relieve biliary obstruction and improve liver function in patients with malignant biliary obstruction, and is a safe and effective palliative treatment with less invasiveness and fewer complications.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Endoscopy; Endoscopic metal biliary endoprosthesis; Endoscopic nasobiliary drainage; Malignant biliary obstruction

Han JZ, Qin MF. Endoscopic metal biliary endoprosthesis combined with endoscopic nasobiliary drainage for palliative treatment of malignant biliary obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(6): 547-552 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/547.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.547>

## 摘要

**目的:** 探讨内镜胆道金属支架置入术(endoscopic metal biliary endoprosthesis, EMBE)联合鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD)姑息性治疗恶性胆道梗阻的临床效果及应用价值。

**方法:** 回顾了2010-04至2012-10行内镜逆行胆胰管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)并放置EMBE联合ENBD的68例恶性胆道梗阻患者的临床资料, 对其疗

## ■背景资料

恶性胆道梗阻在临床上较为常见, 该病起病隐匿, 一旦就诊时多已发展至晚期, 失去手术根治的机会, 如何解除梗阻、消除黄疸, 进行有效的胆道引流, 从而减轻患者的痛苦、延长生存时间、提高生存质量成为了治疗此类疾病的关键。

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

## ■ 研发前沿

近年来随着内镜及介入技术的发展与成熟,经内镜下胆道引流术已广泛应用于各种原因导致的恶性胆道梗阻,他对解除梗阻、恢复胆汁引流、缓解患者的全身症状具有确切的疗效,在恶性胆道梗阻的治疗中发挥了越来越大的作用。

效、并发症、术后生存时间及支架通畅时间进行分析。

**结果:** 68例患者中行ERCP并放置胆道金属支架成功64例,失败4例,成功率为94.12%(64/68);支架置入术后1 wk黄疸明显消退,肝功能各项指标较术前显著改善,黄疸消退有效率为95.31%;术后并发症5例,其中高淀粉酶血症3例,急性胰腺炎1例、急性胆管炎1例,经保守治疗后痊愈;术后随访58例患者,平均生存时间为10.00 mo $\pm$ 2.30 mo(3-26 mo),半年生存率为67.24%(39/58),1年生存率为43.10%(25/58),2年生存率为5.17%(3/58);平均支架通畅时间为4.00 mo $\pm$ 2.26 mo(0-9 mo)。

**结论:** 胆道金属支架置入术联合鼻胆管引流术可以有效解除胆道梗阻,改善肝功能,同时具有创伤小、疗效确切、并发症少、符合生理、方便术后观察等优点,已成为目前治疗恶性胆道梗阻的重要方法之一,是一种安全有效的姑息性治疗手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 内镜;胆道金属支架;鼻胆管引流;恶性胆道梗阻

韩今朝, 秦鸣放. 内镜胆道金属支架联合鼻胆管引流姑息性治疗恶性胆道梗阻. 世界华人消化杂志 2013; 21(6): 547-552  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/547.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i6.547>

## 0 引言

恶性胆道梗阻在临床上较为常见,主要由肝门部胆管癌、壶腹周围癌、中段胆管癌、胰头癌或者肿瘤转移等压迫胆总管、肝总管及周围主干而引起梗阻性黄疸,临床上主要表现为黄疸进行性加重,可导致肝功能逐渐恶化,并易合并胆道感染等并发症,病情凶险,病死率高。该病起病隐匿,一旦因黄疸就诊时,多已发展至晚期,失去根治性手术的机会,故临床上主要采取胆道减压、减黄的姑息性治疗手段。随着内镜介入技术的发展与成熟,经内镜下胆道引流术已广泛应用于各种原因导致的恶性胆道梗阻,他对解除梗阻、恢复胆汁引流、缓解患者的全身症状具有确切的疗效<sup>[1]</sup>,从而延长了患者的生存时间,提高了患者的生存质量,现已成为治疗恶性胆道梗阻的首选方法。本研究对2010-04/2012-10该院普通外科收治的恶性胆道梗阻患者,通过内镜逆行胆胰管造影术

(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)行胆道金属支架置入术(endoscopic metal biliary endoprosthesis, EMBE)联合鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD)进行治疗,取得较好的效果,现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-04/2012-10该院普通外科收治的恶性胆道梗阻患者68例,其中男39例,女29例,年龄42-88岁,平均64.28岁 $\pm$ 8.10岁;根据临床症状、体征及腹部B超、CT、磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等检查确诊并证实为无法手术切除或拒绝手术治疗的恶性胆道梗阻患者,包括胆管癌38例、壶腹部癌17例、胰头癌7例、胆囊癌侵犯胆管5例、肝癌侵犯胆管1例;临床表现为不同程度的黄疸,血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)58.72-456.47  $\mu$ mol/L, 平均318.32  $\mu$ mol/L $\pm$ 103.50  $\mu$ mol/L, 直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)26.53-281.56  $\mu$ mol/L, 平均158.81  $\mu$ mol/L $\pm$ 82.32  $\mu$ mol/L, 其余肝功能指标也有不同程度的异常,并伴有皮肤瘙痒、小便色深、纳差、体质量减轻等症状,其中陶土样便30例,寒战发热18例,上腹部胀痛29例,6例有少量腹水。采用日本FUJINON公司的ED-250电子十二指肠镜、标准ERCP造影导管、美国COOK公司标准乳头切开刀、针状切开刀、德国ERBE-ICC80高频电发生器、美国BOSTON公司标准及超滑亲水导丝、气囊导管、胆道扩张探条、胆管推送导管、支架释放导管、WALLSTEN和STERCKER可膨胀式胆道金属支架(直径8-10 mm, 长度50-80 mm)、鼻胆引流管(7.0-8.5 Fr)等。

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备:** 所有患者术前行血常规、肝肾功能、血凝常规测定,行胸片、心电图常规检查,对肝功能异常者,术前3 d给予保肝、调整凝血功能等治疗。空腹8 h以上,术晨应用广谱抗生素一剂,术前口服利多卡因胶浆10 mL咽部局部麻醉,肌肉注射地西洋10 mg、哌替啶50 mg、山莨菪碱10 mg,常规心电、血压、呼吸、血氧饱和度监测。

**1.2.2 手术方法:** 术前仔细阅读MRCP影像资料,初步判定胆道梗阻的部位以选择拟引流区域。先行ERCP检查,经口将十二指肠镜送达十二指肠降段,寻找并观察十二指肠乳头形态,行常规乳头插管,采用以导丝引导下的选择性胆管插



表 1 治疗前后患者肝功能指标比较 (mean ± SD)

项目	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	ALP(U/L)	GGT(U/L)	ALT(U/L)
术前	318.32 ± 103.50	158.81 ± 82.32	284.53 ± 147.26	368.47 ± 98.52	163.56 ± 47.21
术后1 wk	133.56 ± 62.65	53.47 ± 39.25	136.66 ± 52.74	150.35 ± 56.92	70.36 ± 43.50
P值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

TBIL: 血清总胆红素; DBIL: 直接胆红素; ALP: 碱性磷酸酶; GGT: 谷氨酰转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶。

## ■ 相关报道

内镜下放置胆道塑料支架(ERBD)首先由德国的Soehendra于1979年报道;胆道金属支架于1989年由McClean等首先应用于胆道疾病,成为治疗恶性梗阻性黄疸的常规方法。

管,如遇插管困难,则行乳头括约肌预切开术。在X光透视下,使用多种方法使导丝越过胆管狭窄段,超选至扩张最明显、引流最广泛的胆管,先抽取胆汁后缓慢注入30%泛影葡胺进行造影,进一步确定梗阻部位及病变范围,判断病变可能的性质,必要时取活检或以细胞刷刷取相应组织行细胞学病理检查。再行EMBE,先插入导丝判断置入支架的可行性,然后行内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST),通过造影管将导丝插入至胆管狭窄部以上2 cm左右处,后留置导丝退出造影管,对于胆管狭窄严重者可应用胆道扩张探条或气囊先行胆道扩张,之后选择扩张明显且引流范围最广的胆管,根据胆管狭窄的长度选择合适的胆道金属支架进行引流:将支架套于内支撑管上,由外推进器在导丝引导下将其送到预定位置,在持续X光透视和内镜控制下缓慢释放,进一步调整支架位置,以达到最佳部位,造影复查支架膨胀程度、位置及通畅情况,同时注意避免支架堵塞胆囊管及胰管开口,必要时行胰管口切开。最后放置ENBD,将引流段置入支架上方,退出导丝与内支撑管,内镜下见胆汁流入十二指肠腔内,退出外推进器,术毕。ERCP不成功者改行经皮经肝胆管引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)行体外引流。

1.2.3 术后处理:术后禁食水24 h,监测生命体征(体温、脉搏、血压、呼吸),观察有无腹胀、腹痛、恶心、呕吐等症状及腹部体征,6 h后复查尿淀粉酶,1-2 d后可进流质或半流质,1 wk后可进普通饮食。术后使用广谱抗生素3-5 d及营养支持治疗,密切观察ENBD引流胆汁的情况,必要时予鼻胆管冲洗以保证其引流通畅。术后1 wk复查肝肾功能,观察黄疸消退情况及有无早期并发症出现。对于术中胰管显影次数较多者,可给予抑制胰酶分泌的药物防止术后胰腺炎发生,对于术后出现寒战发热等急性胆管炎表现的患者给予抗生素抗感染治疗。术后5-7 d经鼻胆管

造影,查看胆道通畅情况及金属支架的开放程度并决定拔除ENBD。

1.2.4 疗效评定标准:术后复查肝功能。满意:黄疸迅速消退,1 wk内TBIL下降超过1/3,或2 wk内降至50 μmol/L以下;一般:黄疸有所下降,1 wk内TBIL下降不足1/3,或2 wk内未降至50 μmol/L以下;无效:黄疸下降程度不明显甚至上升<sup>[2]</sup>。总有效率为满意与一般之和。

1.2.5 随访:术后电话随访患者的生存时间和支架畅通时间,生存时间为自支架置入至患者死亡的时间,支架畅通时间为自支架置入至支架堵塞或患者死亡的时间。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析,计量数据以mean±SD表示,采用t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 成功率 68例患者中行ERCP并放置胆道支架成功64例,成功率为94.12%。失败4例,其中2例因胆管插管困难行乳头预切开后插管仍未成功;2例为肝门部胆管癌患者,导丝未能通过肿瘤狭窄部位以上,无法放置胆道支架,改行PTCD。

2.2 疗效 支架置入术后1 wk黄疸明显消退,其中满意36例(56.25%),一般25例(39.06%),无效3例(4.69%),总有效率(满意+一般)为95.31%。肝功能各项指标较术前显著改善,差异有统计学意义( $P<0.05$ ,表1)。患者皮肤黄染、瘙痒等症状明显减轻,大便颜色转黄,尿色变浅,食欲增加,腹痛、腹胀明显缓解。术后出现5例胆汁引流不畅,经鼻胆管行盐水冲洗,1-2 d后胆汁引流正常。5-7 d后经鼻胆管造影,显示金属支架膨胀及位置良好,胆道引流通畅,造影剂可快速排泄进入肠道,无延迟排空现象,从而放心拔除ENBD。

2.3 并发症 术后并发高淀粉酶血症3例(4.41%),急性胰腺炎1例(1.47%)、急性胆管炎1例(1.47%),早期并发症发生率为7.35%,均经保守治疗后痊愈,未见出血、穿孔及死亡发生。

### ■创新盘点

国内少有胆道金属支架联合鼻胆管引流治疗恶性胆道梗阻的报道, 本研究中EMBE联合ENBD为治疗的独到之处, 具备诸多优点, 为治疗此类疾病的突破与亮点。

2.4 术后生存时间及支架通畅时间 术后随访58例患者, 平均生存时间为 $10\text{ mo} \pm 2.30\text{ mo}$  (3-26 mo), 半年生存率为67.24% (39/58), 1年生存率为43.10% (25/58), 2年生存率为5.17% (3/58); 平均支架通畅时间为 $4.00\text{ mo} \pm 2.26\text{ mo}$  (0-9 mo)。

### 3 讨论

恶性胆道梗阻在临床上十分常见, 主要的病因包括胰头癌、胆管癌、十二指肠壶腹癌、胆囊癌及各种转移性恶性肿瘤压迫胆管所致<sup>[3]</sup>。他可引起进行性加重的梗阻性黄疸, 导致肝功能迅速恶化, 并易发生严重的感染、胃肠道出血及肾功能衰竭, 病死率很高<sup>[4]</sup>。根治性的外科手术是其首选治疗方案, 但该病起病隐匿, 绝大多数患者就诊时已属临床晚期, 常因原发肿瘤侵犯范围广泛、出现远处转移、患者极度消耗等原因失去了外科手术切除肿瘤的机会。有报道<sup>[5]</sup>, 胆管癌、胰腺癌引起的梗阻性黄疸手术切除率为20%-60%, 根治性切除率仅占7%, 且术后并发症发生率及手术死亡率均较高, 术后死亡率可高达15%-60%。如不及时解除梗阻, 患者往往死于长期胆道梗阻所致的肝肾功能衰竭或严重的胆道感染<sup>[6]</sup>, 而非肿瘤本身或癌肿的广泛转移。未经任何治疗的恶性胆道梗阻患者的生存期通常是3-5 mo。因此, 建议绝大部分患者行姑息性减压、减黄治疗。而如何解除胆道梗阻、消除黄疸, 进行有效的胆道引流, 以达到胆管减压、减黄的目的, 从而减轻患者的痛苦、延长生存时间、提高生存质量便成了治疗的关键。

近年来随着消化内镜及介入技术的飞速发展, 以内镜技术为代表的微创技术在恶性胆道梗阻的治疗中发挥了越来越大的作用, 在某些特殊病例中甚至已逐步取代了手术治疗。目前恶性胆道梗阻的内镜治疗主要是通过ERCP进行的, 其主要目的在于引流胆汁, 缓解胆道梗阻, 达到减轻黄疸的目的<sup>[7]</sup>。内镜下胆管引流术具有较开腹手术更广的适应证, 通常不受年龄的限制, 有少量腹水及肝功能变化、凝血功能轻度异常的患者仍可谨慎实施。他的方法主要包括已被广泛开展的鼻胆管引流术和胆道支架置入术。

ENBD为外引流, 他可以缓解胆道压力、降低黄疸、有助于了解胆管引流效果, 控制胆道感染, 尤其对胆源性胰腺炎、急性梗阻性化脓性胆管炎等作用十分显著, 同时可为手术以及其他治疗争取时机, 避免了部分急诊开腹手术,

具有微创、便于冲洗及临床观察等特点, 临床适用范围较为广泛。但该技术将胆汁引流至体外, 易引起电解质紊乱和消化不良, 故目前只作为临时性减黄措施<sup>[8]</sup>。

内引流方式更为合理, 适用于恶性肿瘤导致胆管狭窄、黄疸重、身体条件差、需要引流时间较长的患者。内引流并不扰乱胆汁的肝肠循环, 可减少胆汁丢失引起的电解质紊乱, 有利于患者肝功能和营养状态的改善, 同时减少了内毒素和炎性介质的释放, 但他存在胆道逆行感染的可能。目前内引流主要指胆道支架置入术, 可分为ERBD和EMBE。

ERBD首先由德国的Soehendra于1979年报道<sup>[9]</sup>, 它具有安全可靠、胆汁引流符合生理、临床护理简单等优点, 且塑料支架价格低廉, 技术相对成熟, 临床应用较为普遍, 他还可以随时更换, 重复放置, 具有较大的灵活性, 比较适合短期的治疗。ERBD也有其缺点: 管径较小、无扩张性、易被细菌黏附及胆红素钙沉淀和胆泥沉积而发生阻塞<sup>[10]</sup>、放置后保留时间较短, 有报道<sup>[11]</sup>, 7-12 Fr的胆道塑料支架3 mo的阻塞率为20%-30%, 6 mo的阻塞率为60%-70%。

胆道金属支架于1989年由McClean等首先应用于胆道疾病<sup>[12]</sup>, 成为治疗恶性梗阻性黄疸的常规方法。其应用于临床, 具有操作简便、管径较大、扩张支撑效果好、不易堵塞等优点。与胆道塑料支架相比, 金属支架释放膨胀后外径可达7-12 mm, 能达到有效的引流效果, 金属材料表面光洁度高, 金属丝与细菌的接触面积小, 可被胆道黏膜上皮细胞所覆盖, 使得细菌和胆泥不易黏附发生阻塞, 从而预防了细菌滋生, 保持了支架的持久畅通, 所以其通畅性显著优于塑料支架。有报道<sup>[13]</sup>, 金属支架6 mo的阻塞率仅为15%, 明显低于塑料支架(60%-70%)。同时, 金属支架具有持续的弹性扩张力, 这既可维持胆道内腔的开放也能有效防止支架的移位。由于其符合生理, 安全有效, 目前已成为无法行根治切除或身体条件差、无法耐受麻醉和手术的患者进行姑息治疗的首选<sup>[14]</sup>。尽管金属支架具备诸多优点, 但其价格昂贵, 通常是塑料支架的6-10倍, 所以临床应用常受到经济条件的限制, 尤其是恶性胆道梗阻患者采用支架治疗多属晚期, 生存时间可能不会太长, 放置金属支架是否具有更高的费效比值得研究。有学者认为<sup>[15]</sup>, 金属支架对于生存期超过6 mo的患者总花费及住院天数低于使用塑料支架者, 而生存期不超过6 mo

者则应用塑料支架更为合适. 因此对于恶性胆道梗阻患者, 选用金属支架要根据患者的生存期及经济情况综合决定. 另外因肿瘤向两端生长超出支架、血凝块或结石形成、肿瘤组织通过网眼长入支架等也会导致金属支架发生阻塞, 但金属支架堵塞后仍可进一步在原支架内继续放置金属或塑料支架, 以保持其通畅性. 为防止肿瘤生长, 最近研发出一种新型覆膜金属支架, 依靠覆膜阻挡肿瘤生长, 抑制胆泥淤积和结石形成, 延缓支架的阻塞, 与无覆膜金属支架相比, 其通畅时间更长, 能有效阻止肿瘤向内生长, 而且易于取出<sup>[16]</sup>.

PTCD也是目前对于恶性胆道梗阻姑息性治疗的一个重要手段, 他通过体外引流胆汁, 解决了胆管减压, 缓解了胆道梗阻, 达到减轻黄疸的目的. 与ERCP下放置胆道支架相比, PTCD操作相对容易, 费用较低, 手术适应证更加广泛, 很多ERCP失败的患者也常采用此方法进行姑息性治疗. 然而PTCD引流效果不稳定, 引流范围较局限, 引流导管易阻塞、滑脱, 胆汁长期引流至体外导致电解质平衡紊乱, 影响消化吸收功能, 且患者依从性差, 需长期携带引流袋, 临床护理困难, 带来生活不便, 使生活质量明显下降<sup>[17]</sup>. 以该院同期行PTCD治疗的66例恶性胆道梗阻患者的临床资料进行对比分析, 发现其消除黄疸的效率与内镜治疗相当, 且费用较低, 但其住院时间相对较长, 术后患者易出现穿刺孔疼痛及引流管脱落等并发症, 这些缺点导致了其临床应用的局限性.

ERCP术后的早期并发症有出血、穿孔、急性胆管炎、急性胰腺炎或高淀粉酶血症等. 出血和穿孔大多与术者的技术水平和临床经验有关, 本组患者中无出血和穿孔发生. 本组患者中出现1例急性胰腺炎, 3例高淀粉酶血症, 经抗炎、抑酶等保守治疗后痊愈, 分析发生原因可能与有导丝插入胰管、EST时乳头灼伤导致胰管开口水肿、金属支架压迫有关. 术后发生急性胆管炎也较为常见, 特别是肝门部胆管癌, 国内有文献报道, ERCP术后胆管炎或胆管感染的发生率为0.35%-20.40%<sup>[18]</sup>, 这可能与术后早期金属支架膨胀不全, 引流较差有关. 本组仅出现1例, 这可能是我们强调了以下几点的结果: 根据术前CT或MRCP影像资料判断最佳引流部位; 导丝超选进入后, 造影管跟进并通过狭窄段后再行造影, 避免不必要的胰管显影; 造影前尽量抽出胆汁, 以免注入造影剂使胆道压力增大, 感

染胆汁逆流入血; 避免过多过快注入造影剂, 防止胰腺腺泡显影或胰管反复充盈; 避免造影剂进入不能充分引流的胆管而引起感染; 退镜前尽量抽出造影剂和胆汁; 尽可能缩短手术时间, 避免反复插管, 防止术后乳头严重水肿; 术后定期检查鼻胆管引流是否通畅, 及时处理. 总结起来, 针对术后早期并发症, 临床中要注意严格无菌操作、改善造影方法、提高技术水平、预防性使用抗生素等. 晚期并发症主要是支架阻塞, 已如前述. 术后患者的生存期与原发肿瘤的情况、恶性胆道梗阻的肝内外转移等密切相关. 造成患者死亡的主要原因是肿瘤自身的生长, 支架治疗仅能解除胆道梗阻, 而对肿瘤本身并无直接的治疗作用, 为延长患者的生存期, 还应配合其他治疗, 如动脉灌注化疗、定位放疗、生物免疫治疗、射频消融、光动力疗法等<sup>[19]</sup>.

在行内镜操作时还应注意以下几点: 支架长度的选择要合适, 精确测量梗阻或狭窄段上缘到乳头的距离是选择合适支架的关键, 在此长度上增加1 cm左右的支架较为合适; 进行合理、适当的EST可以使支架的放置更为容易, 并且有利于术后胆道的引流; 必要时行胆道扩张, 在实际操作中常会遇到支架难以越过狭窄段的情况, 这时可使用胆道扩张探条或气囊行胆道扩张, 多可完成支架的放置; 如为高位胆道梗阻, 支架末端不必暴露于乳头外, 可置于胆管内<sup>[20]</sup>.

本组患者在放置胆道金属支架的同时联合鼻胆管引流, 既起到了ENBD常规支撑水肿或痉挛的Oddi氏括约肌, 通畅胆汁胰液引流, 解除胆胰管汇合区暂时性梗阻的作用, 同时放置于梗阻近端的鼻胆管也可以辅助未完全膨胀的胆道金属支架引流胆汁, 缓解胆道高压和黄疸. 此外, 术后通过ENBD还可以动态观察胆道的引流, 及早发现有无胆道出血、堵塞等情况, 而且方便进行生理盐水冲洗及创面喷洒止血药等处理, 明显提高了治疗的针对性和有效性, 在很大程度上避免了行二次ERCP的可能.

目前, 内镜下放置胆道支架治疗恶性胆道梗阻的方法已日臻成熟, 对于无法手术根治的恶性胆道梗阻患者, 经ERCP放置胆道金属支架是一种安全有效的姑息性治疗手段. 他可较为持久地控制黄疸, 降低胆道感染的几率, 减轻患者的症状, 改善其生活质量, 延长生存时间, 同时具有操作简便、成功率高、创伤小、并发症少、胆汁引流符合生理、术后无需特殊护理等优点, 已成为治疗此类疾病的主要选择. 在临床

**■应用要点**  
EMBE联合ENBD可利用鼻胆管辅助早期未完全膨胀的胆道金属支架引流胆汁, 还可通过ENBD术后观察胆道引流, 及早发现有无胆道出血、堵塞等情况, 明显提高了治疗的针对性和有效性.



■同行评议者  
本文立意较新颖，  
具有一定的指导  
意义。

实践中，应不断归纳总结，根据不同的患者实行个体化内镜治疗方案，为恶性胆道梗阻的治疗开辟新的微创途径。

#### 4 参考文献

- 1 刘岩, 杨光, 于友涛. 经皮肝穿刺胆道支架置放结合动脉化疗栓塞治疗恶性梗阻性黄疸. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1495-1497
- 2 龚彪. 经内镜胆道金属支架引流术治疗恶性胆道梗阻的价值. 实用肿瘤杂志 2007; 22: 911-913
- 3 Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ. Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 2003; 53: 5-26 [PMID: 12568441 DOI: 10.3322/canj-clin.53.1.5]
- 4 张景成, 康丽, 王悦友, 田国利, 董来春. 经内镜塑料支架置入治疗恶性胆道梗阻17例. 中国中西医结合消化杂志 2009; 17: 61-62
- 5 夏永辉, 徐克, 苏洪英, 冯博. 晚期恶性梗阻性黄疸经皮介入治疗近期并发症的临床观察及处理. 当代医学 2009; 3: 88-90
- 6 黄志强. 胆道癌外科治疗世纪回眸. 中华普通外科杂志 2001; 16: 69-72
- 7 麻树人, 邵晓冬, 张宁. 治疗性ERCP在胆胰疾病中的应用价值. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 31-34
- 8 董琳, 郭建阳, 黄允宁, 杨世杰, 杨勇. 内镜下双支架联合治疗恶性梗阻性黄疸的探讨. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 103-104
- 9 Soehendra N. H. Joachim Burhenne Lecture. Common areas of interest between interventional biliary radiology and endoscopy. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 164: 547-551 [PMID: 7863870]
- 10 Katsinelos P, Paikos D, Kountouras J, Chatzimavroudis G, Paroutoglou G, Moschos I, Gatopoulou A, Beltsis A, Zavos C, Papaziogas B. Tannenbaum and metal stents in the palliative treatment of malignant distal bile duct obstruction: a comparative study of patency and cost effectiveness. *Surg Endosc* 2006; 20: 1587-1593 [PMID: 16897286 DOI: 10.1007/s00464-005-0778-1]
- 11 Huibregtse K, Carr-Locke DL, Cremer M, Domschke W, Fockens P, Foerster E, Hagenmüller F, Hatfield AR, Lefebvre JF, Liquori CL. Biliary stent occlusion--a problem solved with self-expanding metal stents? European Wallstent Study Group. *Endoscopy* 1992; 24: 391-394 [PMID: 1505486 DOI: 10.1055/s-2007-1010505]
- 12 Rieber A, Brambs HJ. Metallic stents in malignant biliary obstruction. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1997; 20: 43-49 [PMID: 8994723 DOI: 10.1007/s002709900107]
- 13 朱明, 潘俊江, 江华山, 宇明, 杨武. ERCP放置胆道内支架治疗晚期恶性胆道梗阻42例临床分析. 重庆医学 2008; 37: 1665-1667
- 14 Reddy SB, Patel T. Current approaches to the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma. *Curr Gastroenterol Rep* 2006; 8: 30-37 [PMID: 16510032 DOI: 10.1007/s11894-006-0061-1]
- 15 Nguyen K, Sing JT. Review of endoscopic techniques in the diagnosis and management of cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2995-2999 [PMID: 18494049 DOI: 10.3748/wjg.14.2995]
- 16 李兆申, 王凯旋. 胆道恶性梗阻的内镜治疗. 肝胆外科杂志 2008; 16: 326-327
- 17 胡冰, 周岱云, 龚彪, 钱光相, 陈汉, 吴孟超. 可膨式金属胆道支架解除恶性肿瘤胆管梗阻的临床应用及其疗效分析. 中华外科杂志 1999; 37: 282-285
- 18 李兆申, 许国铭, 孙振兴, 邹晓平, 金震东, 邹多武. 诊断性与治疗性ERCP早期并发症与处理. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 77-80
- 19 Bruha R, Pettrýl J, Kubecova M, Marecek Z, Dufek V, Urbanek P, Kodadova J, Chodounsky Z. Intraluminal brachytherapy and selfexpandable stents in nonresectable biliary malignancies--the question of long-term palliation. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 631-637 [PMID: 11462891]
- 20 吴瑜, 秦鸣放, 王庆, 勾承月, 李宁. 内镜金属支架姑息性治疗胆管远端恶性梗阻272例分析. 中国内镜杂志 2011; 17: 383-385

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

### 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$ , *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的



相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$  ( $P>0.05$  不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。



## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

崔云甫 教授  
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授  
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

傅思源 副教授  
东方肝胆外科医院肝外三科

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

顾国利 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭永红 副主任医师  
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

韩天权 教授  
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

郝立强 副教授  
上海长海医院普外二科

何向辉 教授  
天津医科大学总医院普通外科

黄培林 教授  
东南大学肿瘤学

姜慧卿 教授  
河北医科大学第二医院消化科

李革 副教授  
延边大学附属医院

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

刘炳亚 研究员  
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

门秀丽 教授  
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

倪才方 教授  
苏州大学附属第一医院介入科

邱伟华 主任医师  
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙文兵 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

王蔚虹 教授  
北京大学第一医院消化内科

王文跃 主任医师  
中日友好医院普通外科

魏睦新 教授  
南京医科大学第一附属医院

徐泱 副主任医师  
复旦大学附属中山医院肝外科复旦大学肝癌研究所

姚树坤 教授  
卫生部中日友好医院消化内科

殷正丰 教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁红霞 研究员  
天津中医药大学

张占卿 主任医师  
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

张志坚 教授  
福州总医院消化内科

周国雄 主任医师  
南通大学附属医院消化内科

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普通外科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章:







百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>



# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 3 月 8 日      第 21 卷      第 7 期      (Volume 21 Number 7)**



**7/2013**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授



汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泐副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年3月8日 第21卷 第7期 (总第411期)

## 述 评

553 肿瘤干细胞及其微生景

姜波健, 王嘉, 俞继卫

## 基础研究

559 黄芪、三七对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜HSP70及其转录因子GAF表达的影响

张会存, 史瑞, 李健, 李晓红, 李军祥, 杨美娟

## 焦点论坛

567 肠黏膜组织内免疫系统调节异常参与炎症性肠病的发生

刘占举, 吴维, 邱骅婧, 万姗姗, 曹倩, 李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁, 陈城, 于成功, 陈曦, 甘华田, 邬瑞金, 刘嫦钦, 罗凤燕, 白爱平

568 肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应

吴维, 邱骅婧, 刘占举

574 Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答

万姗姗, 曹倩

579 肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁

585 血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系

陈城, 于成功

591 缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制

邱骅婧, 吴维, 刘占举

597 肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用

陈曦, 甘华田

602 miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用

邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举

607 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展

罗凤燕, 白爱平

## 研究快报

614 壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效

廖丹, 段雪琳

619 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制

梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹

## 临床经验

624 Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义

官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟

629 胆红素吸附联合血浆置换治疗高胆红素血症42例

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方

633 电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 张文毅, 朱毅

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	566 《世界华人消化杂志》正文要求 573 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 578 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 584 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 590 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 601 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 606 《世界华人消化杂志》外文字符标准 613 2012年度《世界华人消化杂志》发文情况 618 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 623 《世界华人消化杂志》参考文献要求 632 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 姜波健, 教授, 主任医师, 201900, 上海市, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核 编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-03-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有



# World Chinese Journal of Digestology

## March 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 7

<b>EDITORIAL</b>	553 Microenvironment for cancer stem cells <i>Jiang BJ, Wang J, Yu JW</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	559 Effect of astragalus and Panax notoginseng on expression of heat shock protein 70 and GAF in atrophic gastritis in rats <i>Zhang HC, Shi R, Li J, Li XH, Li JX, Yang MJ</i>
<b>TOPIC HIGHLIGHT</b>	<p>567 Relationship between abnormal immune regulation in the intestinal mucosa and occurrence of inflammatory bowel disease <i>Liu ZJ, Wu W, Qiu HJ, Wan SS, Cao Q, Li LJ, Hao HJ, Shi CY, Feng BS, Chen C, Yu CG, Chen X, Gan HT, Wu RJ, Liu CQ, Luo FY, Bai AP</i></p> <p>568 Immunoregulatory effects of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease <i>Wu W, Qiu HJ, Liu ZJ</i></p> <p>574 Immunoregulatory role of Th17 cells in development of inflammatory bowel disease <i>Wan SS, Cao Q</i></p> <p>579 Role of mast cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease <i>Li LJ, Hao HJ, Shi CY, Feng BS</i></p> <p>585 Effect of vascular endothelial cells on the pathogenesis of inflammatory bowel disease <i>Chen C, Yu CG</i></p> <p>591 Role of hypoxic injury in pathophysiology of intestinal mucosal inflammation <i>Qiu HJ, Wu W, Liu ZJ</i></p> <p>597 Effect of enteric glial cells on immune cells in inflammatory bowel disease <i>Chen X, Gan HT</i></p> <p>602 Role of miRNAs in pathogenesis of inflammatory bowel disease <i>Wu RJ, Liu CQ, Liu ZJ</i></p> <p>607 Animal models of ulcerative colitis <i>Luo FY, Bai AP</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>614 <i>In vitro</i> anti-HBV effect of polyherbal medicine of Chuang herb HanYiTai <i>Liao D, Duan XL</i></p> <p>619 Genistein inhibits cell proliferation in human colon cancer cell line SW620 <i>Mei QB, Zhao ZX, Zheng LH, Chen P, Liu D</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>624 Significance of expression of Wnt3 and Wnt3a in gastric carcinoma <i>Guan WH, Yang K, Zhao WJ, Liu XS, Wang XJ</i></p> <p>629 Therapeutic effect of plasma exchange combined with bilirubin absorption for hyperbilirubinemia: An analysis of 42 cases <i>Zhao HP, Hou TQ, Ding BH, Zhang ZR, Xing XJ, Zhi H, Shen XF</i></p> <p>633 Electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury <i>Yue YS, Xie B, Cheng J, Zhang WY, Zhu Y</i></p>

<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Bo-Jian Jiang, Professor, Chief Physician, First Department of General Surgery, No 3 People Hospital, Shanghai Jiao-tong University School of Medicine, Shanghai 201900, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

**Indexed/Abstracted by** Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** March 8, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International  
Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,

Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 肿瘤干细胞及其微生景

姜波健, 王嘉, 俞继卫

姜波健, 王嘉, 俞继卫, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科 上海市 201900  
姜波健, 教授, 主任医师, 主要从事胃癌外科临床和基础、胃癌干细胞、肝再生以及肝干细胞的研究。  
上海市教委科研基金资助项目, No. 12YZ047  
上海市卫生局重点科研基金资助项目, No. 2010018  
国家自然科学基金资助项目, No. 81101850  
作者贡献分布: 王嘉负责文献收集与初稿撰写; 俞继卫负责初稿修改; 姜波健进行文章构思、文稿终审及修改。  
通讯作者: 姜波健, 教授, 主任医师, 201900, 上海市宝山区漠河路280号, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科。  
jiang\_md@hotmail.com  
电话: 56691101-6132  
收稿日期: 2012-06-26 修回日期: 2013-02-01  
接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Microenvironment for cancer stem cells

Bo-Jian Jiang, Jia Wang, Ji-Wei Yu

Bo-Jian Jiang, Jia Wang, Ji-Wei Yu, Department of General Surgery (Division I), Shanghai Third People's Hospital, Shanghai Jiao-Tong University School of Medicine, Shanghai 201900, China  
Supported by: the Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission, No. 12YZ047; the Key Innovation Program of Shanghai Health Bureau, No. 2010018; and the National Natural Science Foundation of China, No. 81101850  
Correspondence to: Bo-Jian Jiang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery (Division I), Shanghai Third People's Hospital, Shanghai Jiao-tong University School of Medicine, 280 Mohe Road, Shanghai 201900, China. jiang\_md@hotmail.com  
Received: 2012-06-26 Revised: 2013-02-01  
Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Cancer stem cells and their metastatic niche are one of hot topics for tumor study. This review introduces the definition of microenvironment (niche) for cancer stem cells, related cells and factors, characteristics and regulation of niche, premetastatic niche and tissue components. The research progress in this field can provide some clues to the metastatic mechanism of tumors and the development and improvement of chemotherapeutic drugs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Neoplasm/cancer; Cancer stem cells;

## Microenvironment

Jiang BJ, Wang J, Yu JW. Microenvironment for cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 553-558 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/553.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.553>

## 摘要

肿瘤干细胞及其微生景是目前肿瘤研究的热点之一。本文介绍肿瘤干细胞的微生景及其主要内容: 包括肿瘤微生景的定义, 相关细胞和因子, 微生景特性和调控, 转移前微生景, 微生景的组织成分等。这些领域的研究进展可为以后抗癌治疗和肿瘤转移机理的研究开辟新的思路。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 新生物/癌; 肿瘤干细胞; 微环境/巢

姜波健, 王嘉, 俞继卫. 肿瘤干细胞及其微生景. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 553-558 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/553.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.553>

## 0 引言

在肿瘤的生长及转移过程中, 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)进入循环系统或/和淋巴系统并植入远处器官。为存活, 并增殖形成转移灶需耐受极为不利的生存环境。这类事件可在早期肿瘤获得确诊前就已发生<sup>[1]</sup>。肿瘤起源的细胞, 即CSCs, 为维持其生命及活性, 并不单依靠其自身的能力, 而是像正常的干细胞一样, 很大程度上依赖其生长发育的环境-微生景(niche, microenvironment)<sup>[2]</sup>。在人类几百万年的进化过程中形成的机制, 能让正常干细胞拥有充足的时间来与其生长环境达到良好适应。但是CSCs与微生景间的适应期相对来说非常短暂。因此, 两者间产生了许多不融洽的作用。

## 1 肿瘤干细胞微生景的定义

肿瘤微生景是指由间充质干细胞、脂肪细胞、

## ■背景资料

肿瘤干细胞是近年来的研究热点, 越来越多的证据表明, 肿瘤干细胞与其所处微环境密切相关, 直接影响着肿瘤干细胞的浸润、迁移、转移、复发、产生抗药性等多种恶性行为。多种复杂因素共同构成了肿瘤干细胞微环境。

## ■同行评议者

石毓君, 副研究员, 四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室



■ 研发前沿  
肿瘤干细胞及其  
微生景是目前肿  
瘤研究热点之一。

炎症细胞、血管内皮细胞、免疫细胞及肿瘤相关成纤维细胞等构成,并增殖形成极其复杂的微生景。通过其中存在的多种生长因子、趋化因子、激素、酶及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等组织成分,形成一个复杂网络,并通过各因子间的相互作用,募集相关CSCs入微生景,进而调控微生景中CSCs的生长<sup>[3-5]</sup>。

随疾病的发展,微生景的具体位置有所变化,如缺氧组织、肿瘤浸润部位、血管壁周围、甚至正常SCs生长的微生景都可成为肿瘤微生景的形成部位。影响造血干细胞生存的微生景中包含各类细胞和细胞外基质成分。同时,微生景成分对造血干细胞的调控有多重影响作用。多种表型细胞和其微生景中细胞外基质分子具有相互调控作用,并与远处SCs微生景具有重叠交织的相互调控潜能<sup>[6]</sup>。

## 2 与微生景相关的各类细胞和因子

与肿瘤微生景相关的因子有生长因子、趋化因子、激素、酶及细胞外基质,并形成复杂网络,进而调控肿瘤干细胞的募集和生长<sup>[3]</sup>。骨髓中的肿瘤微生景含有这些物质,并可能为肿瘤干细胞的定植、生长及增殖,为最终形成转移灶提供足够的支持。

例如胰腺导管腺癌中星形细胞,可分泌Nodal因子作为胰腺CSCs微生景的重要基质成分,Nodal/Activin因子通过Alk4依赖方式促进体内胰腺CSCs的形成和侵袭性的增强<sup>[7]</sup>;活化的血液凝固因子VII(factor VII, FVIIa)和组织因子(tissue factor, TF)复合物(FVIIa/TF)作为外源性凝血途径始动因子,其活性受CSCs微生景的调控,通过改变止血功能而改变肿瘤细胞表型和活性,使肿瘤在局部增殖、浸润及转移<sup>[8]</sup>。对于骨髓中的肿瘤组织,含有上述各种物质构成的微生景可能为CSCs的定植,并进而生长和增殖形成转移灶提供了足够的支持。骨髓中的破骨细胞系受破骨细胞髓样祖细胞的集落刺激因子1(colony stimulating factor 1, CSF1)的调控,在核转录因子(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)配体的受体激动剂(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)的刺激,分化为成熟的破骨细胞。成骨细胞能产生CSF1并且其产生的可溶性RANKL受体保护蛋白会抑制RANKL的活性,以确保对破骨细胞的严格调控<sup>[9]</sup>。乳腺癌骨转移中由于破骨细胞不断生成,活性不断增强而产生溶骨性损伤。除CSF1外,破骨细胞还可分泌甲状

旁腺激素相关蛋白(parathyroid hormone related protein, PTHRP)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )增强RANKL的活性,抑制骨保护蛋白的作用。骨基质中富含游离的各种生长因子,降解后能释放胰岛素相关生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF 1)<sup>[10]</sup>、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )及骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等成分<sup>[11,12]</sup>作用于肿瘤细胞,有助于其存活生长。这些成分之间的相互作用形成一个正反馈循环,促使骨质不断丢失,而肿瘤细胞不断生长<sup>[13]</sup>。乳腺癌骨转移肿瘤细胞部分基因的表达,可调节其上游的CXC趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、基质金属蛋白酶1(matrix metalloproteinase-1, MMP1)以及白介素11(interleukin-11, IL-11)的转录。Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)可通过抑制microRNA: let-7作用靶点来调控CXCR4、OPN、MMP1基因的表达<sup>[14]</sup>。在肿瘤细胞归巢时,骨髓基质中有富含的基质细胞衍生因子1(stromal cell derived factor-1, SDF1, 即CXCL12)也可调节CXCR4,进而影响此循环<sup>[15]</sup>。

## 3 肿瘤细胞微生景的特性和调控

因为肿瘤细胞中共有的标志特性比较稀少,另外,肿瘤干细胞的体内表型会受宿主微环境、性别、肿瘤分期的影响而改变,所以肿瘤细胞微生景的识别仍极具挑战性。一般而言,肿瘤微生景应有以下基本特点:维持肿瘤干细胞的活性,并能被识别。因此,成功的识别策略是应能识别出维持肿瘤干细胞自我更新、分化,并且能抵抗细胞毒药物的活性<sup>[16]</sup>。

肿瘤微生景的结构特点和正常的干细胞微生景之间有某些共通之处。构成实体瘤微生景的造血干细胞微生景和普通干细胞微生景具有同样的结构和功能要素。对于调控细胞归巢、迁移、生长、生存和休眠等细胞进程具有重要的促进作用的成骨细胞对这两种微生景来说都是必不可少的成分<sup>[17]</sup>。

造血干细胞微生景和肿瘤微生景中共有的分子多成为Wnt、Notch、Hedgehog、phosphoinositide 3-kinase(PI3K)和JAK-STAT等诱导调控的初始传导通路的调控因子<sup>[18]</sup>。实验证明以上通路主要作用于肿瘤发展阶段的临床前期,CSCs十分依赖自身的更新,因此,初始信

号通路对CSCs的存活意义重大. 与正常细胞相比, CSCs中的信号通路更易受到小分子物质的影响, 故这些通路肿瘤微生景间的联系使其对肿瘤治疗具有重要意义<sup>[19,20]</sup>. 另外, 随着肿瘤发育过程中有关干细胞特性研究结果的不累积, 有理由相信这些特性部分揭示癌症治疗难以获得满意疗效的原因<sup>[18]</sup>. 这些物质除了维持微生景, 并进而决定干细胞特性, 还对干细胞表型分化具有主动诱导作用, 并能够通过增强上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)作用促进肿瘤细胞的侵袭转移<sup>[21]</sup>. 在结肠癌患者中, 肌成纤维细胞表达的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF), 即c-蛋氨酸受体酪氨酸激酶配体, 依靠转录激活淋巴增强因子1(lymphoid-enhancing factor 1, LEF-1)而刺激增强已分化肿瘤细胞中的WNT信号通路, 促进其干细胞特性表达. 从而增强肿瘤侵袭性<sup>[22]</sup>, 另外也有证据显示: 肿瘤细胞产生的BMP4可诱导CSCs进行不可逆转的分化, 从而丢失自我复制的干细胞特性<sup>[23]</sup>, 肿瘤组织增长速度随CSCs对称分裂可能性增高而加快; 肿瘤干细胞微生景的数目越多, 肿瘤生长的速度越慢, 但最终体积越大<sup>[24]</sup>. 这些证据更强调了微生景的重要性. 由于CSCs的表型特点可能不太稳定, 并易受到调控影响发生转化, 因此, 其诱导作用还可能成为微生景的一个关键特性<sup>[25-27]</sup>.

#### 4 转移前微生景

肿瘤细胞转移到远处器官前所发生的事件是极为重要的. 大部分细胞或在逸出原发肿瘤组织后迅速死亡或无限期的休眠. 原发肿瘤释放的一些信号因子可导致远处靶器官发生改变, 从而使肿瘤的远处转移更为便利. MMPs能增强肿瘤侵袭性和促进肿瘤细胞生长发育, 原发肿瘤细胞分泌的MMPs还有助于在远处转移部位形成微生景并吸引肿瘤细胞的归巢<sup>[28]</sup>. 另外, 乳腺癌患者体内所固有的性激素、TGF- $\beta$ 、二磷酸盐(bisphosphonate)等物质也可促进癌细胞骨转移微生景的形成<sup>[29]</sup>. 由此形成的转移部位微环境称之为转移前微生景.

一般认为肿瘤细胞对于肿瘤转移具有驱动作用, 但新的研究表明转移前微生景中的宿主细胞也在肿瘤转移中扮演重要角色. 骨髓中提取的许多细胞, 尤其是骨髓祖细胞形成了肿瘤细胞骨转移的转移前微生景. 对转移前微生景的形成机制分析表明可溶性分泌因子能促

进肿瘤骨转移的骨髓细胞动员. 另外, CSCs通过诱导内皮细胞的分化促进肿瘤组织血管的形成, 由肿瘤和宿主细胞共同分泌的囊泡也有助于形成肿瘤转移前微生景<sup>[30,31]</sup>. 肿瘤肺转移的微生景机制研究显示, 其中分泌的血管内皮生长因子A(vascularendothelial growth factor-A; VEGF-A)、胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)及炎症因子能动员VEGF-A受体促进生成骨髓源性细胞(bone marrow derived cells, BMDCs), 然后促进BMDCs在肺部的募集, 并进而肺部形成微生景, 从而利于肿瘤的转移. 已有研究表明转移前微生景富含粘连蛋白、MMP1/2, S100A8/9及赖氨酰氧化酶(LOX)等各种因子, 以补充所需的支持基质细胞及帮助细胞外基质的重构, 这些作用都有利于进入微生景的肿瘤细胞生长<sup>[32]</sup>. 这些因子可充分利用微生景中分子间相互作用及传导信号, 从而抵御阻碍肿瘤细胞进入远处器官的负面因素的影响. 此外, 一些肿瘤细胞甚至可搜寻并占据正常细胞的微生景. 前列腺恶性肿瘤细胞占据了骨髓中造血干细胞的微生景, 并和造血干细胞竞争与微生景的相互作用<sup>[33]</sup>.

CXCL12-CXCR4轴除了是造血干细胞与其骨髓微生景相互作用的关键要素, 同样也可作用于前列腺癌骨转移的肿瘤细胞. 另外, 乳腺癌中, 活化的酪氨酸蛋白激酶激活CXCL12-CXCR4轴, 随之增强PI3K信号通路的表达, 从而有利于侵入骨髓的肿瘤细胞的存活<sup>[34]</sup>. CSCs在其他微环境中与正常干细胞发生的竞争是否和在骨髓微环境中的竞争类似还有待观察. CXCL12-CXCR4轴除对乳腺癌、前列腺癌、小细胞肺癌等易发生骨转移的肿瘤而言是一个关键性的介导因素外, 同样, CXCL12-CXCR4轴还能介导肿瘤细胞转移到肝脏、脑、肺等部位<sup>[35]</sup>.

事实上, 无论是微生景或是将产生微生景的潜在部位, 都能发现低氧环境和成纤维细胞这两个表达CXCL12所需的重要因素. 另外还需要指出的是, 细胞对氧含量的应答主要受低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)转录活性的调控. CSCs依靠HIF的表达而存活、自我更新及生长. 低氧环境还能促进CSCs的发育及细胞归巢<sup>[36]</sup>. 原发肿瘤细胞通过调控定植于肺之中的BMDCs, 为自身转移提供便利. HIF-1不但可通过PI3K/Akt信号通路, 调节EMT作用, 进而影响肝细胞癌的侵袭转移<sup>[37]</sup>, 还可通过调节LOX家族成员, 包括LOX、LOX-2、LOX-4蛋白酶类的

#### ■应用要点

本文针对肿瘤干细胞及其微生态环境的最新进展进行了系统阐述, 为肿瘤的干细胞起源理论及肿瘤的持久缓解和靶向治疗提供理论依据和研究方向.

## ■同行评价

本文较详细全面地阐述了肿瘤干细胞微环境的主要研究进展,对于关注本领域的研究人员具有一定的指导意义。

表达,在BMDCs被募集于肺之前,催化肺部的胶原蛋白发生交叉反应,以促进乳腺癌肺转移部位微生景的形成。HIF-1高表达的程度与肿瘤发生转移的风险成正相关<sup>[38]</sup>。LOX家族成员中只有一小部分可在任何乳腺癌个体中表达,但HIF-1在任何病例中都参与调控。HIF-1或者低氧诱导LOX家族成员的低表达将减少胶原蛋白的交叉反应,从而降低CD11b(+)BMDCs的重募集及接受人体乳腺癌细胞移植的小鼠发生肿瘤肺转移的比例。在乳腺癌的发展进程中,转移微生景的形成是一典型的HIF-1相关事件<sup>[39]</sup>。

## 5 肿瘤细胞微生景的组织成分

肿瘤细胞微生景的组织成分可由肿瘤细胞自身表达产生,就这一点来说,如果肿瘤细胞能将来自自身的微生景带入转移部位,他实际上可摆脱外界条件的干扰。肿瘤细胞可产生维持微生景所需要素,这使得肿瘤细胞一旦到达并不利于生长的环境之后,能拥有一种存活下来的特征和优势。这些要素包括各种生长因子、趋化因子及分泌酶<sup>[4]</sup>。

EMC在微生景的形成中也扮演极为重要的角色。有证据表明EMC不但为肿瘤细胞提供了一个结构性的框架环境,还能积极释放调节细胞相关信号<sup>[5]</sup>。正常干细胞微生景内EMC中的肌糖蛋白C(tenascin C, TNC),与乳腺癌发生肺转移的侵袭性有关。TNC的高表达多见于慢性炎症和肿瘤患者,尤其是分子量较大的亚型TNC-14/-16<sup>[40]</sup>。转移入肺的乳腺癌细胞通过表达TNC来维持其自身的转移启动能力,肿瘤细胞相关TNC通过依赖/非依赖基质MMP两种机制促进转移后微小转移灶的生存及生长,但两种机制都还需要受到MMP分子一定程度的调控<sup>[41]</sup>。TNC能促进干细胞信号通路成分的表达,如musashi同源物1(MSI-1)、富亮氨酸重复序列G蛋白偶联受体5(leucine repeat-rich G-protein coupled receptor, LGR5)等。MSI-1对Notch通路具有正调控作用,而LGR5是Wnt通路的靶向蛋白。干细胞调节信号TNC的调控并不影响干细胞表型和多能性的转录序列的表达。TNC通过信号传导转录激活子5(signal transducer and activator of transcription, STAT5)可保护MSI-1依赖的Notch通路免受抑制,并可选择性的促进作为Wnt靶向蛋白的LGR5的表达。肿瘤相关TNC的含量可在肿瘤细胞转移生长中保持稳定,直到肿瘤基质能产生充足的TNC。初始信号通路的调节是肿

瘤细胞相关TNC的一项表达功能,此功能对于乳腺癌启动肺部转移必不可少<sup>[42]</sup>。从乳腺癌全身转移患者的胸腔积液分离出的癌细胞中,可观察到TNC的表达,这表明肿瘤细胞相关TNC的自主性表达对肿瘤发生广泛而又高效的转移有重要影响。

随着微生景的激活,肌成纤维细胞产生的TNC能通过SRC激活和黏着斑激酶磷酸化诱导EMT过程,从而有效促进肿瘤细胞的转移<sup>[43,44]</sup>。除TNC外,肌成纤维细胞还能产生另外一种细胞外基质蛋白-骨膜蛋白(periostin, POSTN),同样也是形成微生景的重要成分<sup>[45]</sup>。POSTN也可通过EMT促进非小细胞肺癌的侵袭转移<sup>[46]</sup>。可以看出,POSTN在肿瘤肺转移过程中扮演的角色与TNC十分相似,因此,这两种分子可能是同一支持环境中两个互相有联系或是能发挥协同作用的要素<sup>[47]</sup>。证据显示TNC和POSTN能调节关键信号通路,如CSCs特性的维持及Wnt和Notch通路的活性<sup>[42,45]</sup>。发生转移后的CSCs可通过调节这些通路以抵御转移部位不适宜生存微环境的影响。

## 6 结论

肿瘤转移过程的研究亟待加强。肿瘤干细胞和微生景间的相互调控对转移癌(实际上仍是一种不治之症)的形成和发展意义重大。另一方面,肿瘤微生景既能为肿瘤抵御化疗药物和放射线的杀伤提供保护作用,又能促进CSCs的发育,从而有利于肿瘤细胞免受外来的干扰<sup>[48]</sup>。深入研究微生景对CSCs的调控机制,能为阻止肿瘤转移提供新的手段,甚至最终治愈转移性癌。

## 7 参考文献

- 1 Pantel K, Alix-Panabières C, Riethdorf S. Cancer micrometastases. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 339-351 [PMID: 19399023 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.44]
- 2 Cabarcas SM, Mathews LA, Farrar WL. The cancer stem cell niche--there goes the neighborhood? *Int J Cancer* 2011; 129: 2315-2327 [PMID: 21792897 DOI: 10.1002/ijc.26312]
- 3 Korkaya H, Liu S, Wicha MS. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *J Clin Invest* 2011; 121: 3804-3809 [PMID: 21965337 DOI: 10.1172/JCI57099]
- 4 Takakura N. Formation and regulation of the cancer stem cell niche. *Cancer Sci* 2012; 103: 1177-1181 [PMID: 22416970]
- 5 Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009; 326: 1216-1219 [PMID: 19965464 DOI: 10.1126/science.1176009]
- 6 Ellis SL, Nilsson SK. The location and cellular



- composition of the hemopoietic stem cell niche. *Cytotherapy* 2012; 14: 135-143 [PMID: 22107161 DOI: 10.3109/14653249.2011.630729]
- 7 Lonardo E, Frias-Aldeguez J, Hermann PC, Heeschen C. Pancreatic stellate cells form a niche for cancer stem cells and promote their self-renewal and invasiveness. *Cell Cycle* 2012; 11: 1282-1290 [PMID: 22421149 DOI: 10.4161/cc.19679]
  - 8 Rak J, Milsom C, Magnus N, Yu J. Tissue factor in tumour progression. *Best Pract Res Clin Haematol* 2009; 22: 71-83 [PMID: 19285274 DOI: 10.1016/j.beha.2008.12.008]
  - 9 Wittrant Y, Gorin Y, Mohan S, Wagner B, Abboud-Werner SL. Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) directly inhibits receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL) expression by osteoblasts. *Endocrinology* 2009; 150: 4977-4988 [PMID: 19819976 DOI: 10.1210/en.2009-0248]
  - 10 Hart LS, Dolloff NG, Dicker DT, Koumenis C, Christensen JG, Grimmer A, El-Deiry WS. Human colon cancer stem cells are enriched by insulin-like growth factor-1 and are sensitive to figitumumab. *Cell Cycle* 2011; 10: 2331-2338 [PMID: 21720213 DOI: 10.4161/cc.10.14.16418]
  - 11 Kroczeck A, Park J, Birkholz T, Neukam FW, Wiltfang J, Kessler P. Effects of osteoinduction on bone regeneration in distraction: results of a pilot study. *J Craniomaxillofac Surg* 2010; 38: 334-344 [PMID: 19910206 DOI: 10.1016/j.jcms.2009.10.010]
  - 12 Kobayashi A, Okuda H, Xing F, Pandey PR, Watabe M, Hirota S, Pai SK, Liu W, Fukuda K, Chambers C, Wilber A, Watabe K. Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J Exp Med* 2011; 208: 2641-2655 [PMID: 22124112 DOI: 10.1084/jem.20110840]
  - 13 Caja L, Kahata K, Moustakas A. Context-dependent action of transforming growth factor  $\beta$  family members on normal and cancer stem cells. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4072-4086 [PMID: 22630079 DOI: 10.2174/138161212802430459]
  - 14 Yun J, Frankenberger CA, Kuo WL, Boelens MC, Eves EM, Cheng N, Liang H, Li WH, Ishwaran H, Minn AJ, Rosner MR. Signalling pathway for RKIP and Let-7 regulates and predicts metastatic breast cancer. *EMBO J* 2011; 30: 4500-4514 [PMID: 21873975 DOI: 10.1038/emboj.2011.312]
  - 15 Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 239-252 [PMID: 19279573 DOI: 10.1038/nrc2618]
  - 16 LaBarge MA. The difficulty of targeting cancer stem cell niches. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3121-3129 [PMID: 20530700 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2933]
  - 17 Pedersen EA, Shiozawa Y, Mishra A, Taichman RS. Structure and function of the solid tumor niche. *Front Biosci (Schol Ed)* 2012; 4: 1-15 [PMID: 22202039]
  - 18 Takebe N, Harris PJ, Warren RQ, Ivy SP. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 97-106 [PMID: 21151206 DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.196]
  - 19 Takebe N, Ivy SP. Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3106-3112 [PMID: 20530695 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2934]
  - 20 Martelli AM, Evangelisti C, Follo MY, Ramazzotti G, Fini M, Giardino R, Manzoli L, McCubrey JA, Cocco L. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin signaling network in cancer stem cells. *Curr Med Chem* 2011; 18: 2715-2726 [PMID: 21649579 DOI: 10.2174/092986711796011201]
  - 21 Borovski T, De Sousa E Melo F, Vermeulen L, Medema JP. Cancer stem cell niche: the place to be. *Cancer Res* 2011; 71: 634-639 [PMID: 21266356 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3220]
  - 22 Huang FI, Chen YL, Chang CN, Yuan RH, Jeng YM. Hepatocyte growth factor activates Wnt pathway by transcriptional activation of LEF1 to facilitate tumor invasion. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1142-1148 [PMID: 22436613 DOI: 10.1093/carcin/bgs131]
  - 23 Farrall AL, Riemer P, Leushacke M, Sreekumar A, Grimm C, Herrmann BG, Morkel M. Wnt and BMP signals control intestinal adenoma cell fates. *Int J Cancer* 2012; 131: 2242-2252 [PMID: 22344573 DOI: 10.1002/ijc.27500]
  - 24 Zhu X, Zhou X, Lewis MT, Xia L, Wong S. Cancer stem cell, niche and EGFR decide tumor development and treatment response: A bio-computational simulation study. *J Theor Biol* 2011; 269: 138-149 [PMID: 20969880 DOI: 10.1016/j.jtbi.2010.10.016]
  - 25 Scheel C, Eaton EN, Li SH, Chaffer CL, Reinhardt F, Kah KJ, Bell G, Guo W, Rubin J, Richardson AL, Weinberg RA. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast. *Cell* 2011; 145: 926-940 [PMID: 21663795 DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.029]
  - 26 Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, Brooks M, Reinhardt F, Su Y, Polyak K, Arendt LM, Kuperwasser C, Biebert B, Weinberg RA. Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 7950-7955 [PMID: 21498687 DOI: 10.1073/pnas.1102454108]
  - 27 Iliopoulos D, Hirsch HA, Wang G, Struhl K. Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 1397-1402 [PMID: 21220315 DOI: 10.1073/pnas.1018898108]
  - 28 Rucci N, Sanità P, Angelucci A. Roles of metalloproteases in metastatic niche. *Curr Mol Med* 2011; 11: 609-622 [PMID: 21707518 DOI: 10.2174/156652411797536705]
  - 29 Wilson C, Holen I, Coleman RE. Seed, soil and secreted hormones: potential interactions of breast cancer cells with their endocrine/paracrine microenvironment and implications for treatment with bisphosphonates. *Cancer Treat Rev* 2012; 38: 877-889 [PMID: 22398187 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.02.007]
  - 30 Bussolati B, Dekel B, Azzarone B, Camussi G. Human renal cancer stem cells. *Cancer Lett* 2012 May 12. [Epub ahead of print] [PMID: 22587951 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.05.007]
  - 31 Peinado H, Lavotshkin S, Lyden D. The secreted factors responsible for pre-metastatic niche formation: old sayings and new thoughts. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 139-146 [PMID: 21251983 DOI: 10.1016/j.semcancer.2011.01.002]
  - 32 Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 285-293 [PMID: 19308068 DOI: 10.1038/nrc2621]
  - 33 Shiozawa Y, Pedersen EA, Havens AM, Jung Y, Mishra A, Joseph J, Kim JK, Patel LR, Ying C, Ziegler AM, Pienta MJ, Song J, Wang J, Loberg RD,

- Krebsbach PH, Pienta KJ, Taichman RS. Human prostate cancer metastases target the hematopoietic stem cell niche to establish footholds in mouse bone marrow. *J Clin Invest* 2011; 121: 1298-1312 [PMID: 21436587 DOI: 10.1172/JCI43414]
- 34 Zhang XH, Wang Q, Gerald W, Hudis CA, Norton L, Smid M, Foekens JA, Massagué J. Latent bone metastasis in breast cancer tied to Src-dependent survival signals. *Cancer Cell* 2009; 16: 67-78 [PMID: 19573813 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.05.017]
  - 35 Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 597-606 [PMID: 21866172 DOI: 10.1038/nri3049]
  - 36 Heddleston JM, Li Z, Lathia JD, Bao S, Hjelmeland AB, Rich JN. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br J Cancer* 2010; 102: 789-795 [PMID: 20104230 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605551]
  - 37 Yan W, Fu Y, Tian D, Liao J, Liu M, Wang B, Xia L, Zhu Q, Luo M. PI3 kinase/Akt signaling mediates epithelial-mesenchymal transition in hypoxic hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 382: 631-636 [PMID: 19303863 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.03.088]
  - 38 Wong CC, Zhang H, Gilkes DM, Chen J, Wei H, Chaturvedi P, Hubbi ME, Semenza GL. Inhibitors of hypoxia-inducible factor 1 block breast cancer metastatic niche formation and lung metastasis. *J Mol Med (Berl)* 2012; 90: 803-815 [PMID: 22231744]
  - 39 Wong CC, Gilkes DM, Zhang H, Chen J, Wei H, Chaturvedi P, Fraley SI, Wong CM, Khoo US, Ng IO, Wirtz D, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a master regulator of breast cancer metastatic niche formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 16369-16374 [PMID: 21911388 DOI: 10.1073/pnas.1113483108]
  - 40 Guttery DS, Shaw JA, Lloyd K, Pringle JH, Walker RA. Expression of tenascin-C and its isoforms in the breast. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 595-606 [PMID: 20814719 DOI: 10.1007/s10555-010-9249-9]
  - 41 Hancox RA, Allen MD, Holliday DL, Edwards DR, Pennington CJ, Guttery DS, Shaw JA, Walker RA, Pringle JH, Jones JL. Tumour-associated tenascin-C isoforms promote breast cancer cell invasion and growth by matrix metalloproteinase-dependent and independent mechanisms. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R24 [PMID: 19405959 DOI: 10.1186/bcr2251]
  - 42 Oskarsson T, Acharyya S, Zhang XH, Vanharanta S, Tavazoie SF, Morris PG, Downey RJ, Manova-Todorova K, Brogi E, Massagué J. Breast cancer cells produce tenascin C as a metastatic niche component to colonize the lungs. *Nat Med* 2011; 17: 867-874 [PMID: 21706029 DOI: 10.1038/nm.2379]
  - 43 O'Connell JT, Sugimoto H, Cooke VG, MacDonald BA, Mehta AI, LeBleu VS, Dewar R, Rocha RM, Brentani RR, Resnick MB, Neilson EG, Zeisberg M, Kalluri R. VEGF-A and Tenascin-C produced by S100A4+ stromal cells are important for metastatic colonization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 16002-16007 [PMID: 21911392 DOI: 10.1073/pnas.1109493108]
  - 44 Nagaharu K, Zhang X, Yoshida T, Katoh D, Hanamura N, Kozuka Y, Ogawa T, Shiraishi T, Imanaka-Yoshida K. Tenascin C induces epithelial-mesenchymal transition-like change accompanied by SRC activation and focal adhesion kinase phosphorylation in human breast cancer cells. *Am J Pathol* 2011; 178: 754-763 [PMID: 21281808 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.10.015]
  - 45 Malanchi I, Santamaria-Martínez A, Susanto E, Peng H, Lehr HA, Delaloye JF, Huelken J. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature* 2012; 481: 85-89 [PMID: 22158103 DOI: 10.1038/nature10694]
  - 46 Morra L, Rechsteiner M, Casagrande S, von Teichman A, Schraml P, Moch H, Soltermann A. Characterization of periostin isoform pattern in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 76: 183-190 [PMID: 22079858 DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.10.013]
  - 47 Oskarsson T, Massagué J. Extracellular matrix players in metastatic niches. *EMBO J* 2012; 31: 254-256 [PMID: 22179697 DOI: 10.1038/emboj.2011.469]
  - 48 Cukierman E, Bassi DE. The mesenchymal tumor microenvironment: a drug-resistant niche. *Cell Adh Migr* 2012; 6: 285-296 [PMID: 22568991 DOI: 10.4161/cam.20210]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



# 黄芪、三七对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜HSP70及其转录因子GAF表达的影响

张会存, 史瑞, 李健, 李晓红, 李军祥, 杨美娟

张会存, 史瑞, 李晓红, 李军祥, 北京中医药大学东方医院脾胃肝胆科 北京市 100078

李健, 杨美娟, 北京中医药大学基础医学院组织与胚胎学教研室 北京市 100029

张会存, 博士后, 主要从事中医药防治消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30973741

北京中医药大学创新团队基金资助项目, No. 2011-CXTD-24

作者贡献分布: 本课题由史瑞与李军祥共同设计; 研究过程由张会存、史瑞及李晓红共同完成; 数据分析由张会存、史瑞及李晓红共同完成; 写作由张会存完成; 史瑞进行修改; 李健与李军祥指导。

通讯作者: 李军祥, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100078, 北京市丰台区方庄芳星园一区6号, 北京中医药大学东方医院脾胃肝胆科. lijx970508@sohu.com

电话: 010-67689766

收稿日期: 2012-10-10 修回日期: 2013-01-09

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-03-08

## Effect of astragalus and Panax notoginseng on expression of heat shock protein 70 and GAF in atrophic gastritis in rats

Hui-Cun Zhang, Rui Shi, Jian Li, Xiao-Hong Li, Jun-Xiang Li, Mei-Juan Yang

Hui-Cun Zhang, Rui Shi, Xiao-Hong Li, Jun-Xiang Li, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China  
Jian Li, Mei-Juan Yang, Department of Histology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30973741; and the Research and Innovation Team Project of Beijing University of Chinese Medicine, No.2011-CXTD-24

Correspondence to: Jun-Xiang Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. lijx970508@sohu.com

Received: 2012-10-10 Revised: 2013-01-09

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-03-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effect of astragalus, Panax notoginseng and their mixture on expression of heat shock protein 70 (HSP70) and GAF in atrophic gastritis in rats.

**METHODS:** Fifty-four healthy male Wistar rats were randomly divided into six groups: control group, model group, teprenone group, astraga-

lus group, Panax notoginseng group and astragalus plus Panax notoginseng group. Atrophic gastritis was induced by implanting a pylorus spring and intragastrically administering hot salty starch paste. The control and model groups were given normal saline (2 mL) daily, while other groups were infused with water decoction of astragalus containing crude drug 3.5 g/(kg·d), the Panax notoginseng powder containing crude drug 0.7 g/(kg·d), Panax notoginseng powder and astragalus water decoction, and teprenone water suspension containing teprenone 200 mg/(kg·d) for one month by gavage, respectively. The expression of heat shock protein 70 and GAF in the rat gastric mucosa was measured using quantum dot immunofluorescence histochemical technology.

**RESULTS:** HSP70 protein expression in the astragalus, Panax notoginseng, astragalus plus Panax notoginseng and teprenone groups was significantly increased (all  $P < 0.05$ ) compared to the model group. The expression of GAF in the astragalus, Panax notoginseng, astragalus plus Panax notoginseng and teprenone groups was also increased significantly compared to the model group (all  $P < 0.01$ ). Although the expression of HSP70 in the astragalus group was higher than that in the Panax notoginseng group ( $P < 0.05$ ), there was no significant difference in the expression of GAF between the two groups ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Astragalus, Panax notoginseng and their combination can improve mucosal atrophy in rats with atrophic gastritis by increasing GAF and HSP70 expression. GAF and HSP70 may be potential therapeutic targets for atrophic gastritis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Atrophic gastritis; Astragalus; Panax notoginseng; GAF; HSP70

Zhang HC, Shi R, Li J, Li XH, Li JX, Yang MJ. Effect of

## ■背景资料

萎缩性胃炎, 西医主要采用保护胃黏膜、止痛等对症治疗, 此外缺乏有效的治疗手段。中医依据辨证论治对该病的治疗近年来取得了可喜的临床疗效, 对其分子机制进行深入研究, 不但可以发展解释中医药理论, 同时可以指导临床用药。

## ■同行评议者

杜雅莉, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科



## ■研究前沿

在胃黏膜屏障中HSP70具有重要作用,因此针对HSP70的调控是今后研究的重点。目前尚缺乏深层次的关于中医药治疗萎缩性胃炎作用机制的研究。

astragalus and Panax notoginseng on expression of heat shock protein 70 and GAF in atrophic gastritis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(7): 559-566 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.559>

## 摘要

**目的:**明确黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)及其转录因子GAF表达的影响。

**方法:**清洁级Wistar大鼠54只,随机分为空白组、模型组、替普瑞酮组、黄芪组、三七组、黄芪+三七组。运用幽门弹簧配合高盐热淀粉糊灌胃法制备萎缩性胃炎模型后,分别给予空白组、模型组(生理盐水2 mL/d)、黄芪组[黄芪水煎剂3.5 g/(kg·d)]、三七组[三七粉冲剂0.7 g/(kg·d)]、黄芪+三七组{黄芪三七溶液灌胃[其中黄芪3.5 g/(kg·d)、三七0.7 g/(kg·d)]}、替普瑞酮组[200 mg/(kg·d)]灌胃。连续给药1 mo后,取大鼠胃组织,经量子点免疫荧光组织化学方法测定各组大鼠胃黏膜中HSP70蛋白及其转录因子GAF表达量。

**结果:**同模型组相比,黄芪组、三七组、黄芪+三七组以及替普瑞酮组胃黏膜中HSP70的表达有显著性差异( $P = 0.0000, 0.0269, 0.0020, 0.006$ );同时上述各组HSP70转录因子GAF的表达,亦显著性高于模型组( $P = 0.0000, 0.0000, 0.0010, 0.0052$ );黄芪组HSP70表达高于三七组( $P = 0.0134$ ),但HSP70转录因子GAF的表达在两组间无统计学差异。

**结论:**黄芪、三七及其配伍可以明显改善萎缩性胃炎大鼠胃黏膜状态;通过诱导并增加转录因子GAF的表达,促进热休克蛋白70的表达,可能是黄芪、三七治疗萎缩性胃炎的作用途径之一。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:**萎缩性胃炎;黄芪;三七;转录因子GAF;HSP70

张会存, 史瑞, 李健, 李晓红, 李军祥, 杨美娟. 黄芪、三七对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜HSP70及其转录因子GAF表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 559-566 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.559>

## 0 引言

萎缩性胃炎(atrophic gastritis, AG)是以胃黏膜的

腺体萎缩或伴有不同程度的肠上皮化生与异型增生为病理特征的胃黏膜慢性炎症病变,为我国消化系统常见病和疑难病,恶性发生率约为2.5%-7.46%<sup>[1]</sup>。其症状多以脾虚证的表现为主,如胃脘隐痛、喜温喜按、面色不华、倦怠乏力、食少便溏、舌淡胖、边有齿痕、脉沉细无力等。久病多瘀, AG患者也兼见胃脘隐痛、痛有定处,舌有瘀斑,舌下脉络曲张等血瘀证表现,胃镜下黏膜萎缩呈颗粒状、皱褶变平、血管透见、可有灰色肠上皮化生结节,故脾胃气虚,瘀血内停证为AG的常见证型之一。黄芪、三七分别为健脾益气 and 活血化瘀药的代表药,多用于治疗AG。本课题组前期运用基因芯片技术研究<sup>[2]</sup>发现:益气活血法能够通过促进热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)基因的转录,改善AG大鼠胃黏膜病变。因此,为了进一步明确益气活血法在萎缩性胃炎治疗中对HSP70的调控作用,本实验运用量子点免疫荧光组织化学技术研究了代表益气活血法的黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠HSP70及其转录因子GAF的影响,为其临床应用提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 黄芪(产地内蒙古,北京同仁堂药材有限公司,北京中医药大学中药学院中药鉴定系张媛教授鉴定为蒙古黄芪),三七粉(产地云南,北京同仁堂药材有限公司),替普瑞酮胶囊[施维舒,卫材(中国)药业有限公司]。Wistar δ 大鼠, 54只,体质量200 g ± 20 g, SPF级,北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物许可证编号:SCXK(京)2006-0009],常规饲养于北京中医药大学SPF级动物房。抗HSP70/72小鼠单克隆抗体(美国Assay Designs公司),抗GAF抗体(美国Santa公司),605 nm ODs-SA(605 nm量子点标记的链霉亲和素复合物)检测试剂盒(武汉珈源量子点技术开发有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:**造模时间为4 mo,方法参考史瑞等<sup>[3]</sup>研究。

**1.2.2 分组及给药:**Wistar大鼠按质量随机区组设计法随机分为空白组、模型组。空白组予生理盐水2 mL/d灌胃;模型组模型制备参见史瑞等幽门弹簧置入联合高盐热淀粉糊灌胃法<sup>[3]</sup>。模型成功后,将模型组大鼠按体质量随机区组设计法随机分为模型组、黄芪组、三七组、黄芪+三七组、替普瑞酮组。模型组予生理盐水

表 1 量子点标记的各组大鼠胃组织HSP70及其转录因子GAF比较 (mean ± SD)

分组	视野数	HSP70荧光信号强度	GAF荧光信号强度
空白组	5	1.794 ± 0.209 <sup>d</sup>	2.990 ± 0.222 <sup>d</sup>
模型组	5	2.052 ± 0.268 <sup>d</sup>	3.402 ± 0.362 <sup>d</sup>
替普瑞酮组	5	3.970 ± 0.113 <sup>b</sup>	5.352 ± 0.463 <sup>bd</sup>
黄芪组	5	5.280 ± 0.788 <sup>b</sup>	7.846 ± 0.415 <sup>b</sup>
三七组	5	3.568 ± 0.443 <sup>ac</sup>	7.308 ± 0.262 <sup>b</sup>
黄芪+三七组	5	4.250 ± 0.576 <sup>b</sup>	5.766 ± 0.554 <sup>bd</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 黄芪组.

2 mL/d灌胃; 黄芪组予黄芪水煎剂3.5 g/(kg·d)灌胃; 三七组予三七粉冲剂0.7 g/(kg·d)灌胃; 黄芪+三七组予黄芪三七溶液灌胃[其中黄芪3.5 g/(kg·d)、三七0.7 g/(kg·d)]; 替普瑞酮组予替普瑞酮200 mg/(kg·d), 治疗1 mo后处死, 取大鼠胃组织, 福尔马林固定.

1.2.3 检测方法: 胃组织切片脱蜡、水化、微波抗原修复、TBS洗涤, 封闭缓冲液37 °C湿盒孵育60 min, 分别滴加HSP70、GAF抗体, 37 °C孵育2 h, TBS-T漂洗5 min/次×3次, 封闭缓冲液37 °C湿盒孵育20 min, 滴加QDs-SA标记的二抗, 37 °C湿盒孵育30 min, TBS-T漂洗5 min/次×3次, 滴加缓冲甘油封片剂封片. 荧光显微镜下观察, HSP70、GAF蛋白的阳性信号均为红色. 切片经奥林巴斯BX51荧光显微镜及其配备的奥林巴斯DP72相机(日本奥林巴斯光学工业有限公司)拍照.

**统计学处理** 图片经CRiNuance多光谱成像系统(美国剑桥研究与仪表公司), 进行图像分析后, 计量各组蛋白量子点荧光信号的荧光强度, 每组取5个视野进行统计. 实验数据采用统计软件SPSS13.0进行单因素方差分析, 实验结果采用mean ± SD表示,  $P < 0.05$ 认为组间有统计学意义,  $P < 0.01$ 认为组间有显著性差异.

## 2 结果

2.1 黄芪、三七及其配伍对HSP70蛋白表达的影响 空白组与模型组相比较, 胃黏膜HSP70蛋白表达量相接近, 两组之间无统计学差异. 与模型组比较, 黄芪组、三七组、黄芪+三七组, 替普瑞酮组胃黏膜HSP70表达显著升高( $P = 0.0000$ ,  $0.0269$ ,  $0.0020$ ,  $0.006$ ); 黄芪组HSP70表达量高于空白组、模型组及三七组( $P = 0.0000$ ,  $0.0000$ ,  $0.0134$ ); 黄芪组与黄芪+三七组相比, HSP70表达差异无统计学意义( $P = 0.1251$ , 图1, 表1).

2.2 黄芪、三七及其配伍对HSP70转录因子GAF表达的影响 空白组与模型组之间, 胃黏膜转录因子GAF表达量相比较, 两组之间无统计学差异. 黄芪组、三七组、黄芪+三七组与模型组比较, 胃黏膜GAF表达显著性升高( $P = 0.0000$ ,  $0.0000$ ,  $0.0010$ , 图2, 表1); 与模型组比, 替普瑞酮组胃黏膜GAF表达也显著性增加( $P = 0.0052$ ); 黄芪组与三七组两组之间, GAF表达量差异无统计学意义.

## 3 讨论

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是生物有机体经外界的刺激后, 转录合成的蛋白质, 有人形象称其为应激蛋白(stress protein, SP). HSPs是一组具有重要生理功能、高度保守的蛋白质分子<sup>[4]</sup>, 研究显示, 诱导性HSP70家族可以修复损伤的前核糖体、防止溶酶体破坏、稳定细胞膜, 从而维持细胞正常的形态和功能<sup>[5-7]</sup>. 热休克蛋白不但支持新生多肽和蛋白质的跨膜运输与折叠<sup>[8]</sup>, 同时也参与调节免疫反应, 包括抗原提呈与交叉呈递. 当外界刺激存在时会显著上调热休克蛋白的表达, 以保护细胞免受致命伤害并防止病原体的传播<sup>[9,10]</sup>.

根据分子量大小, 目前学术界将HSP分为4类: HSP90家族、HSP70家族、HSP60及小分子量HSP家族<sup>[11]</sup>, 此外还有特性不同于上述家族的大分子量HSP. 热休克蛋白70(HSP70)是热休克蛋白70家族中的重要成员之一, 是目前研究的热点. 该蛋白在多种应激状态下, 如高温、缺氧、发热、炎症、放射、组织损伤、重金属、代谢性疾病、肿瘤等情况下均可被诱导表达, 具有多种生理功能, 包括分子伴侣功能、参与免疫反应、抗细胞凋亡、抗氧化、提高细胞应激耐受性、促进细胞增殖、参与细胞骨架的形

### ■ 相关报道

热休克蛋白增强胃黏膜细胞对各种损伤刺激的抵抗力, HSP70能稳定蛋白, 调节细胞免疫系统, 维持细胞的完整性, 平衡细胞的增殖与凋亡, 从而促进细胞的增殖修复与保护作用.



### ■创新盘点

本实验应用量子点介导的荧光显微镜技术,阐明益气活血法治疗萎缩性胃炎的作用靶点,为益气活血法的临床应用提供科学依据,并指导临床用药。

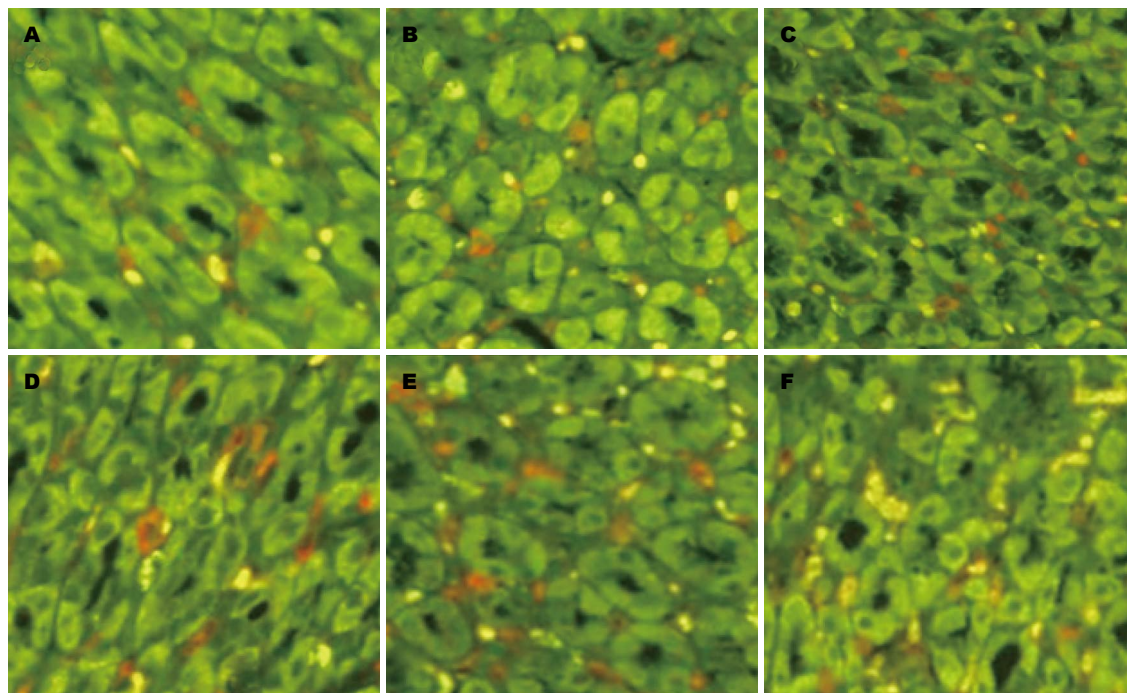


图1 量子点标记各组大鼠胃组织HSP70的表达. A: 空白组; B: 模型组; C: 替普瑞酮组; D: 黄芪组; E: 三七组; F: 黄芪+三七组。

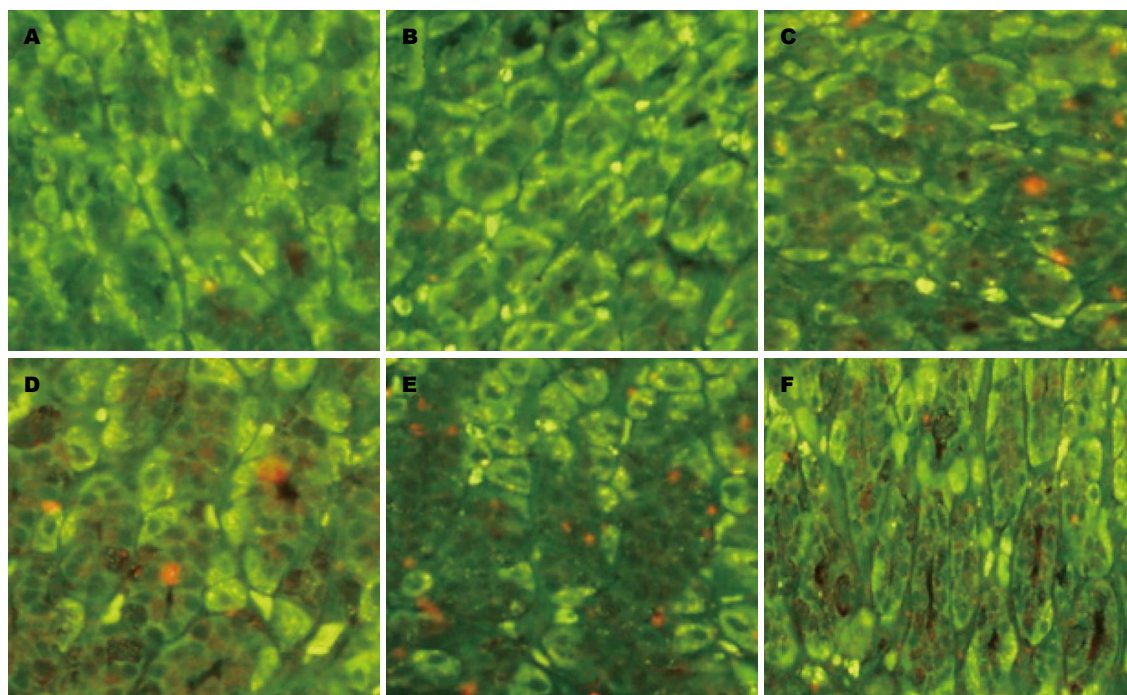


图2 量子点标记各组大鼠胃组织HSP70转录因子GAF的表达. A: 空白组; B: 模型组; C: 替普瑞酮组; D: 黄芪组; E: 三七组; F: 黄芪+三七组。

成和修复等<sup>[12-18]</sup>。

人类基因组编码HSP70家族的13个成员<sup>[19]</sup>, 目前研究并了解最多的是诱导型HSP70/HSP72(HSPA1A), 组成型HSC70/HSP73/HSC73(HSPA8)存在于内质网, Grp78/

BiP(HSPA5)和HSP75/mtHSP70/mortalin/TRAP-1(HSPA9), 主要定位在线粒体<sup>[20]</sup>。目前研究主要集中于胞质中的诱导型HSP70介导的细胞保护、抗细胞凋亡与免疫调节作用等。在中风、败血症、急性呼吸窘迫综合征、肾功能衰竭等



实验模型中,发现随着HSP70的表达增强,不但可以减少脏器损伤,而且在某些情况下,HSP70可以提高受试对象的生存率<sup>[21-23]</sup>。此外,在胚胎的正常发育过程中,HSP70防止有害应激对胚胎造成损害<sup>[24]</sup>。

本课题组前期研究发现,益气活血法代表药物能够逆转萎缩性胃炎大鼠胃黏膜萎缩,并利用基因芯片已明确益气活血法代表药物可以上调HSP70基因表达,提示HSP70基因的转录环节可能是益气活血法的靶点之一<sup>[2]</sup>。

经典分子生物学关于基因转录调控的理论认为,真核基因表达过程为:基因结构活化→转录→翻译。因为基因转录需要由RNA聚合酶II、转录因子等组成的转录复合物与DNA模板结合,而真核生物的染色体是由各2分子H2A、H2B、H3及H4组蛋白所构成的核心八聚体及其围绕的DNA分子所形成的致密核小体为基本组成单位所构成的,因此未转录的DNA分子呈致密压缩状态,而基因进行转录后,首先要将核小体结构松解,使DNA处于伸展的状态,为转录做准备,这一过程需要特殊的转录因子参与。

人类HSP70基因结构不含有内含子<sup>[25]</sup>,热休克蛋白的基因调控主要包括转录水平调控及翻译水平调控,且热休克反应的调节主要发生于转录水平<sup>[26]</sup>。HSP70基因在正常状态下仅转录约25个核苷酸后就暂停。应激状态下,HSP70的转录迅速被激活,产生大量HSP70,发挥细胞保护作用。这一过程需要多种转录因子的参与才能顺利完成。转录因子GAF参与了应激前的转录暂停,GAF可以利用ATP水解提供的能量,使邻近核小体重新定位(重排),活化启动子的基因结构,转化为可转录状态,即GAF转录因子可使HSP70的基因结构处于活化状态,从而有利于激活的热休克转录因子(HSF)与相应的热休克反应元件(HSE)结合,进而启动转录<sup>[27-35]</sup>。GAF是一种通用的、组成性表达的转录因子,也是可引起RNA聚合酶II休止的关键因子。GAF与GAGA元件结合后影响下游的核小体结构,使其下游序列中的启动子迅速与RNA聚合酶形成转录起始复合物后开始转录,GAGA元件的缺失可造成休止的RNA聚合酶II水平下降,HSP基因的转录被明显抑制<sup>[36]</sup>。

在现代分子生物学研究中荧光分析法具有重要作用,但其检测灵敏度主要由标记物的发光强度和光化学稳定性所决定。传统的有机荧

光染料自身的一些缺陷,例如,激发光谱窄,容易淬灭以及自身的毒性等,限制了其在生命科学中的应用。Nie和Alivisatos等<sup>[37,38]</sup>,于1998年在Science上发表了关于量子点对细胞以及组织标记成像研究的成果,从此开启了量子点技术在生物学领域的应用。并随着技术的成熟,量子点作为新型的标记物,开始广泛应用在蛋白质DNA等生物大分子的标记以及活体动物靶细胞的追踪等一系列现代分子生物学领域,并取得了令人满意的实验结果。

新型纳米荧光材料量子点又称半导体纳米晶,是一类由II-VI族和III-V族元素组成的纳米颗粒。生物标记中常见的CdSe量子点粒径在1.8-7.0 nm变化时<sup>[39-41]</sup>,与传统荧光染料相比,量子点具有独特的荧光性质,其发射荧光可覆盖整个可见光区,荧光发射波长可控、发射峰狭窄对称,激发谱宽而连续,消光系数大、荧光强度高,光稳定性好、易与生物分子偶联。可检测低丰度抗原表达,能够更加准确地检测目标靶蛋白的表达情况,特异性强,信噪比高。其在生物医学分析领域展示出极大的应用前景。

本研究采用特异性强,具有上述优点的量子点标记的免疫荧光法检测萎缩性胃炎大鼠胃组织HSP70及其转录因子GAF的表达,应用计量资料的方差分析对不同中药干预组HSP70以及转录因子GAF表达荧光信号值进行统计分析。结果显示,模型组在造模措施下会使HSP70感受到异常刺激而迅速启动,HSP70蛋白表达略高于空白组,但差异无统计学意义,说明HSP70的表达量尚不足以抵御造模带来的胃黏膜损伤。黄芪组与三七组的HSP70明显高于空白组,说明补气药黄芪促进HSP70表达的能力优于活血中药三七,作者认为这一结果,部分解释并支持了补益脾胃之气为中医治疗萎缩性胃炎基本治疗方法。

传统中医理论认为,萎缩性胃炎属于中医的痞满病,是由外邪内陷、饮食不化、情志失调、脾胃虚弱等导致中焦气机不利或虚气留滞,升降失常而成的胸腹间痞闷漫胀不适的一种自觉症状,一般触之无形,按之柔软,压之无痛。且常伴有胸膈满闷,得食则胀,暖气则舒,多为慢性起病,时轻时重,反复发作,缠绵难愈。发病和加重常与饮食、情志、起居、冷暖等诱因有关,乃中焦气机阻滞,升降失和而成。痞满的成因有虚实之分,实即实邪内阻,包括外邪入里,食滞

#### ■应用要点

将量子点技术引入中医药治疗萎缩性胃炎的研究领域,为今后采用该项新技术,提供了很好的借鉴作用。同时利用该技术深入研究HSP70基因转录调控的分子机制,进一步丰富并验证了中医治疗萎缩性胃炎的理论知识。

### ■同行评价

本研究发现黄芪、三七及其配伍可以通过诱导并增加转录因子GAF的表达,促进热休克蛋白70的表达,明显改善萎缩性胃炎大鼠胃黏膜状态。探讨了黄芪、三七治疗萎缩性胃炎作用的可能机制,有一定的学术价值。

中阻与痰湿阻滞;虚即中虚不运,责之脾胃虚弱。实邪所以内阻,多与中虚不运,升降无力有关。反之,中焦转运无力,最易招致实邪的侵扰,两者常常互为因果。如脾胃虚弱,健运失司,既可停湿生饮,又可食滞内停;而实邪内阻,又会进一步损伤脾胃,终致虚实夹杂<sup>[42]</sup>。

气虚不能行血,瘀血内停,瘀血反之又能阻滞气机,影响脾胃升降,进而使脾失健运,胃失和降,导致脾胃功能受损,胃腺体萎缩。综合以上所述,痞满最基本的病机可归结于脾胃之气的虚弱,再加以血瘀之病理损伤,最终导致痞满的发生与发展。这表明中医气的生理功能紊乱在萎缩性胃炎的发病病理过程中具有重要的作用,即中医认为痞满以中焦脾胃气机不利,升降失和为基本病机,而调理脾胃之气为基本治疗方法。

黄芪为豆科多年生草本植物黄芪和内蒙黄芪的根,主产于内蒙古、山西等地,性甘、微温,归脾、肺经。功能补气升阳,益胃固表,利水消肿,托疮生肌。主治脾胃气虚及中气下陷诸证,肺气虚及表虚自汗、肺气虚及表虚自汗,气虚外感诸证等<sup>[43]</sup>。

三七为五加科植物人参三七的干燥根。主产于云南、广西等地,野生或栽培。其性甘、微苦,温。主入肝、胃、大肠经,功效化瘀止血,活血定痛,主要用于各种内外出血证,尤以有瘀者为宜,以及用于跌打损伤,瘀滞疼痛<sup>[43]</sup>。

对于补气类中药黄芪较活血类中药三七能更多的促进HSP70的表达,作者认为,经典中医基础理论关于“气能生血”的理论能够部分解释上述实验结果。即中医认为气对血有化生的作用,即形成血液的物质基础是精,而正是依靠气的作用,精化为血液。如脾气旺盛健运,则化生血的功能亦强,若脾气虚导致运化水谷功能失调,则血无化源,临床上表现为心血虚或肝血虚,所以说“气旺则血充、气虚则血少”。治疗血虚证时,在补血药中适当配伍益气药物,其道理论亦为“气能生血”。从而促进机体正气的快速恢复,改善机体异常病理状态。故作者推测,补气类中药黄芪较活血类中药三七,通过更多的促进细胞保护蛋白-HSP70的表达,以及更进一步针对萎缩性胃炎脾胃气虚的基本病机,而促进萎缩性胃炎模型大鼠的病理改善。然而与黄芪或三七单药诱导HSP70蛋白表达量相比,黄芪、三七联合应用并未表现出叠加效应,考虑

黄芪、三七配伍治疗萎缩性胃炎可能激活了其他细胞保护通路,从而保证了最终疗效。

黄芪组、三七组和黄芪加三七组中胃黏膜HSP70及其转录因子GAF蛋白表达与模型组比较均显著升高,提示黄芪、三七及其配伍均通过增加转录因子GAF的表达,进而促进HSP70的表达,从而保护受损的胃黏膜细胞并进行修复。但HSP70转录因子GAF的表达在黄芪组与三七组之间无差异,提示黄芪组可能通过增强其他转录因子活力促进HSP70的表达,这有待于进一步研究。

### 4 参考文献

- 1 陈灏珠. 实用内科学. 第10版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 1562-1565
- 2 李军祥, 张玉禄, 朱陵群, 赵宁宁. 益气活血法对大鼠萎缩性胃炎癌前病变差异基因表达谱的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3261-3268
- 3 史瑞, 李晓红, 方蕾, 李健, 蔡大勇, 李军祥, 刘礼剑. 弹簧幽门植入术结合高盐热淀粉糊灌胃诱导大鼠萎缩性胃炎模型的方法及评价. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1001-1008
- 4 Wu T, Yuan Y, Wu Y, He H, Zhang G, Tanguay RM. Presence of antibodies to heat stress proteins in workers exposed to benzene and in patients with benzene poisoning. *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 161-167 [PMID: 9764756 DOI: 10.1379/1466-1268(1998)003<0161:POATHS>2.3.CO;2]
- 5 Aghdassi A, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Sharif R, Dawra R, Lerch MM, Saluja A. Heat shock protein 70 increases tumorigenicity and inhibits apoptosis in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 616-625 [PMID: 17234771 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1567]
- 6 Todoroki I, Joh T, Watanabe K, Miyashita M, Seno K, Nomura T, Ohara H, Yokoyama Y, Tochikubo K, Itoh M. Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277: 159-163 [PMID: 11027657 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3632]
- 7 Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 15-27 [PMID: 16931602 DOI: 10.1189/jlb.0306167]
- 8 Cehovin A, Coates AR, Hu Y, Riffo-Vasquez Y, Tormay P, Botanch C, Altare F, Henderson B. Comparison of the moonlighting actions of the two highly homologous chaperonin 60 proteins of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 2010; 78: 3196-3206 [PMID: 20421377 DOI: 10.1128/IAI.01379-09]
- 9 De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* 1999; 11: 1-12 [PMID: 9921710 DOI: 10.1097/00024382-199901000-00001]
- 10 Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 1988; 22: 631-677 [PMID: 2853609 DOI: 10.1146/annurev.ge.22.120188.003215]
- 11 Vidal Magalhães W, Gouveia Nogueira MF, Kaneko TM. Heat shock proteins (HSP): dermatological implications and perspectives. *Eur J Dermatol* 2012; 22:

- 8-13 [PMID: 22217508]
- 12 Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 1998; 80: 183-201 [PMID: 9839771 DOI: 10.1016/S0163-7258(98)00028-X]
- 13 Isomoto H, Oka M, Yano Y, Kanazawa Y, Soda H, Terada R, Yasutake T, Nakayama T, Shikuwa S, Takeshima F, Udon H, Murata I, Ohtsuka K, Kohno S. Expression of heat shock protein (Hsp) 70 and Hsp 40 in gastric cancer. *Cancer Lett* 2003; 198: 219-228 [PMID: 12957361 DOI: 10.1016/S0304-3835(03)00305-7]
- 14 Ullrich SJ, Robinson EA, Law LW, Willingham M, Appella E. A mouse tumor-specific transplantation antigen is a heat shock-related protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 3121-3125 [PMID: 3458168 DOI: 10.1073/pnas.83.10.3121]
- 15 Helmbrecht K, Zeise E, Rensing L. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: a review. *Cell Prolif* 2000; 33: 341-365 [PMID: 11101008 DOI: 10.1046/j.1365-2184.2000.00189.x]
- 16 范云霞, 黄常志. 热休克蛋白70与肿瘤. *国外医学·肿瘤学分册* 2000; 27: 196-199
- 17 Isomoto H, Ohtsuru A, Braiden V, Iwamatsu M, Miki F, Kawashita Y, Mizuta Y, Kaneda Y, Kohno S, Yamashita S. Heat-directed suicide gene therapy mediated by heat shock protein promoter for gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 629-635 [PMID: 16465423]
- 18 秦军, 李敏, 孙丽娟, 朱铭, 秦艳. 胃癌组织中HSP70与Cyclin D1的表达及意义. *肿瘤防治杂志* 2005; 5: 344-345
- 19 Hageman J, Kampinga HH. Computational analysis of the human HSPH/HSPA/DNAJ family and cloning of a human HSPH/HSPA/DNAJ expression library. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14: 1-21 [PMID: 18686016 DOI: 10.1007/s12192-008-0060-2]
- 20 Tavaría M, Gabriele T, Kola I, Anderson RL. A hitchhiker's guide to the human Hsp70 family. *Cell Stress Chaperones* 1996; 1: 23-28 [PMID: 9222585 DOI: 10.1379/1466-1268(1996)001<0023: AHSGET>2.3.CO;2]
- 21 Weiss YG, Maloyan A, Tazelaar J, Raj N, Deutschman CS. Adenoviral transfer of HSP-70 into pulmonary epithelium ameliorates experimental acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 2002; 110: 801-806 [PMID: 12235111 DOI: 10.1172/JCI0215888]
- 22 Chen HW, Hsu C, Lu TS, Wang SJ, Yang RC. Heat shock pretreatment prevents cardiac mitochondrial dysfunction during sepsis. *Shock* 2003; 20: 274-279 [PMID: 12923501 DOI: 10.1097/00024382-200309000-00013]
- 23 Jo SK, Ko GJ, Boo CS, Cho WY, Kim HK. Heat preconditioning attenuates renal injury in ischemic ARF in rats: role of heat-shock protein 70 on NF-kappaB-mediated inflammation and on tubular cell injury. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3082-3092 [PMID: 17021270 DOI: 10.1681/ASN.2005101077]
- 24 Luft JC, Dix DJ. Hsp70 expression and function during embryogenesis. *Cell Stress Chaperones* 1999; 4: 162-170 [PMID: 10547065 DOI: 10.1379/1466-1268(1999)004<0162:HEAFDE>2.3.CO;2]
- 25 Pięłowski W, Nowak R, Krawczyk Z, Scieglińska D. The structural and functional analysis of the human HSPA2 gene promoter region. *Acta Biochim Pol* 2007; 54: 99-106 [PMID: 17369882]
- 26 Evans TG, Belak Z, Ovsenek N, Krone PH. Heat shock factor 1 is required for constitutive Hsp70 expression and normal lens development in embryonic zebrafish. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2007; 146: 131-140 [PMID: 17134927 DOI: 10.1016/j.cbpa.2006.09.023]
- 27 王琳芳, 杨克恭. 医学分子生物学原理. 北京: 高等教育出版社, 2001: 514
- 28 Lee C, Li X, Hechmer A, Eisen M, Biggin MD, Venter BJ, Jiang C, Li J, Pugh BF, Gilmour DS. NELF and GAGA factor are linked to promoter-proximal pausing at many genes in *Drosophila*. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 3290-3300 [PMID: 18332113 DOI: 10.1128/MCB.02224-07]
- 29 Wu C. The 5' ends of *Drosophila* heat shock genes in chromatin are hypersensitive to DNase I. *Nature* 1980; 286: 854-860 [PMID: 6774262 DOI: 10.1038/286854a0]
- 30 Shopland LS, Hirayoshi K, Fernandes M, Lis JT. HSF access to heat shock elements in vivo depends critically on promoter architecture defined by GAGA factor, TFIID, and RNA polymerase II binding sites. *Genes Dev* 1995; 9: 2756-2769 [PMID: 7590251 DOI: 10.1101/gad.9.22.2756]
- 31 Lee H, Kraus KW, Wolfner MF, Lis JT. DNA sequence requirements for generating paused polymerase at the start of hsp70. *Genes Dev* 1992; 6: 284-295 [PMID: 1737619 DOI: 10.1101/gad.6.2.284]
- 32 Morimoto RI, Sarge KD, Abravaya K. Transcriptional regulation of heat shock genes. A paradigm for inducible genomic responses. *J Biol Chem* 1992; 267: 21987-21990 [PMID: 1429548]
- 33 Boehm AK, Saunders A, Werner J, Lis JT. Transcription factor and polymerase recruitment, modification, and movement on dhsp70 in vivo in the minutes following heat shock. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7628-7637 [PMID: 14560008 DOI: 10.1128/MCB.23.2.7628-7637.2003]
- 34 Lis JT, Mason P, Peng J, Price DH, Werner J. P-TEFb kinase recruitment and function at heat shock loci. *Genes Dev* 2000; 14: 792-803 [PMID: 10766736]
- 35 Wang YV, Tang H, Gilmour DS. Identification in vivo of different rate-limiting steps associated with transcriptional activators in the presence and absence of a GAGA element. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 3543-3552 [PMID: 15831460 DOI: 10.1128/MCB.25.9.3543-3552.2005]
- 36 Mason PB, Lis JT. Cooperative and competitive protein interactions at the hsp70 promoter. *J Biol Chem* 1997; 272: 33227-33233 [PMID: 9407112 DOI: 10.1074/jbc.272.52.33227]
- 37 Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* 1998; 281: 2013-2016 [PMID: 9748157 DOI: 10.1126/science.281.5385.2013]
- 38 Chan WC, Nie S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science* 1998; 281: 2016-2018 [PMID: 9748158 DOI: 10.1126/science.281.5385.2016]
- 39 Alivisatos AP. Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals. *J Phys Chem* 1996; 100: 13226-13239 [DOI: 10.1021/jp9535506]
- 40 Alivisatos AP. Semiconductor Clusters, Nanocrystals, and Quantum Dots. *Science* 1996; 271: 933-937 Available from: URL: <http://www.docin.com/p-25233373.html>
- 41 Remacle F, Levine RD. Quantum Dots as Chemical Building Blocks: Elementary Theoretical Considerations. *Chem Phys Chem* 2001; 2: 20-36



[DOI: 10.1002/1439-7641(20010119)2:1<20::AID-CPHC20>3.0.CO;2-R]  
42 王永炎, 李明富, 戴锡孟, 张绚邦. 中医内科学. 上海:

上海科学技术出版社, 1995: 167-172  
43 雷载权, 陈松育, 高学敏, 郭振球. 中药学. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 280, 188

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t=4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^{\circ}\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

## 肠黏膜组织内免疫系统调节异常参与炎症性肠病的发生

刘占举, 吴维, 邱骅婧, 万姗姗, 曹倩, 李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁, 陈城, 于成功, 陈曦, 甘华田, 郭瑞金, 刘嫦钦, 罗凤燕, 白爱平

**编者按** 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病诱因和机制仍然不清楚. 生理情况下, 肠上皮细胞和肠黏膜组织内的免疫细胞通过固有性和获得性免疫系统不断识别肠腔内大量微生物抗原和食物抗原, 引起免疫耐受(immune tolerance), 即对肠腔内的微生物和食物抗原不产生病理性反应; 否则将出现食物过敏反应、肠道感染、菌群失调、炎症和肿瘤. 肠上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)是肠黏膜免疫的第一道防线, 肠黏膜组织内CD4<sup>+</sup> T细胞在微生物和食物抗原诱导下增值分化. 既往对Th1和Th2细胞在IBD发生过程中的免疫效应作用有广泛研究, Th17细胞是近年来受到重视的CD4<sup>+</sup> T细胞亚型, 可分泌IL-17A、IL-21和IL-22等; 肠黏膜组织内肥大细胞被各种物质激活释放多种促炎症性细胞因子、化学物质及生物活性介质, 他们在肠道炎症病变中发挥着重要致病作用. 微血管内皮细胞的结构和功能改变能影响肠黏膜组织内免疫细胞的迁移、组织血供、缺氧和内环境的稳定. 新生血管通过血管内皮细胞调节炎症细胞的招募、炎症介质和维持炎症反应进而引起组织损伤. 另外, 肠黏膜组织内的神经元细胞可通过其广泛的神经轴突以及其分泌的各种神经递质调控着肠道免疫、内分泌系统功能, 并参与了肠道炎症发生. 近年来研究发现微小RNA(miRNA)在IBD肠上皮细胞和肠黏膜组织内免疫细胞上表达异常, 通过调节靶基因表达调控上述细胞的增殖、分化、凋亡、代谢等过程, 因此对肠黏膜屏障功能和肠黏膜内环境稳定有重要调节作用. 在IBD临床转化研究中, 选择合适的动物模型将为我们的科研工作提供重要的研究手段. 本焦点论坛通过阐述肠黏膜组织内免疫系统调节异常和效应应答, 深入了解IBD的发生机制, 并为临床治疗提供了新的理论基础.

1	肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应.....	568
2	Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答.....	574
3	肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制.....	579
4	血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系.....	585
5	缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制.....	591
6	肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用.....	597
7	miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用.....	602
8	溃疡性结肠炎动物模型的研究进展.....	607

# 肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应

吴维, 邱骅婧, 刘占举

## ■背景资料

上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)是黏膜免疫系统中的一个免疫效应细胞, 他在消化道黏膜的上皮细胞间广泛存在, 与肠上皮细胞紧密接触并相互作用, 其在炎症性肠病发病机制中的作用有待深入研究。

吴维, 邱骅婧, 刘占举, 同济大学附属第十人民医院消化内科 上海市 200072

吴维, 硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270470, No. 81061120521  
作者贡献分布: 本文综述由吴维与邱骅婧完成; 刘占举审校。

通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科。

zhanjuli@yahoo.com

电话: 021-66301164 我传真: 021-66303983

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Immunoregulatory effects of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease

Wei Wu, Hua-Jing Qiu, Zhan-Ju Liu

Wei Wu, Hua-Jing Qiu, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270470 and 81061120521

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuli@yahoo.com

Received: 2012-12-24 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Intraepithelial lymphocytes (IELs) are found in a wide variety of sites, especially in the mucosa of the intestine, respiratory tract, and genital tract. Intestinal IELs are located between intestinal epithelial cells (IECs) and the basement membrane. The ratio between IECs and IELs in the small intestine is 4-10 : 1, but is slightly lower in the large intestine. As the first guard of the intestine, IELs play a significant role in maintaining the integrity of the mucosa, immune surveillance and regulating the homeostasis on the intestinal mucosal surface. Recent studies have demonstrated that IELs are also involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD).

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Intestinal intraepithelial lymphocytes; Inflammatory bowel disease; Cytotoxicity; Mucosal

## immunology

Wu W, Qiu HJ, Liu ZJ. Immunoregulatory effects of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 568-573  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.568>

## 摘要

上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)广泛分布在肠道、呼吸道、生殖道等黏膜组织中。肠道IEL定位于肠道的上皮细胞与基底膜之间。正常成人的小肠组织中, 每4-10个肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, IEC)存在1个IEL, 大肠组织中可能略少。作为肠道中对抗外界感染的第一道屏障, IEL在维持上皮细胞的完整性、免疫监视、加强和调节免疫应答及维持肠道稳态等方面发挥了重要作用。研究发现, IEL在炎症性肠病的发病机制中也具有一定地位。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠上皮间淋巴细胞; 炎症性肠病; 细胞毒活性; 黏膜免疫

吴维, 邱骅婧, 刘占举. 肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 568-573  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.568>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 体内外诸多因素参与其发病过程, 但具体机制仍未明确。近年来, 研究发现免疫因素在IBD发病机制中的作用举足轻重<sup>[1]</sup>。肠上皮间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)被认为是黏膜免疫系统的其中一个免疫效应细胞, 他在消化系黏膜的上皮细胞间广泛存在, 与肠上皮细胞紧密接触并相互作用, 其在IBD发病机制中的作用有待深入研究<sup>[2]</sup>。

## ■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科



## 1 IEL的表型变化

与外周T细胞相似, 人体内所有IEL都来源于骨髓原始细胞, 但由于他们的活化过程不尽相同, 最终产生不同亚型的IEL<sup>[3]</sup>. A型IEL主要表达TCR $\alpha\beta$ 及CD4或CD8 $\alpha\beta$ <sup>[4]</sup>. 其中CD4可识别主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) II类分子, CD8 $\alpha\beta$ 可识别MHC I类分子. 一般来说, 与MHC I类分子结合的都是些内源性抗原, 而MHC II类分子则通过内吞一些蛋白溶解抗原进一步发挥作用. 尽管MHC I类分子和MHC II类分子都能够结合自身抗原或非自身抗原, 但是由于胸腺内存在阳性及阴性选择导致A型IEL相对非自身抗原而言更具有特异性<sup>[5,6]</sup>. B型IEL主要表达TCR $\alpha\beta$ 或TCR $\gamma\delta$ , 及CD8 $\alpha\alpha$ 同源二聚体, 但缺乏CD2、CD5、CD28、LFA1和THY1<sup>[4]</sup>. 这类IEL的MHC限制性还未完全明确. 他们的活化过程主要是一些非经典途径, 如通过MICA分子等<sup>[7,8]</sup>. 有报道指出, 在缺乏Qa-2的小鼠体内(Qa-2是一种非经典的MHC I类分子), CD8 $\alpha\alpha$  TCR $\alpha\beta$  IEL的数量会明显减少, 这说明CD8 $\alpha\alpha$  TCR $\alpha\beta$  IEL对Qa-2有一定的依赖性<sup>[9]</sup>.

还有一类特殊的IEL可表达自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)受体, 故称之为NKT型IEL<sup>[10]</sup>. 他们可表达NKG2D, 其相应配体为人类非经典的MHC分子MICA和MICB. 这类非经典MHC分子主要表达在破损或癌变的IEC上. 而IEL正是通过NKG2D识别异常IEC, 进一步发挥细胞毒作用<sup>[6]</sup>. Kinoshita等<sup>[11]</sup>还发现白细胞介素-15(interleukin-15, IL-15)能够调节NKG2D及MICA的表达, 从而促进NKT型IEL的细胞毒效应. 另外, 有研究指出IL-15能够诱导产生CD94, 并且促进IEL分泌干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和IL-10, 进一步上调细胞杀伤作用<sup>[12]</sup>. 尽管目前关于大肠中存在NK或NKT型IEL的报道还很少, 但其仍参与维持肠道内环境的稳态<sup>[13]</sup>.

Staton等<sup>[14]</sup>发现了一类由CD8<sup>+</sup>新型胸腺细胞(recent thymic emigrants, RTEs)组成的幼稚型IEL(naïve IEL). 通常情况下, 幼稚T细胞(naïve T细胞)需要先在肠相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)(如派氏集合淋巴结、肠系膜淋巴结)等场所进行活化, 然后才能逐步进入肠道中, 但是RTEs却可以在非活化的状态下直接进入小肠, 并且在接触非肠道抗原后开始增殖, 随后逐渐分化成上述IEL表型.

IEL表型在具体部位也有所不同. 在小鼠的小肠中, 50%-70%的IEL表达TCR $\alpha\beta$ , 30%-50%的IEL表达TCR $\gamma\delta$ , 而在大肠中大约只有10%-20%的IEL表达TCR $\gamma\delta$ <sup>[15]</sup>. 在人体内, 不同肠道不同区域IEL存在着不同表型. 比如优势性表达CD4CD8<sup>+</sup>的TCR $\gamma\delta$  IEL在肠道各段含量相等, TCR $\alpha\beta$  IEL在肠道各段含量不等. 而在空肠中, 以CD8<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL为主, 亦有CD4<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL存在; 在回肠中, CD4<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL和CD8<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL含量大致相等; 在结肠中, 以CD4<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL和CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL亚群为主, 亦会有少量CD8<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  IEL存在<sup>[16]</sup>.

## 2 IEL体内动态迁移变化

目前研究普遍认为, 趋化因子在调节淋巴细胞的迁移、归巢等一系列活动中发挥着重要作用<sup>[17,18]</sup>. CCR9及其配体CCL25, 在调节IEL效应中起着关键作用<sup>[19,20]</sup>. 当表达于IEL表面的CCR9与肠道上皮细胞上的CCL25结合后, 活化的IEL就会被招募到相应的效应部位<sup>[21]</sup>. Uehara等<sup>[22]</sup>通过实验证明CCL25功能缺乏的小鼠, 小肠中IEL的数量会明显减少, 但CCR9基因损伤小鼠的小肠组织中, IEL减少量却并不明显. 另外, 由于大肠IEC中CCL25的表达能力相对较弱, 所以CCR9/CCL25信号系统对于大肠中IEL招募作用不大<sup>[20]</sup>. 人们还发现, IEL表面还表达了许多其他的趋化因子受体(如CCR3、CCR4、CCR5、CXCR3等), 他们可能也参与了IEL的活化、迁移和效应作用<sup>[23]</sup>.

除了趋化因子以外, 整合素也参与了IEL在肠道内的迁移、活化过程. 表达整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的IEL可通过与特异性配体MadCAM-1结合, 定位于相应的黏膜固有层, 进一步发挥其生物学功能<sup>[24]</sup>. 缺乏整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的小鼠肠道中IEL的量也会明显减少, 且小肠和大肠中IEL减少的量基本相同<sup>[25]</sup>. 另外, 转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )可促进 $\alpha E\beta 7$  IEL分化, 通过和E-钙黏素相互作用, 保持IEL着陆在上皮细胞中<sup>[26]</sup>.

有学者还发现1-磷酸-神经鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P)在IEL的迁移中也发挥了一定作用, 特别是在大肠组织中<sup>[17]</sup>. 他可调节淋巴细胞从次级淋巴组织(如肠系膜淋巴结)或胸腺中迁移到效应器官<sup>[27]</sup>. 目前研究表明S1P可能和一些趋化因子协同发挥效应, 促使淋巴细胞

## ■ 研发前沿

IEL作为机体与肠道菌群之间的分界面, 是人体对抗黏膜致病原的第一道防线, 他在肠道上皮的损伤修复、免疫监视、维持肠道黏膜稳态、正向或负向调节黏膜固有及适应性免疫应答、产生细胞毒性、杀伤变异IEC等方面发挥重要作用.

### ■相关报道

Ostanin等发现CD-8 $\alpha^+$  IEL既不会诱导,也不会抑制,但会加速结肠炎的发生,他们将IE-L加入CD4 $^+$ CD45-RB $^{high}$ 诱导的结肠炎小鼠模型中,结果发现可产生更多量的Th1类及巨噬细胞来源的细胞因子。

选择性进入小肠或大肠组织<sup>[28]</sup>。

### 3 IEL的生物学作用

IEL是肠道黏膜免疫的第一道防线,他在维持肠道上皮完整性及损伤修复方面具有重要作用。活化后的TCR $\gamma\delta$  IEL可产生角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF), KGF是一种可溶性蛋白,他可特异性结合于上皮细胞表面受体,并经过复杂的信号传导系统,启动上皮细胞内参与分裂生长的基因表达,从而刺激上皮组织的新陈代谢<sup>[29]</sup>。另外,有研究表明TCR $\delta$ 链缺陷小鼠的肠道上皮中隐窝数量明显减少,但在TCR $\gamma\delta$ 转基因小鼠体内,上皮细胞的有丝分裂指数明显升高,且若将TCR $\gamma\delta$  IEL转入TCR $\delta$ 链缺陷小鼠体内,先前发生的肠道炎症也可明显好转<sup>[30]</sup>。

大多数IEL胞质内都包含大量的颗粒样物质,这些物质可帮助IEL发挥相应的细胞毒性<sup>[31]</sup>,且这种细胞毒性只针对特异性上皮组织,如结肠、胰腺、膀胱等,对皮肤、子宫内膜等均无明显作用<sup>[32]</sup>。IEL可通过这种细胞毒作用,攻击排除在肠管内因受各种不同抗原及微生物等刺激而发生变性的IEC。研究表明其中主要起作用的IEL为CD8 $^+$ CD16 $^+$ CD56 $^+$ 型T细胞,但进一步发挥细胞毒性还需借助IEL上表达的CD103( $\alpha$ E $\beta$ 7)与上皮细胞表达的E-降钙素结合。参与该作用的还包括穿孔素、颗粒酶B、FasL、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、TRAIL等。另外,CD8 $\alpha\alpha$  TCR $\gamma\delta$  IEL还可通过NK样受体NKG2D识别非经典的MICA/B, ULBP等分子,从而杀伤靶细胞,在机体早期感染免疫中发挥重要作用<sup>[33]</sup>。

另外, IEL还有一些其他的作用,如小鼠的TCR $\gamma\delta$  IEL可促进抗原特异性IgA的分泌,参与免疫球蛋白的类别转换<sup>[34]</sup>, IEL表达了一些与免疫调节有关的分子,如:LAG3、TGF- $\beta$ 和FGL2等,这些分子可进一步调节IEL的细胞毒效应<sup>[35]</sup>。IEL还可监视上皮层是否发生了感染和功能紊乱,他通过表达FasL,以Fas依赖方式介导肠上皮细胞的凋亡,从而清除感染或受损的IEC,发挥其免疫监视作用<sup>[7]</sup>。

近期研究发现随着年龄增加, IEL的数量会发生一定变化,实验结果发现6月龄小鼠小肠中IEL的数量最多,随着年龄增长, IEL逐渐减少。大肠中这样的变化不明显。这种IEL数量的减少,可能与机体免疫系统功能退化有关<sup>[36]</sup>。

### 4 IEL在IBD中的免疫调节效应

IBD是一种消化系慢性炎症性疾病,主要包括CD和UC<sup>[37]</sup>。尽管IBD的具体发病机制尚不明确,大多数学者认为免疫、环境及遗传因素协同参与其致病过程,并致使肠道屏障作用发生改变,肠道菌群失调,最终导致肠道内免疫紊乱<sup>[38]</sup>。

IEL是一类大量分布于肠道上皮中的淋巴细胞,他的独特生理位置,决定了其在黏膜免疫中所占的重要地位。作为机体与肠道菌群之间的分界面, IEL是人体对抗黏膜致病原的第一道防线,他在肠道上皮的损伤修复、免疫监视、维持肠道黏膜稳态、正向或负向调节黏膜固有及适应性免疫应答、产生细胞毒性、杀伤异变IEC等方面发挥重要作用<sup>[39]</sup>。

虽然人们经常将IEL与肠道屏障作用联系在一起,但是最近一些研究表明IEL在肠道炎症病变中发挥一定的致病作用<sup>[26]</sup>。一些特殊因素如感染刚地弓形虫,就可能引起IEL出现功能转换,分泌大量IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 等,进一步出现致病效应<sup>[40]</sup>。Vidali等<sup>[41]</sup>发现, UC患者肠道黏膜中出现大量的CD8 $^+$  IEL浸润,且浸润程度与疾病活动性有一定关联, CD8 $^+$  IEL参与诱导肠道细胞凋亡,并导致随后发生的黏膜损害。另有研究证实,从CD患者体内分离出的IEL展现出异常增强的细胞毒性,且过度分泌IFN- $\gamma$ ,这些异常作用对维持肠道稳态都是有害的<sup>[42]</sup>。另外, Ostanin等<sup>[43]</sup>发现CD8 $\alpha^+$  IEL既不会诱导,也不会抑制,但会加速结肠炎的发生,且在CD4 $^+$ CD45RB $^{high}$ 诱导的结肠炎小鼠模型中,加入IEL可产生更多量的Th1类及巨噬细胞来源的细胞因子,如IFN- $\gamma$ 、TNF、IL-1 $\beta$ ,在以前的研究中发现,这类细胞因子均参与了肠道慢性炎症。

另外,有证据显示一些 $\gamma$ c相关的细胞因子,如IL-15、IL-21、IL-23都参与了IEL的生长、活化及存活。这些细胞因子在肠道炎症环境中,特别是IBD情况下,能明显调节IEL的免疫反应<sup>[39]</sup>。

Allez等<sup>[44]</sup>发现CD患者肠道内IEC上表达的MICA数量有所上升,并导致CD4 $^+$ 效应细胞(CD4 $^+$ NKG2D $^+$ )数量增加及发生活化。相对于对照组而言,这类细胞在CD患者的黏膜固有层中明显增加,并且功能上也已发生活化,还可产生一定量的IFN- $\gamma$ ,并进一步杀伤表达MICA的IEC。他们还发现从CD患者体内提取出的CD4 $^+$ NKG2D $^+$ 淋巴细胞高表达IL-15R $\alpha$ ,另外在乳糜泻患者的十二指肠组织中发现IL-15R mRNA的量也是增多的,故现有不少学者认为

IL-15能过度促进IEL特别是NKT型IEL的细胞毒性. 且这种细胞毒性主要是通过穿孔素及FasL介导<sup>[45,46]</sup>.

在大多数组织中, IL-21能上调穿孔素介导的细胞杀伤作用, 他对IEL也有类似作用, 但IL-21对FasL介导或TNF- $\alpha$ 诱导产生的细胞毒性却无明显作用. 且IL-21还可促进记忆CD8<sup>+</sup>T细胞(CD44<sup>high</sup>62L<sup>low</sup>)生长, 这类细胞与IEL相似<sup>[47]</sup>. 另外, 许多研究表明IEC特异性IL-7可作用于黏膜免疫反应, 并可调节IEL的表型和作用. 他可导致IEL数量的增多, 并进一步增殖分化, 选择性分泌一些细胞因子. IL-7还可促进脂蛋白脂肪酶的生成<sup>[48]</sup>.

最近有研究表明IL-23能触发IEL发生活化并进一步分泌IL-17A<sup>[49]</sup>. 我们研究发现, IL-23在IBD患者肠道组织中表达增多, 他不但能有效诱导IBD患者体内IEL的活化, 还能分泌大量的促炎因子(如IL-2、IL-17A、IFN- $\gamma$ 、TNF等), 促使肠道黏膜免疫反应发生. 另外, 研究发现IBD患者体内的IEL也表现出更高的细胞毒性, 并参与组织损伤. 这些结果表明炎症环境中的IEL可能与IBD患者肠道黏膜受损情况密切相关<sup>[50]</sup>.

## 5 结论

IBD的发生发展是由免疫因素、遗传因素、环境因素等诸多方面共同参与所致. IEL作为肠道黏膜中必不可少的免疫调节细胞, 发挥着重要作用. 尽管许多年前免疫学家们已经开始注意到IEL在肠道炎症中的作用, 但是长久以来的研究仍主要以IEL的分类分型为主, 其功能的研究仍需进一步深入, IEL对黏膜屏障的影响及其是否能抑制炎症反应的发生亦是当前的研究热点, 可望在将来能有更大的突破.

## 6 参考文献

- 1 Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 521-533 [PMID: 12876555 DOI: 10.1038/nri1132]
- 2 Ismail AS, Behrendt CL, Hooper LV. Reciprocal interactions between commensal bacteria and gamma delta intraepithelial lymphocytes during mucosal injury. *J Immunol* 2009; 182: 3047-3054 [PMID: 19234201 DOI: 10.4049/jimmunol.0802705]
- 3 Cheroutre H, Lambolez F. The thymus chapter in the life of gut-specific intra epithelial lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 185-191 [PMID: 18456487 DOI: 10.1016/j.coi.2008.03.009]
- 4 Shires J, Theodoridis E, Hayday AC. Biological insights into TCRgammadelta+ and TCRalpha-beta+ intraepithelial lymphocytes provided by serial analysis of gene expression (SAGE). *Immunity* 2001; 15: 419-434 [PMID: 11567632 DOI: 10.1016/S1074-7613(01)00192-3]
- 5 Shastri N, Cardinaud S, Schwab SR, Serwold T, Kunisawa J. All the peptides that fit: the beginning, the middle, and the end of the MHC class I antigen-processing pathway. *Immunol Rev* 2005; 207: 31-41 [PMID: 16181325 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00321.x]
- 6 Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, Spies T. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 1999; 285: 727-729 [PMID: 10426993 DOI: 10.1126/science.285.5428.727]
- 7 Leishman AJ, Naidenko OV, Attinger A, Koning F, Lena CJ, Xiong Y, Chang HC, Reinherz E, Kronenberg M, Cheroutre H. T cell responses modulated through interaction between CD8alphaalpha and the nonclassical MHC class I molecule, TL. *Science* 2001; 294: 1936-1939 [PMID: 11729321 DOI: 10.1126/science.1063564]
- 8 Park EJ, Takahashi I, Ikeda J, Kawahara K, Okamoto T, Kweon MN, Fukuyama S, Groh V, Spies T, Obata Y, Miyazaki J, Kiyono H. Clonal expansion of double-positive intraepithelial lymphocytes by MHC class I-related chain A expressed in mouse small intestinal epithelium. *J Immunol* 2003; 171: 4131-4139 [PMID: 14530335]
- 9 Das G, Gould DS, Augustine MM, Fragos G, Sciutto E, Stroynowski I, Van Kaer L, Schust DJ, Ploegh H, Janeway CA. Qa-2-dependent selection of CD8alpha/alpha T cell receptor alpha/beta(+) cells in murine intestinal intraepithelial lymphocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 1521-1528 [PMID: 11085754 DOI: 10.1084/jem.192.10.1521]
- 10 Guy-Grand D, Cuénod-Jabri B, Malassis-Seris M, Selz F, Vassalli P. Complexity of the mouse gut T cell immune system: identification of two distinct natural killer T cell intraepithelial lineages. *Eur J Immunol* 1996; 26: 2248-2256 [PMID: 8814274 DOI: 10.1002/eji.1830260942]
- 11 Kinoshita N, Hiroi T, Ohta N, Fukuyama S, Park EJ, Kiyono H. Autocrine IL-15 mediates intestinal epithelial cell death via the activation of neighboring intraepithelial NK cells. *J Immunol* 2002; 169: 6187-6192 [PMID: 12444123]
- 12 Ebert EC. IL-15 converts human intestinal intraepithelial lymphocytes to CD94 producers of IFN-gamma and IL-10, the latter promoting Fas ligand-mediated cytotoxicity. *Immunology* 2005; 115: 118-126 [PMID: 15819704 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02132.x]
- 13 Lundqvist C, Baranov V, Hammarström S, Athlin L, Hammarström ML. Intra-epithelial lymphocytes. Evidence for regional specialization and extrathymic T cell maturation in the human gut epithelium. *Int Immunol* 1995; 7: 1473-1487 [PMID: 7495755 DOI: 10.1093/intimm/7.9.1473]
- 14 Staton TL, Habtezion A, Winslow MM, Sato T, Love PE, Butcher EC. CD8+ recent thymic emigrants home to and efficiently repopulate the small intestine epithelium. *Nat Immunol* 2006; 7: 482-488 [PMID: 16582913 DOI: 10.1038/ni1319]
- 15 Reséndiz-Albor AA, Esquivel R, López-Revilla R, Verdín L, Moreno-Fierros L. Striking phenotypic and functional differences in lamina propria lymphocytes from the large and small intestine of mice.

## ■创新盘点

虽然人们经常将IEL与肠道屏障作用联系在一起, 但是最近一些研究表明IEL在肠道炎症病变中发挥一定的致病作用.



## ■应用要点

尽管许多年前免疫学家们已经开始注意到IEL在肠道炎症中的作用,但是长久以来的研究仍主要以IEL的分类分型为主,对其功能的研究仍需进一步深入,IEL对黏膜屏障的影响及其是否能抑制炎症反应的发生亦是当前的研究热点,有望将来能取得更大的突破。

- Life Sci 2005; 76: 2783-2803 [PMID: 15808880 DOI: 10.1016/j.lfs.2004.08.042]
- 16 Lundqvist C, Melgar S, Yeung MM, Hammarström S, Hammarström ML. Intraepithelial lymphocytes in human gut have lytic potential and a cytokine profile that suggest T helper 1 and cytotoxic functions. *J Immunol* 1996; 157: 1926-1934 [PMID: 8757311]
- 17 Cyster JG. Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 127-159 [PMID: 15771568 DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115628]
- 18 Kunkel EJ, Butcher EC. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* 2002; 16: 1-4 [PMID: 11825560 DOI: 10.1016/S1074-7613(01)00261-8]
- 19 Kunkel EJ, Campbell DJ, Butcher EC. Chemokines in lymphocyte trafficking and intestinal immunity. *Microcirculation* 2003; 10: 313-323 [PMID: 12851648]
- 20 Papadakis KA, Prehn J, Nelson V, Cheng L, Binder SW, Ponath PD, Andrew DP, Targan SR. The role of thymus-expressed chemokine and its receptor CCR9 on lymphocytes in the regional specialization of the mucosal immune system. *J Immunol* 2000; 165: 5069-5076 [PMID: 11046037]
- 21 Gorfu G, Rivera-Nieves J, Ley K. Role of beta7 integrins in intestinal lymphocyte homing and retention. *Curr Mol Med* 2009; 9: 836-850 [PMID: 19860663 DOI: 10.2174/156652409789105525]
- 22 Uehara S, Grinberg A, Farber JM, Love PE. A role for CCR9 in T lymphocyte development and migration. *J Immunol* 2002; 168: 2811-2819 [PMID: 11884450]
- 23 Lügering A, Kucharzik T, Soler D, Picarella D, Hudson JT, Williams IR. Lymphoid precursors in intestinal cryptopatches express CCR6 and undergo dysregulated development in the absence of CCR6. *J Immunol* 2003; 171: 2208-2215 [PMID: 12928364]
- 24 Ericsson A, Svensson M, Arya A, Agace WW. CCL25/CCR9 promotes the induction and function of CD103 on intestinal intraepithelial lymphocytes. *Eur J Immunol* 2004; 34: 2720-2729 [PMID: 15368288 DOI: 10.1002/eji.200425125]
- 25 Wagner N, Löhler J, Kunkel EJ, Ley K, Leung E, Krissansen G, Rajewsky K, Müller W. Critical role for beta7 integrins in formation of the gut-associated lymphoid tissue. *Nature* 1996; 382: 366-370 [PMID: 8684468 DOI: 10.1038/382366a0]
- 26 El-Asady R, Yuan R, Liu K, Wang D, Gress RE, Lucas PJ, Drachenberg CB, Hadley GA. TGF- $\beta$ -dependent CD103 expression by CD8(+) T cells promotes selective destruction of the host intestinal epithelium during graft-versus-host disease. *J Exp Med* 2005; 201: 1647-1657 [PMID: 15897278 DOI: 10.1084/jem.20041044]
- 27 Henning G, Ohl L, Junt T, Reiterer P, Brinkmann V, Nakano H, Hohenberger W, Lipp M, Förster R. CC chemokine receptor 7-dependent and -independent pathways for lymphocyte homing: modulation by FTY720. *J Exp Med* 2001; 194: 1875-1881 [PMID: 11748287 DOI: 10.1084/jem.194.12.1875]
- 28 Kimura T, Boehmler AM, Seitz G, Kuçi S, Wiesner T, Brinkmann V, Kanz L, Möhle R. The sphingosine 1-phosphate receptor agonist FTY720 supports CXCR4-dependent migration and bone marrow homing of human CD34+ progenitor cells. *Blood* 2004; 103: 4478-4486 [PMID: 14988150 DOI: 10.1182/blood-2003-03-0875]
- 29 Boismenu R, Havran WL. Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial gamma delta T cells. *Science* 1994; 266: 1253-1255 [PMID: 7973709 DOI: 10.1126/science.7973709]
- 30 Inagaki-Ohara K, Chinen T, Matsuzaki G, Sasaki A, Sakamoto Y, Hiromatsu K, Nakamura-Uchiyama F, Nawa Y, Yoshimura A. Mucosal T cells bearing TCRgammadelta play a protective role in intestinal inflammation. *J Immunol* 2004; 173: 1390-1398 [PMID: 15240735]
- 31 Tang F, Chen Z, Ciszewski C, Setty M, Solus J, Tretiakova M, Ebert E, Han J, Lin A, Guandalini S, Groh V, Spies T, Green P, Jabri B. Cytosolic PLA2 is required for CTL-mediated immunopathology of celiac disease via NKG2D and IL-15. *J Exp Med* 2009; 206: 707-719 [PMID: 19237603 DOI: 10.1084/jem.20071887]
- 32 Taunk J, Roberts AI, Ebert EC. Spontaneous cytotoxicity of human intraepithelial lymphocytes against epithelial cell tumors. *Gastroenterology* 1992; 102: 69-75 [PMID: 1727781]
- 33 González S, Groh V, Spies T. Immunobiology of human NKG2D and its ligands. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006; 298: 121-138 [PMID: 16329186 DOI: 10.1007/3-540-27743-9\_6]
- 34 Fujihashi K, McGhee JR, Kweon MN, Cooper MD, Tonegawa S, Takahashi I, Hiroi T, Mestecky J, Kiyono H. gamma/delta T cell-deficient mice have impaired mucosal immunoglobulin A responses. *J Exp Med* 1996; 183: 1929-1935 [PMID: 8666951 DOI: 10.1084/jem.183.4.1929]
- 35 Ma CS, Nichols KE, Tangye SG. Regulation of cellular and humoral immune responses by the SLAM and SAP families of molecules. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 337-379 [PMID: 17201683 DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141651]
- 36 Suzuki H. Age-dependent changes in intraepithelial lymphocytes (IELs) of the small intestine, cecum, and colon from young adult to aged mice. *Arch Gerontol Geriatr* 2012; 55: 261-270 [PMID: 21840070 DOI: 10.1016/j.archger.2011.07.009]
- 37 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nature06005]
- 38 Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573-621 [PMID: 20192811 DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225]
- 39 Kunisawa J, Takahashi I, Kiyono H. Intraepithelial lymphocytes: their shared and divergent immunological behaviors in the small and large intestine. *Immunol Rev* 2007; 215: 136-153 [PMID: 17291285 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00475.x]
- 40 Egan CE, Maurer KJ, Cohen SB, Mack M, Simpson KW, Denkers EY. Synergy between intraepithelial lymphocytes and lamina propria T cells drives intestinal inflammation during infection. *Mucosal Immunol* 2011; 4: 658-670 [PMID: 21796113 DOI: 10.1038/mi.2011.31]
- 41 Vidali F, Di Sabatino A, Broglia F, Cazzola P, Biancheri P, Viera FT, Vanoli A, Alvisi C, Perego M, Corazza GR. Increased CD8+ intraepithelial lymphocyte infiltration and reduced surface area to volume ratio in the duodenum of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 684-689

- [PMID: 20201621 DOI: 10.3109/00365521003663662]
- 42 Nüssler NC, Stange B, Hoffman RA, Schraut WH, Bauer AJ, Neuhaus P. Enhanced cytolytic activity of intestinal intraepithelial lymphocytes in patients with Crohn's disease. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385: 218-224 [PMID: 10857494 DOI: 10.1007/s004230050268]
- 43 Ostanin DV, Brown CM, Gray L, Bharwani S, Grisham MB. Evaluation of the immunoregulatory activity of intraepithelial lymphocytes in a mouse model of chronic intestinal inflammation. *Int Immunol* 2010; 22: 927-939 [PMID: 21071622 DOI: 10.1093/intimm/dxq447]
- 44 Allez M, Tieng V, Nakazawa A, Treton X, Pacault V, Dulphy N, Caillat-Zucman S, Paul P, Gornet JM, Douay C, Ravet S, Tamouza R, Charron D, Lémann M, Mayer L, Toubert A. CD4+NKG2D+ T cells in Crohn's disease mediate inflammatory and cytotoxic responses through MICA interactions. *Gastroenterology* 2007; 132: 2346-2358 [PMID: 17570210 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.025]
- 45 Obermeier F, Hausmann M, Kellermeier S, Kiessling S, Strauch UG, Duitman E, Bulfone-Paus S, Herfarth H, Bock J, Dunger N, Stoeck M, Schölmerich J, Falk W, Rogler G. IL-15 protects intestinal epithelial cells. *Eur J Immunol* 2006; 36: 2691-2699 [PMID: 16981178 DOI: 10.1002/eji.200535173]
- 46 Heap GA, van Heel DA. The genetics of chronic inflammatory diseases. *Hum Mol Genet* 2009; 18: R101-R106 [PMID: 19297396 DOI: 10.1093/hmg/ddp001]
- 47 Ebert EC. Interleukin 21 up-regulates perforin-mediated cytotoxic activity of human intra-epithelial lymphocytes. *Immunology* 2009; 127: 206-215 [PMID: 19489126 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2008.02941.x]
- 48 Hayday A, Theodoridis E, Ramsburg E, Shires J. Intraepithelial lymphocytes: exploring the Third Way in immunology. *Nat Immunol* 2001; 2: 997-1003 [PMID: 11685222 DOI: 10.1038/ni1101-997]
- 49 Schaefer JS, Montufar-Solis D, Vigneswaran N, Klein JR. ICOS promotes IL-17 synthesis in colonic intraepithelial lymphocytes in IL-10<sup>-/-</sup> mice. *J Leukoc Biol* 2010; 87: 301-308 [PMID: 19889730 DOI: 10.1189/jlb.0409238]
- 50 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]

## ■同行评价

本文逻辑性较强, 条理清晰, 语言较为简洁, 表述内容清楚。对深入研究 IEL 在炎症性肠病中可能的免疫调节作用颇有裨益。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## ●消息●

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答

万姗姗, 曹倩

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病和溃疡性结肠炎。目前认为IBD是遗传、环境和黏膜免疫3方面因素作用的结果, 其中免疫功能紊乱是IBD发病的关键因素之一。

万姗姗, 浙江大学医学院 浙江省杭州市 310016  
曹倩, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院消化内科 浙江省杭州市 310016  
万姗姗, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病免疫调控分子机制及肠道屏障的研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81070309, No. 30500244  
作者贡献分布: 本文由万姗姗完成; 曹倩审校。  
通讯作者: 曹倩, 副教授, 副主任医师, 310016, 浙江省杭州市庆春东路3号, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院消化内科。  
caoc@srsh.com  
收稿日期: 2012-12-29 修回日期: 2013-02-20  
接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Immunoregulatory role of Th17 cells in development of inflammatory bowel disease

Shan-Shan Wan, Qian Cao

Shan-Shan Wan, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China  
Qian Cao, Department of Gastroenterology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China  
Supported by: Natural Science Foundation of China, Nos. 81070309 and 30500244

Correspondence to: Qian Cao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University; 3 Qingchun East Road, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China. caoc@srsh.com  
Received: 2012-12-29 Revised: 2013-02-20  
Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including Crohn's disease and ulcerative colitis, is associated with an exaggerated Th1 or Th2 cell response. Recent studies have shown that there is also enhanced synthesis of cytokines by Th17 cells in IBD. Interleukin-23 (IL-23) induces the differentiation of naïve CD4<sup>+</sup> T cells into highly pathogenic helper Th17 cells that produce IL-17, IL-6 and TNF- $\alpha$  and cause colitis. We here review the new progress in understanding the immunoregulatory role of Th17 cells and the related cytokines in IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Th17 cells;

## Interleukin-17; Interleukin-23

Wan SS, Cao Q. Immunoregulatory role of Th17 cells in development of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 574-578 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.574>

## 摘要

传统观点认为, 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 包括克罗恩病和溃疡性结肠炎分别与Th1型和Th2型反应密切相关。近期研究发现Th17细胞及其分泌的细胞因子也在IBD免疫调节中发挥重要作用。白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)诱导幼稚CD4<sup>+</sup> T细胞分化为高致病性的Th17细胞生成IL-17、IL-6和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ ), 引起结肠炎症。本文就Th17细胞及其细胞因子在炎症性肠病发生过程中的效应应答的研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 炎症性肠病; Th17细胞; 白介素-17; 白介素-23

万姗姗, 曹倩. Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 574-578 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.574>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。目前认为IBD是遗传、环境和黏膜免疫3方面因素作用的结果, 其中免疫功能紊乱是IBD发病的关键因素之一。效应T细胞活化是肠黏膜免疫及其后续炎症的起点, CD4<sup>+</sup> T细胞活化是导致肠黏膜炎症的主要效应细胞。传统观点认为, CD是白细胞介素-12(interleukin-12, IL-12)、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )等细胞因子介导的Th1型炎症反应, UC是与IL-4、IL-13等细胞因子介导的Th2炎症反

## ■同行评议者

夏冰, 教授, 武汉大学中南医院消化内科/消化系统病研究中心



应. 近期研究发现IBD患者有大量的Th17细胞浸润<sup>[1]</sup>, 开辟了研究IBD的新领域. 本文就Th17细胞及其细胞因子在IBD发生过程中的效应应答的研究进展做一综述.

## 1 Th17细胞分化

幼稚CD4<sup>+</sup> T细胞经抗原刺激后, 在不同的条件下分化为Th1细胞、Th2细胞、诱导性调节T细胞或Th17细胞等T细胞亚群. 其分化方向受抗原性质、局部环境中的激素以及细胞因子等多种因素调控, 其中细胞因子的种类和细胞因子之间的平衡对Th细胞的分化具有重要调节作用. Th17细胞是促进炎症反应的辅助T细胞, 在抵抗病原感染以及介导自身免疫性疾病方面均有重要作用<sup>[2]</sup>. 其标志性特征就是可以产生IL-17类细胞因子以及表达特异的转录因子孤核受体ROR- $\gamma$ t和ROR- $\alpha$ <sup>[3,4]</sup>. ROR- $\gamma$ t和ROR- $\alpha$ 是调节Th17细胞分化的重要转录因子, 在CD患者固有层T细胞高表达<sup>[5]</sup>.

Th17细胞增殖分化受多种细胞因子影响. 早期研究发现IL-23基因敲除小鼠体内不能产生Th17, 表明IL-23在Th17分化中发挥重要作用<sup>[6]</sup>. 近年研究显示IL-23并不能诱导初始T细胞分化为Th17细胞, 但可以诱导Th17细胞增殖<sup>[7]</sup>. 因此推测IL-23可能不是Th17细胞分化的必需因子, 却是Th17细胞存活繁殖的重要因子. 小鼠体内外实验均已证实, 转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和IL-6共同存在时, 可以诱导Th17细胞分泌大量IL-17, 但不具备致病性. 如果体内存在IL-23, 不仅能够促使分化后的Th17细胞增殖, 还能诱导Th17细胞表达IL-17和其他趋化因子, 导致机体炎症的发生<sup>[6,8,9]</sup>. TGF- $\beta$ 单独作用下, 活化的初始CD4<sup>+</sup> T细胞分化为Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞<sup>[10]</sup>. 基因敲除Th1和Th2特异性转录因子T-bet、STAT6的小鼠, 其幼稚CD4<sup>+</sup> T细胞不能分化为Th1和Th2细胞, 该基因敲除小鼠单独给予IL-6可以诱导Th17细胞分化, 表明IL-6是诱导Th17分化的始动因子<sup>[11]</sup>. 关于TGF- $\beta$ 的作用, 目前认为TGF- $\beta$ 抑制了Th1和Th2细胞亚群分化的转录因子的表达<sup>[12]</sup>. Th17还可自分泌产生IL-21来促进自身分化过程. Th17分泌IL-21, 后者通过活化Stat3并诱导ROR- $\gamma$ t表达促进IL-17的产生, 同时正反馈诱导IL-21和IL-23R的表达<sup>[13]</sup>. 肠道细菌微环境对IBD的形成具有一定作用, 肠道某些共生菌对Th17细胞分化也有着重要作用<sup>[14,15]</sup>.

## 2 Th17细胞及其细胞因子与IBD

Th17细胞参与肠道炎症发生的具体机制尚不十分清楚, 但众多研究显示, Th17细胞通过释放IL-17、IL-21、IL-22、IL-6等多种炎症因子调节炎症发生, 同时Th17相关细胞因子也可以诱导多种细胞分泌炎症因子、趋化因子及降解组织的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)<sup>[16]</sup>, 诱发炎症级联反应, 导致肠黏膜损伤发生.

Th17细胞免疫应答在肠道慢性炎症中具有重要作用. 在IBD患者, Fujino等<sup>[17]</sup>首先报道IL-17在IBD患者结肠黏膜及血清内表达均升高. 在UC患者, IL-17<sup>+</sup>细胞主要位于固有层; 在CD患者则散布在黏膜下层及固有肌层. IL-17<sup>+</sup>细胞主要为CD3<sup>+</sup> T细胞或CD68<sup>+</sup>单核巨噬细胞. 随后Seiderer等<sup>[18]</sup>亦证实IBD患者结肠黏膜组织的IL-17A和IL-17F的mRNA水平明显高于正常对照组. Annunziato等<sup>[19]</sup>用流式细胞术检测肠黏膜炎症细胞, 结果显示CD患者有更多的IL-17<sup>+</sup> T细胞浸润, 其中一些细胞也同时产生IFN- $\gamma$ . IL-12刺激IL-17<sup>+</sup>细胞可以促进T-bet及IFN- $\gamma$ 表达, 下调ROR- $\gamma$ t及IL-17表达, 即诱导IL-17<sup>+</sup>细胞向Th1细胞分化.

在动物实验研究中, Wu等<sup>[20]</sup>发现肠毒性脆弱类杆菌(*enterotoxigenic bacterioides fragilis*, ETBF)在肠道定植会诱发结肠炎症及结肠癌. 这些症状与IL-17诱导的细胞信号增加有关. 抗体阻断IL-17或IL-23调节的信号, 可抑制ETBF诱导的结肠炎症及肿瘤形成. 在CD4<sup>+</sup> T细胞诱导严重联合免疫缺陷小鼠慢性结肠炎模型中, 肠道IL-17的表达显著增加, 选择性移植表达IL-17的T细胞诱导的结肠炎症比移植Th1细胞要严重<sup>[21]</sup>. 抗IL-23p19单抗给药可以下调多种炎症因子及趋化因子的表达, 诱导Th17细胞的凋亡, 治疗该模型肠道炎症. Tajima等<sup>[22]</sup>发现将过继初始CD8<sup>+</sup> T细胞移植到同系RAG缺失小鼠会导致该细胞在肠系膜淋巴结大量增生, 并诱导严重的结肠炎症. 肠系膜淋巴结的CD8<sup>+</sup> T细胞同时表达IL-17和IFN- $\gamma$ . 从IL-17敲除或IFN- $\gamma$ 敲除小鼠移植CD8<sup>+</sup> T细胞到受体小鼠所诱导的结肠炎症严重程度显著减轻. IL-21缺失可以减轻DSS或TNBS诱导的结肠炎症, Th17相关基因(如IL-17、IL-17F、ROR- $\gamma$ t等)表达显著下降<sup>[23]</sup>. 并且IL-21R融合蛋白阻断IL-21信号通路可以抑制DSS诱导结肠炎症, 减轻Th17反应.

IL-17RA敲除或IL-17R IgG1融合蛋白过

### ■创新盘点

本文对Th17细胞及其细胞因子在IBD发生过程中的效应应答的机制进行详细的阐述及总结.

## ■应用要点

本文就Th17细胞及其细胞因子在IBD发生过程中的效应应答的研究进展做了综述,旨在为之后的研究提供指导。

表达处理可以明显抑制TNBS诱导的结肠炎症<sup>[24]</sup>。IL-17敲除或抗IL-17单抗腹腔注射也可以缓解TNBS诱导的结肠炎症<sup>[25]</sup>。IL-17F敲除可以减轻DSS诱导的结肠炎症<sup>[26]</sup>。而抗IL-17A抗体中和IL-17A则加重DSS诱导的结肠炎症<sup>[27]</sup>。Towne等<sup>[28]</sup>以胆型螺旋杆菌感染mdr1a<sup>-/-</sup>小鼠诱发小鼠结肠炎中,给予IL-17RA拮抗剂对感染小鼠无保护作用,反而使小鼠结肠炎症加重。IL-17RA是IL-17A、IL-17F、IL-25等多种细胞因子受体,分别阻断IL-17A、IL-17F、IL-25作用,结果发现阻断IL-17A后疾病加剧与阻断IL-17RA后类似,而阻断IL-17F、IL-25则对疾病无影响。抑制IL-23可以缓解感染小鼠病情,其缓解程度与抑制IL-12/23p40同时阻断IL-12和IL-23作用相当。该实验结果与一项药物临床试验结果一致,抗IL-17A单抗secukinumab治疗CD患者无效,甚至会增加患者感染机率<sup>[29]</sup>。

## 3 IL-23与IBD

IL-23虽然不是Th17细胞分泌的细胞因子,但是在调控Th17细胞分化及功能方面具有重要作用。IL-23和IL-12均为IL-12家族细胞因子,主要由激活的树突状细胞和巨噬细胞产生,且都属于异二聚体细胞因子,IL-23由p40亚基与p19亚基构成,IL-12由p40和p35两个亚基组成,两者具有相同的p40亚基。

目前已在多种动物模型对IL-23在肠道炎症中的作用进行了研究。Yen等<sup>[30]</sup>采用IL-10敲除小鼠模型表明,敲除IL-23p19可以显著抑制结肠炎症的发生,而敲除IL-12p35则无抑制作用。IL-10/IL-23p19双敲小鼠的CD4<sup>+</sup> T细胞表达大量的IFN- $\gamma$ ,表明Th1细胞不受IL-23调控,但结肠炎症的发生需要IL-23的参与。初始CD4<sup>+</sup> T细胞移植RAG小鼠诱导结肠炎模型中,外源性给予IL-23可以促进IL-6及IL-17的表达,加重结肠炎症。然而单独给予IL-17抗体中和治疗无法完全抑制结肠炎症发生,联合给予抗IL-6抗体仅能部分抑制结肠炎症。表明IL-23调控的Th17反应只是IBD发生的机制之一。

有研究表明IL-23可以不依赖Th17细胞及其细胞因子参与肠道炎症反应。CD40抗体可以诱导RAG<sup>-/-</sup>小鼠发生全身性炎症及肠道局部炎症,表现为消瘦、脾肿大、血清促炎介质升高及结肠炎症等<sup>[31]</sup>。CD40处理RAG/p40双敲小鼠其全身性炎症及肠道局部炎症反应均有缓解,然而CD40处理RAG/IL-12p35双敲小鼠,诱发结

肠炎症,但不能观察到小鼠消瘦等一些全身性炎症反应。CD40刺激RAG/IL-23p19双敲小鼠则未见肠道炎症。表明全身性炎症反应受IL-12调控,而肠道炎症则受IL-23调控。参与CD40诱导的肠道炎症反应的细胞是一类新型的定植于肠道的Thy1<sup>+</sup>Sca1<sup>+</sup>ROR $\gamma$ t<sup>+</sup>天然免疫淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)<sup>[32]</sup>。IL-23作用于ILCs,活化IFN- $\gamma$ 和IL-17的表达。相应抗体中和IFN- $\gamma$ 或IL-17可以减轻炎症反应<sup>[33]</sup>。表明IL-23可以刺激激活固有免疫系统。肝螺旋杆菌在RAG2缺失小鼠的结肠及盲肠隐窝定居,可诱发慢性盲肠结肠炎,IL-23及IL-17表达显著升高,但不依赖T细胞,p19抗体中和治疗可以减轻炎症<sup>[34]</sup>。然而肝螺旋杆菌感染IL-10<sup>-/-</sup>小鼠引起的结肠炎需要T细胞的参与<sup>[35]</sup>,包括Th1和Th17两种细胞反应。Izcue等<sup>[36]</sup>亦发现T细胞移植RAG/IL-23双敲小鼠造模,IFN- $\gamma$ 表达下降,但ROR- $\gamma$ t及IL-17A表达不受影响。表明IL-23缺失小鼠不影响Th17细胞的反应,IL-23介导的结肠炎症可以不依赖IL-17。

## 4 结论

根据动物实验推测IL-23和Th17反应轴是一个有希望的可以抑制IBD炎症反应的靶点,阻断调节Th17极化的细胞因子能够在某种程度上有效地预防IBD的发生。但仍有很多问题有待解决,例如:Th17细胞相关的每种细胞因子在IBD发展中的具体作用;用抗IL-23/p19选择性中和IL-23活性其抗炎效果是否比阻断IL-12/IL-23/p40更有利。Th17细胞相关因子随环境变化及相互作用因子不同而发挥不同效应机制,且IBD动物模型与人类IBD患者之间仍有巨大差距,这将是进一步研究重点及热点。

## 5 参考文献

- 1 McGovern D, Powrie F. The IL23 axis plays a key role in the pathogenesis of IBD. *Gut* 2007; 56: 1333-1336 [PMID: 17872562 DOI: 10.1136/gut.2006.115402]
- 2 Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 821-852 [PMID: 17201677 DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141557]
- 3 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233-240 [PMID: 15657292 DOI: 10.1084/jem.20041257]
- 4 Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28: 454-467 [PMID: 18400188 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.03.004]

- 5 Dambacher J, Beigel F, Zitzmann K, De Toni EN, Göke B, Diepolder HM, Auernhammer CJ, Brand S. The role of the novel Th17 cytokine IL-26 in intestinal inflammation. *Gut* 2009; 58: 1207-1217 [PMID: 18483078 DOI: 10.1136/gut.2007.130112]
- 6 Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441: 235-238 [PMID: 16648838 DOI: 10.1038/nature04753]
- 7 Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, Pflanz S, Zhang R, Singh KP, Vega F, To W, Wagner J, O'Farrell AM, McClanahan T, Zurawski S, Hannum C, Gorman D, Rennick DM, Kastelein RA, de Waal Malefyt R, Moore KW. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J Immunol* 2002; 168: 5699-5708 [PMID: 12023369]
- 8 McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 2007; 8: 1390-1397 [PMID: 17994024 DOI: 10.1038/ni1539]
- 9 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234 [PMID: 16648837 DOI: 10.1038/nature04754]
- 10 Morishima N, Mizoguchi I, Takeda K, Mizoguchi J, Yoshimoto T. TGF-beta is necessary for induction of IL-23R and Th17 differentiation by IL-6 and IL-23. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 386: 105-110 [PMID: 19501566 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.05.140]
- 11 Das J, Ren G, Zhang L, Roberts AI, Zhao X, Bothwell AL, Van Kaer L, Shi Y, Das G. Transforming growth factor beta is dispensable for the molecular orchestration of Th17 cell differentiation. *J Exp Med* 2009; 206: 2407-2416 [PMID: 19808254 DOI: 10.1084/jem.20082286]
- 12 Santarlasci V, Maggi L, Capone M, Frosali F, Querci V, De Palma R, Liotta F, Cosmi L, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. TGF-beta indirectly favors the development of human Th17 cells by inhibiting Th1 cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 207-215 [PMID: 19130583 DOI: 10.1002/eji.200838748]
- 13 Monteleone G, Pallone F, Macdonald TT. Interleukin-21 (IL-21)-mediated pathways in T cell-mediated disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 185-191 [PMID: 19261537 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.02.002]
- 14 Barnich N, Carvalho FA, Glasser AL, Darcha C, Jantschke P, Allez M, Peeters H, Bommelaer G, Desreumaux P, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive E. coli, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 1566-1574 [PMID: 17525800 DOI: 10.1172/JCI30504]
- 15 Niess JH, Leithäuser F, Adler G, Reimann J. Commensal gut flora drives the expansion of proinflammatory CD4 T cells in the colonic lamina propria under normal and inflammatory conditions. *J Immunol* 2008; 180: 559-568 [PMID: 18097058]
- 16 Caruso R, Fina D, Peluso I, Stolfi C, Fantini MC, Gioia V, Caprioli F, Del Vecchio Blanco G, Paoluzi OA, Macdonald TT, Pallone F, Monteleone G. A functional role for interleukin-21 in promoting the synthesis of the T-cell chemoattractant, MIP-3alpha, by gut epithelial cells. *Gastroenterology* 2007; 132: 166-175 [PMID: 17241869 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.09.053]
- 17 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762 DOI: 10.1136/gut.52.1.65]
- 18 Seiderer J, Elben I, Diegelmann J, Glas J, Stallhofer J, Tillack C, Pfennig S, Jürgens M, Schmechel S, Konrad A, Göke B, Ochsenkühn T, Müller-Myhsok B, Lohse P, Brand S. Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 437-445 [PMID: 18088064 DOI: 10.1002/ibd.20339]
- 19 Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B, Parente E, Fili L, Ferri S, Frosali F, Giudici F, Romagnani P, Parronchi P, Tonelli F, Maggi E, Romagnani S. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007; 204: 1849-1861 [PMID: 17635957 DOI: 10.1084/jem.20070663]
- 20 Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022 [PMID: 19701202 DOI: 10.1038/nm.2015]
- 21 Elson CO, Cong Y, Weaver CT, Schoeb TR, McClanahan TK, Fick RB, Kastelein RA. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 2007; 132: 2359-2370 [PMID: 17570211 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.104]
- 22 Tajima M, Wakita D, Noguchi D, Chamoto K, Yue Z, Fugo K, Ishigame H, Iwakura Y, Kitamura H, Nishimura T. IL-6-dependent spontaneous proliferation is required for the induction of colitogenic IL-17-producing CD8+ T cells. *J Exp Med* 2008; 205: 1019-1027 [PMID: 18426983 DOI: 10.1084/jem.20071133]
- 23 Fina D, Sarra M, Fantini MC, Rizzo A, Caruso R, Caprioli F, Stolfi C, Cardolini I, Dottori M, Boirivant M, Pallone F, Macdonald TT, Monteleone G. Regulation of gut inflammation and th17 cell response by interleukin-21. *Gastroenterology* 2008; 134: 1038-1048 [PMID: 18395085 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.041]
- 24 Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls JK. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 382-388 [PMID: 16670527 DOI: 10.1097/01.MIB.0000218764.06959.91]
- 25 Jin Y, Lin Y, Lin L, Zheng C. IL-17/IFN-gamma interactions regulate intestinal inflammation in TNBS-induced acute colitis. *J Interferon Cytokine Res* 2012; 32: 548-556 [PMID: 23030668 DOI: 10.1089/jir.2012.0030]
- 26 Yang XO, Chang SH, Park H, Nurieva R, Shah B, Acero L, Wang YH, Schluns KS, Broadbush RR, Zhu Z, Dong C. Regulation of inflammatory responses

## 同行评价

本文对Th17细胞及其IL-17和IL-23与IBD的关系做一综述,具有一定的指导意义。



- by IL-17F. *J Exp Med* 2008; 205: 1063-1075 [PMID: 18411338 DOI: 10.1084/jem.20071978]
- 27 Ogawa A, Andoh A, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin Immunol* 2004; 110: 55-62 [PMID: 14962796 DOI: 10.1016/j.clim.2003.09.013]
- 28 Towne JE, Maxwell JR, Zhang Y, Brown WA, Rottman JB, Budelsky AL. Differential roles for IL-23 and IL-17 in inflammatory bowel disease. *Cytokine* 2012; 59: 515 [DOI: 10.1016/j.cyto.2012.06.074]
- 29 Hueber W, Sands BE, Vandemeulebroecke M, Reinisch W, Hlglins PDR, Wehkamp J, Feagan B, Yao M, Bertolno AP, Travis S. Inhibition of IL-17A by secukinumab is ineffective for Crohn's disease. ECCO(2011). Available from: URL: <https://www.ecco-ibd.eu/publications/congress-abstract-s/item/10.html>
- 30 Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, Kleinschek MA, Owyang A, Mattson J, Blumenschein W, Murphy E, Sathe M, Cua DJ, Kastelein RA, Rennick D. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest* 2006; 116: 1310-1316 [PMID: 16670770 DOI: 10.1172/JCI21404]
- 31 Uhlig HH, McKenzie BS, Hue S, Thompson C, Joyce-Shaikh B, Stepankova R, Robinson N, Buonocore S, Tlaskalova-Hogenova H, Cua DJ, Powrie F. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology. *Immunity* 2006; 25: 309-318 [PMID: 16919486]
- 32 Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, Powrie F. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature* 2010; 464: 1371-1375 [PMID: 20393462 DOI: 10.1038/nature08949]
- 33 van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, Cornelissen F, Mus AM, Florencia E, Prens EP, Lubberts E. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol* 2009; 182: 5836-5845 [PMID: 19380832 DOI: 10.4049/jimmunol.0802999]
- 34 Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, Powrie F, Maloy KJ. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med* 2006; 203: 2473-2483 [PMID: 17030949]
- 35 Kullberg MC, Jankovic D, Feng CG, Hue S, Gorelick PL, McKenzie BS, Cua DJ, Powrie F, Cheever AW, Maloy KJ, Sher A. IL-23 plays a key role in Helicobacter hepaticus-induced T cell-dependent colitis. *J Exp Med* 2006; 203: 2485-2494 [PMID: 17030948]
- 36 Izcue A, Hue S, Buonocore S, Arancibia-Carcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部 2012-03-08)。

# 肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁, 郑州大学附属第一医院消化内科 河南省郑州市 450052

李林静, 硕士, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070288, 81270452

河南省医学科技攻关计划基金资助项目, No. 201001004

河南省医学科技学术带头人出国培训计划基金资助项目,

No. 201201013

作者贡献分布: 本文由李林静、郝卉杰及石朝阳撰写; 冯百岁审核.

通讯作者: 冯百岁, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学附属第一医院消化内科.

fbs163@163.com

收稿日期: 2012-12-21 修回日期: 2013-01-29

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Role of mast cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Lin-Jing Li, Hui-Jie Hao, Zhao-Yang Shi, Bai-Sui Feng

Lin-Jing Li, Hui-Jie Hao, Zhao-Yang Shi, Bai-Sui Feng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070288 and 81270452; the Medical Science and Technology Foundation of Henan Province, No. 201001004; and the Science and Technology Leader Overseas Training Foundation of Henan Province, No. 201201013

Correspondence to: Bai-Sui Feng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. fbs163@163.com

Received: 2012-12-21 Revised: 2013-01-29

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of recurrent chronic intestinal inflammatory diseases with incompletely understood pathogenesis. Increasing evidence has shown that mast cells are markedly increased in inflamed mucosa of IBD patients and involved in the pathogenesis of IBD. Upon activation mast cells release multiple proinflammatory cytokines, chemokines and mediators that play an important role in the occurrence and development of IBD. Understanding the role of mast cell-derived mediators and cytokines in IBD can provide new avenues for the development of new approaches to the treat-

ment of this disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Mast cells; Inflammatory mediators

Li LJ, Hao HJ, Shi ZY, Feng BS. Role of mast cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 579-584 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.579>

## 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组反复发作的慢性炎症性肠道疾病,其发病机制并不十分清楚.越来越多的证据表明肥大细胞参与该病的发病.研究发现在IBD患者肠道黏膜中肥大细胞的数量增多了.肥大细胞被各种物质激活释放多种促炎症性细胞因子、化学物质及生物活性介质等在IBD的发生与发展中起重要作用.因此,了解肥大细胞释放的细胞因子和化学介质在IBD中的关键作用有望为治疗这种疾病开拓新的方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 炎症性肠病; 肥大细胞; 炎症介质

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁. 肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 579-584 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.579>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因不明的反复发作的慢性肠道炎症性疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD).近年来,IBD的发病率在全球和我国均有增加趋势,其发病与环境、感染、遗传、免疫等因素有关<sup>[1,2]</sup>.越来越多的证据表明肥大细胞(mast cells, MC)参与IBD的发病.而且活动性IBD肠道黏膜MC明显增加,尤其是空、回肠和结肠<sup>[3,4]</sup>.肥大细胞被激活后

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因不明的反复发作的慢性肠道炎症性疾病.其发病与环境、感染、遗传、免疫等因素有关.许多研究表明肥大细胞(mast cells, MC)参与IBD的发病.了解MC在IBD发病中的作用可为今后IBD的治疗开辟新的思路.

## ■同行评议者

田宇彬, 教授, 青岛大学医学院附属医院

## ■ 研发前沿

国内外有很多关于MC与IBD关系的报道,具体阐明两者之间的关系,可为进一步寻找IBD的治疗方案提供新的思路。

释放大量的细胞因子,如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等;生物活性物质,如:组胺、类胰蛋白酶、类糜蛋白酶、羧肽酶、白三烯(leukotrienes, LTs)、血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)和肝素等在介导肠道慢性炎症反应中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。了解MC在IBD发病中的作用可为今后IBD的治疗开辟新的路径。本文就MC在IBD作用机制中的研究进展作一简要综述。

## 1 肥大细胞的生物学基础

**1.1 肥大细胞的起源与形态特征** 早在1879年,就已有文献描述了MC。MC是一种重要的炎症效应细胞,他起源于骨髓,并表达CD34、c-kit及CD13抗原的多能造血干细胞,仅少量作为定向祖细胞参与循环,在前体细胞阶段便离开骨髓进入组织,以各种表型增殖分化成为MC; MC在外周组织继续分化成熟,即使高度分化仍具有增殖能力,完全脱颗粒后仍能增殖并能再次形成颗粒,恢复原有形态<sup>[6,7]</sup>。MC广泛存在于人和啮齿动物体内,其体积在不同物种体内各有差异。据报道,在光镜下人体内MC体积较大,约20-30  $\mu\text{m}$ ,啮齿动物体内大约是3.5-22.0  $\mu\text{m}$ ,MC的形状也各异,根据所定居组织的不同呈圆形、椭圆形、梭形或矩形,胞质内充满嗜碱性颗粒,颗粒被甲苯胺蓝染成紫红色,又称异染性颗粒,电镜下,MC表面有许多嵴状皱襞的微绒毛突起,胞质内含有许多分泌颗粒<sup>[8]</sup>。

**1.2 肥大细胞的分布与分类** MC主要沿小血管和小淋巴管分布,集中在与外界抗原易于接触的部位,如皮肤、呼吸道、消化系上皮下方的结缔组织内。在人体胃肠壁内有大量MC存在,分布于从食管至直肠的黏膜、黏膜下、平滑肌及浆膜各层。以胃肠各节段MC分布的数量来比较,其顺序依次为回肠、胃底和胃窦、十二指肠、胃体、食管近端、空肠、降结肠、阑尾、横结肠、食管远端。从胃肠壁的结构层次来看,在黏膜和黏膜下层,以胃、阑尾的MC最多;在肌层,则以食管、胃底和小肠的MC含量最丰富<sup>[9]</sup>。研究表明在IBD和消化系肿瘤患者的肠黏膜上,肥大细胞的数量可增加10倍以上<sup>[10,11]</sup>。根据肥大细胞内中性蛋白酶的的不同可将人类MC分为3种亚型,即: MCT-C、MCT及MCC型。MCT-C是包含有类胰蛋白酶、类糜蛋白酶、羧肽酶和组织蛋白酶G样蛋白酶的肥大细胞; MCT型是仅含有类胰蛋白酶的肥大细胞; MCC型只含有类糜蛋白

酶和羧肽酶不含有类胰蛋白酶的肥大细胞,他们都包含组织胺<sup>[12]</sup>,其中, MCT型肥大细胞在人类的肠黏膜和肺中占主导地位<sup>[13]</sup>。

## 2 肥大细胞的激活与介质的释放

**2.1 肥大细胞的激活** 肥大细胞表面有不同种类的受体,当其各类配体结合后其可通过不同的机制激活MC,经典的激活通路是由抗原特异性IgE抗体与MC表面的Fc $\epsilon$ R1结合后激活肥大细胞<sup>[14]</sup>。肥大细胞也可以通过运用其他的激活剂以IgE非依赖的方式激活,如阿片类药物(吗啡、可待因和度冷丁等)、基础分泌物(如48/80混合物、P物质等)及钙离子载体等<sup>[15]</sup>。另外,Chen等<sup>[16]</sup>发现细菌表面的鞭毛蛋白特异性IgG通过与肥大细胞表面的Fc $\gamma$ RI结合,激活肥大细胞诱导肠道炎症。同时有研究表明细菌成分与产物可与MC表面的toll样受体(toll like receptor, TLR)结合,诱导细胞因子的释放并启动先天性免疫应答和获得性免疫应答<sup>[17]</sup>。Feng等<sup>[18]</sup>发现细菌细胞壁的成分肽聚糖可与肥大细胞表面的TLR2及核苷酸寡聚域1(nucleotide oligomerization domain 1, NOD1)结合,从而激活肥大细胞诱导腹泻的发生。Wu等<sup>[19]</sup>发现肠道微生物作为病原相关的分子模式与肥大细胞表面的TLR2受体和NOD2受体结合后激活肥大细胞释放多种促炎症因子打破肠道黏膜屏障。这些不同的配体与肥大细胞表面的受体结合后可以通过不同的途径激活肥大细胞,从而释放各种细胞因子和炎症介质导致炎症的发生。

**2.2 介质的释放** MC被激活后可释放多种细胞因子和生物化学介质来行使其生理和病理的功能。大量研究证明,MC是促炎症介质的主要来源。其释放的生物活性介质主要分为4类: (1)颗粒内预先形成的介质: 如组胺和5羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)主要作用是改变血管通透性<sup>[20]</sup>; 肝素主要功能是加强趋化因子/细胞因子功能和加强血管生成<sup>[21]</sup>; 类胰蛋白酶,糜蛋白酶,羧肽酶和其他蛋白酶,主要作用是改造组织和募集效应细胞<sup>[22]</sup>; TNF、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和纤维生长因子-2,主要是募集效应细胞和加强血管生成<sup>[23]</sup>; (2)新合成的脂类介质: 主要是花生四烯酸的代谢产物。LT、前列腺素(prostaglandin, PG)D2和PGE2,主要作用是募集效应细胞,调节免疫反应和促进血管生成、引起水肿和支气管收缩; PAF的主要作用是活化效应细胞,加强



血管生成和诱导生理性炎症反应<sup>[24]</sup>; (3)细胞因子: TNF、白介素-1 $\alpha$ (interleukin-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18、granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)、白血病抑制因子(leukaemia inhibitory factor, LIF)、干扰素- $\alpha$ (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )和IFN- $\beta$ 等, 主要作用是诱导炎症反应; IL-3、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、IL-15、IL-16等, 主要是Th2型细胞因子功能; IL-12和IFN- $\gamma$ 主要是Th1型细胞因子功能; IL-1、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和VEGF等, 主要调节炎症反应和血管生成<sup>[12]</sup>; (4)趋化因子: CCL2(CC-chemokine ligand, CCL)、CCL3、CCL4、CCL5、CCL11和CCL20, 主要募集效应细胞, 调节免疫反应<sup>[25]</sup>; CXCL1(CXC-chemokine ligand, CXCL)、CXCL2、CXCL8、CXCL9、CXCL10和CXCL11也能募集效应细胞, 调节免疫反应<sup>[26]</sup>。

### 3 肥大细胞在IBD发病机制中的作用

**3.1 IBD患者体内MC的数量变化** 早在1980年, Dvorak等<sup>[27]</sup>就报道了在CD患者的回肠内肥大细胞的数量显著增多了; 1990年Nolte等<sup>[28]</sup>发现UC患者体内的肥大细胞数量显著多于对照组。而且, 炎症组织中肥大细胞的数量明显多于正常组织。Gelbmann等<sup>[29]</sup>发现, 与对照组相比CD患者肠道肌层内肥大细胞的数量明显增多, 而且在CD患者早期黏膜病变中, 可发现固有膜、黏膜下层MC数量增多。甚至于更深层也可见MC, 伴随有黏膜组织的水肿和炎症。近期的研究也给我们提供了很多证据证明了在IBD患者体内肥大细胞的数量确实增多了。Rijnierse等<sup>[30]</sup>发现MC的数量及其释放的介质在IBD小鼠模型的肠黏膜增加了, 表明MC在IBD的发病机制中起重要作用。Kleinschmidt等<sup>[31]</sup>发现不同种类的MC在患有IBD的猫模型胃肠道的黏膜和黏膜下层的分布不同且其数量及释放的介质增加与IBD的发病机制密切相关。Hamilton等<sup>[32]</sup>研究表明MCT型肥大细胞急性结肠炎小鼠肠道黏膜内显著增加, 同时也报道了MCT在IBD患者肠道内数量也是显著增加的。

**3.2 肥大细胞释放的介质与IBD发病的关系** 上文我们已经提到了激活的肥大细胞可以释放多种介质, 这些介质在不同程度上可以引起肠黏膜的损伤, 从而在IBD的发病过程中起重要作用。Gelbmann等<sup>[29]</sup>用免疫组织化学法检测了CD患者纤维化病变组织中肥大细胞分泌蛋白酶情

况, 结果发现有纤维化病变的炎症肠组织中高表达肥大细胞所分泌的类胰蛋白酶和糜蛋白酶等, 明显高于正常人和非纤维化肠组织, 他们推测肥大细胞在炎症肠道聚集, 与CD患者肠道纤维化及狭窄的形成有关。Xie等<sup>[33]</sup>报道MC释放的组织胺与肠黏膜表面的H1受体结合后引起肠黏膜血管黏膜通透性增高, 会导致肠黏膜的破坏, 更容易引起炎症的渗出。其释放的类胰蛋白酶可以激活肠上皮细胞表面的PAR-2受体, 从而调节紧密连接蛋白, 通过上皮旁途径增加肠上皮细胞的渗透性, 从而易于炎症的发生与发展<sup>[34]</sup>。Hyun等<sup>[35]</sup>发现PAR-2激动剂可以上调结肠黏膜PAR-2的表达, 诱导粒细胞渗出, 导致结肠壁水肿和损伤, 同时通过旁途径使结肠黏膜渗透性增加, 在IBD的发病中起一定的作用。Groschwitz等<sup>[36]</sup>研究发现在小鼠体内肥大细胞通过类糜蛋白酶的释放和激活增加结肠上皮的渗透性, 这可能会使肠黏膜屏障功能破坏, 诱导IBD的发生。在炎症性肠病的小鼠模型中, 肝素抑制中性粒细胞的激活、黏附和趋化的能力, 表明肥大细胞与中性粒细胞之间的平衡可能在IBD的发病过程中起重要作用<sup>[37]</sup>。据报道, 由肥大细胞产生的PGD2在过敏性应答和炎症反应的早期和晚期阶段起到必要的作用, 而且其还可以调节TH2细胞对促炎症因子的释放<sup>[38]</sup>。Kajiwara等<sup>[39]</sup>发现肥大细胞激活后释放的PAF参与多种炎症反应, 这种反应部分依赖于细胞膜外的钙离子。而且, Thornton等<sup>[40]</sup>提出PAF在CD的发生机制中可能其重要作用。Hocke等<sup>[41]</sup>发现溃疡性结肠炎粪便中PAF的水平明显高于正常对照组, 这提示PAF参与UC的发病。

**3.3 各类细胞因子在IBD发病中的作用** 据报道, 许许多多的细胞因子都参与IBD的发病。TNF- $\alpha$ 主要是由IBD肠道内肥大细胞释放的, 而且细菌和抗-IgE抗体都可以大幅度增加肥大细胞对其的释放<sup>[42]</sup>。Rijnierse等<sup>[43]</sup>发现在IBD小鼠模型中通过激活肥大细胞释放TNF- $\alpha$ 可以引起炎症应答, 而且抗TNF- $\alpha$ 的抗体在治疗DNFB致敏的小鼠72 h后可以显著减少结肠组织损伤的评分及腹泻反应。Textor等<sup>[44]</sup>发现肥大细胞被激活后脱颗粒可释放IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、GM-CSF、MIP-1、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、GM-CSF和VEGF等, 这些细胞因子通过不同的途径参与炎症的发生及IBD的发病。McGuckin等<sup>[45]</sup>在文献中提到TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 等促炎症细胞因子通过诱导肌球蛋白轻链激

#### ■创新盘点

本文首次通过MC释放的多种介质、细胞因子及趋化因子与IBD的关系进行了综述, 为进一步阐明IBD的发病机制, 寻找新的治疗方法提供了思路。

### ■应用要点

了解肥大细胞释放的细胞因子和化学介质在IBD中的关键作用有望为治疗这种疾病开拓新的方法。

酶(myosin light chain kinase, MLCK)其可以破坏细胞间的紧密连接,在很大程度上增加了肠黏膜的渗透性,从而破坏肠黏膜屏障,诱导及加重炎症的发生。肥大细胞所分泌的IL-4能诱导TH0细胞向TH2细胞分化,抑制TH1细胞的产生,并调节TH2型细胞免疫反应。肥大细胞表达MHC-II类分子,具有抗原递呈功能,能把加工的抗原肽分子递呈给CD4<sup>+</sup> T细胞,诱导T细胞的激活。Roberts-Thomson等<sup>[46]</sup>报道IFN- $\gamma$ 等TH1免疫应答型细胞因子及IL-4和IL-13等Th2应答型细胞因子通过激发异常免疫应答和破坏肠黏膜等在UC和CD的发病机制中重要的作用。Monteleone等<sup>[47]</sup>提到在CD中占优势的是如TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 等Th1细胞相关的细胞因子,而在UC中则是如IL-5、IL-13等Th2细胞相关的细胞因子占优势,他们能够激活Th1和Th2细胞相关的炎症细胞,引起肠道炎症反应导致IBD的发生。

3.4 趋化因子参与IBD的发病 在活动性IBD及溃疡性结肠炎小鼠模型中可以发现肠黏膜趋化因子及其受体的表达量升高,如CXCL8(IL-8)/CXCR2、CXCL9、10、11/CXCR3、CCL25/CCR9、CCL19、21/CCR7和CCL20/CCR6的表达量升高了,应用CCR阻滞剂在治疗UC中有一定效果<sup>[48,49]</sup>。综上所述,肥大细胞激活后释放的各种化学介质与促炎症性细胞因子在IBD的发生与发展中起着极其重要的作用。

3.5 肥大细胞与IBD治疗的关系 目前,尽管氨基水杨酸和激素仍是治疗IBD的主要药物,但与肥大细胞相关的治疗在IBD中的作用也应受到密切关注。研究表明抗TNF- $\alpha$ 单克隆抗体(特别是英夫利昔单抗)对治疗克罗恩病疗效尚可<sup>[50]</sup>;肥大细胞类胰蛋白酶抑制剂APC2059对治疗溃疡性结肠炎安全有效<sup>[51]</sup>。同样,如5-氨基水杨酸,能有效的抑制抗IgE诱导的人类肠道肥大细胞对组胺和PGD<sub>2</sub>的释放;皮质类固醇激素能减少肠道肥大细胞的数量,这些都在治疗IBD中起着重要的作用<sup>[52,53]</sup>。令人惊奇的是,免疫调节药物氨甲喋呤能够通过抑制肥大细胞合成肝素,在克罗恩病的治疗中起重要作用<sup>[54]</sup>。这些治疗方法与肥大细胞的关系充分表明肥大细胞在IBD的发展过程中起关键作用。

## 4 结论

肥大细胞是在炎症性肠病发病机制中起重要作用的一类细胞,他在受到各种因素的刺激后被激活释放多种化学及生物介质和促炎症性细

胞因子,介导炎症的反应。对MC的深入研究能更好的阐明IBD的发病机制,同时了解了MC释放的各种介质和细胞因子的作用后,可以利用各种介质和促炎症因子的抗体和抑制剂为治疗IBD寻找新的思路。

## 5 参考文献

- Endo K, Shiga H, Kinouchi Y, Shimosegawa T. [Inflammatory bowel disease: IBD]. *Rinsho Byori* 2009; 57: 527-532 [PMID: 19621784]
- Matricon J. [Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease]. *Med Sci (Paris)* 2010; 26: 405-410 [PMID: 20412746 DOI: 10.1051/medsci/2010264405]
- Guilarte M, Santos J, de Torres I, Alonso C, Vicario M, Ramos L, Martínez C, Casellas F, Saperas E, Malagelada JR. Diarrhoea-predominant IBS patients show mast cell activation and hyperplasia in the jejunum. *Gut* 2007; 56: 203-209 [PMID: 17005763 DOI: 10.1136/gut.2006.100594]
- Irving PM, Gibson PR. Infections and IBD. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 18-27 [PMID: 18174904 DOI: 10.1038/ncpgasthep1004]
- Wierzbicki M, Brzezińska-Błaszczak E. [The role of mast cells in the development of inflammatory bowel diseases]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2008; 62: 642-650 [PMID: 19037190]
- Jamur MC, Oliver C. Origin, maturation and recruitment of mast cell precursors. *Front Biosci (Schol Ed)* 2011; 3: 1390-1406 [PMID: 21622276 DOI: 10.2741/231]
- Takemoto CM, Lee YN, Jegga AG, Zablocki D, Brandal S, Shahlaee A, Huang S, Ye Y, Gowrisankar S, Huynh J, McDevitt MA. Mast cell transcriptional networks. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 41: 82-90 [PMID: 18406636 DOI: 10.1016/j.bcmd.2008.02.005]
- He SH. Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 309-318 [PMID: 14760748]
- Norris HT, Zamcheck N, Gottlieb LS. The presence and distribution of mast cells in the human gastrointestinal tract at autopsy. *Gastroenterology* 1963; 44: 448-455 [PMID: 13938969]
- Andoh A, Deguchi Y, Inatomi O, Yagi Y, Bamba S, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Immunohistochemical study of chymase-positive mast cells in inflammatory bowel disease. *Oncol Rep* 2006; 16: 103-107 [PMID: 16786130]
- Acikalin MF, Oner U, Topcu I, Yaşar B, Kiper H, Colak E. Tumour angiogenesis and mast cell density in the prognostic assessment of colorectal carcinomas. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 162-169 [PMID: 15888280 DOI: 10.1016/j.dld.2004.09.028]
- Harvima IT, Nilsson G. Mast cells as regulators of skin inflammation and immunity. *Acta Derm Venereol* 2011; 91: 644-650 [PMID: 21879235]
- Yu S, Li Q, Cavanaugh S, Undem BJ, Ouyang A. Characterization of mast cell subtypes, distribution, and antigen-induced activation in the guinea pig esophagus. *Dis Esophagus* 2009; 22: 600-605 [PMID: 19222531 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2009.00944.x]
- Wu LC. Immunoglobulin E receptor signaling and asthma. *J Biol Chem* 2011; 286: 32891-32897 [PMID: 21799019 DOI: 10.1074/jbc.R110.205104]
- Wang H, Wang HS, Liu ZP. Agents that induce

- pseudo-allergic reaction. *Drug Discov Ther* 2011; 5: 211-219 [PMID: 22466368 DOI: 10.5582/ddt.2011.v5.5.211]
- 16 Chen X, Feng BS, Zheng PY, Liao XQ, Chong J, Tang SG, Yang PC. Fc gamma receptor signaling in mast cells links microbial stimulation to mucosal immune inflammation in the intestine. *Am J Pathol* 2008; 173: 1647-1656 [PMID: 18974296 DOI: 10.2353/ajpath.2008.080487]
  - 17 Okumura S, Kashiwakura J, Tomita H, Matsumoto K, Nakajima T, Saito H, Okayama Y. Identification of specific gene expression profiles in human mast cells mediated by Toll-like receptor 4 and FcεRI. *Blood* 2003; 102: 2547-2554 [PMID: 12855579 DOI: 10.1182/blood-2002-12-3929]
  - 18 Feng BS, He SH, Zheng PY, Wu L, Yang PC. Mast cells play a crucial role in Staphylococcus aureus peptidoglycan-induced diarrhea. *Am J Pathol* 2007; 171: 537-547 [PMID: 17600127 DOI: 10.2353/ajpath.2007.061274]
  - 19 Wu L, Feng BS, He SH, Zheng PY, Croitoru K, Yang PC. Bacterial peptidoglycan breaks down intestinal tolerance via mast cell activation: the role of TLR2 and NOD2. *Immunol Cell Biol* 2007; 85: 538-545 [PMID: 17563761 DOI: 10.1038/sj.icb.7100079]
  - 20 Stoianov SG, Penchev PI, Gerova VA, Tsenova VG. Histamine, 5-hydroxytryptamine, collagen, mast cells and Ig-secreting cells in the small bowel disorders with diarrhea. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 486-487 [PMID: 19104721]
  - 21 Swedenborg J, Mäyränpää MI, Kovanen PT. Mast cells: important players in the orchestrated pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 734-740 [PMID: 21205988 DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.213157]
  - 22 Dai H, Korthuis RJ. Mast Cell Proteases and Inflammation. *Drug Discov Today Dis Models* 2011; 8: 47-55 [PMID: 22125569 DOI: 10.1016/j.ddmod.2011.06.004]
  - 23 Sismanopoulos N, Delivanis DA, Alysandratos KD, Angelidou A, Vasiadi M, Therianou A, Theoharides TC. IL-9 induces VEGF secretion from human mast cells and IL-9/IL-9 receptor genes are overexpressed in atopic dermatitis. *PLoS One* 2012; 7: e33271 [PMID: 22413008 DOI: 10.1371/journal.pone.0033271]
  - 24 Takafuji S, Tadokoro K, Ito K, Nakagawa T. Release of granule proteins from human eosinophils stimulated with mast-cell mediators. *Allergy* 1998; 53: 951-956 [PMID: 9821474 DOI: 10.1111/j.1398-9995.1998.tb03795.x]
  - 25 Cruz AC, Hall TS, Jones KD, Edwards ST, Fang KC. Induction of mast cell activation and CC chemokine responses in remodeling tracheal allografts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 154-161 [PMID: 15059785 DOI: 10.1165/rcmb.2003-0440OC]
  - 26 Tripodo C, Gri G, Piccaluga PP, Frossi B, Guarnotta C, Piconese S, Franco G, Vetri V, Pucillo CE, Florena AM, Colombo MP, Pileri SA. Mast cells and Th17 cells contribute to the lymphoma-associated pro-inflammatory microenvironment of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Am J Pathol* 2010; 177: 792-802 [PMID: 20595635 DOI: 10.2353/ajpath.2010.091286]
  - 27 Dvorak AM, Monahan RA, Osage JE, Dickersin GR. Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. II. Immunologic inflammatory response. Alterations of mast cells, basophils, eosinophils, and the microvasculature. *Hum Pathol* 1980; 11: 606-619 [PMID: 7450737 DOI: 10.1016/S0046-8177(80)80072-4]
  - 28 Nolte H, Spjeldnaes N, Kruse A, Windelborg B. Histamine release from gut mast cells from patients with inflammatory bowel diseases. *Gut* 1990; 31: 791-794 [PMID: 1695160 DOI: 10.1136/gut.31.7.791]
  - 29 Gelbmann CM, Mestermann S, Gross V, Köllinger M, Schölmerich J, Falk W. Strictures in Crohn's disease are characterised by an accumulation of mast cells colocalised with laminin but not with fibronectin or vitronectin. *Gut* 1999; 45: 210-217 [PMID: 10403732 DOI: 10.1136/gut.45.2.210]
  - 30 Rijnierse A, Koster AS, Nijkamp FP, Kraneveld AD. Critical role for mast cells in the pathogenesis of 2,4-dinitrobenzene-induced murine colonic hypersensitivity reaction. *J Immunol* 2006; 176: 4375-4384 [PMID: 16547276]
  - 31 Kleinschmidt S, Harder J, Nolte I, Marsilio S, Hewicker-Trautwein M. Phenotypical characterization, distribution and quantification of different mast cell subtypes in transmural biopsies from the gastrointestinal tract of cats with inflammatory bowel disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 137: 190-200 [PMID: 20646765 DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.05.005]
  - 32 Hamilton MJ, Sinnamon MJ, Lyng GD, Glickman JN, Wang X, Xing W, Krilis SA, Blumberg RS, Adachi R, Lee DM, Stevens RL. Essential role for mast cell tryptase in acute experimental colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 290-295 [PMID: 21173247 DOI: 10.1073/pnas.1005758108]
  - 33 Xie H, He SH. Roles of histamine and its receptors in allergic and inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2851-2857 [PMID: 15902718]
  - 34 Cenac N, Chin AC, Garcia-Villar R, Salvador-Cartier C, Ferrier L, Vergnolle N, Buret AG, Fioramonti J, Bueno L. PAR2 activation alters colonic paracellular permeability in mice via IFN-gamma-dependent and -independent pathways. *J Physiol* 2004; 558: 913-925 [PMID: 15194744 DOI: 10.1113/jphysiol.2004.061721]
  - 35 Hyun E, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Vergnolle N. Protease-activated receptor-2 activation: a major actor in intestinal inflammation. *Gut* 2008; 57: 1222-1229 [PMID: 18460552 DOI: 10.1136/gut.2008.150722]
  - 36 Groschwitz KR, Ahrens R, Osterfeld H, Gurish MF, Han X, Abrink M, Finkelman FD, Pejler G, Hogan SP. Mast cells regulate homeostatic intestinal epithelial migration and barrier function by a chymase/Mcpt4-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 22381-22386 [PMID: 20018751 DOI: 10.1073/pnas.0906372106]
  - 37 Wan MX, Liu Q, Wang Y, Thorlacius H. Protective effect of low molecular weight heparin on experimental colitis: role of neutrophil recruitment and TNF-alpha production. *Inflamm Res* 2002; 51: 182-187 [PMID: 12058955 DOI: 10.1007/PL00000290]
  - 38 Arima M, Fukuda T. Prostaglandin D and T(H)2 inflammation in the pathogenesis of bronchial asthma. *Korean J Intern Med* 2011; 26: 8-18 [PMID: 21437156 DOI: 10.3904/kjim.2011.26.1.8]
  - 39 Kajiwarra N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, Okayama Y. Activation of human mast cells through the platelet-activating factor receptor. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125:

# ■名词解释

肌球蛋白轻链激酶(MLCK): 一种钙调素(CaM)依赖酶, 催化肌球蛋白20 kDa轻链(MLC)的磷酸化, 使肌球蛋白得以激活, 从而引起平滑肌的收缩活动。



## ■同行评价

本文结构紧凑、思路明确、可读性强,具有一定的理论价值和科学意义。

- 1137-1145. e6 [PMID: 20392487 DOI: 10.1016/j.jaci.2010.01.056]
- 40 Thornton M, Solomon MJ. Crohn's disease: in defense of a microvascular aetiology. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17: 287-297 [PMID: 12172921 DOI: 10.1007/s00384-002-0408-5]
- 41 Hocke M, Richter L, Bossekert H, Eitner K. Platelet activating factor in stool from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2333-2337 [PMID: 10521992]
- 42 Oprins JC, van der Burg C, Meijer HP, Munnik T, Groot JA. Tumour necrosis factor alpha potentiates ion secretion induced by histamine in a human intestinal epithelial cell line and in mouse colon: involvement of the phospholipase D pathway. *Gut* 2002; 50: 314-321 [PMID: 11839707 DOI: 10.1136/gut.50.3.314]
- 43 Rijniense A, Koster AS, Nijkamp FP, Kraneveld AD. TNF-alpha is crucial for the development of mast cell-dependent colitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G969-G976 [PMID: 16798721 DOI: 10.1152/ajpgi.00146.2006]
- 44 Textor B, Licht AH, Tuckermann JP, Jessberger R, Razin E, Angel P, Schorpp-Kistner M, Hartenstein B. JunB is required for IgE-mediated degranulation and cytokine release of mast cells. *J Immunol* 2007; 179: 6873-6880 [PMID: 17982078]
- 45 McGuckin MA, Eri R, Simms LA, Florin TH, Radford-Smith G. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 100-113 [PMID: 18623167 DOI: 10.1002/ibd.20539]
- 46 Roberts-Thomson IC, Fon J, Uylaki W, Cummins AG, Barry S. Cells, cytokines and inflammatory bowel disease: a clinical perspective. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 703-716 [PMID: 22017698 DOI: 10.1586/egh.11.74]
- 47 Monteleone I, Pallone F, Monteleone G. Th17-related cytokines: new players in the control of chronic intestinal inflammation. *BMC Med* 2011; 9: 122 [PMID: 22082127 DOI: 10.1186/1741-7015-9-122]
- 48 Banks C, Bateman A, Payne R, Johnson P, Sheron N. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokine expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pathol* 2003; 199: 28-35 [PMID: 12474223 DOI: 10.1002/path.1245]
- 49 Murphy CT, Nally K, Shanahan F, Melgar S. Shining a light on intestinal traffic. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 808157 [PMID: 22162719]
- 50 Ali T, Yun L, Rubin DT. Risk of post-operative complications associated with anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 197-204 [PMID: 22294822 DOI: 10.3748/wjg.v18.i3.197]
- 51 Tremaine WJ, Brzezinski A, Katz JA, Wolf DC, Fleming TJ, Mordenti J, Strenkoski-Nix LC, Kurth MC. Treatment of mildly to moderately active ulcerative colitis with a tryptase inhibitor (APC 2059): an open-label pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 407-413 [PMID: 11876693 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01194.x]
- 52 Peh KH, Wan BC, Assem ES, Pearce FL. Effect of sulphasalazine and balsalazide on histamine release from mast cells. *Inflamm Res* 2007; 56 Suppl 1: S9-S10 [PMID: 17806157 DOI: 10.1007/s00011-006-0504-z]
- 53 Baiula M, Spartà A, Bedini A, Carbonari G, Bucolo C, Ward KW, Zhang JZ, Govoni P, Spampinato S. Eosinophil as a cellular target of the ocular anti-allergic action of mapracorat, a novel selective glucocorticoid receptor agonist. *Mol Vis* 2011; 17: 3208-3223 [PMID: 22194647]
- 54 Marcondes S, Baú EC, Antunes E, Dietrich CP, Nader HB, De Nucci G. Inhibition of heparin synthesis by methotrexate in rats in vivo. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 169-175 [PMID: 12123736 DOI: 10.1016/S0006-2952(02)01063-8]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

# • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿,保证稿件尽快公平、公正的处理,《世界华人消化杂志》编辑部研究决定,从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。

# 血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系

陈城, 于成功

陈城, 于成功, 南京中医药大学鼓楼临床学院 江苏省南京市 210008

于成功, 南京大学医学院附属鼓楼医院 江苏省南京市 210008

作者贡献分布: 于成功负责论文设计与修改; 陈城负责文献收集整理分析及论文撰写。

通讯作者: 于成功, 主任医师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化内科。

chenggong.yu@gmail.com

收稿日期: 2012-12-25 修回日期: 2013-02-05

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Effect of vascular endothelial cells on the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Cheng Chen, Cheng-Gong Yu

Cheng Chen, Cheng-Gong Yu, Department of Gastroenterology, Gulou Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Cheng-Gong Yu, Department of Gastroenterology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Cheng-Gong Yu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. chenggong.yu@gmail.com

Received: 2012-12-25 Revised: 2013-02-05

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), are a group of chronic recurrent intestinal autoimmune diseases characterized by chronic intestinal inflammation. The important characteristics of persistent intestinal inflammation in IBD are the aggregation of inflammatory cells and the release of inflammatory factors in the intestinal mucosa. Functional alternations of immune cells and intestinal microvascular endothelial cells play an important role in the mucosal immunity and intestinal function. Moreover, alternation of the structure and function of microvascular endothelial cells can regulate the migration of immune cells, blood supply and homeostasis of intestinal tissue. Endothelial cells in newly formed vessels

can induce tissue injury by regulating the recruitment of blood cells and inflammatory mediators to maintain the inflammatory reaction.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Endothelial cells; Inflammatory bowel disease; Pathogenesis

Chen C, Yu CG. Effect of vascular endothelial cells on the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 585-590 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.585>

## 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组以肠道慢性炎症为主要表现的慢性复发性肠道自身免疫性疾病, 包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。在IBD的发病过程中, 引起肠道炎症持续存在的重要原因和特征是黏膜组织中的炎细胞集聚和释放各种炎症因子, 其中各种免疫细胞及肠微血管内皮细胞的功能变化对黏膜免疫和胃肠道生理改变发挥了十分重要的作用。这些改变中微血管内皮细胞的结构和功能改变能影响免疫细胞的迁移、组织的血供及内环境的稳定。新生血管通过血管内皮细胞调节炎症性细胞的招募、炎症介质和维持炎症反应进而引起组织损伤。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 内皮细胞; 炎症性肠病; 发病机制

陈城, 于成功. 血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 585-590 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.585>

## 0 引言

微血管内皮是交通血管、淋巴管的微血管的重要组成部分, 他由血管内皮细胞通过细胞间连接而形成单细胞层屏障, 其完整性保证了血管与周围组织间的物质运输及微循环的稳态。作

## ■背景资料

血管内皮细胞已经被认为是参与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发生发展的重要因素, 内皮细胞的功能受多种介质的调节, 同时也影响肠黏膜新生血管的形成和炎症的发生发展。因此深入研究内皮细胞的功能对了解IBD的发病机制及开发新的治疗方法有重要意义。

## ■同行评议者

洪艳, 教授, 贵阳医学院组胚教研室

# ■创新盘点

本文对内皮细胞在IBD发病中作用的研究进展进行系统的总结。

为肠黏膜非免疫细胞的一员,内皮细胞与肠黏膜免疫细胞相互作用,共同调节肠黏膜免疫的平衡以及肠黏膜结构和功能的稳定<sup>[1]</sup>。通常情况下肠黏膜微血管内皮具有半选择性通透的屏障作用,微血管内外的溶质和液体交换受控于血管内皮细胞的通透性,而血管内皮通透性的调节主要通过内皮细胞通透性调节、内皮细胞间连接通透性调节和细胞外肌动蛋白调节3方面进行,其中细胞骨架肌动蛋白和连接复合物起重要作用<sup>[2]</sup>。在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发生发展的过程中,血管内皮受到炎症局部高炎症因子和生长因子的影响,不仅其屏障功能发生变化,其调节肠黏膜免疫平衡功能也发生迅速的变化,这些变化共同导致了肠黏膜组织的损伤。

## 1 IBD中内皮屏障功能障碍

正常的微血管内皮屏障能维持能量供应和气体交换、渗透平衡以及维持组织细胞间的白细胞丰度。IBD时白细胞浸润至局部肠黏膜组织中,产生多种细胞因子对内皮细胞直接造成损害,增加局部血管的通透性,进而导致肠壁组织水肿和组织损伤,破坏正常的屏障功能。此外炎症局部释放的多种介质,尤其是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),还能通过诱导基质金属蛋白-1(mucosalmatrixmetalloproteinase-1, MMP-1)、MMP-9等降解细胞间链接蛋白,改变溶质渗透率和增加血管通透性<sup>[3]</sup>。Tolstanova等<sup>[4]</sup>在碘乙酰胺的结肠炎模型中发现VEGF-A的抑制剂能降低血管通透性。抗炎因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)的下调也可能在增加血管通透性方面起十分重要的作用, Tolstanova等<sup>[5]</sup>发现在IL-10缺陷的鼠结肠炎模型中,结肠组织黏膜下水肿呈自发性加重,这可能与局部血管通透性增加所致的血管内皮屏障功能障碍有关。内皮屏障功能障碍时在炎症因子刺激下,活化的内皮细胞黏附分子表达也将发生改变,进而影响内皮细胞与血液中各种炎性细胞、血小板的黏附作用,继而影响黏膜免疫。

## 2 IBD中相关炎症因子和趋化因子对内皮细胞的影响

促炎因子包括IL-6、IL-23、IL-12和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等的血浆水平含量在IBD均有不同程度的增高,这些炎症因

子通过对内皮细胞不同的作用,破坏血管内皮结构和功能的完整性,加重炎症反应,而充当着黏膜损伤的介质。TNF- $\alpha$ 是一种对血管内皮具有多效性的炎症因子,可以通过多种途径损伤血管内皮细胞,而损伤的血管内皮细胞又能促进TNF- $\alpha$ 的释放,进一步加重血管内皮的损伤,两者互为因果,形成恶性循环。其损伤内皮的机制包括<sup>[6-9]</sup>:(1)诱导细胞凋亡或直接损伤内皮细胞,导致肌动蛋白重新排列和纤维连接蛋白的丢失,破坏血管内皮正常的结构;(2)改变细胞酶类代谢,诱导内皮细胞产生诱导型一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS),激活细胞内溶酶体酶和细胞表面蛋白酶表达,进一步损伤血管内皮;(3)产生趋化因子和诱导内皮细胞黏附分子的表达,促进炎细胞的黏附和迁移,加重炎症反应。IL-6可以活化血小板产生血小板源性炎症因子,引起炎症因子瀑布反应;同时也是联系全身免疫反应和局部血管损伤的主要体内循环物质,实验证明<sup>[10]</sup>, IL-6可以明显增加血管内皮细胞中血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)和乳酸脱氢酶(lactatedehydrogenase, LDH)水平,而ACE的变化水平是血管内皮细胞损伤的可靠标志。IL-23作为IL-12分子家族的一员,由激活的单核-巨噬细胞和树突状细胞分泌的细胞因子,可以显著的诱导IBD患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)激活,分泌高水平的TNF- $\alpha$ 和干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ),继而对内皮细胞造成损伤<sup>[11]</sup>。而抗炎因子IL-10活性缺陷,也可能在TNF- $\alpha$ 介导的炎症反应中起重要作用。IL-10缺陷小鼠在用TNF- $\alpha$ 诱导IBD模型后,使用外源性IL-10治疗能够明显改善组织损伤<sup>[12]</sup>。趋化因子作为趋炎多肽细胞因子的超家族,主要由白细胞和造血微环境的基质细胞分泌,可结合在血管内皮细胞表面,具有激活和趋化白细胞移动作用<sup>[13]</sup>。目前已经发现<sup>[14]</sup>IBD患者体内趋化因子CX3C/fractalkine(FKN)与TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 、人肠微血管内皮细胞(HIMVECs)结合后表达上调,T细胞中也存在CX3CR1的表达上调。FKN能促进白细胞趋化、迁移等而放大局部炎症反应。另一种很有意思的趋化因子,中期因子(midkine),在IBD患者血清中含量也明显增高的,他可通过上调内皮细胞表面黏附分子的表达进行白细胞招募,此外他还具有显著的促进血管新生作用<sup>[15,16]</sup>。

## 3 IBD中的新生血管与内皮细胞

在TNBS、DSS诱导的结肠炎模型中由于炎症局



部血管内皮损伤和炎症因子的释放, 而出现代偿性新生血管的形成. IBD中新生血管的形成是通过内皮细胞的活化、增殖和迁移完成的, 这些不成熟的新生血管具有高渗透、低灌注、高血栓形成的特点<sup>[17,18]</sup>. Ganta等<sup>[19]</sup>发现生长因子可以直接刺激血管内皮细胞增殖和移动, 并增加微血管通透性, 促进新生血管的形成. 动物模型实验已经证实<sup>[20]</sup>, CD和UC模型肠道血管密度的增高与疾病严重程度直接相关. 此外还有研究证实<sup>[21]</sup>IBD患者及UC动物模型外周血中内皮祖细胞数量明显减少, 表明代偿性新生血管的形成所致的内皮细胞迁移并未缓解局部受损后的微循环障碍, 反而由于这些不成熟的新生血管内血液灌注低、溶质渗透率高, 白细胞、血小板黏高, 加重疾病.

#### 4 IBD中高表达的黏附分子与内皮细胞

IBD炎症反应的重要特点是免疫激活、白细胞浸润和血管通透性增加, 而白细胞与特异性内皮细胞黏附分子相互作用是炎细胞浸润过程的一个关键环节<sup>[22]</sup>. 活化的内皮细胞表面表达选择素和黏附分子, 选择素使白细胞在血管内由随血液快速流动变为附着翻滚<sup>[23]</sup>, 随后整合素与黏附分子结合将白细胞稳定黏附于血管内皮腔面, 最后白细胞穿透受损的内皮间连接, 完成跨膜迁移并放大炎症反应, 加重对血管内皮和肠黏膜组织的损害. 已证实IBD中内皮细胞表达的黏附分子上调与疾病的严重程度有关<sup>[24-27]</sup>; 也有研究证实<sup>[28-30]</sup>应用黏附分子拮抗剂或内源性可溶性血管细胞黏附分子-1(soluble vascular cell adhesion molecule-1, sVCAM-1)可使白细胞黏附率下降.

细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)作为一种重要的内皮细胞黏附分子, 与淋巴细胞功能抗原-1(leukocyte function-associated antigen-1, LFA-1)、Mac-1和整合素 $\alpha 4\beta 2$ 结合, 在炎症介质的影响下由内皮细胞表达, 参与白细胞与活化的内皮细胞之间的黏附. Goebel等<sup>[31]</sup>提出VEGF-A能诱导新生血管内皮细胞持续表达ICAM-1; 也有研究发现VEGF还能增加活化的内皮细胞对ICAM-1表达的敏感性. VCAM-1是IBD中活化的血管内皮腔面表达的黏附分子, 能介导致白细胞表达的整合素 $\alpha 4\beta 1$ 的黏附; 与ICAM-1相似, VEGF-A也能促进VCAM-1表达.

P-选择素存在于静息血小板的 $\alpha$ 颗粒和内

皮细胞的Weibel-Palade小体中, 静止的血小板和内皮细胞表面并不表达P-选择素, 当组织受到炎症或其他损伤时, 经凝血酶或组胺等刺激, 血小板的 $\alpha$ 颗粒和内皮细胞的Weibel-Palade小体迅速与质膜融合, 而使P-选择素在血小板和内皮细胞表面表达<sup>[32]</sup>. 活化的血小板或内皮细胞表达的P-选择素能促进白细胞的招募, 调节细胞因子的产生, 参与血栓的形成. 研究证实<sup>[33]</sup>, IBD患者血小板表面表达的P-选择素与对照组相比增高达50%; 而血清可溶性P-选择素, 被认为是一种白细胞黏附的拮抗剂, 在IBD患者体内是降低的. 这表明血清可溶性P-选择素不能作为血小板活化的特异性标志. 因此, 如何测定血小板或内皮细胞P-选择素的表达则是今后有关研究中需要解决的问题.

E-选择素, 不存在于内皮细胞的Weibel-Palade小体中, 必须在炎症因子IL-1、TNF- $\alpha$ 、VEGF-A等刺激下由活化的内皮细胞表面表达产生, 主要参与淋巴细胞沿血管内皮的黏附及滚动<sup>[34]</sup>. 与可溶性P-选择素不同, 可溶性E-选择素在IBD中并不下调. 有研究证实<sup>[35]</sup>, 在CD患者中可溶性E-选择素含量与对照组相比却升高. CD146, 现在被认为是在IBD患者肠组织中含升高的一种新的免疫球蛋白超家族黏附分子. CD146在IBD中的作用并未完全揭晓, 和ICAM-1及VCAM-1一样, 可能是因为VEGF的过度表达而所致<sup>[36]</sup>. 此外, 可溶性CD146和他的配体间的相互作用的减弱而加强了白细胞的外渗. CD和UC患者内皮细胞在受到多种炎症因子(除LPS外)刺激后, 向肠炎症区域招募免疫细胞的能力增加, 这和内皮细胞对IBD中高炎症介质负载量的反应是一致的.

#### 5 IBD中一氧化氮和内皮细胞

一氧化氮由NOS催化L-精氨酸生成. 目前已知的NOS有神经型NOS(nNOS)、内皮型NOS(eNOS)及诱生型NOS(iNOS). NO在IBD中发挥着双重作用, 正常情况下eNOS合成的少量NO具有舒张血管、抗氧化损伤、抑制血小板黏附与聚集和多核粒细胞聚集的作用<sup>[37,38]</sup>; 而过量的NO(多由iNOS合成)可诱导微血管壁通透性增高, 导致水肿、充血和组织损伤. NO诱导微血管内皮细胞通透性的机制包括以下两部分<sup>[39,40]</sup>: (1)鸟苷酸环化酶和磷脂酶C活性增高导致细胞内钙离子浓度上调, 激活离子通道受体信号途径; (2)蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)活化导致肌动蛋白收

#### ■应用要点

本文对内皮细胞在IBD发病机制中的作用进行综述, 旨在为后续的研究提供理论基础.

## ■同行评价

本文内容较为详实,具有一定指导意义。

缩,最终导致血管内皮细胞通透性增加。Mechén等<sup>[41]</sup>发现UC患者炎症黏膜中iNOS活性明显增高,与健康人黏膜或UC患者的正常黏膜相比,有显著差异。此外Yasukawa等<sup>[42]</sup>在鼠结肠炎模型中发现iNOS产生的NO能够升高小鼠中、末段结肠组织中TNF- $\alpha$ 的水平,并上调TNF- $\alpha$ 所介导的P-选择素和ICAM-1的表达,促进活化的中性粒细胞与血管内皮细胞的黏附,进而造成组织损伤。越来越多的研究表明肠内环境稳态是受控于相应的NO,过量的NO合成可能是IBD重要的病理生理基础。

## 6 干预内皮细胞功能与IBD的治疗

在肠道慢性炎症中,微血管内皮起重要作用,如内皮细胞被激活后可表达各种黏附分子,使血液中白细胞跨膜迁移进入炎症病灶。由此产生了选择性抗白细胞黏附治疗的手段,如抗 $\alpha 4$ 整合素抑制剂-那他珠单抗,通过阻断白细胞表面 $\alpha 4$ 整合素有效地拮抗白细胞与内皮细胞表面黏附分子(包括VCAM-1和MadCAM-1)的结合<sup>[43]</sup>,目前已通过FDA批准可应用于免疫抑制剂或TNF抑制剂治疗失败或不耐受的难治性克罗恩病。此外,对HIMEC的成功分离加深了对于特异性内皮在IBD炎症局部作用的理解。新生血管的形成,已经被认为在多种疾病发病中起重要作用。虽然目前对于抑制新生血管的形成暂未作为治疗IBD的常规手段,但体外实验证明<sup>[44]</sup>,沙利度胺,一种TNF- $\alpha$ 抑制剂,通过抑制HIMECs表面黏附分子的表达、核因子(nuclear factor  $\kappa$  B, NF- $\kappa$ B)的活化达到抗黏附的作用,同时还能显著抑制VEGF刺激下的HIMECs的增殖和活化发挥抗血管生成的作用。尽管有临床报道<sup>[45]</sup>沙利度胺对于治疗某些难治性CD有效,但也有研究<sup>[46,47]</sup>显示临床应用沙利度胺诱导和维持CD缓解与安慰剂无明显优势;由于是否可在慢性IBD患者中长期使用还缺乏可靠依据,因此该药在临床上应谨慎使用。其他具有抗新生血管形成潜能的药物例如COX-2抑制剂、 $\alpha$ -干扰素,由于存在有不可预知的危害而导致其在IBD抗新生血管形成方面应用受到限制。一种天然化合物姜黄素,在IBD治疗中具有抗炎、抗血管生成和抗纤维化作用<sup>[48]</sup>,目前对其机制的研究十分令人关注。近来Hanai等<sup>[49]</sup>的一项大样本随机对照临床研究表明,姜黄素是一种能够减少静止期UC患者复发的安全、有效的药物。此外,Scaldaferri等<sup>[50]</sup>研究发现IBD患者病变部位VEGF-A水平和血管生

成增加,VEGF-A除了增加血管通透性外,还能上调ICAM-1,促进白细胞聚集,而VEGFR-2是VEGF-A的关键受体,提示今后的治疗可以以该受体作为靶点。

## 7 结论

血管内皮细胞已被认为是参与IBD发生发展的重要因素,内皮细胞的功能受多种介质的调节,同时也影响肠黏膜新生血管的形成和炎症的发生发展。因此深入研究内皮细胞的功能对了解IBD的发病机制及开发新的治疗方法具有重要意义。

## 8 参考文献

- 1 白爱平. 肠黏膜非免疫细胞在炎症性肠病发病中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2020-2023
- 2 张庆芝, 闵锐. 血管内皮通透性调节机制新进展. 中国微循环 2009; 13: 585-588
- 3 Meijer MJ, Mieremet-Ooms MA, van der Zon AM, van Duijn W, van Hogezaand RA, Sier CF, Hommes DW, Lamers CB, Verspaget HW. Increased mucosal matrix metalloproteinase-1, -2, -3 and -9 activity in patients with inflammatory bowel disease and the relation with Crohn's disease phenotype. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 733-739 [PMID: 17602907 DOI: 10.1016/j.dld.2007.05.010]
- 4 Tolstanova G, Khomenko T, Deng X, Chen L, Tarnawski A, Ahluwalia A, Szabo S, Sandor Z. Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody reduces severity of experimental ulcerative colitis in rats: direct evidence for the pathogenic role of VEGF. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328: 749-757 [PMID: 19060224 DOI: 10.1124/jpet.108.145128]
- 5 Tolstanova G, Deng X, French SW, Lungu W, Pautnovic B, Khomenko T, Ahluwalia A, Kaplan T, Dacosta-Iyer M, Tarnawski A, Szabo S, Sandor Z. Early endothelial damage and increased colonic vascular permeability in the development of experimental ulcerative colitis in rats and mice. *Lab Invest* 2012; 92: 9-21 [PMID: 21894149 DOI: 10.1038/labinvest.2011.122]
- 6 Sands BE, Kaplan GG. The role of TNF $\alpha$  in ulcerative colitis. *J Clin Pharmacol* 2007; 47: 930-941 [PMID: 17567930 DOI: 10.1177/0091270007301623]
- 7 Kanaji N, Nelson A, Wang X, Sato T, Nakanishi M, Gunji Y, Basma H, Michalski J, Farid M, Rennard SI, Liu X. Differential Roles of JNK, ERK1/2, and p38 Mitogen-Activated Protein Kinases on Endothelial Cell Tissue Repair Functions in Response to Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ . *J Vasc Res* 2012; 50: 145-156 [PMID: 23258237 DOI: 10.1159/000345525]
- 8 Danese S, Sans M, Scaldaferri F, Sgambato A, Rutella S, Cittadini A, Piqué JM, Panes J, Katz JA, Gasbarrini A, Fiocchi C. TNF- $\alpha$  blockade down-regulates the CD40/CD40L pathway in the mucosal microcirculation: a novel anti-inflammatory mechanism of infliximab in Crohn's disease. *J Immunol* 2006; 176: 2617-2624 [PMID: 16456024]
- 9 Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation.

- Expert Rev Mol Med* 2009; 11: e19 [PMID: 19563700 DOI: 10.1017/S1462399409001112]
- 10 马丽萍, 张国元, 秦永文, 郑兴, 吴宗贵, 侯健. 17 $\beta$ -雌二醇对白细胞介素6肿瘤坏死因子诱导的内皮细胞损伤的影响. *心肺血管病杂志* 2002; 21: 48-50
  - 11 崔铁, 黄志刚, 刘占举. IL-23在炎症性肠病中的免疫调节作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1649-1654
  - 12 Scheinin T, Butler DM, Salway F, Scallan B, Feldmann M. Validation of the interleukin-10 knockout mouse model of colitis: antitumour necrosis factor-antibodies suppress the progression of colitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 38-43 [PMID: 12823276]
  - 13 Dimberg A. Chemokines in angiogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010; 341: 59-80 [PMID: 20373091 DOI: 10.1007/82\_2010\_21]
  - 14 Sans M, Danese S, de la Motte C, de Souza HS, Rivera-Reyes BM, West GA, Phillips M, Katz JA, Fiocchi C. Enhanced recruitment of CX3CR1+ T cells by mucosal endothelial cell-derived fractalkine in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 139-153 [PMID: 17241867 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.10.010]
  - 15 Dharmani P, Chadee K. Biologic therapies against inflammatory bowel disease: a dysregulated immune system and the cross talk with gastrointestinal mucosa hold the key. *Curr Mol Pharmacol* 2008; 1: 195-212 [PMID: 20021434]
  - 16 Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M. Clinical relevance of circulating midkine in ulcerative colitis. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47: 1085-1090 [PMID: 19728850 DOI: 10.1515/CCLM.2009.248]
  - 17 Uh MK, Kandel J, Kitajewski J. Evaluating tumor angiogenesis. *Methods Mol Biol* 2013; 980: 341-351 [PMID: 23359165 DOI: 10.1007/978-1-62703-287-2\_20]
  - 18 Michaelis UR, Chavakis E, Kruse C, Jungblut B, Kaluza D, Wandzioch K, Manavski Y, Heide H, Santoni MJ, Potente M, Eble JA, Borg JP, Brandes RP. The Polarity Protein Scrib is Essential for Directed Endothelial Cell Migration. *Circ Res* 2013 Jan 29. [Epub ahead of print] [PMID: 23362312 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.300592]
  - 19 Ganta VC, Cromer W, Mills GL, Traylor J, Jennings M, Daley S, Clark B, Mathis JM, Bernas M, Boktor M, Jordan P, Witte M, Alexander JS. Angiopoietin-2 in experimental colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1029-1039 [PMID: 19902545 DOI: 10.1002/ibd.21150]
  - 20 Chidlow JH, Langston W, Greer JJ, Ostanin D, Abdelbaqi M, Houghton J, Senthilkumar A, Shukla D, Mazar AP, Grisham MB, Kevil CG. Differential angiogenic regulation of experimental colitis. *Am J Pathol* 2006; 169: 2014-2030 [PMID: 17148665 DOI: 10.2353/ajpath.2006.051021]
  - 21 Deng X, Szabo S, Chen L, Paunovic B, Khomenko T, Tolstanova G, Tarnawski AS, Jones MK, Sandor Z. New cell therapy using bone marrow-derived stem cells/endothelial progenitor cells to accelerate neovascularization in healing of experimental ulcerative colitis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1643-1651 [PMID: 21548863]
  - 22 Wee H, Oh HM, Jo JH, Jun CD. ICAM-1/LFA-1 interaction contributes to the induction of endothelial cell-cell separation: implication for enhanced leukocyte diapedesis. *Exp Mol Med* 2009; 41: 341-348 [PMID: 19307754 DOI: 10.3858/emmm.2009.41.5.038]
  - 23 Duerschmied D, Suidan GL, Demers M, Herr N, Carbo C, Brill A, Cifuni SM, Mauler M, Cicko S, Bader M, Idzko M, Bode C, Wagner DD. Platelet serotonin promotes the recruitment of neutrophils to sites of acute inflammation in mice. *Blood* 2013; 121: 1008-1015 [PMID: 23243271 DOI: 10.1182/blood-2012-06-437392]
  - 24 Deban L, Correale C, Vetrano S, Malesci A, Danese S. Multiple pathogenic roles of microvasculature in inflammatory bowel disease: a Jack of all trades. *Am J Pathol* 2008; 172: 1457-1466 [PMID: 18458096 DOI: 10.2353/ajpath.2008.070593]
  - 25 Arijs I, De Hertogh G, Machiels K, Van Steen K, Lemaire K, Schraenen A, Van Lommel L, Quintens R, Van Assche G, Vermeire S, Schuit F, Rutgeerts P. Mucosal gene expression of cell adhesion molecules, chemokines, and chemokine receptors in patients with inflammatory bowel disease before and after infliximab treatment. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 748-761 [PMID: 21326222 DOI: 10.1038/ajg.2011.27]
  - 26 Videm V, Albrigtsen M. Soluble ICAM-1 and VCAM-1 as markers of endothelial activation. *Scand J Immunol* 2008; 67: 523-531 [PMID: 18363595 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2008.02029.x]
  - 27 Gu HF, Ma J, Gu KT, Brismar K. Association of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) with diabetes and diabetic nephropathy. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3: 179 [PMID: 23346076 DOI: 10.3389/fendo.2012.00179]
  - 28 Ghosh S, Panaccione R. Anti-adhesion molecule therapy for inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 239-258 [PMID: 21180606 DOI: 10.1177/1756283X10373176]
  - 29 Yacyshyn BR. Adhesion molecule therapeutics in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14 Suppl 2: S279-S280 [PMID: 18816743 DOI: 10.1002/ibd.20710]
  - 30 郑家驹. 炎症性肠病伴慢性肠道炎症的新治疗. *胃肠病学* 2011; 16: 506-508
  - 31 Goebel S, Huang M, Davis WC, Jennings M, Siahaan TJ, Alexander JS, Kevil CG. VEGF-A stimulation of leukocyte adhesion to colonic microvascular endothelium: implications for inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G648-G654 [PMID: 16293653 DOI: 10.1152/ajpgi.00466.2005]
  - 32 胡洁琼, 陈春晓, 厉有名. P选择素与炎症性肠病. *国际消化病杂志* 2007; 27: 92-93.
  - 33 Rivera-Nieves J, Burcin TL, Olson TS, Morris MA, McDuffie M, Cominelli F, Ley K. Critical role of endothelial P-selectin glycoprotein ligand 1 in chronic murine ileitis. *J Exp Med* 2006; 203: 907-917 [PMID: 16567389 DOI: 10.1084/jem.20052530]
  - 34 Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus J, Asanuma Y, Sokka T, Pincus T, Raggi P, Gebretsadik T, Shintani A, Stein CM. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 1580-1585 [PMID: 19877084 DOI: 10.1002/art.25009]
  - 35 Magro F, Araujo F, Pereira P, Meireles E, Diniz-Ribeiro M, Veloso FT. Soluble selectins, sICAM, sVCAM, and angiogenic proteins in different activity groups of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1265-1274 [PMID: 15387356]
  - 36 Tsiolakidou G, Koutroubakis IE, Tzardi M, Kouroumalis EA. Increased expression of VEGF and CD146 in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 673-679 [PMID: 18374637 DOI: 10.1016/j.dld.2008.02.010]
  - 37 Beck PL, Xavier R, Wong J, Ezedi I, Mashimo H, Mizoguchi A, Mizoguchi E, Bhan AK, Podolsky DK.



- Paradoxical roles of different nitric oxide synthase isoforms in colonic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G137-G147 [PMID: 14665440 DOI: 10.1152/ajpgi.00309.2003]
- 38 Erdogu O, Eriksson L, Xu H, Sjöholm A, Zhang Q, Nyström T. Exendin-4 protects endothelial cells from lipooptosis by PKA PI3K eNOS p38MAPK and JNK pathways. *J Mol Endocrinol* 2013 Jan 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23343509 DOI: 10.1530/JME-12-0166]
  - 39 Sessa WC. Molecular control of blood flow and angiogenesis: role of nitric oxide. *J Thromb Haemost* 2009; 7 Suppl 1: 35-37 [PMID: 19630764 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03424.x]
  - 40 González-Mariscal L, Tapia R, Chamorro D. Crosstalk of tight junction components with signaling pathways. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 729-756 [PMID: 17950242 DOI: 10.1016/j.bbame.2007.08.018]
  - 41 Menchén L, Colón AL, Madrigal JL, Beltrán L, Botella S, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Menchén P, Cos E, Lorenzo P. Activity of inducible and neuronal nitric oxide synthases in colonic mucosa predicts progression of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1756-1764 [PMID: 15330915 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40065.x]
  - 42 Yasukawa K, Tokuda H, Tun X, Utsumi H, Yamada K. The detrimental effect of nitric oxide on tissue is associated with inflammatory events in the vascular endothelium and neutrophils in mice with dextran sodium sulfate-induced colitis. *Free Radic Res* 2012; 46: 1427-1436 [PMID: 22998024 DOI: 10.3109/10715762.2012.732698]
  - 43 Bickston SJ, Muniyappa K. Natalizumab for the treatment of Crohn's disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2010; 6: 513-519 [PMID: 20594122 DOI: 10.1586/eci.10.38]
  - 44 Rafiee P, Stein DJ, Nelson VM, Otterson MF, Shaker R, Binion DG. Thalidomide inhibits inflammatory and angiogenic activation of human intestinal microvascular endothelial cells (HIMEC). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G167-G176 [PMID: 19926820 DOI: 10.1152/ajpgi.00385.2009]
  - 45 罗涵青, 钱家鸣. 沙利度胺在顽固性炎症性肠病中的应用. *中华内科杂志* 2012; 51: 905-906
  - 46 Srinivasan R, Akobeng AK. Thalidomide and thalidomide analogues for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (2): CD007350 [PMID: 19370684 DOI: 10.1002/14651858.CD007350.pub2]
  - 47 Akobeng AK, Stokkers PC. Thalidomide and thalidomide analogues for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (2): CD007351 [PMID: 19370685 DOI: 10.1002/14651858.CD007351.pub2]
  - 48 朱梅影, 陈维雄. 姜黄素治疗炎症性肠病的研究进展. *胃肠病学* 2010; 15: 696-698
  - 49 Hanai H, Sugimoto K. Curcumin has bright prospects for the treatment of inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 2087-2094 [PMID: 19519446]
  - 50 Scaldaferrì F, Vetrano S, Sans M, Arena V, Straface G, Stigliano E, Repici A, Sturm A, Malesci A, Panes J, Yla-Herttuala S, Fiocchi C, Danese S. VEGF-A links angiogenesis and inflammation in inflammatory bowel disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2009; 136: 585-595. e5 [PMID: 19013462 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.064]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制

邱骅婧, 吴维, 刘占举

邱骅婧, 吴维, 刘占举, 同济大学附属第十人民医院消化内科 上海市 200072

邱骅婧, 硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270470, No. 81061120521  
作者贡献分布: 本文综述由邱骅婧与吴维完成; 刘占举审核。

通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科。

zhanjuliu@yahoo.com

电话: 021-66301164

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-29

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Role of hypoxic injury in pathophysiology of intestinal mucosal inflammation

Hua-Jing Qiu, Wei Wu, Zhan-Ju Liu

Hua-Jing Qiu, Wei Wu, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270470 and 81061120521

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuliu@yahoo.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-29

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Hypoxia influences the normal metabolism of cells and normal functions of organs, eventually causing diseases. Various degrees of hypoxia can be seen in the intestinal mucosa of both experimental mouse models and patients with inflammatory bowel disease (IBD), whose oxygen supply and oxygen consumption are damaged. A number of hypoxia inducible factors, such as HIF-1, HIF-2 and HIF-3, can regulate different physiological responses via different mechanisms. Proline hydroxylase domain (PHD) is a two-dioxygenase oxygen sensor that can mediate degradation of proline residues of HIFs. IBD is closely related to hypoxia. In recent years, researchers have paid more attention to improving the body's reaction to hypoxia in IBD, which is considered a novel treatment concept. This review will analyze the role of hypoxic injury in the pathophysiology of intestinal mucosal inflammation in IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hypoxia; Inflammatory bowel disease; Hypoxia-inducible factor-1; Proline hydroxylase domain

Qiu HJ, Wu W, Liu ZJ. Role of hypoxic injury in pathophysiology of intestinal mucosal inflammation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 591-596 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/591.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.591>

## 摘要

细胞缺氧影响细胞的正常代谢, 影响组织器官正常功能, 导致疾病发生。在实验小鼠模型和人类炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者的肠黏膜上均可见不同程度的缺氧, 氧供给和氧消耗之间的平衡受到破坏。机体缺氧时, 一些低氧诱导因子, 如低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1、HIF-2和HIF-3, 能够通过不同的调节机制调控不同的生理反应。脯氨酰羟化酶(proline hydroxylase domain, PHD)是一种双加氧酶的氧感受器, 通过催化HIF脯氨酸残基发生羟化反应介导其降解。IBD与缺氧有着密切的联系, 在IBD中如何提高机体对缺氧的反应逐渐被研究人员重视, 并被看作为一种新颖的治疗理念, 本文就缺氧在IBD肠道黏膜炎症损伤过程中的病理生理变化进行综述分析。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 缺氧; 炎症性肠病; 低氧诱导因子-1; 脯氨酰羟化酶

邱骅婧, 吴维, 刘占举. 缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 591-596 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/591.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.591>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)在欧美等西方国家有着较高的发病率, 但近几年随着人们生活方式的日趋西化, 在我国的患病率也逐

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包含有克罗恩病和溃疡性结肠炎, 近几年随着人们生活方式的日趋西化, 在我国的患病率也逐渐上升。人体自身免疫调节、环境因素、遗传因素及肠道菌群微生态是影响IBD疾病发生和进展的4大主要因素, 缺氧是其中一个不可忽视的重要影响因子。

## ■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

## ■ 研发前沿

炎症性肠病与缺氧有着密切的联系,在实验小鼠模型和人类IBD患者的肠黏膜上均可见不同程度的缺氧,氧供给和氧消耗之间的平衡受到破坏。机体缺氧时一些低氧诱导因子能够通过不同的调节机制调控不同的生理反应,在IBD中如何提高机体对缺氧的反应被看做作为一种新颖的治疗理念。

渐上升。IBD包含有克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC),人体自身免疫调节、环境因素、遗传因素及肠道菌群调节是影响IBD疾病发生和进展的4大主要因素,缺氧是其中一项不可忽视的重要影响因子<sup>[1-4]</sup>,以下就缺氧条件下的氧调节因子、缺氧对IBD的病理生理影响及未来治疗新方向逐一展开介绍。

## 1 缺氧环境下氧调节因子

机体缺氧时,一些低氧诱导因子[如hypoxia-inducible factor, (HIF)-1、HIF-2和HIF-3]和脯氨酰羟化酶,能够通过不同的调节机制调控不同的生理反应,发挥对机体的保护或破坏作用。

1.1 低氧诱导因子-1 HIF-1在低氧诱导的哺乳动物细胞中广泛表达,为低氧应答的全局性调控因子。HIF-1能与人红细胞生成素基因的3增强子序列结合,促进其转录<sup>[5]</sup>。HIF-1在低氧时通过对靶基因的诱导表达,使缺氧的组织细胞保持一定的氧浓度,维持机体氧的自我平衡与氧稳定。HIF-1活性调节主要有:(1)HIF-1 mRNA表达水平调节;(2)HIF-1蛋白表达水平调节;(3)HIF-1二聚化和DNA结合活性调节;(4)HIF-1 $\alpha$ 转录活性调节。HIF-1是一种异源二聚体,主要由120 kDa的HIF-1 $\alpha$ 和91-94 kDa的HIF-1 $\beta$ 两个亚单位组成。HIF-1 $\beta$ 亚基又称芳香烃受体核转运子(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT),基因定位于人的1号染色体q21区,在细胞内稳定表达,起结构性作用;HIF-1 $\alpha$ 基因定位于人的14号染色体q21-24区,缺氧信号的调控,是HIF-1的活性亚基<sup>[6]</sup>。HIF-1 $\beta$ 亚基在细胞浆中稳定表达,而HIF-1 $\alpha$ 亚基在翻译后即被泛素-蛋白酶水解复合体降解。因此,在正常氧饱和度下的细胞中基本检测不到亚基的表达,而在缺氧状态下,亚基的降解被抑制,HIF-1 $\alpha$ 和HIF-1 $\beta$ 亚基形成有活性的HIF-1,转移到细胞核内调节多种基因的转录。HIF-1 $\alpha$ 在正常的肠组织中不表达或者很微弱的表达,而在IBD的肠腔和腺体的上皮细胞、肠黏膜组织内的淋巴细胞和巨噬细胞中表达明显增强,还可在血管的内皮细胞、基质的结缔组织细胞中表达,特征为胞浆或胞核显黄色或棕褐色<sup>[7]</sup>。

1.2 低氧诱导因子-2 HIF-2是bHLH-PAS蛋白家族新成员<sup>[8]</sup>,HIF-2与HIF-1在结构上极其相似,由诱导表达的HIF-2 $\alpha$ 亚基和持续表达的HIF-1 $\beta$ 亚基所组成的异源二聚体结构。HIF-2 $\alpha$ 只表达于内皮细胞、肾脏、心脏、肺以及小肠,而HIF-1 $\alpha$ 广泛地表达于各类细胞;HIF-2 $\alpha$ 能够加快细

胞周期进程,而HIF-1 $\alpha$ 起阻止作用<sup>[9]</sup>,且HIF-2 $\alpha$ 不能表达MDR、CD73等保护性基因。HIF-1 $\alpha$ 介导的对肠黏膜屏障的保护机制在IBD的发病早期起着保护作用,而当肠黏膜屏障受到破坏时,HIF-2 $\alpha$ 能增强慢性炎症反应,恶化疾病进程<sup>[10]</sup>。

1.3 低氧诱导因子-3 HIF-3<sup>[11]</sup>主要表达于心脏、肺、骨骼肌和胎盘中,在肝脏和肾脏中的表达量较低,HIF-3 $\alpha$ 与HIF-1 $\alpha$ 、HIF-2 $\alpha$ 结构上有较大的差异,功能上也有明显的不同。HIF-3 $\alpha$ 能与HIF-1 $\alpha$ 、HIF-2 $\alpha$ 竞争性结合HIF-1 $\beta$ 亚基,导致HIF-1、HIF-2的表达水平降低,从而抑制HIF-1、HIF-2对目标基因表达的上调作用<sup>[12]</sup>,可能是缺氧调控靶基因表达的负性调节因子。

1.4 脯氨酰羟化酶 脯氨酰羟化酶(proline hydroxylase domain, PHD)是调节HIF-1的关键分子,通过催化HIF脯氨酸残基发生羟化反应介导其降解,它能够直接感受氧分压、是一种双加氧酶的氧感受器<sup>[3]</sup>。目前研究发现了PHD1、PHD2、PHD3和PHD4这4种编码脯氨酰羟化酶的基因,其中编码PHD1、PHD2、PHD3的基因与线虫的Egl-9基因同源,在有氧条件下,能催化人HIF特定脯氨酸残基发生羟化反应<sup>[13]</sup>,并且研究发现HIF-1 $\alpha$ 与PHD1、PHD3,相比较PHD2而言,有着更紧密的联系,PHD1与血管生长因子也有着密切的联系<sup>[14]</sup>。2002年Epstein等<sup>[15]</sup>发现了PHD4,但在HIF-1 $\alpha$ 过表达时PHD4才能发挥其调节作用。与其他Fe<sup>2+</sup>、 $\alpha$ -酮戊二酸依赖的双加氧酶超家族成员一样,PHDs需要O<sub>2</sub>作为底物,一个氧原子加载到HIF-1 $\alpha$  ODD区Pro402或Pro564形成脯氨酰残基;另一个氧原子与 $\alpha$ -酮戊二酸发生去羧基反应,生成延胡索酸和二氧化碳。同时,PHD羟化HIF-1 $\alpha$ 的反应还需要铁和维生素C作为辅助因子。常氧状态时,HIF-1 $\alpha$ 被PHD羟化后进而被泛素蛋白酶水解,因此细胞内无HIF-1聚集;低氧状态时,脯氨酰羟化酶活性受到抑制,PHD羟化HIF-1 $\alpha$ 反应受阻,HIF-1 $\alpha$ 亚基大量积累,HIF-1聚集并入核诱导多种靶基因表达,启动低氧应答反应,以维持细胞和机体的氧自稳平衡及能量代谢平衡。体外实验已证实PHD对氧的亲和力很低,因此在低氧环境中,细胞内HIF-1 $\alpha$ 表达量增加、DNA结合能力增强<sup>[3]</sup>。

## 2 缺氧对IBD的病理生理影响机制

2.1 缺氧与肠道黏膜屏障损伤 缺氧、组织损伤及强烈的代谢应激在肿瘤坏死因子(recombinant human tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )及其他促



炎因子的协助下,能够迅速激活机体的固有免疫应答<sup>[16]</sup>,吞噬细胞的吞噬功能和自由基的产量在缺氧条件下会得到显著提高<sup>[17]</sup>。同时缺氧能够在细胞、组织、系统水平上诱发适应性免疫应答以促进组织器官功能的顺利发挥,缺氧和缺氧诱导因子是T细胞生长、分化及其功能发挥的重要调节者<sup>[18]</sup>。已有很多证据表明缺氧介导的腺苷信号途径在正常和病态的肠黏膜中都发挥着重要作用,而且HIF和缺氧信号决定了腺苷受体信号旁路和腺苷酸代谢中的多个步骤<sup>[19]</sup>。腺苷主要通过其4大主要受体-ADORA1、ADORA2A、ADORA2B、ADORA3发挥作用,细胞外的腺苷主要来源于三磷酸腺苷或一磷酸腺苷,HIF-1A诱发的基因改变会促进炎症组织分泌腺苷,研究表明腺苷会抑制过度炎症反应和促进损伤组织的愈合<sup>[20]</sup>。虽然至今IBD病因仍不明确,Hollander等<sup>[21]</sup>首先通过对CD患者及其家属肠道炎症发生前的肠黏膜渗透性改变的研究发现,肠道渗透性的改变、肠黏膜完整性的破坏可能是CD的易患因素,这也在之后的研究中得到了证实,同时认为半胱氨酸蛋白酶募集域家族15号基因(CARD15)突变体可能与CD有关。Buhner等<sup>[22]</sup>选取了128例非活动性CD患者,129例一级亲属(CD-R),66例非血缘性家族成员(CD-NR)和96例健康对照人群。分析3个最常见的CARD15多态现象(R702W、G908R、3020insC),并用乳果糖/甘露醇比例确定肠黏膜通透性,结果发现CD和CD-R组肠黏膜的通透性明显增加。44%CD、26%CD-R和6%CD-NR人群的乳果糖/甘露醇比例在正常范围以上,而对照组则全部在正常范围之内。在IBD的动物模型上同样能够证实肠黏膜渗透性的增加,白介素-10(interleukin-10, IL-10)敲除小鼠的肠黏膜在发生组织学异常之前就出现了渗透性的增加<sup>[23]</sup>。在无菌环境中的小鼠并无屏障损伤,提示肠黏膜屏障损害可能由于对肠微生物群不正常的免疫反应所引起。屏障完整性的损害促进了大量非选择性的肠腔抗原的涌入,持续刺激固有层的免疫细胞,引起炎症持续时间的延长,使之转化为慢性炎症。就这点而言,炎症缺氧和缺氧炎症是相互促进的<sup>[3]</sup>。

**2.2 缺氧与肠黏膜血管炎症** IBD患者的结肠中可广泛存在血管炎症,血管炎既是疾病的发病机制,又可作为疾病活动性的一项重要指标<sup>[24]</sup>。肠壁中的血管炎分布范围常取决于肠黏膜炎症严重程度,炎症程度越高,分布越广泛<sup>[25]</sup>。VEGF与受体在血管内皮细胞中相互作用,促进血管内

皮细胞分裂<sup>[26]</sup>。VEGF基因是HIF-1 $\alpha$ 的重要靶基因,活化的HIF-1能直接启动VEGF的转录,上调VEGF受体Flt1的转录<sup>[27]</sup>,通过增强VEGF mRNA的稳定性来提高VEGF的表达<sup>[28]</sup>,并且研究发现缺氧激活Dl14-Notch-Hey2信号参与内皮前体细胞的分化<sup>[29]</sup>。Wood等<sup>[30]</sup>发现缺氧能够增加处于清醒状态下小鼠的白细胞迁移和血管渗透性。他们将异硫氰基荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的白蛋白分别注射到处于常氧状态和10%氧气状态下的小鼠肠系膜血管中,4 h后发现在缺氧状态下的小鼠血管周围FITC标记的白蛋白依赖的荧光信号显著增加,提示了血管渗透性增加;并且发现呼吸常氧状态下小鼠肠系膜微血管内很少有黏着的或迁徙的白细胞,而处于10%氧气状态下的小鼠肠系膜微血管内白细胞迁徙则有明显的增加,白细胞迁徙的量和时间成正比。Steiner等<sup>[31]</sup>发现在组织缺氧状态下,肥大细胞通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)/氮氧化物(nitrogen oxides, NO)平衡系统等对调节微血管炎症反应发挥着重要作用。原始淋巴细胞易聚集于IBD患者的肠微血管内皮,而正常肠道微血管更易与记忆淋巴细胞结合<sup>[32]</sup>。缺氧能够引起肠黏膜血管炎症,CD的症状可首先表现为血管炎,因此在临床上可将肠黏膜炎症与疾病进展程度相联系。

**2.3 HIF-1及其他因子在IBD肠黏膜炎症发生时的作用** 肠黏膜在发生炎症时会出现严重缺氧,虽然已有研究发现,相较于健康人群,处于炎症活动期的IBD患者的血清HIF-1表达量上升<sup>[7]</sup>,但是目前所有支持HIF-1在肠黏膜炎症中发挥作用的证据仅来源于动物实验。在动物IBD模型中,通过增加或抑制HIF-1在小鼠体内的表达,HIF-1能够改善由2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的大肠炎的多项临床指标,如体重质量下降、结肠长度、肠黏膜渗透性。HIF-1在维持肠黏膜的完整性中发挥着固有保护作用,因此增加HIF-1的表达量,被视为一种新颖的治疗理念<sup>[33]</sup>。HIF-1能够调节许多具有肠道屏障保护作用的基因,包括肠三叶因子(ITF)、CD73、多药耐药基因1(MDR1)<sup>[34-36]</sup>,其中ITF和CD73已在动物活体内被证明是机体缺氧时具有肠黏膜屏障保护作用因子,敲除MDR1基因的小鼠会自发发生肠道炎症<sup>[37]</sup>,ITF通过维持肠黏膜上皮细胞的完整性及恢复正常的肠黏膜渗透性来保护和修复肠黏膜,缺少肠三叶因子的小鼠对肠道炎症的易感性大大增加<sup>[38]</sup>。转录核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF-

#### ■ 相关报道

Hollander等首先发现肠道渗透性的改变、肠黏膜完整性的破坏可能是克罗恩病的易患因素,白介素10敲除小鼠的肠黏膜在发生组织学异常之前就出现渗透性的增加,而缺氧与肠道黏膜屏障损伤、肠道黏膜血管炎症有着密切的联系。

### ■创新盘点

本文就缺氧在IBD肠道黏膜炎症损伤过程中的病理生理变化进行分析,在缺氧条件下的氧调节因子、缺氧对IBD的病理生理影响及未来治疗新方向等3个方面逐一展开详细的介绍。

$\kappa$ B)在固有免疫、应激反应和细胞生长中发挥着各自不同作用,同时也是炎症反应的重要调节者<sup>[39]</sup>,他能够在缺氧时被激活。HIF-1在缺氧反应中起着主导作用,如上文所述,在缺氧状态下,HIF-1 $\alpha$ 亚基的降解被抑制,HIF-1 $\alpha$ 和HIF-1 $\beta$ 亚基形成有活性的HIF-1,转移到细胞核内调节多种基因的转录。虽然在缺氧时NF- $\kappa$ B被激活的能力要远小于HIF-1,但是NF- $\kappa$ B在缺氧炎症中能够产生促进肠黏膜细胞生存的信号<sup>[40]</sup>。Figueroa等<sup>[41]</sup>在研究红细胞生成素表达时最早提出HIF-1和NF- $\kappa$ B的联系,并认为两者间存在着重要的相互作用机制。含氧量正常时,IL-1 $\beta$ 能够通过包含有NF- $\kappa$ B和环氧合酶2信号旁路,提高HIF-1 $\alpha$ 蛋白表达量。缺氧时,中性粒细胞的凋亡受到抑制,其中HIF-1 $\alpha$ 依赖的NF- $\kappa$ B的信号途径发挥着重要作用<sup>[42]</sup>。HIF除能够被缺氧激活之外,LPS、TNF- $\alpha$ 、肝细胞生长因子、活性氧物质和IL-18等许多非缺氧性因素也能激活HIF和NF- $\kappa$ B,促进HIF-1 $\alpha$  mRNA表达<sup>[43]</sup>。凝胶迁移滞后实验和染色体免疫共沉淀实验显示,NF- $\kappa$ B的二个亚基p50和p65能够与HIF-1 $\alpha$ 启动子的197、188二个碱基对结合,构成位于转录起始上游的关键的调节点,并且如果HIF-1 $\alpha$ 启动子的197、188碱基对发生了突变,会直接破坏由NF- $\kappa$ B介导的HIF-1 $\alpha$ 的产生<sup>[44]</sup>。在IBD发生时,肠黏膜组织内HIF-1表达升高,参与肠黏膜屏障和炎症修复功能。

### 3 结论

在缺氧导致肠黏膜出现炎症的动物模型中,激活的HIF-1被证明是具有保护作用的,能够减轻临床症状,改善疾病结果,但相较于各项指标受到严格控制的实验动物,IBD患者有更多的不可预测性,如年龄、疾病进展程度等,因此关于HIF-1对机体的保护作用需要进一步探讨。虽然HIF-2和HIF-3的负性调节作用在实验中得到了初步证实,但目前国内外对HIF-2和HIF-3研究仍较少,关于他们的作用机制有待我们做进一步深入研究。低氧状态时由于脯氨酰羟化酶活性受到抑制,导致HIF-1大量积聚,但在常氧状态下,TCR信号和一些促炎因子(如IL-6)也会上调CD4<sup>+</sup> T细胞中HIF-1表达<sup>[45]</sup>。研究人员通过对HIF-1缺陷小鼠和正常小鼠对比发现,HIF-1既可通过激活ROR $\gamma$ t转录及与ROR $\gamma$ t和p300形成复合体上调Th17分化,又可通过结合Foxp3和促进蛋白酶对Treg的降解作用减少Treg表达,拥

有HIF-1 $\alpha$ 缺陷T细胞的小鼠对Th17依赖的自身免疫性脑炎具有抵抗力<sup>[46]</sup>。因此,HIF-1与T细胞分化,缺氧对T细胞的影响,HIF-1、缺氧、T细胞三者之间的相互作用需要进一步的阐明。大量积聚的HIF会编码生成VEGF,他是肿瘤血管生成的重要刺激因子,内皮细胞在VEGF的刺激下,会增殖形成新的毛细血管网,即血管生成,有利于肿瘤的转移<sup>[47]</sup>。而PHD作为HIF的重要调节分子,可借助HIF,影响肿瘤的发生发展。高压氧治疗(HBOT)常用于治疗潜水减压病和一些伤口的愈合等,而自1989年由Brady等<sup>[48]</sup>报道了第一例用高压氧治疗的CD之后,陆陆续续有报道HBOT方法治疗IBD的病例,Rossignol<sup>[49]</sup>对此进行了总结,发现HBOT治疗效果显著,引起的不良反应也非常小,因此用高压氧改善由缺氧导致的IBD,不失为一种有效的治疗手段,应得到我们的重视。总之,在IBD中提高机体对缺氧的反应,如何提高HIF的表达量,利用好PHD对HIF的影响作用,是一种新颖的治疗理念。

### 4 参考文献

- 1 Taylor CT, Colgan SP. Hypoxia and gastrointestinal disease. *J Mol Med (Berl)* 2007; 85: 1295-1300 [PMID: 18026919 DOI: 10.1007/s00109-007-0277-z]
- 2 Fong GH, Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins. *Cell Death Differ* 2008; 15: 635-641 [PMID: 18259202 DOI: 10.1038/cdd.2008.10]
- 3 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640 [PMID: 17499605 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60750-8]
- 4 Hindryckx P, Laukens D, De Vos M. Boosting the hypoxia-induced adaptive response in inflammatory bowel disease: a novel concept of treatment. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2019-2022 [PMID: 21830277 DOI: 10.1002/ibd.21589]
- 5 Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 5447-5454 [PMID: 1448077]
- 6 Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 and cancer pathogenesis. *Lab Invest* 2008; 88: 591-597 [PMID: 18506846 DOI: 10.1002/iub.93]
- 7 Giatromanolaki A, Sivridis E, Maltezos E, Papazoglou D, Simopoulos C, Gatter KC, Harris AL, Koukourakis MI. Hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and 2 $\alpha$  overexpression in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 2003; 56: 209-213 [PMID: 12610101 DOI: 10.1136/jcp.56.3.209]
- 8 Tian H, McKnight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes Dev* 1997; 11: 72-82 [PMID: 9000051 DOI: 10.1101/gad.11.1.72]
- 9 Gordan JD, Bertout JA, Hu CJ, Diehl JA, Simon MC. HIF-2 $\alpha$  promotes hypoxic cell proliferation by

- enhancing c-myc transcriptional activity. *Cancer Cell* 2007; 11: 335-347 [PMID: 17418410 DOI: 10.1016/j.ccr.2007.02.006]
- 10 Shah YM, Ito S, Morimura K, Chen C, Yim SH, Haase VH, Gonzalez FJ. Hypoxia-inducible factor augments experimental colitis through an MIF-dependent inflammatory signaling cascade. *Gastroenterology* 2008; 134: 2036-2048, 2036-2048 [PMID: 18439915 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.009]
  - 11 Gu YZ, Moran SM, Hogenesch JB, Wartman L, Bradfield CA. Molecular characterization and chromosomal localization of a third alpha-class hypoxia inducible factor subunit, HIF3alpha. *Gene Expr* 1998; 7: 205-213 [PMID: 9840812]
  - 12 Hara S, Hamada J, Kobayashi C, Kondo Y, Imura N. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3alpha in human kidney: suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287: 808-813 [PMID: 11573933 DOI: 10.1006/bbrc.2001.5659]
  - 13 Taylor MS. Characterization and comparative analysis of the EGLN gene family. *Gene* 2001; 275: 125-132 [PMID: 11574160 DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00633-3]
  - 14 Fox SB, Generali D, Berruti A, Brizzi MP, Campo L, Bonardi S, Bersiga A, Allevi G, Milani M, Aguggini S, Mele T, Dogliotti L, Bottini A, Harris AL. The prolyl hydroxylase enzymes are positively associated with hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor in human breast cancer and alter in response to primary systemic treatment with epirubicin and tamoxifen. *Breast Cancer Res* 2011; 13: R16 [PMID: 21291529 DOI: 10.1186/bcr2825]
  - 15 Epstein AC, Gleadle JM, McNeill LA, Hewitson KS, O'Rourke J, Mole DR, Mukherji M, Metzen E, Wilson MI, Dhanda A, Tian YM, Masson N, Hamilton DL, Jaakkola P, Barstead R, Hodgkin J, Maxwell PH, Pugh CW, Schofield CJ, Ratcliffe PJ. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell* 2001; 107: 43-54 [PMID: 11595184 DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00507-4]
  - 16 Brines M, Cerami A. The receptor that tames the innate immune response. *Mol Med* 2012; 18: 486-496 [PMID: 22183892 DOI: 10.2119/molmed.2011.00414]
  - 17 SaiRam M, Sharma SK, Dipti P, Pauline T, Kain AK, Mongia SS, Bansal A, Patra BD, Ilavazhagan G, Devendra K, Selvamurthy W. Effect of hypobaric hypoxia on immune function in albino rats. *Int J Biometeorol* 1998; 42: 55-59 [PMID: 9780847]
  - 18 McNamee EN, Korn Johnson D, Homann D, Clambey ET. Hypoxia and hypoxia-inducible factors as regulators of T cell development, differentiation, and function. *Immunol Res* 2013; 55: 58-70 [PMID: 22961658 DOI: 10.1007/s12026-012-8349-8]
  - 19 Colgan SP, Eltzschig HK. Adenosine and hypoxia-inducible factor signaling in intestinal injury and recovery. *Annu Rev Physiol* 2012; 74: 153-175 [PMID: 21942704 DOI: 10.1146/annurev-physiol-020911-153230]
  - 20 Poth JM, Brodsky K, Ehrentraut H, Grenz A, Eltzschig HK. Transcriptional control of adenosine signaling by hypoxia-inducible transcription factors during ischemic or inflammatory disease. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91: 183-193 [PMID: 23263788 DOI: 10.1007/s00109-012-0988-7]
  - 21 Hollander D, Vadheim CM, Brettholz E, Petersen GM, Delahunty T, Rotter JI. Increased intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives. A possible etiologic factor. *Ann Intern Med* 1986; 105: 883-885 [PMID: 3777713]
  - 22 Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, Kuechler I, Krueger S, Schmidt HH, Lochs H. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 2006; 55: 342-347 [PMID: 16000642 DOI: 10.1136/gut.2005.065557]
  - 23 Madsen KL, Malfair D, Gray D, Doyle JS, Jewell LD, Fedorak RN. Interleukin-10 gene-deficient mice develop a primary intestinal permeability defect in response to enteric microflora. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5: 262-270 [PMID: 10579119 DOI: 10.1097/00054725-199911000-00004]
  - 24 Gonzalez EA, Bello CS, Dibner LW, Sánchez AC, Mayoral PV. Vascular abnormalities in inflammatory bowel disease in a group of children. *Patologia* 2010; 48: 93-99 Available from: URL: <http://www.nietoeditores.com.mx/download/patologia/ABRIL-JUNIO2010/Patologia%202.5%20VASCULAR.pdf>
  - 25 Kruschewski M, Buhr HJ. The vasculitis in IBD is associated with the degree of inflammation. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 733-738 [PMID: 19267197 DOI: 10.1007/s10620-009-0763-y]
  - 26 Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 851-858 [PMID: 2735925 DOI: 10.1016/0006-291X(89)92678-8]
  - 27 Liang WC, Wu X, Peale FV, Lee CV, Meng YG, Gutierrez J, Fu L, Malik AK, Gerber HP, Ferrara N, Fuh G. Cross-species vascular endothelial growth factor (VEGF)-blocking antibodies completely inhibit the growth of human tumor xenografts and measure the contribution of stromal VEGF. *J Biol Chem* 2006; 281: 951-961 [PMID: 16278208 DOI: 10.1074/jbc.M508199200]
  - 28 Berra E, Pagès G, Pouyssegur J. MAP kinases and hypoxia in the control of VEGF expression. *Cancer Metastasis Rev* 2000; 19: 139-145 [PMID: 11191053 DOI: 10.1023/A:1026506011458]
  - 29 Diez H, Fischer A, Winkler A, Hu CJ, Hatzopoulos AK, Breier G, Gessler M. Hypoxia-mediated activation of Dll4-Notch-Hey2 signaling in endothelial progenitor cells and adoption of arterial cell fate. *Exp Cell Res* 2007; 313: 1-9 [PMID: 17045587 DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.09.009]
  - 30 Wood JG, Johnson JS, Mattioli LF, Gonzalez NC. Systemic hypoxia increases leukocyte emigration and vascular permeability in conscious rats. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1561-1568 [PMID: 11007596]
  - 31 Steiner DR, Gonzalez NC, Wood JG. Mast cells mediate the microvascular inflammatory response to systemic hypoxia. *J Appl Physiol* 2003; 94: 325-334 [PMID: 12391033]
  - 32 Salmi M, Granfors K, MacDermott R, Jalkanen S. Aberrant binding of lamina propria lymphocytes to vascular endothelium in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 1994; 106: 596-605 [PMID: 8119529]
  - 33 Karhausen J, Furuta GT, Tomaszewski JE, Johnson RS, Colgan SP, Haase VH. Epithelial hypoxia-inducible factor-1 is protective in murine experimental colitis. *J Clin Invest* 2004; 114: 1098-1106 [PMID: 15489957 DOI: 10.1172/JCI21086]

#### ■应用要点

在IBD中提高机体对缺氧的反应, 如何提高HIF的表达量, 利用好PHD对HIF的影响作用, 是一种新颖的治疗理念。



## ■同行评价

本文论述角度较为新颖,具有一定指导意义.

- 34 Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, Louis NA, Montalto MC, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002; 62: 3387-3394 [PMID: 12067980]
- 35 Furuta GT, Turner JR, Taylor CT, Hershberg RM, Comerford K, Narravula S, Podolsky DK, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of intestinal trefoil factor protects barrier function during hypoxia. *J Exp Med* 2001; 193: 1027-1034 [PMID: 11342587 DOI: 10.1084/jem.193.9.1027]
- 36 Synnestvedt K, Furuta GT, Comerford KM, Louis N, Karhausen J, Eltzschig HK, Hansen KR, Thompson LF, Colgan SP. Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 mediates permeability changes in intestinal epithelia. *J Clin Invest* 2002; 110: 993-1002 [PMID: 12370277 DOI: 10.1172/JCI15337]
- 37 Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 1998; 161: 5733-5744 [PMID: 9820555]
- 38 Xu LF, Teng X, Guo J, Sun M. Protective effect of intestinal trefoil factor on injury of intestinal epithelial tight junction induced by platelet activating factor. *Inflammation* 2012; 35: 308-315 [PMID: 21452036 DOI: 10.1007/s10753-011-9320-x]
- 39 Chen LF, Greene WC. Shaping the nuclear action of NF-kappaB. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 392-401 [PMID: 15122352 DOI: 10.1038/nrm1368]
- 40 Chen LW, Egan L, Li ZW, Greten FR, Kagnoff MF, Karin M. The two faces of IKK and NF-kappaB inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion. *Nat Med* 2003; 9: 575-581 [PMID: 12692538]
- 41 Figueroa YG, Chan AK, Ibrahim R, Tang Y, Burow ME, Alam J, Scandurro AB, Beckman BS. NF-kappaB plays a key role in hypoxia-inducible factor-1-regulated erythropoietin gene expression. *Exp Hematol* 2002; 30: 1419-1427 [PMID: 12482504 DOI: 10.1038/nm849]
- 42 Walmsley SR, Print C, Farahi N, Peyssonnaud C, Johnson RS, Cramer T, Sobolewski A, Condliffe AM, Cowburn AS, Johnson N, Chilvers ER. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1alpha-dependent NF-kappaB activity. *J Exp Med* 2005; 201: 105-115 [PMID: 15630139 DOI: 10.1084/jem.20040624]
- 43 Belaiba RS, Bonello S, Zähringer C, Schmidt S, Hess J, Kietzmann T, Görlach A. Hypoxia up-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha transcription by involving phosphatidylinositol 3-kinase and nuclear factor kappaB in pulmonary artery smooth muscle cells. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 4691-4697 [PMID: 17898080 DOI: 10.1091/mbc.E07-04-0391]
- 44 Bonello S, Zähringer C, Belaiba RS, Djordjevic T, Hess J, Michiels C, Kietzmann T, Görlach A. Reactive oxygen species activate the HIF-1alpha promoter via a functional NFkappaB site. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 755-761 [PMID: 17272744 DOI: 10.1161/01.ATV.0000258979.92828.bc]
- 45 Pan F, Barbi J, Pardoll DM. Hypoxia-inducible factor 1: A link between metabolism and T cell differentiation and a potential therapeutic target. *Oncoimmunology* 2012; 1: 510-515 [PMID: 22754770]
- 46 Dang EV, Barbi J, Yang HY, Jinasena D, Yu H, Zheng Y, Bordman Z, Fu J, Kim Y, Yen HR, Luo W, Zeller K, Shimoda L, Topalian SL, Semenza GL, Dang CV, Pardoll DM, Pan F. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell* 2011; 146: 772-784 [PMID: 21871655 DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.033]
- 47 Benest AV, Augustin HG. Cancer: Blood vessels kept quiet. *Nature* 2009; 458: 41-42 [PMID: 19262662 DOI: 10.1038/458041a]
- 48 Brady CE, Cooley BJ, Davis JC. Healing of severe perineal and cutaneous Crohn's disease with hyperbaric oxygen. *Gastroenterology* 1989; 97: 756-760 [PMID: 2753335]
- 49 Rossignol DA. Hyperbaric oxygen treatment for inflammatory bowel disease: a systematic review and analysis. *Med Gas Res* 2012; 2: 6 [PMID: 22417628 DOI: 10.1186/2045-9912-2-6]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用

陈曦, 甘华田

陈曦, 甘华田, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041

陈曦, 甘华田, 主要从事炎症性肠病及肠道肿瘤的相关研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170369

作者贡献分布: 本课题由甘华田负责并设计; 陈曦执笔写作; 甘华田审阅。

通讯作者: 甘华田, 610041, 四川省成都市人民南路17号, 四川大学华西医院消化内科. ganhuatian@hotmail.com

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Effect of enteric glial cells on immune cells in inflammatory bowel disease

Xi Chen, Hua-Tian Gan

Xi Chen, Hua-Tian Gan, Department of Gastroenterology, Western China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170369

Correspondence to: Hua-Tian Gan, Department of Gastroenterology, Western China Hospital, Sichuan University, 17 Renmin South Road, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. ganhuatian@hotmail.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Enteric glial cells (EGCs) are one of the most important components of the enteric nervous system (ENS), which have been demonstrated to play an important role in the neuro-immune-endocrine network and directly regulate enteric homeostasis in addition to supporting and nourishing neurons. By recognizing and binding to specific receptors, neurotransmitters secreted by EGCs, including neurotrophins, neuropeptides and cytokines, can exert their biochemical effect, and these neurotransmitters might be important mediators of the cross-talk between EGCs and enteric immune cells. However, the role of the interaction between EGCs and enteric immune cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease is still elusive. This review will summarize the current understanding of the effect of enteric glial cells on enteric immune cells in

inflammatory bowel disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Enteric glial cells; Enteric immune cells; Inflammatory bowel disease

Chen X, Gan HT. Effect of enteric glial cells on immune cells in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 597-601 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/597.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.597>

## 摘要

肠神经胶质细胞是肠道神经系统的重要组成部分, 近年来研究发现, 除了营养和支持肠神经元, 肠神经胶质细胞还与肠道神经-免疫-内分泌网络中的其他成员有着错综复杂的联系, 并直接参与整个肠道稳态的调节。其中, 肠神经胶质细胞分泌的包括神经营养因子、神经多肽、细胞因子等神经递质是肠神经胶质细胞与肠黏膜免疫细胞联系的重要桥梁, 他们与免疫细胞表面的受体特异性结合后引起免疫细胞相应的生化反应。另外, 肠神经胶质细胞可能还具有抗原提呈的作用, 协同抗原激活肠道免疫反应。目前, 肠神经胶质细胞与肠黏膜免疫细胞的关系在炎症性肠病发生发展中的作用尚不完全清楚, 本文就这一方面的研究进展进行简单阐述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 肠神经胶质细胞; 肠黏膜免疫细胞; 炎症性肠病

陈曦, 甘华田. 肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 597-601 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/597.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.597>

## 0 引言

肠神经胶质细胞(enteric glial cell, EGC)是肠道神经系统的主要成分之一, 其数量是肠神经元

## ■背景资料

肠道神经系统包括肠神经元和肠神经胶质细胞, 其在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发生发展中的作用常被忽视。近年来, 越来越多的研究发现肠神经胶质细胞在炎症性肠病的发病中起重要作用, 引起学界的关注和重视。

## ■同行评议者

陈敬贤, 教授, 安徽医科大学微生物学教研室

## ■ 研发前沿

从肠神经胶质细胞着手,以肠道神经-免疫-内分泌网络角度寻找IBD治疗新的药物。

的近4倍<sup>[1]</sup>,虽然EGC的已经被发现超过一个世纪,但长久以来对他的功能,尤其是在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的作用了解甚少。近年来,人们逐渐认识到他对肠道神经系统乃至整个肠道稳态的重要性,除了营养和支持肠神经元、参与肠道内神经活动的整合和调节,也在肠道神经-内分泌-免疫网络中扮演重要角色,对肠道炎症反应起调节作用。

早期研究发现,小鼠空肠和回肠EGC的缺失会导致空-回肠炎症的发生<sup>[2]</sup>,提示EGC在生理条件下可能有抗炎、抑制免疫的作用,当时的学者将这一实验结果解释为EGC对肠神经元有支持、营养作用,其缺失导致神经元的明显减少,而已有不少证据证明肠神经元可以通过其广泛的神经轴突以及其分泌的各种神经递质调控着肠道免疫、内分泌系统的功能,并与炎症性肠病的发生发展有密切关系,即EGC通过肠神经元间接作用于肠道免疫系统并影响肠道炎症的发生发展。随着对EGC功能的了解逐渐深入,越来越多的研究证明EGC不仅通过肠神经元间接影响肠免疫系统,更可能通过自身分泌的神经营养因子、神经多肽及细胞因子等神经递质直接作用于肠黏膜免疫细胞。另外,EGC还有类似抗原递呈细胞的作用,而肠黏膜免疫细胞也通过分泌细胞因子等反作用于EGC,两者相互影响,共同维持肠道正常生理功能和稳态。

## 1 神经递质

**1.1 EGC源性神经营养因子** EGC分泌的一系列神经营养因子包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、胶质细胞源性神经营养因子(glia-cell-line-derived neurotrophic factor, GDNF)和神经营养因子-3(neurotrophin-3)等<sup>[3,4]</sup>。尽管目前关于这些神经营养因子和肠黏膜免疫系统之间关系的直接研究相对较少,但根据其与其他部位免疫细胞之间的关系可以推测,EGC源性的神经营养因子很可能成为EGC与肠黏膜免疫细胞相互作用的重要桥梁。

**1.1.1 NGF与NGF-R:** NGF是最早发现的神经营养因子之一,早在1977年就有学者发现给新生大鼠注射NGF后会引引起组织肥大细胞的增生<sup>[5]</sup>,后有报道称NGF还具有增强有丝分裂原诱导的单核细胞增生、诱导外周血单核细胞粒细胞趋化因子和白介素-2(interleukin-2, IL-2)受体的表达等许多免疫相关的作用<sup>[6,7]</sup>。进一步研究发现,NGF主要通过特异性的受体NGF-R结合调节

免疫细胞的增殖活化及分泌等功能<sup>[8-10]</sup>。

目前已证实表达NGF-R的免疫细胞包括外周血中的T、B淋巴细胞、淋巴结滤泡及脾脏的各种免疫细胞(具体未分类)以及肠黏膜中的各种免疫细胞(滤泡DC细胞为主)<sup>[11]</sup>等。根据NGF在体内其他部位与免疫细胞相互作用的结果推测其可能通过激活肥大细胞加重肠道炎症反应,然而最新研究发现TNBS诱导的大鼠结肠炎症模型中NGF与IL-10表达明显增加<sup>[12]</sup>,在抗NGF治疗的大鼠结肠炎症模型炎症较对照组加重2-3倍<sup>[13]</sup>,提示NGF在炎症性肠病中不但没有加重炎症反应,反而可能具有保护作用,但具体保护作用的机制尚不清楚。最新研究发现,NGF可通过作用于NK细胞表达的NGF受体TrkA抑制NK细胞的脱颗粒,但并不影响NK细胞的增生和细胞因子产生,为研究NGF在炎症性肠病中的作用及具体机制提供了新的线索<sup>[13]</sup>。

**1.1.2 GDNF家族配体与GFR- $\alpha$ :** GDNF与NTN、artemin、persephin一起,统称为GDNF家族配体,属于转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )超家族中的一员<sup>[14]</sup>(GDNF family ligands, GFLs),他们通过2个亚基构成的受体激活相应的信号转导通路,其中GFR- $\alpha$ 分为不同亚型,可特异性结合不同的GFLs, GFR- $\alpha$ 1特异性结合GDNF, GFR- $\alpha$ 2特异性结合NTN, GFR- $\alpha$ 3特异性结合artemin, GFR- $\alpha$ 4特异性结合persephin。另一个受体亚基RET为所有GFLs共享的受体亚基,本质是一种蛋白激酶,可被GFLs-GFR- $\alpha$ 复合物激活磷酸化并引起相应下游生化反应,他广泛的表达于B细胞、T细胞和单核细胞,是EGC分泌的神经营养因子与肠黏膜免疫细胞直接作用的重要桥梁<sup>[15]</sup>。

1993年, GFLs的第一个成员GDNF在大鼠胶质细胞B49的培养上清中被纯化,后续研究发现GDNF在IBD患者肠道中高表达,证实肠神经胶质细胞亦可分泌GDNF。进一步研究表明GDNF可与肠道上皮细胞的GFR- $\alpha$ 2结合,通过激活MAPK和Akt通路等抑制肠道上皮细胞的凋亡。最近,我们的一项研究发现, GDNF还可以调节肠道上皮屏障功能,这一作用与其阻止肠上皮细胞的凋亡,增加ZO-1的表达有关,并且发现GDNF还可抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 等炎性细胞因子的分泌,改善实验性小鼠结肠炎的炎症,提示GDNF可能通过对肠道上皮细胞,这一先天性免疫细胞的影响对IBD的发生发展起重要作用<sup>[16]</sup>。



根据RET在免疫细胞中的广泛表达, 我们有理由猜测除了肠上皮细胞, GDNF可能对其他肠黏膜免疫细胞也有作用, 然而有研究却发现与GDNF特异结合的GFR- $\alpha$ 1受体亚基在免疫细胞中很难检测出稳定的表达<sup>[17]</sup>. 但这并不代表GDNF与肠黏膜免疫细胞毫不相干, 事实上, 新近有研究发现神经细胞黏附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)可作为不依赖于RET的GFLs受体激活信号转导通路, 已知NCAM不仅表达于神经细胞, 还表达于NK细胞及部分杀伤性T细胞<sup>[16]</sup>, 可能成为GDNF乃至其他GFLs与肠黏膜免疫系统相互作用的另一个重要途径.

与GFR- $\alpha$ 1在免疫细胞中的不稳定表达不同, GFR- $\alpha$ 2在包括T、B细胞及单核细胞中均有稳定的高水平表达<sup>[18]</sup>, 与GFR- $\alpha$ 2特异性结合的NTN虽是GFLs中的一员且其mRNA在肠道中高表达, 但并没有具体研究证明EGC可表达分泌NTN, 其是否为EGC与肠黏膜免疫细胞相互作用的介质有待进一步探索. 有关GFLs中的另两个成员artemin、persephin在免疫方面的研究则更加罕见.

**1.2 神经多肽** 早期研究发现, 正常小鼠肠黏膜分离的EGC可表达神经多肽(neurokinin A, NKA)和P物质(substance P, SP)<sup>[19]</sup>, 而neurokinin A和substance P均被证实可激活免疫细胞<sup>[20]</sup>. NKA和SP的共同受体NK-1R、NK-2R、NK-3R属于G蛋白偶联的受体超家族, 分别与NKA和SP结合后引起下游生化反应, 其中NK-1R对SP亲和力最高, NK-2R则对NKA的亲和力更好, 他们广泛的表达于胃肠道神经系统、平滑肌细胞、免疫细胞、内皮细胞及上皮细胞等, 是肠神经免疫内分泌网络的重要信息递质<sup>[21]</sup>.

许多研究都已证实在克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的结肠组织中均发现SP的高表达和NK-1R、NK-2R的上调, 且其表达水平与疾病活动度成正相关<sup>[20]</sup>, 其中, NK-1的上调主要通过IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-12、IL-18等炎症因子激活核因子(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)相关通路, 而抗炎因子IL-10则可下调NK-1R的表达<sup>[22,23]</sup>. 另外, 炎症因子干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ )可诱导NKA和NK-2R上调, 两者结合后可激活DC细胞介导的I型免疫反应<sup>[24]</sup>. 通过上述结果提示SP与NKA可能在IBD的发生发展中起促进炎症的作用, 然而近期有研究发现, SP与NK-1在IBD恢复期中可能有促进黏膜愈合的保护性作用. 比如, 在NK-1表达缺陷的小鼠中结肠炎症的组织 and 临

床表现都较对照组加重<sup>[25]</sup>, 进一步研究证明这一现象与SP依赖的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)转录激活导致的成纤维细胞增生有关<sup>[25]</sup>. 由此可见, 神经多肽对IBD的调控并非简单的促进或抑制, 直接以NK-1R或NK-2R作为靶点治疗IBD还有很多需要考虑的问题, 另外, EGC分泌SP及NKA的具体机制及相关调控通路还不清楚, 且由于EGC并非SP和NKA的唯一来源, 他在EGC与肠道免疫细胞的相互作用中究竟起多大作用尚有待进一步研究.

**1.3 细胞因子** 许多研究都发现EGC在免疫刺激下可表达细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ <sup>[27,28]</sup>. 免疫细胞分泌的细胞因子亦可反作用于EGC. 其中, IL-1 $\beta$ 可通过结合IL-1受体增强IL-6的表达并反馈性抑制自身IL-1 $\beta$ 的分泌<sup>[29]</sup>. IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 可刺激EGC分泌ET-1, 而ET-1可通过作用于EGC表面的ETA/ETB受体导致EGC中GFAP表达增加<sup>[28]</sup>. 另外, 在两项独立的研究中均发现IL-1 $\beta$ 会抑制胶质细胞的增生<sup>[30,31]</sup>, 而抗炎因子IL-10在低浓度时抑制、高浓度时促进胶质细胞增生<sup>[30]</sup>, 提示不同的细胞因子可能对胶质细胞的增生起不同的调控作用. 细胞因子还可诱导S100B和GFAP的表达并刺激EGC分泌NO, 并通过S100B-RAGE的相互作用影响外周血和肠道黏膜免疫细胞的应答<sup>[32-34]</sup>.

虽然EGC与细胞因子之间相互作用的具体调控机制尚不完全明确, 但EGC的自分泌与旁分泌作用为深入研究EGC与免疫细胞的相互作用提供了新的线索.

## 2 抗原递呈

有研究证实CD中肠道神经系统的淋巴浸润与EGC表达MHC II相关<sup>[35]</sup>, 提示在CD中EGC可能通过MHC II直接介导肠道神经系统的免疫损伤. EGC具有在细胞因子的诱导下表达MHC II和ICAM-1的能力, 而这种能力可完全激活抗原特异性T细胞<sup>[36,37]</sup>, 这一点在体外组织培养实验中已经得到证明. 相关的体内实验亦表明EGC可激活肠黏膜CD8<sup>+</sup>细胞. 这些实验结果提示EGC与肠黏膜免疫细胞存在直接的相互作用, 但这种作用的具体调节机制以及对IBD的影响还需更多的实验来证明.

## 3 结论

越来越多的证据证明肠神经胶质细胞作为胶质源性神经营养因子、神经多肽和细胞因子的重

### ■ 相关报道

许多研究发现, 肠神经胶质细胞除了营养和支持肠神经元的作用外, 肠神经胶质细胞还通过分泌包括神经营养因子、神经多肽、细胞因子等神经递质与肠道神经-免疫-内分泌网络中的其他成员有着错综复杂的联系, 直接参与整个肠道稳态的调节, 在IBD的发生发展中起重要作用.

## ■创新盘点

本文详述了肠神经胶质细胞与肠黏膜免疫细胞的关系及其在IBD发生发展中的作用,为从肠道神经-免疫-内分泌网络角度阐明IBD的发病机制及寻找IBD治疗新药物提供了新的思路。

要来源,对肠道黏膜免疫细胞有错综复杂的影响,是肠道神经系统和肠黏膜免疫系统联系的重要桥梁。尽管研究已证实肠神经胶质细胞是维持肠道黏膜上皮屏障及神经系统正常结构和功能的必要因素,但目前为止,肠神经胶质细胞和肠黏膜免疫细胞之间的相互作用对肠道炎症究竟起促进还是抑制作用仍有待进一步探索。

## 4 参考文献

- Gabella G. Ultrastructure of the nerve plexuses of the mammalian intestine: the enteric glial cells. *Neuroscience* 1981; 6: 425-436 [PMID: 7219723 DOI: 10.1016/0306-4522(81)90135-4]
- Reinshagen M, Rohm H, Steinkamp M, Lieb K, Geerling I, Von Herbay A, Flämig G, Eysselein VE, Adler G. Protective role of neurotrophins in experimental inflammation of the rat gut. *Gastroenterology* 2000; 119: 368-376 [PMID: 10930372 DOI: 10.1053/gast.2000.9307]
- von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Nerve growth factor secretion in cultured enteric glia cells is modulated by proinflammatory cytokines. *J Neuroendocrinol* 2006; 18: 820-825 [PMID: 17026531 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2006.01478.x]
- Aloe L, Levi-Montalcini R. Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res* 1977; 133: 358-366 [PMID: 902100 DOI: 10.1016/0006-8993(77)90772-7]
- Thorpe LW, Perez-Polo JR. The influence of nerve growth factor on the in vitro proliferative response of rat spleen lymphocytes. *J Neurosci Res* 1987; 18: 134-139 [PMID: 3500321 DOI: 10.1002/jnr.490180120]
- Gee AP, Boyle MD, Munger KL, Lawman MJ, Young M. Nerve growth factor: stimulation of polymorphonuclear leukocyte chemotaxis in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 7215-7218 [PMID: 6580641 DOI: 10.1073/pnas.80.23.7215]
- Banerjee SP, Snyder SH, Cuatrecasas P, Greene LA. Binding of nerve growth factor receptor in sympathetic ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973; 70: 2519-2523 [PMID: 4517666 DOI: 10.1073/pnas.70.9.2519]
- Herrup K, Shooter EM. Properties of the beta nerve growth factor receptor of avian dorsal root ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973; 70: 3884-3888 [PMID: 4359493 DOI: 10.1073/pnas.70.12.3884]
- Ross AH, Grob P, Bothwell M, Elder DE, Ernst CS, Marano N, Ghrist BF, Slemp CC, Herlyn M, Atkinson B. Characterization of nerve growth factor receptor in neural crest tumors using monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81: 6681-6685 [PMID: 6093111 DOI: 10.1073/pnas.81.21.6681]
- Pezzati P, Stanisiz AM, Marshall JS, Bienenstock J, Stead RH. Expression of nerve growth factor receptor immunoreactivity on follicular dendritic cells from human mucosa associated lymphoid tissues. *Immunology* 1992; 76: 485-490 [PMID: 1326478]
- Barada KA, Mourad FH, Sawah SI, Khoury C, Safieh-Garabedian B, Nassar CF, Tawil A, Jurjus A, Saadé NE. Up-regulation of nerve growth factor and interleukin-10 in inflamed and non-inflamed intestinal segments in rats with experimental colitis. *Cytokine* 2007; 37: 236-245 [PMID: 17517520 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.04.005]
- Takahashi M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; 12: 361-373 [PMID: 11544105 DOI: 10.1016/S1359-6101(01)00012-0]
- Ralainirina N, Brons NH, Ammerlaan W, Hoffmann C, Hentges F, Zimmer J. Mouse natural killer (NK) cells express the nerve growth factor receptor TrkA, which is dynamically regulated. *PLoS One* 2010; 5: e15053 [PMID: 21152021]
- Airaksinen MS, Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 383-394 [PMID: 11988777 DOI: 10.1038/nrn812]
- Steinkamp M, Geerling I, Seufferlein T, von Boyen G, Egger B, Grossmann J, Ludwig L, Adler G, Reinshagen M. Glial-derived neurotrophic factor regulates apoptosis in colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1748-1757 [PMID: 12806607 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00404-9]
- Vargas-Leal V, Bruno R, Derfuss T, Krumbholz M, Hohlfeld R, Meinl E. Expression and function of glial cell line-derived neurotrophic factor family ligands and their receptors on human immune cells. *J Immunol* 2005; 175: 2301-2308 [PMID: 16081799]
- Vergelli M, Le H, van Noort JM, Dhib-Jalbut S, McFarland H, Martin R. A novel population of CD4+CD56+ myelin-reactive T cells lyses target cells expressing CD56/neural cell adhesion molecule. *J Immunol* 1996; 157: 679-688 [PMID: 8752917]
- Bernstein CN, Vidrich A. Isolation, identification, and culture of normal mouse colonic glia. *Glia* 1994; 12: 108-116 [PMID: 7532620 DOI: 10.1002/glia.440120204]
- O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP, Shanahan F. The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol* 2004; 201: 167-180 [PMID: 15334652 DOI: 10.1002/jcp.20061]
- Gross KJ, Pothoulakis C. Role of neuropeptides in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 918-932 [PMID: 17343284 DOI: 10.1002/ibd.20129]
- Simeonidis S, Castagliuolo I, Pan A, Liu J, Wang CC, Mykoniatis A, Pasha A, Valenick L, Sougioultzis S, Zhao D, Pothoulakis C. Regulation of the NK-1 receptor gene expression in human macrophage cells via an NF-kappa B site on its promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 2957-2962 [PMID: 12594338 DOI: 10.1073/pnas.0530112100]
- Weinstock JV, Blum A, Metwali A, Elliott D, Arsenescu R. IL-18 and IL-12 signal through the NF-kappa B pathway to induce NK-1R expression on T cells. *J Immunol* 2003; 170: 5003-5007 [PMID: 12734344]
- Kitamura H, Kobayashi M, Wakita D, Nishimura T. Neuropeptide signaling activates dendritic cell-mediated type 1 immune responses through neurokinin-2 receptor. *J Immunol* 2012; 188: 4200-4208 [PMID: 22474018 DOI: 10.4049/jimmunol.1102521]
- Bush TG, Savidge TC, Freeman TC, Cox HJ, Campbell EA, Mucke L, Johnson MH, Sofroniew MV. Fulminant jejuno-ileitis following ablation of enteric glia in adult transgenic mice. *Cell* 1998; 93: 189-201 [PMID: 9568712 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81571-8]
- Rühl A, Trotter J, Stremmel W. Isolation of enteric glia and establishment of transformed enteroglia

- cell lines from the myenteric plexus of adult rat. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 95-106 [PMID: 11169131 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2001.00246.x]
- 26 Rühl A, Franzke S, Collins SM, Stremmel W. Interleukin-6 expression and regulation in rat enteric glial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G1163-G1171 [PMID: 11352809]
- 27 Rühl A, Khan I, Blennerhassett MG, Collins SM. Enteroglia cells from rat myenteric plexus express interleukin-1 and interleukin-6 mRNA. *Gastroenterology* 1994; 106: A561
- 28 von Boyen GB, Degenkolb N, Hartmann C, Adler G, Steinkamp M. The endothelin axis influences enteric glia cell functions. *Med Sci Monit* 2010; 16: BR161-BR167 [PMID: 20512083]
- 29 Rühl A, Franzke S, Stremmel W. IL-1 $\beta$  and IL-10 have dual effects on enteric glial cell proliferation. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 89-94 [PMID: 11169130 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2001.00245.x]
- 30 von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Proinflammatory cytokines increase glial fibrillary acidic protein expression in enteric glia. *Gut* 2004; 53: 222-228 [PMID: 14724154 DOI: 10.1136/gut.2003.012625]
- 31 Castagliuolo I, Morteau O, Keates AC, Valenick L, Wang CC, Zacks J, Lu B, Gerard NP, Pothoulakis C. Protective effects of neurokinin-1 receptor during colitis in mice: role of the epidermal growth factor receptor. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 271-279 [PMID: 12010776 DOI: 10.1038/sj.bjp.0704697]
- 32 Cirillo C, Sarnelli G. Enteric glia stimulates inflammation-induced responses in human intestine and interacts with immune cells via S100B protein. *Gastroenterology* 2009; 136: A271-A272
- 33 Cirillo C, Sarnelli G, Esposito G, Turco F, Steardo L, Cuomo R. S100B protein in the gut: the evidence for enteroglia-sustained intestinal inflammation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1261-1266 [PMID: 21455324 DOI: 10.3748/wjg.v17.i10.1261]
- 34 Cirillo C, Sarnelli G, Turco F, Mango A, Grosso M, Aprea G, Masone S, Cuomo R. Proinflammatory stimuli activates human-derived enteroglia cells and induces autocrine nitric oxide production. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: e372-e382 [PMID: 21762414 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01748.x]
- 35 Geboes K, Rutgeerts P, Ectors N, Mebis J, Penninckx F, Vantrappen G, Desmet VJ. Major histocompatibility class II expression on the small intestinal nervous system in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 439-447 [PMID: 1378803]
- 36 Hollenbach E, Rühl A, Zöller M, Stremmel W. T cell activation by enteric glia-a novel pathway for the amplification of inflammatory responses in the enteric nervous system (ENS). *Gastroenterology* 2000; 118: A184
- 37 da Silveira AB, de Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Fujiwara RT, Oliveira RC, Brehmer A. Enteroglia cells act as antigen-presenting cells in chagasic megacolon. *Hum Pathol* 2011; 42: 522-532 [PMID: 21208643 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.016]

## ■同行评价

本文组织合理, 逻辑清晰, 内容简练, 具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(《世界华人消化杂志》编辑部 2012-01-01)



# miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用

邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎和克罗恩病,是发生在胃肠道的慢性炎症性疾病。近年来,我国IBD患病人数呈显著上升趋势。

邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举, 同济大学附属第十人民医院消化内科 上海市 200072

邬瑞金, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270470, No. 81061120521

作者贡献分布: 本文综述由邬瑞金与刘嫦钦完成; 刘占举审核。

通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科。

zhanjuli@yahoo.com

电话: 021-66301164 传真: 021-66303983

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Role of miRNAs in pathogenesis of inflammatory bowel disease

Rui-Jin Wu, Chang-Qin Liu, Zhan-Ju Liu

Rui-Jin Wu, Chang-Qin Liu, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81270470, No. 81061120521

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuli@yahoo.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are a kind of endogenous small-molecule RNAs that can direct mRNA degradation and translational inhibition post-transcriptionally by binding to complementary sequences in the 3'untranslated regions of specific target mRNAs. The pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD) is associated with immune response, inflammatory injury, and genetic factors. MiRNAs play multiple important roles in the intestinal epithelium, influencing a number of intestinal disease processes. This review summarizes the regulatory role of miRNAs in intestinal epithelial differentiation, architecture, membrane permeability, immunological function, and more importantly, intestinal mucosal barrier dysfunction in IBD. It has been found that many miRNAs in the serum and intestinal mucosa of IBD patients show abnormal expression. In active UC miR-192, miR-375 and miR-422b were significantly down-

regulated, and miR-16, miR-21 and let-7 up-regulated compared with normal intestinal mucosa. In active CD miR-19b and miR-629 were significantly down-regulated, and miR-23b, miR-106 and miR-191 were up-regulated. MicroRNAs provide molecular targets for prevention, early diagnosis and treatment of IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA; Inflammatory bowel disease; Intestinal mucosal barrier

Wu RJ, Liu CQ, Liu ZJ. Role of miRNAs in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 602-606 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.602>

## 摘要

微小RNAs(miRNAs)是一类非编码的内源性小分子RNA,能在转录后水平负性调节靶mRNA表达。炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病机制与免疫异常、炎症损伤、遗传等因素密切相关。miRNA在肠道的差异性表达是调控肠黏膜屏障功能的重要环节,影响肠道上皮细胞的增殖、分化以及肠道黏膜的免疫功能,与IBD的发生发展密切相关。目前已发现多种miRNA在IBD患者在血清和肠黏膜组织异常表达,活动性溃疡性结肠炎较正常肠黏膜表达明显下调如miR-192、miR-375、miR-422b,而miR-16、miR-21、let-7等表达明显上调;活动性克罗恩病较正常肠黏膜表达明显下调如miR-19b、miR-629,miR-23b、miR-106和miR-191的表达明显上调。这为IBD的早期诊断、预防和治疗提供了分子靶标。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: MicroRNA; 炎症性肠病; 肠黏膜屏障

邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举. miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 602-606 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.602>

## ■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是发生在胃肠道慢性炎症性疾病。近年来, 我国IBD患病人数呈显著上升趋势。目前IBD病因和发病机制仍不清楚, 由于其病程长、病情容易反复等特点, 严重影响了患者生活质量, 造成了社会医疗经济负担。目前大多学者认为肠壁黏膜免疫调节异常、持续肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、遗传和环境等因素共同参与该疾病的发生发展<sup>[1-5]</sup>。

微小RNA(microRNA, miRNA)是近几年来分子生物学和遗传学领域的研究热点。miRNA是一类由内源基因编码的长度约为18-24个核苷酸的非蛋白编码单链小分子RNA, 主要参与基因转录后水平的调控, 通过调节基因表达在细胞增殖、凋亡、生长发育、细胞分化、代谢等过程中发挥重要作用<sup>[6]</sup>。目前越来越多的证据表明: miRNA在肠上皮的差异性表达对肠道屏障功能有显著影响, 与IBD的发生发展密切相关。

## 1 miRNA对肠黏膜屏障的调控作用

**1.1 miRNA在肠黏膜中的分布** 研究表明在不同组织中miRNA的表达量不同, 在肠黏膜中miRNA含量丰富。Gao等<sup>[7]</sup>用染色体免疫共沉淀技术(chromatin immunoprecipitation, ChIP)分析小鼠miRNA组织分别情况, 发现162种miRNA在空肠、肝脏和胰腺组织中差异性表达, 其中mmu-let-7、mmu-miR-192和mmu-miR-215在空肠表达明显。Lindsay等<sup>[8]</sup>用高通量测序-交联免疫沉淀技术(high throughput sequencing by crosslinking and immunoprecipitation, HITS-CLIP)分析小鼠肠黏膜miRNA表达情况, 发现在已知的453种miRNA家族中, 大肠和小肠肠黏膜中同时高表达miR-192; 大肠和小肠肠黏膜中高表达的15种miRNA有53%的重叠。McKenna等<sup>[9]</sup>同样分析小鼠肠黏膜miRNA表达情况, 发现空肠和大肠分别存在545和582种成熟的miRNA, 分别高表达miR-31、miR-196b; miR-21、let-7b等与肠道疾病密切相关的miRNA在肠上皮表达明显。Coutinho等<sup>[10]</sup>对牛胚胎组织进行测序, 发现胎牛小肠黏膜组织中miRNA的种类与其他胚胎组织比较存在差异(其中bta-miR-145只在小肠中表达), 影响肠道稳态和肠道免疫应答, 以上结果提示许多肠道功能基因的表达之所以具有解剖区域的特异性, 可能与miRNA在肠道上皮的

差异性表达有关。

**1.2 miRNA对肠黏膜屏障的调控** 肠黏膜的屏障功能是指正常肠道具有完善的功能隔离带, 防止肠腔内致病性抗原(细菌、有毒物质、食物抗原物质、致癌物质等)侵入, 使机体内环境保持相对稳定, 维持机体的正常生命活动。肠单层上皮细胞与黏液层、肠黏膜相关淋巴组织、益生菌等共同抵御肠道致病菌。肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, IEC)由肠腺隐窝区的干细胞分化而来, 有高效的自我更新能力, IEC之间的紧密连接(tight junction, TJ)是肠黏膜屏障的重要组成部分。McKenna等<sup>[9]</sup>研究发现Dicer1基因敲除小鼠小肠的低位隐窝区干细胞和结肠全层IEC发生凋亡, 提示miRNA对肠隐窝干细胞的增殖具有重要调控作用。TJ主要由跨膜蛋白(occludin蛋白和claudin蛋白)和细胞质蛋白组成。Ye等<sup>[11]</sup>研究发现过表达miR-122a可以降解occludin蛋白相关的mRNA, 进而改变肠上皮细胞间的通透性。McKenna等<sup>[9]</sup>用激光共聚焦显微镜和细胞通透性检测方法发现, Dicer1敲除小鼠IEC间的TJ跨膜蛋白claudin-7和claudin-4排列杂乱、染色信号减弱, 肠上皮通透性明显增加, 提示miRNA对肠屏障功能具有重要影响。

肠上皮细胞能感受肠腔抗原刺激并将信号传递给固有免疫系统和适应性免疫系统, 从而启动免疫应答, 形成肠道免疫自稳状态。这一机制的维持涉及一系列复杂的免疫调控网络, 而miRNA在其中地位正逐渐被重视。O'Connell等<sup>[12]</sup>总结了免疫系统的miRNA表达特异性, 如miR-10、miR-126、miR-221、miR-222的靶基因定位在骨髓造血干细胞发育的各个环节; miR-9、miR-21、miR-34、miR-146、miR-155、miR-196b、miR-424等对各种固有免疫细胞的发育和功能具有重要调控作用; miR-181a和miR-155、miR-326分别调控T细胞的发育和功能; miR-150和miR-155则分别调控B细胞的发育和功能。Goto等<sup>[13]</sup>发现肠道上皮细胞表达的miR-375既能调节杯状细胞分化, 又能促进2型辅助T淋巴细胞(T helper type 2 cell, Th2 cell)对寄生虫感染的适应性免疫应答, 从而维持黏膜的屏障功能。Coutinho等<sup>[10]</sup>发现miR-145、miR-224、miR-182、miR-350、miR-361和miR-486可与能诱导杯状细胞分化的主要转录因子KLF-4(Kmmpel-like factor 4)的3'端非翻译区相互作用, 使Dicer1敲除小鼠肠道杯状细胞表达减少, 黏蛋白分泌减弱, 诱发微生物黏附, 损伤

## ■研发前沿

目前IBD病因和发病机制仍不清楚, 由于其病程长、病情容易反复等特点, 严重影响患者的生活质量, 造成社会医疗经济负担。

## ■相关报道

目前大多学者认为肠壁黏膜免疫调节异常、持续肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、遗传和环境等因素共同参与该疾病的发生发展。

## ■创新盘点

杯状细胞缺失作为肠道炎症信号,是IBD发生的组织学标志之一。MiRNA能调节杯状细胞成熟,继而影响IBD的发生发展。肠屏障通透性的改变是CD患病的首要因素,是UC发病的第2位因素。

IEC,进而改变肠道通透性。杯状细胞缺失作为肠道炎症信号,是IBD发生的组织学标志之一。miRNA能调节杯状细胞成熟,继而影响IBD的发生发展。

相关研究表明肠屏障通透性的改变是CD患病的首要因素<sup>[14]</sup>,是UC发病的第2位因素<sup>[15]</sup>。Söderholm等<sup>[16]</sup>发现,在CD患者中,无炎症的回肠上皮细胞TJ对于癸酸钠的通透性明显增高。电镜下观察,CD、UC患者中TJ数目减少、TJ线不连续。在健康的个体中,CD4<sup>+</sup>T细胞被Peyer集合淋巴小结内的消化系抗原激活,迁移至黏膜固有层(lamina propria, LP)内凋亡。在病理条件下,TJ通透性增加使抗原能渗透至LP内,触发T细胞的激活致炎因子,如干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ ),然后进一步增加IEC的通透性,形成慢性炎症的恶性循环<sup>[17-19]</sup>。

## 2 miRNA在IBD中的表达

MiRNAs在细胞内源性和外源性免疫调节系统中起重要作用,且参与炎症调节过程,如在巨噬细胞内miR-155可被炎症细胞因子和Toll样受体诱导,影响抗原递呈和TNF信号传导;miR-146a受LPS诱导而表达增加,与miR-146b一起下调TLR信号通路中的重要靶基因TNF-6和白介素-1(interleukin-1, IL-1)的表达,在炎症反应过程中起到负反馈作用<sup>[20-22]</sup>。同样,miR-9可通过TLR4激活核因子(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)途径,参与NF- $\kappa$ B的反馈抑制作用<sup>[23]</sup>。Wu等<sup>[24,25]</sup>通过miRNAs芯片和qRT-PCR(quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)分析IBD和正常对照的肠黏膜组织中miRNA的表达情况,与正常人结肠黏膜进行比较发现,miR-192、miR-375、miR-422b在活动性UC患者结肠黏膜中表达明显下调,miR-16、miR-21、miR-23a、miR-24、miR-29a、miR-126、miR-195和let-7表达明显上调;miR-19b, miR-629在活动性CD患者结肠黏膜中表达明显下调,miR-23b、miR-106和miR-191表达明显上调。该研究小组还研究CD、UC患者外周血中的miRNA发现,miR-28-5p、miR-151-5p、miR-199a-5p、miR-plus-E1271、miR-362-3p等在活动性UC患者外周血中表达上调,miR-103-2、miR-362-3p、miR-532-3p在活动性和非活动性UC中均上调,而miR-505均下调;而在活动性CD患者中miR-199a-5p、miR-362-

3p、miR-340、miR-532-3p、miR-plus-E1271显著上调,miR-149和miR-1056显著下调。该研究认为可以通过外周血中miRNA的表达水平差异区别活动性CD、活动期UC、非活动期CD、非活动期UC及健康对照者,表明相关miRNA可作为潜在的UC和CD临床诊断指标。该研究结果与肠黏膜组织中的结果并不完全相同,提示两类标本中异常表达的miRNA亚型也不同,检测外周血miRNA并不一定能准确反应病变组织miRNA变化,其可能反映的主要是循环白细胞中的变化情况。

IBD患者罹患结直肠癌风险增加,在肠黏膜从慢性炎症发展到发育不良进程中,肠黏膜异常表达miRNA起着重要作用。MiR-21是目前唯一在几乎所有肿瘤中表达上调的miRNA,其参与了肿瘤细胞的增殖、迁移、浸润以及肿瘤的血管生成等多个环节。而miR-21在活动期UC患者肠黏膜中表达升高,Yamamichi等<sup>[26]</sup>采用原位杂交技术分析miR-21在结直肠癌发展的不同期别中的表达,结果发现miR-21的表达从癌前病变到晚期癌逐渐增加。Olaru等<sup>[27]</sup>采用miRNA芯片技术分析正常肠黏膜组织、IBD及IBD相关性肿瘤肠黏膜组织中miR-31表达变化,结果发现miR-31表达水平呈阶梯状上升,并且他们鉴定出了miR-31直接靶基因-缺氧诱导因子抑制因子1(factor inhibiting hypoxia inducible factor 1, FIHIF-1),miR-31通过与其3'UTR区的结合抑制其蛋白水平的表达,其生成可被缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)的活化所调控,FIHIF-1可催化HIF转录后修饰,FIHIF-1表达下调则可限制HIF的活化,因此miR-31可能通过下调FIHIF-1表达影响IBD向IBD相关性肿瘤的发展,这为我们认识IBD的发病机制提供了新方向。

## 3 结论

目前,miRNA的功能尚不十分明确,但其作为基因表达的调控者,在肿瘤及炎症过程中的作用越来越受到人们的重视。随着miRNA研究的深入和技术的不断进步,为进一步阐明IBD的发生发展提供了方向,并可能为IBD的靶向治疗提供新的治疗思路。

## 4 参考文献

- 1 Gismera CS, Aladrén BS. Inflammatory bowel diseases: a disease (s) of modern times? Is incidence still increasing? *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5491-5498 [PMID: 18810764]
- 2 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin



- H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]
- 3 Fiocchi C. Genes and 'in-vironment': how will our concepts on the pathophysiology of inflammatory bowel disease develop in the future? *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 2-11 [PMID: 23295686 DOI: 10.1159/000342585.]
- 4 Mueller C. Danger-associated molecular patterns and inflammatory bowel disease: is there a connection? *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 40-46 [PMID: 23295691 DOI: 10.1159/000342600.]
- 5 Bernstein CN. Why and where to look in the environment with regard to the etiology of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 28-32 [PMID: 23295689 DOI: 10.1159/000342593.]
- 6 Guarnieri DJ, DiLeone RJ. MicroRNAs: a new class of gene regulators. *Ann Med* 2008; 40: 197-208 [PMID: 18382885 DOI: 10.1080/07853890701771823]
- 7 Gao Y, Schug J, McKenna LB, Le Lay J, Kaestner KH, Greenbaum LE. Tissue-specific regulation of mouse microRNA genes in endoderm-derived tissues. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 454-463 [PMID: 20843784 DOI: 10.1093/nar/gkq782]
- 8 Lindsay B, Bradley PM. Care delivery and self-management strategies for children with epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (12): CD006245 [PMID: 21154365 DOI: 10.1002/14651858.CD006245.pub2]
- 9 McKenna LB, Schug J, Vourekas A, McKenna JB, Bramswig NC, Friedman JR, Kaestner KH. MicroRNAs control intestinal epithelial differentiation, architecture, and barrier function. *Gastroenterology* 2010; 139: 1654-1664, 1664. e1 [PMID: 20659473 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.040]
- 10 Coutinho LL, Matukumalli LK, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Gasbarre LC, Capuco AV, Smith TP. Discovery and profiling of bovine microRNAs from immune-related and embryonic tissues. *Physiol Genomics* 2007; 29: 35-43 [PMID: 17105755 DOI: 10.1152/physiolgenomics.00081.2006]
- 11 Ye D, Guo S, Al-Sadi R, Ma TY. MicroRNA regulation of intestinal epithelial tight junction permeability. *Gastroenterology* 2011; 141: 1323-1333 [PMID: 21763238 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.005]
- 12 O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 111-122 [PMID: 20098459 DOI: 10.1038/nri2708]
- 13 Goto Y, Kiyono H. Epithelial cell microRNAs in gut immunity. *Nat Immunol* 2011; 12: 195-197 [PMID: 21321589 DOI: 10.1038/ni0311-195]
- 14 May GR, Sutherland LR, Meddings JB. Is small intestinal permeability really increased in relatives of patients with Crohn's disease? *Gastroenterology* 1993; 104: 1627-1632 [PMID: 8500719]
- 15 Schmitz H, Barmeyer C, Froom M, Runkel N, Foss HD, Bentzel CJ, Riecken EO, Schulzke JD. Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1999; 116: 301-309 [PMID: 9922310]
- 16 Söderholm JD, Olaison G, Peterson KH, Franzén LE, Lindmark T, Wirén M, Tagesson C, Sjödalh R. Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 307-313 [PMID: 11839706]
- 17 Ma TY, Boivin MA, Ye D, Pedram A, Said HM. Mechanism of TNF- $\alpha$  modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier: role of myosin light-chain kinase protein expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G422-G430 [PMID: 15701621 DOI: 10.1152/ajpgi.00412.2004]
- 18 Macdonald TT, Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science* 2005; 307: 1920-1925 [PMID: 15790845 DOI: 10.1126/science.1106442]
- 19 Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol* 2005; 166: 409-419 [PMID: 15681825]
- 20 O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 1604-1609 [PMID: 17242365 DOI: 10.1073/pnas.0610731104]
- 21 Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, van Dongen S, Grocock RJ, Das PP, Miska EA, Vetric D, Okkenhaug K, Enright AJ, Dougan G, Turner M, Bradley A. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* 2007; 316: 608-611 [PMID: 17463290 DOI: 10.1126/science.1139253]
- 22 Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12481-12486 [PMID: 16885212 DOI: 10.1073/pnas.0605298103]
- 23 Bazzoni F, Rossato M, Fabbri M, Gaudiosi D, Mirolo M, Mori L, Tamassia N, Mantovani A, Cassatella MA, Locati M. Induction and regulatory function of miR-9 in human monocytes and neutrophils exposed to proinflammatory signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5282-5287 [PMID: 19289835 DOI: 10.1073/pnas.0810909106]
- 24 Wu F, Zhang S, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, Meltzer SJ, Brant SR, Kwon JH. Identification of microRNAs associated with ileal and colonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1729-1738 [PMID: 20848482 DOI: 10.1002/ibd.21267]
- 25 Wu F, Zikusoka M, Trindade A, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, Brant SR, Chakravarti S, Kwon JH. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 alpha. *Gastroenterology* 2008; 135: 1624-1635. e24 [PMID: 18835392 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.07.068]
- 26 Yamamichi N, Shimomura R, Inada K, Sakurai K, Haraguchi T, Ozaki Y, Fujita S, Mizutani T, Furukawa C, Fujishiro M, Ichinose M, Shiohama K, Tsutsumi Y, Omata M, Iba H. Locked nucleic acid in situ hybridization analysis of miR-21 expression during colorectal cancer development. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4009-4016 [PMID: 19509156 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3257]
- 27 Olaru AV, Selaru FM, Mori Y, Vazquez C, David S, Paun B, Cheng Y, Jin Z, Yang J, Agarwal R, Abra-

# ■应用要点

目前,miRNA的功能尚不十分明确,但其作为基因表达的调控者,在肿瘤及炎症过程中的作用越来越受到人们的重视。随着miRNA研究的深入和技术的不断进步,为进一步阐明IBD的发生发展提供了方向,并可能为IBD的靶向治疗提供新的治疗思路。

## ■同行评价

本文对miRNA在IBD发病过程中的作用加以综述,特别是从miRNA对肠黏膜屏障功能影响这一角度进行描述和分析,具有重要的临床指导意义。

ham JM, Dassopoulos T, Harris M, Bayless TM, Kwon J, Harpaz N, Livak F, Meltzer SJ. Dynamic changes in the expression of MicroRNA-31 during

inflammatory bowel disease-associated neoplastic transformation. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 221-231 [PMID: 20848542 DOI: 10.1002/ibd.21359]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

**本刊讯** 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, Vmax不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *Vd*, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

# 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展

罗凤燕, 白爱平

罗凤燕, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

罗凤燕, 主要从事炎症性肠病的相关研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270472, No. 81070310

作者贡献分布: 本文综述由罗凤燕与白爱平完成; 白爱平审校。

通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, baiap@163.com

收稿日期: 2012-12-26 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

## Animal models of ulcerative colitis

Feng-Yan Luo, Ai-Ping Bai

Feng-Yan Luo, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270472 and 81070310

Correspondence to: Ai-Ping Bai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizhen Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com

Received: 2012-12-26 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

## Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic, recurrent inflammatory disease of the colon, characterized clinically by bloody diarrhea and abdominal pain. UC has been a clinical challenge due to its increasing incidence and prevalence, unknown etiology and pathogenesis, and the lack of effective treatment. Animal models have been widely used to investigate the pathogenesis of various diseases. So far, many animal models of UC have been developed, which play a crucial role in studying the pathogenesis of UC and finding new potential treatments. This article reviews the recent progress in the development of animal models of UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Animal models; Pathogenesis

Luo FY, Bai AP. Animal models of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 607-613 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/607.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.607>

[org/10.11569/wcjd.v21.i7.607](http://www.wjgnet.com/10.11569/wcjd.v21.i7.607)

## 摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种主要局限于大肠黏膜和黏膜下层的慢性非特异性炎症性疾病, 呈反复发作, 临床表现主要为腹痛、腹泻、黏液脓血便。有资料统计, 该病发病率和患病率在我国有明显增加趋势。但其确切病因和发病机制至今仍未阐明, 治疗上也缺乏特异有效的药物。建立理想的, 模拟人类溃疡性结肠炎的动物模型是非常重要的, 因其对于UC病因、发病机制和新的治疗药物探讨有着重要意义。本文主要对近年来溃疡性结肠炎的几种动物模型进行述评。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 动物模型; 发病机制

罗凤燕, 白爱平. 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 607-613 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/607.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.607>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因未明的直肠和结肠炎症, 呈反复发作, 主要局限于大肠黏膜和黏膜下层, 属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)一种。有报告指出该病发病率和患病率在我国呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。目前认为UC可能机制是在肠腔内抗原诱导下遗传易感患者免疫反应过度激活引起的<sup>[2]</sup>。UC患者肠道菌群失调, 肠腔内致病菌和条件致病菌增多, 且肠黏膜通透性增加, 导致肠腔内细菌及/或细菌产物向黏膜固有层移位, 引起免疫细胞的激活及炎症反应<sup>[3]</sup>。UC临床表现主要为腹痛、腹泻、黏液脓血便等, 内镜下结肠呈糜烂、溃疡等弥漫性炎症, 组织病理学表现为黏膜或黏膜下弥漫性炎症反应、杯状细胞减少、隐窝结构破坏<sup>[4,5]</sup>。目前认为UC为复合性Th细胞反应, 以Th2为主<sup>[6]</sup>。迄今UC确切病因及发病机

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)是遗传易感者在一定环境因素及肠腔内抗原诱导下所发生的慢性非特异性免疫反应。近年来发病率逐渐升高, 已成为临床研究重点之一。由于人体实验的限制, 建立理想的UC动物模型对于其病因、发病机制、诊断与治疗的研究具有重要意义。

## ■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科



## ■ 研发前沿

对于UC动物模型研究迄今已有一百余年,但仍没有一种模型能够很好地模拟其发病机制,UC基因修饰模型仍需进一步研究。

制仍未明了。由于UC人体研究的局限,因此建立理想动物模型对于该病病因、发病机制及新的治疗方案的研究是非常重要的。本文对化学诱导、基因敲除、转基因和自发性溃疡性结肠炎几种动物模型进行综述。

## 1 化学物质诱导法

化学法诱导的UC因其制作简单、重复性好、费用较少,在实际研究应用较为广泛。其最大不足就是病变主要为急性炎症性反应,一般不具有UC慢性反复发作特点。主要应用于溃疡性结肠炎新药的研发,也可应用于UC发病机制研究。

**1.1 乙酸模型** 目前主要的大鼠乙酸模型方法如下<sup>[7]</sup>: 乙醚麻醉Wistar大鼠,将聚乙烯导管从肛门插入结肠8 cm处,缓慢注入3%乙酸2 mL,并保持仰卧头下脚上的位置30 s,以防止结肠内液体流出。小鼠模型如下<sup>[8]</sup>: 昆明种小鼠禁食12 h后,5%乙酸0.2 mL经直径1 mm灌肠器注入距肛门约3.5 cm近端结肠处,20 s后,注入生理盐水1 mL冲洗管腔。造模后出现腹泻、血便,第3天病变达高峰期,病变以远端结肠为主。组织病理学表现也类似于人类UC,主要表现为上皮细胞坏死,黏膜下水肿,出血及中性粒细胞浸润。

乙酸结肠炎模型是常用的UC模型之一,机制可能与利用乙酸的化学刺激造成结肠上皮细胞凋亡、黏膜屏障结构破坏,使肠黏膜通透性增加,诱导炎症细胞浸润、炎症介质的表达[肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等]<sup>[7]</sup>。该法简单易行、成本低、稳定可靠、周期短、成功率高、重复性好,适合用于新药的开发和疗效评估。但该模型的不足之处在于乙酸直接刺激造成结肠灼伤,不能反映人UC的免疫和遗传机制,且病变进展和愈合迅速,不适于观察时间较长的药物疗效。

**1.2 葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)模型** DSS结肠炎模型分为急性慢性模型。急性DSS模型的常见诱导方法<sup>[9]</sup>为自由饮用含3%-5%DSS蒸馏水5-7 d,小鼠即出现体质量下降和便血等表现,体质量下降在给予DSS后第4天开始明显下降,在第7天和第8天达到最低。急性期模型结肠炎病变以直肠、乙状结肠最为明显,光镜下病理表现为隐窝破坏,上皮细胞损伤,黏膜及黏膜下主要以中性粒细胞浸润为主,溃疡形成。慢性DSS模型的常见诱导方法<sup>[10]</sup>是给予动物自由饮含3%-5%DSS蒸馏水,连续5 d后改为饮用正常水10 d,此为一个循环,3个循环后即可

转变为溃疡性结肠炎慢性期。慢性期病理表现为灶性小溃疡,分化隐窝减少,广泛隐窝脓肿形成,以淋巴细胞、单核细胞为主的慢性炎症细胞浸润,上皮呈过度增生。DSS结肠炎模型的机制可能与DSS破坏肠黏膜屏障,导致肠道菌群向黏膜固有层移位,诱导巨噬细胞过度激活<sup>[11]</sup>,并导致Th1/Th2/Th17细胞功能失调<sup>[10]</sup>。

DSS急性结肠炎模型也是常用的结肠炎模型之一,因其制备简单、成功率高,且与人类UC病变相似,是研究UC发病机制和评估药物疗效较为理想的模型。但不足之处在于其黏膜病变为急性化学损伤所诱导,而并非自发的慢性炎症,且动物饮水量不能精确控制,可能导致小鼠间病变差异较大。慢性DSS模型可用于UC相关结肠癌的研究<sup>[12]</sup>,是UC相关结肠癌较为理想的模型。

**1.3 三硝基苯磺酸(trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)模型** 大鼠TNBS模型的制备方法为<sup>[13,14]</sup>,异戊巴比妥麻醉Wistar大鼠后,将钝头导管从肛门插至距肛门8 cm处,按80 mg/kg TNBS(20 mg TNBS溶解于50%乙醇1 mL,4 mL/kg大鼠体质量)缓慢灌肠,诱导急性结肠炎。15 d后再次给予30 mg/kg TNBS溶液(20 mg TNBS溶解于500 mL/L乙醇1 mL,1.5 mL/kg)灌肠,造成复发性结肠炎。第一次TNBS诱导时大鼠快速发展成严重结肠炎,其典型症状包括腹泻、血便、体质量明显下降、活动减少。第2周大鼠腹泻改善,饮食增加。第2次TNBS灌肠后,上述症状再次出现。急性小鼠TNBS模型的诱导方法<sup>[15]</sup>为,小鼠麻醉后,将2.5 mg TNBS溶解于500 mL/L乙醇缓慢灌肠,每只小鼠量为0.1 mL。复发性小鼠TNBS模型常见诱导方法<sup>[15]</sup>是将0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mg TNBS溶于500 mL/L乙醇中,然后分别在第1、8、15、22、29天给予每只小鼠0.1 mL。上述TNBS结肠炎模型的病理学改变为结肠炎黏膜灶性溃疡形成,杯状细胞及隐窝细胞减少,炎症细胞浸润。

TNBS结肠炎模型机制为, TNBS作为半抗原,与肠组织蛋白结合形成完全抗原,导致肠黏膜免疫反应的发生,造成肠黏膜的损伤。TNBS诱导的结肠炎其免疫反应以Th1/Th17反应为主<sup>[16]</sup>,有报道<sup>[17]</sup>整合素 $\alpha 1$ 缺陷小鼠TNBS模型的病情较野生小鼠轻,说明整合素 $\alpha 1\beta 1$ 介导了TNBS模型固有免疫反应的建立。TNBS模型症状和组织学改变与人类UC类似,可模拟了UC慢性复发性过程,可用来评估新的治疗方法对人类UC的

治疗作用. 然而, 目前普遍认为TNBS模型的Th免疫反应与克罗恩病更加类似, 故多用于克罗恩病的研究.

**1.4 恶唑酮(oxazolone)模型** 恶唑酮模型的方法为<sup>[18,19]</sup>, 腹部皮肤剃毛(2 cm×2 cm), 皮肤涂抹200 μL 3%恶唑酮(溶解于无水乙醇中)2 d, 以预先致敏小鼠. 第8天异乙醚麻醉小鼠, 将直径2 mm的硅胶管从肛门插入小鼠肠道约4 cm, 将溶解于50%乙醇的1%恶唑酮150 μL缓慢注入, 完成后倒提鼠尾约30-60 s, 使溶液完全流入肠道充分吸收. 小鼠灌肠后24 h即出现体质量逐渐下降. 镜下表现为上皮细胞缺失、糜烂和浅溃疡形成, 杯状细胞减少, 腺体密度减低. 炎症局限于黏膜和黏膜下层, 黏膜固有层可见多种炎症细胞浸润. 其机制可能是以Th2反应为主, 是由分泌IL-13的NKT细胞所介导的<sup>[18]</sup>. 恶唑酮诱导的结肠炎较好地复制了人类UC组织病理学表现, 制模简单, 重复性好, 可作为研究UC发病机制和药物疗效的评估, 但因其维持时间短, 自愈性强, 不适合模拟慢性复发性UC的研究.

## 2 基因修饰模型

针对特定基因的缺失或过度表达的基因修饰小鼠是现代医学研究的重要工具. 这些小鼠的表型不仅很好地描述了单个基因在疾病的病理生理中的作用, 也为进一步深入了解特定基因在机体内的功能研究提供了很好的研究方法和模型, 如类风湿性关节炎<sup>[20]</sup>、阿茨海默症<sup>[21]</sup>、IBD<sup>[22]</sup>等. 用基因修饰小鼠所诱导的IBD模型, 是近年来IBD研究的方法学热点, 对于IBD的免疫机制、药物治疗等研究提供了极大的便利, 但其缺点为动物价格昂贵, 基因修饰的技术要求高, 喂养及繁殖条件严格, 目前国内应用相对较少. 下面介绍几种基因修饰模型.

**2.1 T细胞受体-α(T cell receptor-α, TCR-α)基因敲除模型** TCR是介导T细胞免疫反应的重要受体, 参与了抗原的识别和递呈<sup>[23]</sup>. TCR基因缺陷小鼠被广泛用于研究T细胞和肠道细菌抗原在IBD发病中作用的研究<sup>[24]</sup>. 基因敲除的TCR-α<sup>-/-</sup>小鼠, 在无致病菌的环境下可自发产生慢性结肠炎, 组织病理学和免疫学特征均与UC类似. 该模型主要是由分泌IL-4的Th2细胞介导的, 对肠道抗原(包括正常细菌和食物)产生免疫反应, 诱导类似UC的病理组织学变化<sup>[25,26]</sup>. 有文献报道IL-4抗体可抑制TCR-α<sup>-/-</sup>小鼠结肠炎病情<sup>[22]</sup>. 另外, 该模型小鼠可暴露于一氧化碳(CO, 香烟的

主要成分), 以模拟吸烟等环境因素对人类UC的影响<sup>[25]</sup>. 该模型为自发性病理机制, 对UC免疫机制的研究提供一定的帮助, 且可模型环境因素对于人类UC影响.

**2.2 IL-2基因敲除模型** IL-2主要是由T淋巴细胞产生的, 参与细胞树突状细胞成熟、传统T细胞分化增殖<sup>[27]</sup>、促进激活B淋巴细胞分化<sup>[28]</sup>, 及诱导调节性T细胞(Treg)的功能<sup>[29]</sup>. IL-2基因缺陷小鼠可以自发出现类似人类UC的肠道病理变化, 50%IL-2基因缺陷小鼠在4-9周龄时死亡, 剩余的动物则于6-15周龄时发生肠道炎症病变, 症状和组织病理表现与人类UC类似<sup>[30]</sup>. 给予IL-2则能缓解该模型的病情, 说明IL-2所调节的Treg功能缺陷在该模型结肠炎发病中起重要作用<sup>[29,31]</sup>, 故该模型常被用于Treg诱导及功能的研究.

**2.3 IL-7转基因模型** IL-7表达于T淋巴细胞、骨髓基质细胞和肠道杯状细胞<sup>[32]</sup>. Watanabe等<sup>[33]</sup>发现IL-7转基因小鼠过度表达IL-7, 可自发出现急、慢性结肠炎的表现, 组织病理学改变类似人类UC. 新近学者发现, IL-7及其受体IL-7Ra对于慢性结肠炎的维持起重要作用<sup>[34,35]</sup>, 机制为IL-7通过多种途径促进CD4<sup>+</sup>效应和记忆T细胞存活, 进而诱发IBD, 如上调Bcl-2和激活JAK/STAT信号通路<sup>[36]</sup>. 该模型常被用于研究慢性UC的发病机制和药物治疗作用.

**2.4 T-bet<sup>-/-</sup> RAG2<sup>-/-</sup>模型** T-bet是Th1特异性的转录因子, 调节TH1细胞干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)的表达<sup>[37]</sup>及TH2转录因子GATA3的表达<sup>[38]</sup>. 有学者发现<sup>[39]</sup>, T-bet<sup>-/-</sup> RAG2<sup>-/-</sup>缺陷小鼠出现自发性UC表现, 其机制可能为T-bet缺陷的树突状细胞过度产生TNF, 诱导上皮细胞死亡, 导致上皮细胞屏障功能受损. 给予TNF中和抗体能阻止上皮细胞的凋亡及该模型炎症反应的发生. 故该模型常被用于研究UC的固有和适应性免疫免疫机制及药物治疗效果.

**2.5 MDR(multiple drug-resistant)1a<sup>-/-</sup>模型** MDR基因在人类中表现为2种形式: MDR1, MDR2, 而在啮齿动物类动物中已经发现3种MDR基因: MDR1a、MDR1b、MDR2<sup>[40]</sup>. 人类MDR基因位于第7号染色体(7q21.1)上, 是IBD易感基因位点, 它能够产生P-糖蛋白(P-gp)<sup>[41]</sup>. Panwala等<sup>[42]</sup>发现MDR1a缺陷小鼠在无特定病原菌条件下可以出现自发性结肠炎, 20%-25%MDR1a敲除小鼠1周龄时出现稀便、腹泻等表现, 组织病理学改变类似于UC, 表现为上皮细胞增生, 隐窝脓肿、溃疡形成及炎症细胞浸润. 其机制可能与MDR1a

### ■创新盘点

本文概括了几种动物模型, 从不同角度阐述了UC发病机制、组织病理学特点.

### ■应用要点

基因工程实验动物的遗传背景定义清晰,免疫特点突出,便于制定确认造模成功或干预有效的标准。

基因缺陷使得P-gp产生减少,导致肠黏膜屏障受损,渗透性增加,肠道固有层中Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞数减少<sup>[43-46]</sup>。该模型常用于UC早期炎症反应机制的研究。

**2.6 IL-10<sup>-/-</sup>模型** IL-10表达于多种细胞中,如T细胞,单核细胞/巨噬细胞,树突状细胞<sup>[47]</sup>。IL-10可调节多种免疫细胞的功能,如T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、肥大细胞的分化和增殖<sup>[48]</sup>。Kühn等<sup>[49]</sup>发现在清洁环境下饲养,IL-10基因敲除小鼠在7至11周龄时可发生结肠炎,组织病理学表现为结肠黏膜溃疡、炎症细胞浸润,肉芽肿形成等;而在无病原菌的环境中,这些小鼠的结肠炎发生率较低。该模型的机制为肠道病菌诱导肠黏膜免疫细胞产生IL-12,诱导TH1/TH17免疫反应<sup>[50]</sup>,而Treg的功能受抑制<sup>[51]</sup>。给予抗IL-12抗体、抗生素、IL-10等可以预防IL-10基因敲除小鼠结肠炎的发生<sup>[52]</sup>。该模型多被用于探讨肠道细菌在IBD发病中的作用,及肠道免疫细胞的功能研究。

**2.7 TLR5<sup>-/-</sup>模型** Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)在先天免疫和适应性免疫反应中发挥重要作用,参与调节细胞增殖、凋亡,血管生成的过程中的外源性和内源性配体的受体家族,组织重塑和修复<sup>[53]</sup>。有文献报道<sup>[53]</sup>,TLR基因缺陷小鼠35%-40%可自发性发展为结肠炎,以直肠脱垂、体质量下降、便血为特点,组织病理上主要表现为炎症细胞浸润,隐窝上皮破坏,水肿,上皮细胞增生等,其机制可能与对于肠道寄生虫防御减弱,且促炎因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、Th1细胞因子(IFN- $\gamma$ 和IL-12p70)、Th17细胞因子(IL-17和IL-23)表达增多有关。

**2.8 其他基因工程模型** 新近有一些其他基因修饰的UC模型的报道,包括TLR5<sup>-/-</sup>模型<sup>[53]</sup>、STAT3基因敲除模型<sup>[54]</sup>、STAT4转基因模型<sup>[55]</sup>等,但这些确切机制仍不明确,研究应用目前尚较少。

### 3 自发性动物模型

自然界中,某些动物能在其生活过程中自发出现与人类UC相似的结肠炎,这些模型症状和组织病理学表现类似于人类UC,是研究人类UC较为理想的实验性模型。但这些自发性动物模型由于这些动物稀少、昂贵且难以进行标准化控制,目前尚难进行大规模实验及更深入研究。

**3.1 棉顶绢毛猴模型** 棉顶绢毛猴是一种濒危灵长类动物,1岁半至2岁时,可自发出现类似于

人类UC肠道炎症<sup>[56]</sup>,表现为黏液血便、体质量下降、腹泻等。组织病理学表现为结肠上皮增生、杯状细胞减少、炎症细胞浸润、隐窝结构缺失等。该动物结肠炎发病机制仍不清楚。Saunders等<sup>[57]</sup>认为其可能与尿激酶阴性的螺杆菌属细菌感染有关。成年棉顶绢毛猴结肠炎呈反复发作,且结肠炎相关腺癌发病率很高,可作为结肠炎相关癌研究的理想模型。

**3.2 C3H/He J小鼠模型** C3H/He J小鼠一般在出生后2-4 wk出现黏液血便、体质量下降、腹泻等表现,该模型特点为病变部位位于右半结肠的炎症,呈自发性和慢性发作,组织病理学表现与人类UC类似,幽门螺杆菌感染可能与该模型结肠炎发病有一定相关性<sup>[58]</sup>。

### 4 结论

上述模型各有其优缺点,但都只在某些病理学改变等方面与UC类似,尚难成为研究UC的理想模型。UC病因及发病机制尤其免疫学机制非常复杂、病情迁延,目前大多数认为人类UC免疫反应以Th2为主,固有免疫、Th1、Th17等也参与的复合性免疫反应<sup>[6]</sup>。目前所建立的动物模型较难反映人类UC的免疫学反应及机制。目前普遍认为,理想的IBD动物模型应具备以下特点<sup>[59]</sup>:(1)其肠道炎症进展、病理生理学改变与IBD类似;(2)实验动物须具备明确的遗传背景,很好地反映出人与肠道菌群的互动;(3)特定抗原能诱导相应的肠道免疫反应,具有很好的可重复性;(4)传统的IBD治疗方法对所诱导的模型有效;(5)肠道炎症应为自发性的,而非经基因修饰或化学处理所引起。很好的动物模型能为我们从不同角度探讨人类UC的病因、发病机制、及治疗药物的疗效探讨提供便利。

### 5 参考文献

- 1 王碧辉. UC中西医结合治疗进展. 世界华人消化杂志 1999; 7: 177-179
- 2 Comito D, Romano C. Dysbiosis in the pathogenesis of pediatric inflammatory bowel diseases. *Int J Inflam* 2012; 2012: 687143 [PMID: 22685684 DOI: 10.1155/2012/687143]
- 3 Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J Gastroenterol* 2011; 17: 557-566 [PMID: 21350704 DOI: 10.3748/wjg.v17.i5.557]
- 4 Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Gearry R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfetheriner Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the diagnosis and man-



- agement of IBD in 2010. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 112-124 [PMID: 19653289 DOI: 10.1002/ibd.21048]
- 5 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185]
  - 6 Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078 [PMID: 19923578 DOI: 10.1056/NEJMra0804647]
  - 7 Thippeswamy BS, Mahendran S, Biradar MI, Raj P, Srivastava K, Badami S, Veerapur VP. Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *Eur J Pharmacol* 2011; 654: 100-105 [PMID: 21185828 DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.12.012]
  - 8 Luo J, Cao J, Jiang X, Cui H. Effect of low molecular weight heparin rectal suppository on experimental ulcerative colitis in mice. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 441-445 [PMID: 20359854 DOI: 10.1016/j.biopha.2010.01.013]
  - 9 Chu CC, Hou YC, Pai MH, Chao CJ, Yeh SL. Pretreatment with alanyl-glutamine suppresses T-helper-cell-associated cytokine expression and reduces inflammatory responses in mice with acute DSS-induced colitis. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 1092-1099 [PMID: 22137260 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.06.002]
  - 10 Amrouche-Mekkioui I, Djerdjouri B. N-acetylcysteine improves redox status, mitochondrial dysfunction, mucin-depleted crypts and epithelial hyperplasia in dextran sulfate sodium-induced oxidative colitis in mice. *Eur J Pharmacol* 2012; 691: 209-217 [PMID: 22732651 DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.06.014]
  - 11 Araki Y, Mukaisyo K, Sugihara H, Fujiyama Y, Hattori T. Increased apoptosis and decreased proliferation of colonic epithelium in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Oncol Rep* 2010; 24: 869-874 [PMID: 20811666]
  - 12 Wang X, Mandal AK, Saito H, Pulliam JF, Lee EY, Ke ZJ, Lu J, Ding S, Li L, Shelton BJ, Tucker T, Evers BM, Zhang Z, Shi X. Arsenic and chromium in drinking water promote tumorigenesis in a mouse colitis-associated colorectal cancer model and the potential mechanism is ROS-mediated Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 262: 11-21 [PMID: 22552367 DOI: 10.1016/j.taap.2012.04.014]
  - 13 Wang YH, Ge B, Yang XL, Zhai J, Yang LN, Wang XX, Liu X, Shi JC, Wu YJ. Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 1620-1627 [PMID: 21642017 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.05.024]
  - 14 Li XL, Cai YQ, Qin H, Wu YJ. Therapeutic effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds in rats with TNBS-induced ulcerative colitis. *Can J Physiol Pharmacol* 2008; 86: 841-849 [PMID: 19088805 DOI: 10.1139/Y08-089]
  - 15 Bai A, Ma AG, Yong M, Weiss CR, Ma Y, Guan Q, Bernstein CN, Peng Z. AMPK agonist downregulates innate and adaptive immune responses in TNBS-induced murine acute and relapsing colitis. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 1708-1717 [PMID: 20797389 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.08.009]
  - 16 Guan Q, Ma Y, Hillman CL, Qing G, Ma AG, Weiss CR, Zhou G, Bai A, Warrington RJ, Bernstein CN, Peng Z. Targeting IL-12/IL-23 by employing a p40 peptide-based vaccine ameliorates TNBS-induced acute and chronic murine colitis. *Mol Med* 2011; 17: 646-656 [PMID: 21424108]
  - 17 Fiorucci S, Mencarelli A, Palazzetti B, Sprague AG, Distrutti E, Morelli A, Novobrantseva TI, Cirino G, Kotliarsky VE, de Fougères AR. Importance of innate immunity and collagen binding integrin  $\alpha$ 1 $\beta$ 1 in TNBS-induced colitis. *Immunity* 2002; 17: 769-780 [PMID: 12479823]
  - 18 Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS, Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* 2002; 17: 629-638 [PMID: 12433369 DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00453-3]
  - 19 Engel MA, Khalil M, Siklosi N, Mueller-Tribbensee SM, Neuhuber WL, Neurath MF, Becker C, Reeh PW. Opposite effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in oxazolone colitis. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 24-29 [PMID: 22018693 DOI: 10.1016/j.dld.2011.08.030]
  - 20 Baker DA, Barth J, Chang R, Obeid LM, Gilkeson GS. Genetic sphingosine kinase 1 deficiency significantly decreases synovial inflammation and joint erosions in murine TNF- $\alpha$ -induced arthritis. *J Immunol* 2010; 185: 2570-2579 [PMID: 20644167 DOI: 10.4049/jimmunol.1000644]
  - 21 Filali M, Lalonde R, Theriault P, Julien C, Calon F, Planel E. Cognitive and non-cognitive behaviors in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease expressing mutated APP, PS1, and Mapt (3xTg-AD). *Behav Brain Res* 2012; 234: 334-342 [PMID: 22796601 DOI: 10.1016/j.bbr.2012.07.004]
  - 22 Nones K, Dommels YE, Martell S, Butts C, McNabb WC, Park ZA, Zhu S, Hedderley D, Barnett MP, Roy NC. The effects of dietary curcumin and rutin on colonic inflammation and gene expression in multidrug resistance gene-deficient (mdr1a-/-) mice, a model of inflammatory bowel diseases. *Br J Nutr* 2009; 101: 169-181 [PMID: 18761777 DOI: 10.1017/S0007114508009847]
  - 23 Haile LA, von Waselewski R, Gamrekashvili J, Krüger C, Bachmann O, Westendorf AM, Buer J, Liblau R, Manns MP, Korangy F, Greten TF. Myeloid-derived suppressor cells in inflammatory bowel disease: a new immunoregulatory pathway. *Gastroenterology* 2008; 135: 871-881, 881. e1-e5 [PMID: 18674538 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.06.032]
  - 24 Shiobara N, Suzuki Y, Aoki H, Gotoh A, Fujii Y, Hamada Y, Suzuki S, Fukui N, Kurane I, Itoh T, Suzuki R. Bacterial superantigens and T cell receptor beta-chain-bearing T cells in the immunopathogenesis of ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 2007; 150: 13-21 [PMID: 17614973 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03443.x]
  - 25 Sheikh SZ, Hegazi RA, Kobayashi T, Onyiah JC, Russo SM, Matsuoka K, Sepulveda AR, Li F, Otterbein LE, Plevy SE. An anti-inflammatory role for carbon monoxide and heme oxygenase-1 in chronic Th2-mediated murine colitis. *J Immunol* 2011; 186: 5506-5513 [PMID: 21444764 DOI: 10.4049/jimmunol.1002433]
  - 26 Shimomura Y, Mizoguchi E, Sugimoto K, Kibe R, Benno Y, Mizoguchi A, Bhan AK. Regulatory role of B-1 B cells in chronic colitis. *Int Immunol* 2008; 20: 729-737 [PMID: 18375938 DOI: 10.1093/intimm/dxn031]
  - 27 Müller M, Fink K, Geisel J, Kahl F, Jilge B, Reimann J, Mach N, Autenrieth IB, Frick JS. Intestinal colo-

# ■名词解释

溃疡性结肠炎: 也称非特异性溃疡性结肠炎, 发病原因尚不明确, 为一种自体免疫性疾病。病灶局限于结肠黏膜及黏膜下层, 多位于乙状结肠和直肠, 也可延伸至降结肠, 甚至整个结肠。UC免疫反应以Th2为主, 固有免疫、Th1、Th17等也参与的复合性免疫反应。

## ■同行评价

所涉及的模型从不同角度模拟人类UC的发病机制或病理特征,具有一定指导意义。

- 28 Le Gallou S, Caron G, Delaloy C, Rossille D, Tarte K, Fest T. IL-2 requirement for human plasma cell generation: coupling differentiation and proliferation by enhancing MAPK-ERK signaling. *J Immunol* 2012; 189: 161-173 [PMID: 22634617 DOI: 10.4049/jimmunol.1200301]
- 29 Barron L, Doms H, Hoyer KK, Kuswanto W, Hofmann J, O'Gorman WE, Abbas AK. Cutting edge: mechanisms of IL-2-dependent maintenance of functional regulatory T cells. *J Immunol* 2010; 185: 6426-6430 [PMID: 21037099 DOI: 10.4049/jimmunol.0903940]
- 30 Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 1993; 75: 253-261 [PMID: 8402910 DOI: 10.1016/0092-8674(93)80067-O]
- 31 Boyman O, Surh CD, Sprent J. Potential use of IL-2/anti-IL-2 antibody immune complexes for the treatment of cancer and autoimmune disease. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6: 1323-1331 [PMID: 17223740 DOI: 10.1517/14712598.6.12.1323]
- 32 Hara T, Shitara S, Imai K, Miyachi H, Kitano S, Yao H, Tani-ichi S, Ikuta K. Identification of IL-7-producing cells in primary and secondary lymphoid organs using IL-7-GFP knock-in mice. *J Immunol* 2012; 189: 1577-1584 [PMID: 22786774 DOI: 10.4049/jimmunol.1200586]
- 33 Watanabe M, Ueno Y, Yamazaki M, Hibi T. Mucosal IL-7-mediated immune responses in chronic colitis-IL-7 transgenic mouse model. *Immunol Res* 1999; 20: 251-259 [PMID: 10741865]
- 34 Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M. Systemic, but not intestinal, IL-7 is essential for the persistence of chronic colitis. *J Immunol* 2008; 180: 383-390 [PMID: 18097039]
- 35 Shinohara T, Nemoto Y, Kanai T, Kameyama K, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Totsuka T, Ikuta K, Watanabe M. Upregulated IL-7 receptor  $\alpha$  expression on colitogenic memory CD4<sup>+</sup> T cells may participate in the development and persistence of chronic colitis. *J Immunol* 2011; 186: 2623-2632 [PMID: 21217010 DOI: 10.4049/jimmunol.1000057]
- 36 Chetoui N, Boisvert M, Gendron S, Aoudjit F. Interleukin-7 promotes the survival of human CD4<sup>+</sup> effector/memory T cells by up-regulating Bcl-2 proteins and activating the JAK/STAT signalling pathway. *Immunology* 2010; 130: 418-426 [PMID: 20465565 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03244.x]
- 37 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669 [PMID: 10761931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80702-3]
- 38 Liu X, Tang Z, Zhang Y, Hu J, Li D, Zang G, Yu Y. Lentivirally overexpressed T-bet regulates T-helper cell lineage commitment in chronic hepatitis B patients. *Mol Med Report* 2012; 6: 361-366 [PMID: 22580570]
- 39 Garrett WS, Glimcher LH. T-bet<sup>-/-</sup> RAG2<sup>-/-</sup> ulcerative colitis: the role of T-bet as a peacekeeper of host-commensal relationships. *Cytokine* 2009; 48: 144-147 [PMID: 19666230 DOI: 10.1016/j.cyto.2009.07.007]
- 40 Banner KH, Cattaneo C, Le Net JL, Popovic A, Collins D, Gale JD. Macroscopic, microscopic and biochemical characterisation of spontaneous colitis in a transgenic mouse, deficient in the multiple drug resistance 1a gene. *Br J Pharmacol* 2004; 143: 590-598 [PMID: 15466445 DOI: 10.1038/sj.bjp.0705982]
- 41 Staley EM, Schoeb TR, Lorenz RG. Differential susceptibility of P-glycoprotein deficient mice to colitis induction by environmental insults. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 684-696 [PMID: 19067430 DOI: 10.1002/ibd.20824]
- 42 Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, mdr1a, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 1998; 161: 5733-5744 [PMID: 9820555]
- 43 Collett A, Higgs NB, Gironella M, Zeef LA, Hayes A, Salmo E, Haboubi N, Iovanna JL, Carlson GL, Warhurst G. Early molecular and functional changes in colonic epithelium that precede increased gut permeability during colitis development in mdr1a(-/-) mice. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 620-631 [PMID: 18275070 DOI: 10.1002/ibd.20375]
- 44 Resta-Lenert S, Smitham J, Barrett KE. Epithelial dysfunction associated with the development of colitis in conventionally housed mdr1a<sup>-/-</sup> mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G153-G162 [PMID: 15774938 DOI: 10.1152/ajpgi.00395.2004]
- 45 Nones K, Knoch B, Dommels YE, Paturi G, Butts C, McNabb WC, Roy NC. Multidrug resistance gene deficient (mdr1a<sup>-/-</sup>) mice have an altered caecal microbiota that precedes the onset of intestinal inflammation. *J Appl Microbiol* 2009; 107: 557-566 [PMID: 19302324 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04225.x]
- 46 Tanner SM, Staley EM, Lorenz RG. Altered generation of induced regulatory T cells in the FVB.mdr1a(-/-) mouse model of colitis. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 309-323 [PMID: 22874899 DOI: 10.1038/mi.2012.73]
- 47 Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 683-765 [PMID: 11244051 DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683]
- 48 Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy--review of a new approach. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 241-269 [PMID: 12773629 DOI: 10.1124/pr.55.2.4]
- 49 Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-274 [PMID: 8402911 DOI: 10.1016/0092-8674(93)80068-P]
- 50 Davidson NJ, Fort MM, Müller W, Leach MW, Rennick DM. Chronic colitis in IL-10<sup>-/-</sup> mice: insufficient counter regulation of a Th1 response. *Int Rev Immunol* 2000; 19: 91-121 [PMID: 10723680 DOI: 10.3109/08830180009048392]
- 51 Murai M, Turovskaya O, Kim G, Madan R, Karp CL, Cheroutre H, Kronenberg M. Interleukin 10 acts on regulatory T cells to maintain expression of the transcription factor Foxp3 and suppressive function in mice with colitis. *Nat Immunol* 2009; 10: 1178-1184 [PMID: 19783988 DOI: 10.1038/ni.1791]
- 52 Spencer DM, Veldman GM, Banerjee S, Willis J, Levine AD. Distinct inflammatory mechanisms mediate early versus late colitis in mice. *Gastroen-*

- terology 2002; 122: 94-105 [PMID: 11781285 DOI: 10.1053/gast.2002.30308]
- 53 Kutikhin AG. Association of polymorphisms in TLR genes and in genes of the Toll-like receptor signaling pathway with cancer risk. *Hum Immunol* 2011; 72: 1095-1116 [PMID: 21872627 DOI: 10.1016/j.humimm.2011.07.307.]
- 54 Alonzi T, Newton IP, Bryce PJ, Di Carlo E, Lattanzio G, Tripodi M, Musiani P, Poli V. Induced somatic inactivation of STAT3 in mice triggers the development of a fulminant form of enterocolitis. *Cytokine* 2004; 26: 45-56 [PMID: 15050604 DOI: 10.1016/j.cyto.2003.12.002]
- 55 O'Malley JT, Eri RD, Stritesky GL, Mathur AN, Chang HC, Hogenesch H, Srinivasan M, Kaplan MH. STAT4 isoforms differentially regulate Th1 cytokine production and the severity of inflammatory bowel disease. *J Immunol* 2008; 181: 5062-5070 [PMID: 18802110]
- 56 Madara JL, Podolsky DK, King NW, Sehgal PK, Moore R, Winter HS. Characterization of spontaneous colitis in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) and its response to sulfasalazine. *Gastroenterology* 1985; 88: 13-19 [PMID: 2856876]
- 57 Saunders KE, Shen Z, Dewhirst FE, Paster BJ, Dangler CA, Fox JG. Novel intestinal *Helicobacter* species isolated from cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) with chronic colitis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 146-151 [PMID: 9854080]
- 58 Sundberg JP, Elson CO, Bedigian H, Birkenmeier EH. Spontaneous, heritable colitis in a new substrain of C3H/HeJ mice. *Gastroenterology* 1994; 107: 1726-1735 [PMID: 7958684]
- 59 Arseneau KO, Pizarro TT, Cominelli F. Discovering the cause of inflammatory bowel disease: lessons from animal models. *Curr Opin Gastroenterol* 2000; 16: 310-317 [PMID: 17031094 DOI: 10.1097/00001574-200007000-00004]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 2012 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇,退稿887篇,退稿率57.63%,发表文章652篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评34篇(5.21%),基础研究94篇(14.42%),临床研究61篇(9.36%),焦点论坛20篇(3.07%),文献综述114篇(17.48%),研究快报86篇(13.19%),临床经验222篇(34.05%),病例报告21篇(3.22%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(《世界华人消化杂志》编辑部)



# 壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效

廖丹, 段雪琳

## ■背景资料

中医药及民族医药在治疗慢性乙型肝炎上历史悠久, 各种复方制剂的搭配与选择都是劳动人民智慧的长期结晶, 对古方、验方、秘方的研究发现复方中药在人体内具有广泛的治疗作用, 不仅具有抗病毒作用, 还能调节机体活动。

廖丹, 段雪琳, 广西中医药大学基础医学院生理教研室 广西  
壮族自治区南宁市 530001

廖丹, 副教授, 主要从事感染性疾病的基础研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013198

广西中医药管理局中医药科技专项课题基金资助项目, No.  
GZKZ09-11

广西教育厅科研基金资助项目, No. 200810LX002

作者贡献分布: 此研究由廖丹设计; 细胞培养、药物准备以及指  
标检测由廖丹与段雪琳操作完成; 数据分析与论文撰写由廖丹  
完成。

通讯作者: 廖丹, 副教授, 530001, 广西壮族自治区南宁市明秀东路  
179号, 广西中医药大学基础医学院生理教研室. dan9999@126.com  
电话: 0771-2244199

收稿日期: 2013-01-14 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

## *In vitro* anti-HBV effect of polyherbal medicine of Chuang herb HanYiTai

Dan Liao, Xue-Lin Duan

Dan Liao, Xue-lin Duan, Guangxi Traditional Medicine  
University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous  
Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi,  
No. 2010GXNSFA013198; the Special Program of Chinese  
Medical Science and Technology of the Traditional Medi-  
cine Administration of Guangxi, No. GZKZ09-11; and the  
Science Research Program of the Department of Education  
of Guangxi, No. 200810LX002

Correspondence to: Dan Liao, Associate Physician, De-  
partment of Physiology, Guangxi Traditional Medicine Uni-  
versity, Nanning 530001, 179 Mingxiu East Road, Guangxi  
Zhuang Autonomous Region, China. dan9999@126.com

Received: 2013-01-14 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

## Abstract

**AIM:** To compare the effect of polyherbal medicine and single herb of Chuang herb HanYiTai in resisting HBV by detecting HBV antigen and HBV DNA.

**METHODS:** Different concentrations of HanYiTai and other compounded herbs were co-incubated with 2215 cells *in vitro*, and their toxic effects were detected by XTT method to determine the safe concentrations of HanYiTai and other herbs. Polyherbal compounds were matched with a variety of intoxic concentrations of herbs. Culture medium was changed once every 3 d,

and supernatants were collected 9 d later. The contents of HBsAg and HBeAg in supernatants were measured using ELISA. Meanwhile, the secretion of HBV-DNA was detected using fluorescent quantitative PCR.

**RESULTS:** The inhibitory effect of polyherbal medicine on the secretion of HBsAg antigen was slightly stronger than that of single HanYiTai group, but the difference was not statistically significant. The inhibitory effect of polyherbal medicine F3-F5 on the secretion of HBeAg and HBVDNA was significantly stronger than that of corresponding concentrations of single HanYiTai ( $P = 0.002-0.009$ ;  $P = 0.038-0.05$ ). Polyherbal medicine at low and middle concentrations (F3-F5) showed stronger inhibitory effect on the secretion of HBVDNA than that at high concentrations (F1-F2) ( $P = 0.048-0.015$ ).

**CONCLUSION:** Anti-HBV effect of low concentration of polyherbal medicine was better than that of high concentration of polyherbal medicine and corresponding concentration of HanyiTai single herb. The mutual influence and synergy of various pharmaceutical ingredients can not only reduce the concentration of a single drug but also produce a superimposed synergistic effect.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** HanYiTai; Polyherbal medicine; HepG2215; HBV; *In vitro*

Liao D, Duan XL. *In vitro* anti-HBV effect of polyherbal medicine of Chuang herb HanYiTai. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(7): 614-618 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/614.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.614>

## 摘要

**目的:** 检测乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)抗原和HBV DNA, 比较壮药汗衣台的复方制剂与单味药在抗乙型肝炎病毒方面的疗效。

**方法:** 根据壮族民间常用的经验组方, 不同浓

## ■同行评议者

杨江华, 副教授,  
皖南医学院弋矶  
山医院感染科

度汗衣台及其配伍药分别与体外培养的2215细胞共同孵育,以XTT方法检测他们对2215细胞的毒性作用,选择各种药物对细胞无明显毒害的浓度进行组配;3 d更换一次含药培养液,9 d后收集上清液;用ELISA法测定上清液中乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)含量,荧光定量PCR法检测上清液中HBV-DNA的分泌。

**结果:**复方组对HBsAg抗原的抑制作用稍高于单药组,但统计学上无显著意义;中低浓度的复方制剂F3-F5抑制HBeAg以及HBV-DNA分泌的作用明显强于相对应浓度的汗衣台单药组( $P = 0.002-0.009$ ;  $P = 0.038-0.05$ ),而且抑制HBV-DNA分泌的疗效明显优于高浓度的复方制剂F1-F2( $P = 0.048-0.015$ )。

**结论:**组方配伍后,中低浓度的复方制剂抗病毒的综合疗效优于相对应浓度汗衣台单味药及高浓度复方制剂,各种药物成分相互影响、协同作用,不仅可以降低单个药物浓度,而且可以产生叠加增效作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 汗衣台; 复方中药制剂; 2215细胞; 乙型肝炎病毒; 体外

廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 614-618 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/614.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.614>

## 0 引言

“汗衣台(壮语)”,别称“千里找根”<sup>[1]</sup>,为防己科植物皱波青牛胆的[Tinospora crispa(L.) Miers]的藤茎<sup>[1-3]</sup>.该属植物在印度、泰国等东南亚国家被广泛药用,是印度阿育吠陀医学中最重要的药物之一<sup>[4,5]</sup>.据文献记载汗衣台具有通关通窍通脉、通经活血、清热排毒、消炎止痛等作用,多用于治疗跌打骨折刀伤、痢疾腹胀、痈疖肿毒等.研究发现该属植物还具有降血糖<sup>[6]</sup>,降血压<sup>[4]</sup>,抗增殖<sup>[5]</sup>等活性.而广西壮族民间流传其对慢性乙型肝炎具有良效,我们的前期研究<sup>[7]</sup>首次证实壮药汗衣台在体外具有抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)作用,阐明了广西民间医用的科学性.为进一步深入研究汗衣台,本实验根据壮族民间常用的治疗慢性乙型肝炎的经验组方对汗衣台进行初步的组方配伍探索研究,

以比较其复方制剂的疗效是否高于单味药,现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 壮药汗衣台由壮族民间灵芝草药堂提供,其他药材如白花蛇舌草等由一般药店提供.各种生药,各50 g,分别置于烧杯中,加适量蒸馏水浸泡30 min后煎煮,沸后用文火煮30 min,滤出煎液,共煎3次,合并滤液,浓缩至生药含量0.5 g/mL,16 000 r/min离心10 min,取上清液调pH值为7.5,一次性0.22  $\mu\text{m}$ 滤器过滤分装后置4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用.细胞HBV-DNA转染的人肝癌细胞HepG2215细胞系购自中南大学湘雅中心实验室细胞库.胎牛血清(美国Gibco公司),DMEM培养基(HyCone公司),0.25%DEPC胰酶(上海吉泰科技有限公司),HBV-DNA荧光定量PCR试剂盒(上海科华生物工程有限公司,批号20071016);乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)、乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)检测试剂盒(上海科华生物工程有限公司);XTT检测试剂盒(碧云天).ABI7500 Fast Real-Time PCR仪(美国ABI公司);CO<sub>2</sub>孵箱(美国Thermo Forma公司);酶标仪(Bio-Rad);24孔板(美国Corning公司);离心机(effend);0.22  $\mu\text{m}$ 滤器(millipore).

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:**2215细胞以DMEM培养基(含10%胎牛血清)培养于培养瓶中,置37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>孵箱中生长,待细胞生长至70%-80%时,用0.25%胰酶消化5 min,用吹打管将贴壁的细胞吹打成悬液,按适当比例分瓶继续培养,4-5 d传代1次.每次换液时,检测上清液HBsAg、HBeAg和HBV-DNA分泌情况,待表达稳定后开始实验。

**1.2.2 细胞毒性实验:**2215细胞用胰酶消化后,轻轻吹打使成单细胞悬液,细胞计数后调节细胞浓度至 $1 \times 10^5$  cell/mL,按100  $\mu\text{L}$ /孔接种于96孔板中,置37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养过夜,待贴壁后吸去上清,分别加入100  $\mu\text{L}$ 含终浓度为1000  $\mu\text{g/mL}$ 、900  $\mu\text{g/mL}$ 、800  $\mu\text{g/mL}$ 、700  $\mu\text{g/mL}$ 、600  $\mu\text{g/mL}$ 、500  $\mu\text{g/mL}$ 、400  $\mu\text{g/mL}$ 、300  $\mu\text{g/mL}$ 、200  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$ 、5  $\mu\text{g/mL}$ 、1  $\mu\text{g/mL}$ 的汗衣台、补血署、白花蛇舌草、鸡骨草、芦根、黄栀子、土茯苓、杨桃根各个单味药的DMEM培养液,每个浓度重复5孔,同时设无药细胞对照组及空白对照组.培养72 h

## ■ 研发前沿

通过体外抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)试验研究以及HBV感染实验模型筛选出大量的抗HBV中草药以及复方制剂,但是对抗HBV的有效成分、活性部位及作用机制等核心问题仍然不十分明确。

## ■ 相关报道

目前对抗HBV中草药的筛选工作以及疗效研究都能应用2215细胞作为研究工具,检测包括病毒s抗原和e抗原以及病毒基因在内的比较敏感和特异的指标,结果比较可靠和具有说服力。

## ■创新亮点

本实验在检测了8味单药的最高无毒浓度以后,按浓度梯度的方式组成各复方制剂的浓度,虽与实际的用量有较大的差异,但更规范与合理。

表 1 汗衣台、配伍药对2.2.15细胞的毒性作用 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	A值	细胞存活率(%)
细胞对照		1.408 ± 0.018	100.0
空白对照		0.409 ± 0.025	
汗衣台	800	1.278 ± 0.030	90.8
补血署	100	1.265 ± 0.167	85.7
白花蛇舌草	100	1.262 ± 0.033	85.4
鸡骨草	300	1.329 ± 0.027	92.1
芦根	200	1.360 ± 0.113	95.2
黄栀子	100	1.292 ± 0.062	88.4
土茯苓	200	1.328 ± 0.084	90.2
杨桃根	100	1.284 ± 0.103	87.6

由表1可以得出表2。

后滴加新鲜配制的XTT和PMS混合应用液,继续培养4 h,在450 nm波长测定吸光度(A)值。按公式计算细胞存活率{细胞存活率 =  $[(A_{\text{实验孔}} - A_{\text{空白对照}}) / (A_{\text{细胞对照}} - A_{\text{空白对照}})] \times 100\%$ }。

1.2.3 配伍药的选择以及复方制剂的配伍方法:根据壮族民间流传的治疗慢性乙型肝炎常用的经验组方(汗衣台、补血署、白花蛇舌草、鸡骨草、芦根、黄栀子、土茯苓、杨桃根)为依据,由于民间用药量大多随个人意愿,参差不齐,我们只能依据细胞毒性试验结果,选择各种药物对细胞无明显毒害的浓度范围进行组配。各种药物的最高无毒浓度混合组成复方一(F1);约1/1.6最高无毒浓度组成复方二(F2);1/4最高无毒浓度组成复方三(F3);约1/8最高无毒浓度组成复方四(F4);约1/80最高无毒浓度组成复方五(F5)。

## 2 结果

2.1 汗衣台及其配伍药对2.2.15细胞的毒性作用 由于实验原则上只选择对HepG2215细胞无明显毒性作用(即细胞存活率超过85%)的药物浓度为实验用药浓度,并依此决定配伍组方的药量,故XTT实验结果仅显示细胞存活率超过85%的药物最高浓度(表1, 2)。

2.2 汗衣台及其复方制剂对HBsAg、HBeAg分泌的影响 从表3可知,无论是单药组<sup>[7]</sup>和复方组均可明显抑制HBsAg、HBeAg的分泌,且呈剂量依赖。复方组对HBsAg抗原的抑制作用稍高于相对应浓度的汗衣台单药组,但统计学上无显著差异;中低浓度复方制剂F3-F5抑制HBeAg分泌的作用明显强于相对应浓度的单药组( $P = 0.002-0.009$ ),显示中低浓度的配伍组合可以产

表 2 复方制剂的组方配伍浓度分布 (μg/mL)

	F1	F2	F3	F4	F5
汗衣台	800	500	200	100	10.0
补血署	100	63	25	13	1.3
白花蛇舌草	100	63	25	13	1.3
鸡骨草	300	200	75	40	3.0
芦根	200	125	50	25	2.5
土茯苓	200	125	50	25	2.5
黄栀子	100	63	25	13	1.3
杨桃根	100	63	25	13	1.3

生良好的抑制病毒e抗原分泌的疗效。

2.3 汗衣台及其复方制剂对HBV-DNA分泌的影响 比较汗衣台及其复方制剂对HBV-DNA分泌的影响,从表4可知,各浓度汗衣台及其复方制剂均可明显抑制HBV-DNA的分泌( $P = 0.042-0.000$ );中低浓度复方制剂(F3-F5)对HBV-DNA分泌的抑制效果则明显优于相对应浓度的汗衣台单味药( $P = 0.038-0.05$ );另外,高浓度复方制剂(F1-F2)对病毒的抑制作用不及低浓度(F3-F5)( $P = 0.048-0.015$ ),类似前期研究中干扰素出现的情况。提示中低浓度的单味药组合,一方面可以降低药物对细胞的毒性作用,另一方面仍具有很高的抗病毒活性。

## 3 讨论

对壮药汗衣台的前期研究表明<sup>[7]</sup>,短期内,中高浓度的汗衣台抑制2215细胞分泌HBsAg及HBeAg抗原的作用优于干扰素和拉米夫定,而对HBV-DNA的抑制作用不如拉米夫定,但强于干扰素。首次证实汗衣台具有体外抗HBV作用,阐明了广西民间流传医用的科学性。

为进一步深入研究汗衣台,本实验对汗衣台进行初步的组方配伍探索研究,根据壮族民间流传的治疗慢性乙型肝炎常用的经验组方(汗衣台、补血署、白花蛇舌草、鸡骨草、芦根、黄栀子、土茯苓、杨桃根)为依据,各药物均以无明显细胞毒性的浓度决定配伍组方的用量,并采用HepG2215细胞为体外细胞模型,分别给予不同浓度的汗衣台及其相对应浓度的复方制剂相互作用,以比较其复方制剂的抗病毒疗效是否高于单味药。实验结果表明,组方配伍后,中低浓度复方制剂具有明显的抑制HBeAg以及HBV-DNA分泌的作用,其疗效不仅明显优于相对应浓度的汗衣台单味药,而且对于HBV-DNA分泌的抑制作用强于高浓度的配伍组,类似前

## ■应用要点

复方汗衣台体外抗HBV综合疗效优于汗衣台单味药,阐明了广西壮族民间流传的这一经验用方尚属搭配合理,作为抗HBV药物具有一定的应用前景,值得进一步研究、开发和利用。



表 3 各组药物对2.2.15细胞分泌HBsAg、HBeAg的抑制作用比较 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	HBsAg		HBeAg	
		A值	抑制率(%)	A值	抑制率(%)
汗衣台组	800	1.937 ± 0.095 <sup>b</sup>	43.3	0.663 ± 0.032 <sup>b</sup>	80.2
	500	2.015 ± 0.187 <sup>b</sup>	40.9	0.780 ± 0.015 <sup>b</sup>	76.5
	200	2.813 ± 0.169 <sup>a</sup>	16.7	1.246 ± 0.087 <sup>b</sup>	61.7
	100	3.019 ± 0.071 <sup>a</sup>	10.5	1.586 ± 0.189 <sup>b</sup>	50.9
	10	3.158 ± 0.017 <sup>a</sup>	6.3	2.352 ± 0.110 <sup>b</sup>	26.5
复方组	F1	1.732 ± 0.084 <sup>b</sup>	49.5	0.605 ± 0.057 <sup>b</sup>	82.1
	F2	2.322 ± 0.105 <sup>b</sup>	31.6	0.737 ± 0.004 <sup>b</sup>	77.9
	F3	2.654 ± 0.042 <sup>b</sup>	21.5	0.736 ± 0.042 <sup>bcd</sup>	77.9
	F4	2.712 ± 0.075 <sup>b</sup>	19.8	0.928 ± 0.053 <sup>bcd</sup>	71.8
	F5	2.925 ± 0.124 <sup>a</sup>	13.3	1.346 ± 0.076 <sup>bcd</sup>	58.5
阳性对照组		3.364 ± 0.044		3.187 ± 0.012	
阴性对照组		0.068 ± 0.020		0.040 ± 0.009	

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 阳性对照组; <sup>c</sup>P<0.01 vs 相对应浓度汗衣台组。

表 4 汗衣台及其复方制剂对2.2.15细胞分泌HBVDNA的影响 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	HBV-DNA拷贝数(× 10 <sup>5</sup> )	抑制率(%)
汗衣台组	800	6.885 ± 1.352 <sup>b</sup>	77.2
	500	7.299 ± 1.083 <sup>a</sup>	75.8
	200	17.143 ± 3.905 <sup>a</sup>	43.2
	100	13.723 ± 6.494 <sup>a</sup>	54.5
	10	17.215 ± 5.629	42.9
复方组	F1	16.408 ± 0.743 <sup>a</sup>	45.6
	F2	15.945 ± 3.584 <sup>a</sup>	47.2
	F3	5.730 ± 1.041 <sup>bce</sup>	81.0
	F4	4.282 ± 1.413 <sup>bce</sup>	85.8
	F5	7.348 ± 1.814 <sup>bce</sup>	75.7
阳性对照组		30.171 ± 0.577	

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 阳性对照组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 相对应浓度汗衣台组; <sup>e</sup>P<0.05 vs F1-F2。

期研究中干扰素出现的情况,提示配伍组方可以改变汗衣台的抗病毒疗效,使其在较低浓度仍具有很高的抗病毒活性。由此可以得出结论:组方配伍后,各种药物成分相互影响、协同作用,不仅可以降低单个药物对细胞的毒性,而且可以产生明显的叠加增效作用。

复方中药制剂的有效成分比单味药复杂得多,需考虑药物各有效成分之间的相互影响。现代复方中药制剂的药代动力学研究表明<sup>[8,9]</sup>,不同的药物经过适当的配伍,确实可以起到协同增效的作用,比如口服甘草加芍药煎剂,血清中的甘草次酸浓度比单服甘草煎剂明显提高,是由于芍药增加了甘草次酸的吸收和延缓了其排泄的结果,表明芍药对甘草具有协同增效的作

用<sup>[10-12]</sup>。在我们的组方配伍药中,白花蛇舌草经大量实验证实具有增强机体细胞免疫和体液免疫等作用<sup>[13,14]</sup>,目前已成为临床上比较常用的一种抗病毒、抗肿瘤中草药;补血署<sup>[15]</sup>是广西民间常用的一种用于消肿止痛止血的草药;鸡骨草对急性黄疸型肝炎有良效<sup>[16]</sup>等。虽然在此方中各药物成分之间的相互作用尚不明了,但从抗HBV的效果而言,广西民间流传的这一经验用方尚属搭配合理。

众所周知,慢性乙型肝炎的抗病毒治疗是一个长期而艰巨的过程,除了直接或间接地对抗病原之外,机体免疫功能的强弱亦是一个能左右疾病进展的关键因素,干扰素的抗病毒初期疗效虽不如拉米夫定一般立竿见影,但干扰素

## ■名词解释

阿育吠陀:印度语,生命的科学。根据她的观点,人类应该与自然界和谐共存,而疾病的产生是由于这种和谐被打破。通过利用自然界及其产物恢复这种基本平衡是阿育吠陀医学的主要目的。

## ■同行评价

本文设计较为合理,具有一定创新性,对探讨中药治疗慢性乙型肝炎进行了新的探索,有一定指导意义。

的作用稳定、作用面广、作用机制多样化等决定其远期疗效优于拉米夫定<sup>[17,18]</sup>。汗衣台对HBV的抑制作用呈剂量依赖性,但其复方制剂却与干扰素有着类似的表象,推测汗衣台及其复方制剂除了直接地抑制病毒之外,可能也具有类似干扰素一样的免疫调节作用,其整体效应、远期疗效以及作用机制有待进一步的深入研究。

## 4 参考文献

- 1 昆明军区后勤部卫生部. 云南中草药选. 昆明: 昆明军区后勤部卫生部, 1970: 120-121
- 2 罗献瑞, 赵素云. 中国防已科资料. 广西植物 1986; 6: 49-61
- 3 袁久志, 吴立军. 青龙胆属药用植物研究进展. 中药研究与信息 2005; 7: 14-17
- 4 Praman S, Mulvany MJ, Allenbach Y, Marston A, Hostettmann K, Siriruga P, Jansakul C. Effects of an n-butanol extract from the stem of *Tinospora crispa* on blood pressure and heart rate in anesthetized rats. *J Ethnopharmacol* 2011; 133: 675-686 [PMID: 21040767 DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.052]
- 5 Zulkhairi A, Abdah MA, M Kamal NH, Nursakinah I, Moklas MA, Hasnah B, Fazali F, Khairunnur FA, Kamilah KA, Zamree MS, Shahidan MM. Biological Properties of *Tinospora crispa* (Akar Patawali) and Its Antiproliferative Activities on Selected Human Cancer Cell Lines. *Malays J Nutr* 2008; 14: 173-187 [PMID: 22691774]
- 6 Ruan CT, Lam SH, Chi TC, Lee SS, Su MJ. Borapetoside C from *Tinospora crispa* improves insulin sensitivity in diabetic mice. *Phytomedicine* 2012; 19: 719-724 [PMID: 22579212 DOI: 10.1016/j.phymed.2012.03.009]
- 7 廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台体外抗乙型肝炎病毒疗效研究. 世界华人消化杂志 2013; 21: 171-176
- 8 沈群, 罗佳波. 中药复方药代动力学研究进展. 中国现代应用药学杂志 2004; 21: 457-460
- 9 张明, 侯世祥, 廖工铁. 复方中药制剂药物代谢动力学研究进展(II)-研究成果、意义, 方法评价与展望. 华西药理学杂志 1993; 8: 38-41
- 10 项琪, 程刚, 陈济民. 芍药甘草汤在大鼠体内药代动力学研究. 中国药理学杂志 2000; 35: 615-618
- 11 李娜, 陈西敬, 吴磊, 卢杨, 何焱, 苏云明. 甘草酸对芍药苷大鼠肠吸收的影响. 时珍国医国药 2008; 19: 2908
- 12 王文萍, 王垂杰, 谷松, 曹琦琛, 吕玉萍, 高晶晶, 王淑静. 芍药甘草汤配伍意义的药动学研究. 世界科学技术-中医药现代化 2009; 3: 382-387
- 13 马天舒, 葛迎春, 任慧君, 贾玉红, 刘平, 毋英杰, 刘建旋. 白花蛇舌草注射液对荷瘤小鼠免疫功能影响的研究. 特产研究 2010; 32: 5-7, 12
- 14 罗先钦, 兰波, 杨雪, 胡荣. 白花蛇舌草抗肿瘤和免疫调节作用研究进展. 重庆中草药研究 2011; (1): 35-37
- 15 蓝日春, 樊立勇, 韦作干. 164种特色壮药的分类及来源. 中国民族医药杂志 2011; 17: 36-40
- 16 南京中医药大学. 中药大词典(上). 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1693
- 17 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国临床医生 2010; 40: 66-78
- 18 徐小平, 瞿章书, 姚茂军, 洪桥爱, 张伟, 汤丽娟. 不同国产 $\alpha$ -干扰素治疗慢性乙型肝炎临床对比观察. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1192-1194

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围.其中A+(权威期刊)取前5%;A(核心期刊)取前5%-20%;A-(扩展核心期刊)取前20%-30%;B+(准核心期刊)取前30%-50%;B(一般期刊)取前50%-80%;C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制

梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹

梅庆步, 郑立红, 陈萍, 刘丹, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

梅庆步, 主要从事生物遗传的相关研究。

齐齐哈尔市科技局基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由刘丹与赵忠新设计; 研究过程由梅庆步、刘丹、陈萍及郑立红操作; 本文写作由梅庆步、赵忠新及刘丹完成。

通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎大街333号, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室。

7896078\_cn@sina.com

电话: 0452-2663174

收稿日期: 2013-01-10 修回日期: 2013-01-26

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

## Genistein inhibits cell proliferation in human colon cancer cell line SW620

Qing-Bu Mei, Zhong-Xin Zhao, Li-Hong Zheng, Ping Chen, Dan Liu

Qing-Bu Mei, Li-Hong Zheng, Ping Chen, Dan Liu, Department of Biological Genetics, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Qiqihar Jian Hua Hospital, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Foundation of Science and Technology Bureau of Qiqihar City

Correspondence to: Dan Liu, Lecturer, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078\_cn@sina.com

Received: 2013-01-10 Revised: 2013-01-26

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the influence of genistein on cell proliferation in human colon cancer cell line SW620.

**METHODS:** MTT assay, Giemsa staining and Hoechst 33258 fluorescent staining were used to detect the effect of genistein on the growth and morphologic changes of SW620 cells.

**RESULTS:** Genistein could effectively inhibit the proliferation of SW620 cells in a dose- and time-dependent manner. Under a light microscope, cells treated with genistein showed significantly reduced number, unclear cell membrane

and nuclear boundaries, chromatin marginalization, and chromatin segmentation. Under a fluorescence microscope, the nuclei of some cells treated with genistein presented light blue fluorescence and corrugated changes, which were characteristics of apoptotic cells. The nuclei of few cells presented fragmented fluorescence signal. Apoptosis index was 27.18%.

**CONCLUSION:** Genistein has an obvious inhibitory effect on the proliferation of SW620 cells, and inducing apoptosis may be one of the mechanisms that are related to anticarcinogenic action of genistein.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Genistein; SW620; Apoptosis

Mei QB, Zhao ZX, Zheng LH, Chen P, Liu D. Genistein inhibits cell proliferation in human colon cancer cell line SW620. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 619-623 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/619.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.619>

## 摘要

**目的:** 探讨染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞增殖的影响。

**方法:** 采用MTT法、Giemsa染色法及Hoechst 33258荧光染色法检测染料木黄酮对SW620细胞生长的影响及形态学变化。

**结果:** 在一定浓度范围内染料木黄酮可抑制人结肠癌SW620细胞的增殖, 其抑制率与作用时间和药物剂量呈依赖关系; 光镜下可见, 药物组细胞数量明显减少, 细胞膜边界不清, 胞浆内可见空泡样结构, 核膜不清晰, 染色质边缘化, 染色质分割成块状; 荧光显微镜下可见, 药物组部分细胞核呈现亮蓝色荧光的为凋亡细胞, 细胞核呈波纹状改变, 个别细胞核可见碎块状荧光信号, 凋亡指数为27.18%。

**结论:** 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞的增殖有明显的抑制作用, 诱导细胞凋亡可能是染料木黄酮抗结肠癌的作用机制之一。

## ■背景资料

结肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一。近年来, 随着人们生活水平的提高, 饮食结构的改变, 结肠癌的发病率及死亡率呈逐年上升的趋势, 严重危害人类的健康。流行病学研究发现, 结肠癌的发病率与大豆食品的摄入量呈明显的负相关, 如何正确利用丰富的大豆资源防治人类疾病成为一项重要课题。

## ■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科



## ■研发前沿

本文明确雌激素及其受体在结肠癌发生、发展中发挥怎样的作用,为实现结肠癌的个体化治疗及预后评估提供依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 染料木黄酮; SW620; 细胞凋亡

梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹. 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 619-623 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/619.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.619>

## 0 引言

结肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一. 近年来, 随着人们生活水平的提高, 饮食结构的改变, 结肠癌的发病率及死亡率呈逐年上升的趋势, 严重危害人类的健康. 流行病学研究发现, 结肠癌的发病率与大豆食品的摄入量呈明显的负相关<sup>[1-4]</sup>, 而染料木黄酮(genistein, Gen)是大豆中抗癌的主要活性成分, 研究显示其具有显著防治肿瘤的效果. 本研究观察了染料木黄酮对体外培养的人结肠癌SW620细胞增殖的影响和形态学变化, 探讨染料木黄酮诱导结肠癌细胞凋亡的情况.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结肠癌细胞SW620由哈尔滨医科大学遗传室馈赠. Gen(纯度为98%)、MTT和EDTA(Sigma公司), 优级胎牛血清(Hyclone公司), 胰蛋白酶和DMSO(Amresco公司), DMEM培养基(Gibco公司), hoechst33258(南京凯基生物科技公司), Giemsa stain(Applichem公司), 其余为进口或国产分析纯.

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** SW620细胞用含10 mL/L胎牛血清的DMEM培养液置于37 °C、5 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 隔1 d换液, 细胞贴壁生长, 待满瓶底时, 用胰酶消化, 吹打成单细胞, 分瓶传代.

**1.2.2 实验分组:** 分培养基对照组、溶剂对照组(含0.04%DMSO)、Genistein药物组(10、20、40、80、160 μmol/L).

**1.2.3 MTT:** 取对数生长期的SW620细胞, 以 $4 \times 10^3$ 个/孔细胞浓度于接种于3块96孔板, 每孔100 μL细胞悬液, 每组设6个复孔, 培养24 h后, 分别加入不同处理因素, 配至200 μL, 3块板分别培养24、48、72 h后, 加入MTT(5 g/L), 每孔20 μL, 继续孵育4 h. 4 h后吸尽每孔中的培养液, 加DMSO 150 μL/孔, 振荡器上振荡10 min, 于自动酶标仪570 nm处测定每孔的吸光度(A)值, 实验重复3次, 计算抑制率(inhibition rate, IR).  $IR(\%) = (1 - \text{药物组}$

$A \text{ 值} / \text{对照组} A \text{ 值}) \times 100\%$ .

**1.2.4 Giemsa染色法:** 取对数生长期的SW620细胞, 以 $2 \times 10^5$ 个/孔细胞浓度接种于6孔板, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 加入含0.04%DMSO培养液、40 μmol/L Genistein, 处理72 h后, PBS洗3次, 100%甲醇固定10 min, Giemsa工作液(原液1:9稀释)染色1 min, 冲洗, 吹干, 光镜下观察细胞的密度及形态学变化.

**1.2.5 Hoechst33258荧光染色法:** 取对数生长期的SW620细胞, 以 $2 \times 10^5$ 个细胞浓度接种于直径为2.5 cm的2个培养皿中, 培养24 h后, 加入含0.04%DMSO培养液、40 μmol/L Genistein, 处理72 h后, 用冷Buffer A洗涤细胞2次, 加入1 mL的4%甲醛溶液, 4 °C固定细胞10 min; 滴加200 μL Hoechst33258工作液, 室温避光染色10 min, 水冲净晾干, 置于荧光显微镜下, 选用340 nm的激发蓝光观察细胞凋亡情况, 实验重复3次, 随机计数不同视野的1 000个细胞核, 计算凋亡指数(AI).  $AI(\%) = \text{具有明显凋亡特征的细胞核总数} / 1\ 000 \times 100\%$ .

**统计学处理** 数据用mean±SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计分析, 两组间均数比较采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 MTT检测结果** DMSO对结肠癌细胞的增殖无明显的抑制作用, 在一定浓度范围内(10-40 μmol/L)随着染料木黄酮浓度的增加和作用时间的延长, 其对结肠癌细胞的抑制作用逐渐增强, 呈现出剂量和时间依赖性. 当浓度超过80 μmol/L时, 染料木黄酮对结肠癌细胞的抑制作用呈现出减弱的趋势, 浓度为160 μmol/L的染料木黄酮作用24 h时, 反而促进结肠癌细胞的生长, 但随着作用时间的延长, 逐渐体现出抑制生长的作用(表1).

**2.2 Giemsa染色法** 光学显微镜下, 药物组处理72 h后与对照组比较, 结果显示, 药物组细胞密度明显下降, 细胞膜边界不清, 胞浆内可见空泡样结构, 核膜不清晰, 染色质边缘化, 染色质分割成块状; 对照组细胞核染色均匀, 核仁清晰可见, 未见明显凋亡改变(图1).

**2.3 Hoechst33258荧光染色法** 荧光显微镜药物组处理72 h后与对照组比较, 结果显示, 药物组部分细胞核呈现亮蓝色荧光的为凋亡细胞, 细胞核呈波纹状改变, 个别细胞核可见碎块状荧光信号, 凋亡指数为27.18%. 对照组细胞呈现均

## ■相关报道

近年来, 为明确染料木黄酮抗结肠癌的作用, 国内外学者进行了大量的实验研究, 发现结肠癌因其是雌激素的靶组织之一, 与异黄酮类防治激素依赖肿瘤有很多相似之处, 与癌细胞雌激素及其受体水平相关, 因此显示出更为复杂的分子机制.

表 1 Genistein对结肠癌细胞SW620增殖的影响 (mean ± SD)

分组(μmol/L)	A值			抑制率(%)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
对照组	0.254 ± 0.011	0.569 ± 0.012	0.858 ± 0.015	—	—	—
溶剂对照组	0.252 ± 0.023	0.563 ± 0.018	0.851 ± 0.026	0.79 ± 0.021	1.05 ± 0.015	0.82 ± 0.024
10	0.248 ± 0.014	0.523 ± 0.034	0.728 ± 0.012 <sup>b</sup>	2.36 ± 0.016	8.08 ± 0.028	15.15 ± 0.017
20	0.237 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.471 ± 0.016 <sup>b</sup>	0.651 ± 0.013 <sup>b</sup>	6.69 ± 0.008	17.22 ± 0.012	24.13 ± 0.015
40	0.230 ± 0.013 <sup>a</sup>	0.430 ± 0.014 <sup>b</sup>	0.468 ± 0.013 <sup>b</sup>	9.45 ± 0.011	24.43 ± 0.015	45.45 ± 0.011
80	0.242 ± 0.014 <sup>a</sup>	0.451 ± 0.013 <sup>b</sup>	0.634 ± 0.016 <sup>b</sup>	4.72 ± 0.017	20.74 ± 0.011	26.11 ± 0.014
160	0.299 ± 0.035 <sup>b</sup>	0.521 ± 0.012 <sup>b</sup>	0.746 ± 0.011 <sup>b</sup>	-17.72 ± 0.029	8.44 ± 0.016	13.05 ± 0.013

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组.

## ■创新盘点

国内外学者对染料木黄酮抗结肠癌细胞增殖的观点不一致, 体内外实验结果显示抑制和促进两种相反的结论, 有必要进一步探讨染料木黄酮在结肠癌发生、发展中的分子机制, 为染料木黄酮用于临床治疗提供充分的理论依据。

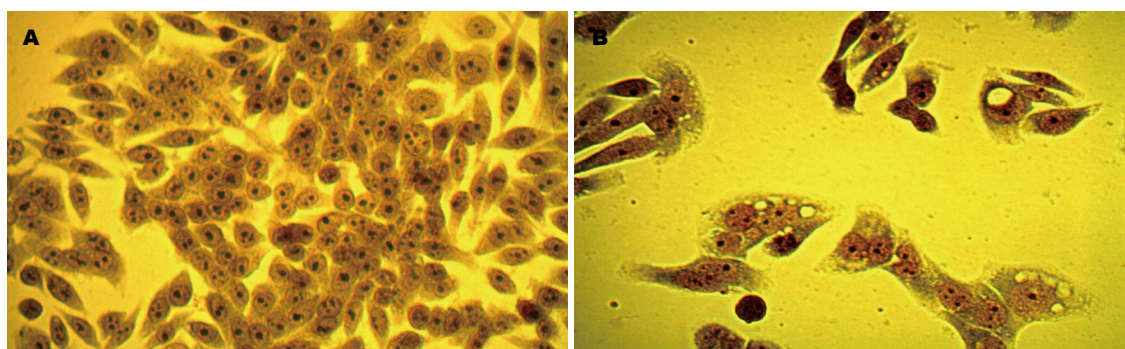


图 1 Giemsa染色法观察Genistein对SW620细胞形态的影响(×400). A: 对照组; B: Genistein组.

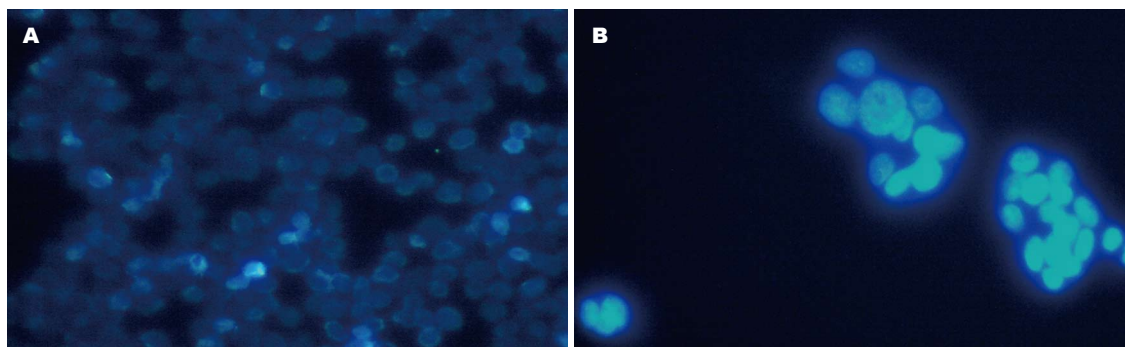


图 2 Hoechst 33258荧光染色法观察Genistein诱导SW620细胞凋亡的形态学变化(×400). A: 对照组; B: Genistein组.

匀的低蓝色荧光信号(图2).

### 3 讨论

肿瘤的发生是在遗传易感性的基础上, 由于各种致癌因子的作用, 导致细胞凋亡受阻或增殖过度的结果, 细胞凋亡在肿瘤的发生、发展过程中起着重要作用. 因此, 诱导肿瘤细胞凋亡被视为抗肿瘤药物研究和开发的新靶点.

染料木黄酮是一种异黄酮类的植物雌激素, 其结构与17β-雌二醇相似<sup>[5]</sup>, 具有多种生物学活性且基本无毒<sup>[6]</sup>, 尤以显著的抗肿瘤效果<sup>[7-9]</sup>而

备受关注. 研究显示, 染料木黄酮能有效抑制前列腺癌<sup>[10]</sup>、卵巢癌<sup>[11]</sup>、乳腺癌<sup>[12]</sup>、肝癌<sup>[13-16]</sup>等多种肿瘤细胞的增殖, 诱导凋亡是其主要作用机制之一. 为探讨染料木黄酮对结肠癌细胞的生长抑制作用, 本研究以体外培养的人结肠癌SW620细胞为模型, 检测染料木黄酮对SW620细胞增殖和凋亡的影响. 结果显示, 在一定浓度范围内(10-40 μmol/L)随着染料木黄酮浓度的增加和作用时间的延长, 其对结肠癌细胞的抑制作用逐渐增强, 呈现剂量和时间依赖性; 形态学检测是鉴定细胞凋亡最可靠的方法之一<sup>[17]</sup>,



## ■应用要点

本文观察染料木黄酮对体外结肠癌细胞增殖的影响和形态学变化,探讨其诱导结肠癌细胞凋亡的情况,药物的双向作用提示染料木黄酮预防结肠癌受摄入异黄酮的类别、消耗量及个体雌激素和ER水平等因素的影响。

Giemsa染色结果显示,药物组细胞密度明显下降,细胞膜边界不清,胞浆内可见空泡样结构,核膜不清晰,染色质边缘化,染色质分割成块状;Hoechst33258荧光结果显示,药物组部分细胞核呈现亮蓝色荧光的为凋亡细胞,细胞核呈波纹状改变,个别细胞核可见碎块状荧光信号,凋亡指数为27.18%。此结果与国内外报道Genistein抑制结肠癌细胞增殖情况<sup>[18-21]</sup>一致。

近年来,部分学者对染料木黄酮的抗结肠癌作用提出异议,Zhi等<sup>[22]</sup>的体外研究结果显示,染料木黄酮可能促进结肠癌的形成。作者在研究染料木黄酮的抗肿瘤作用时,采用肝癌细胞MHCC97-L和结肠癌细胞SW620两类细胞,在作用于肝癌细胞的实验中,该药无双向作用<sup>[23]</sup>;而在作用于结肠癌细胞时,药物出现明显的高浓度促进癌细胞生长的现象。Nagata<sup>[24]</sup>指出,大豆异黄酮预防乳腺癌受摄入异黄酮的类别、消耗量及个体雌激素水平和雌激素受体(ER)水平等因素的影响,这些因素的不同可能产生不一致的结果。Choi等<sup>[25]</sup>发现,染料木黄酮对ER $\alpha$ (+)乳腺癌细胞MCF-7的增殖影响表现为双向作用(促进或抑制),在一定浓度内可促进癌细胞的增殖并上调ER $\alpha$ 的表达,而对ER $\alpha$ /c-erbB-2(+)的乳腺癌细胞ZR-75-1没有双向作用,且可下调ER $\alpha$ 和c-erbB-2的表达,提示染料木黄酮对乳腺癌细胞的抗增殖作用与ER $\alpha$ 和c-erbB-2受体表达有关。Hwang等<sup>[26]</sup>发现,染料木黄酮对由17 $\beta$ -雌二醇(E2)诱导的卵巢癌细胞增殖有抑制作用,并通过ER介导,特别是ER $\alpha$ 。Gaete等<sup>[27]</sup>报道,染料木黄酮因刺激乳腺癌细胞生长而不是理想的雌激素替代产品。结肠是雌激素的主要靶器官之一,结肠癌是否为雌激素依赖性肿瘤目前尚无明确的定论,但雌激素及ER在结肠癌的发生、发展中发挥一定的作用<sup>[28]</sup>。Caiazza等<sup>[29]</sup>研究发现,E2对ER $\beta$ 的上调作用,对ER $\beta$ 的抗结肠作用起到了放大作用。Notarnicola等<sup>[30]</sup>发现,CB1受体可视为结肠癌SW620、DLD-1、HT-29细胞系的雌激素敏感基因,通过17 $\beta$ -雌二醇上调CB1的表达可以进一步揭示雌激素控制结肠癌细胞增殖的机制。另外,当雌激素作用于靶组织后,可在极短时间内发挥作用,这种瞬时效应提示雌激素可能不需要通过活化基因的途径,而是直接激活某些信号通路,与ER的基因组效应协同发挥作用。本研究出现的药物的双向作用与雌激素和ER水平是否相关,是否存在其他因素的影响,尚待进一步的研究。因此,不能排除染料木黄酮是结肠癌

形成的促进因素,有必要深入探讨内在的分子机制,为染料木黄酮的临床治疗提供充分的理论依据。

## 4 参考文献

- 1 Oba S, Nagata C, Shimizu N, Shimizu H, Kametani M, Takeyama N, Ohnuma T, Matsushita S. Soy product consumption and the risk of colon cancer: a prospective study in Takayama, Japan. *Nutr Cancer* 2007; 57: 151-157 [PMID: 17571948]
- 2 Murff HJ, Shrubsole MJ, Smalley WE, Wu H, Shyr Y, Ness RM, Zheng W. The interaction of age and hormone replacement therapy on colon adenoma risk. *Cancer Detect Prev* 2007; 31: 161-165 [PMID: 17433566]
- 3 Spector D, Anthony M, Alexander D, Arab L. Soy consumption and colorectal cancer. *Nutr Cancer* 2003; 47: 1-12 [PMID: 14769532]
- 4 Ollberding NJ, Lim U, Wilkens LR, Setiawan VW, Shvetsov YB, Henderson BE, Kolonel LN, Goodman MT. Legume, soy, tofu, and isoflavone intake and endometrial cancer risk in postmenopausal women in the multiethnic cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 67-76 [PMID: 22158125 DOI: 10.1093/jnci/djr475]
- 5 Banerjee S, Li Y, Wang Z, Sarkar FH. Multi-targeted therapy of cancer by genistein. *Cancer Lett* 2008; 269: 226-242 [PMID: 18492603 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.052]
- 6 Wei H, Saladi R, Lu Y, Wang Y, Palep SR, Moore J, Phelps R, Shyong E, Lebwohl MG. Isoflavone genistein: photoprotection and clinical implications in dermatology. *J Nutr* 2003; 133: 3811S-3819S [PMID: 14608119]
- 7 王丽斌, 王玉华. 金雀异黄素抗肿瘤实验研究进展. *实用肿瘤杂志* 2012; 27: 96-100
- 8 魏华波, 马海蓉, 王振华. 植物雌激素抗肿瘤作用机制研究进展. *食品科学* 2011; 32: 274-277
- 9 Sarkar FH, Adsule S, Padhye S, Kulkarni S, Li Y. The role of genistein and synthetic derivatives of isoflavone in cancer prevention and therapy. *Mini Rev Med Chem* 2006; 6: 401-407 [PMID: 16613577]
- 10 Hörmann V, Kumi-Diaka J, Durity M, Rathinavelu A. Anticancer activities of genistein-topotecan combination in prostate cancer cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 2631-2636 [PMID: 22452992 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2012.01576.x]
- 11 Ning Y, Li Q, Xiang H, Liu F, Cao J. Apoptosis induced by 7-difluoromethoxyl-5,4'-di-n-octyl genistein via the inactivation of FoxM1 in ovarian cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 27: 1857-1864 [PMID: 22447287 DOI: 10.3892/or.2012.1739]
- 12 Li Y, Chen H, Hardy TM, Tollefsbol TO. Epigenetic regulation of multiple tumor-related genes leads to suppression of breast tumorigenesis by dietary genistein. *PLoS One* 2013; 8: e54369 [PMID: 23342141 DOI: 10.1371/journal.pone.0054369]
- 13 陈鹏, 邓小凡, 胡明道. Genistein与顺铂协同抗肝癌的体外研究. *昆明医学院学报* 2010; 31: 79-83
- 14 Mansoor TA, Ramalho RM, Luo X, Ramalheite C, Rodrigues CM, Ferreira MJ. Isoflavones as apoptosis inducers in human hepatoma HuH-7 cells. *Phytother Res* 2011; 25: 1819-1824 [PMID: 21495101 DOI: 10.1002/ptr.3498]
- 15 Gu Y, Zhu CF, Dai YL, Zhong Q, Sun B. Inhibi-



- tory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4952-4957 [PMID: 19842228 DOI: 10.3748/wjg.15.4952]
- 16 Jin CY, Park C, Kim GY, Lee SJ, Kim WJ, Choi YH. Genistein enhances TRAIL-induced apoptosis through inhibition of p38 MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *Chem Biol Interact* 2009; 180: 143-150 [PMID: 19497411 DOI: 10.1016/j.cbi.2009.03.020]
- 17 陈誉华. 医学细胞生物学. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 345
- 18 凌航, 陈裕庆, 高美钦, 张文敏. Genistein联合5-FU对人结肠癌细胞株SW480增殖与凋亡的影响. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 912-915
- 19 龚军, 王正文, 朱明才, 汤为学, 黄义明, 彭彬, 李兴华. 金雀异黄素和5-FU对人结肠癌细胞株(SW480)的相互作用的体外观察. *中国现代医学杂志* 2006; 16: 873-876
- 20 Zhu Q, Meisinger J, Van Thiel DH, Zhang Y, Mo-barhan S. Effects of soybean extract on morphology and survival of Caco-2, SW620, and HT-29 cells. *Nutr Cancer* 2002; 42: 131-140 [PMID: 12235645]
- 21 Arai N, Ström A, Rafter JJ, Gustafsson JA. Estrogen receptor beta mRNA in colon cancer cells: growth effects of estrogen and genistein. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 270: 425-431 [PMID: 10753641]
- 22 Zhi H, Yamada Y, Hirose Y, Kato K, Sheng H, Zheng Q, Oyama T, Asano N, Kuno T, Hara A, Mori H. Effect of 2-(carboxyphenyl) retinamide and genistein on the formation of early lesions in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats. *Asian Pac J Cancer Prev* 2007; 8: 33-38 [PMID: 17477768]
- 23 刘丹, 赵忠新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2474-2478
- 24 Nagata C. Factors to consider in the association between soy isoflavone intake and breast cancer risk. *J Epidemiol* 2010; 20: 83-89 [PMID: 20173308]
- 25 Choi EJ, Kim GH. Antiproliferative activity of daidzein and genistein may be related to ER $\alpha$ /c-erbB-2 expression in human breast cancer cells. *Mol Med Report* 2013 Jan 21. [Epub ahead of print] [PMID: 23337939 DOI: 10.3892/mmr.2013.1283]
- 26 Hwang KA, Kang NH, Yi BR, Lee HR, Park MA, Choi KC. Genistein, a soy phytoestrogen, prevents the growth of BG-1 ovarian cancer cells induced by 17 $\beta$ -estradiol or bisphenol A via the inhibition of cell cycle progression. *Int J Oncol* 2013; 42: 733-740 [PMID: 23229410 DOI: 10.3892/ijo.2012.1719]
- 27 Gaete L, Tchernitchin AN, Bustamante R, Villena J, Lemus I, Gidekel M, Cabrera G, Astorga P. Daidzein-estrogen interaction in the rat uterus and its effect on human breast cancer cell growth. *J Med Food* 2012; 15: 1081-1090 [PMID: 23216111 DOI: 10.1089/jmf.2011.0322]
- 28 张全安, 徐瀚峰, 冯继峰. 雌激素和大肠癌关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 272-275
- 29 Caiazza F, Galluzzo P, Lorenzetti S, Marino M. 17Beta-estradiol induces ERbeta up-regulation via p38/MAPK activation in colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359: 102-107 [PMID: 17524358]
- 30 Notarnicola M, Messa C, Orlando A, Bifulco M, Laezza C, Gazzerò P, Caruso MG. Estrogenic induction of cannabinoid CB1 receptor in human colon cancer cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 66-72 [PMID: 18938775]

## ■同行评价

本文设计合理, 方法恰当, 结果真实, 有一定的科研价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义

官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟

## ■背景资料

Wnt信号通路与人类多种肿瘤的发生密切相关, 尤其在消化系统肿瘤的发生、发展中。目前, 在对胃癌的研究中, 已有较多关于Wnt信号通路异常活化的报道, 但更多着眼于β-catenin/TCF等关键环节, 因此Wnt信号通路在胃癌中的作用远未明确。本文对胃癌组织中Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a及β-catenin基因进行检测和分析。目前相关研究报道较少。

官文华, 赵文君, 刘希双, 青岛大学医学院附属医院内镜诊疗科 山东省青岛市 266003

杨堃, 青岛大学医学院附属医院中心实验室 山东省青岛市 266003

王秀娟, 青岛市第八人民医院 山东省青岛市 266100

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2009CQ040

作者贡献分布: 官文华、刘希双及杨堃对此文所作贡献均等; 此课题由刘希双、杨堃及赵文君设计; 研究过程由官文华与王秀娟操作完成; 研究所用器材及分析工具由杨堃提供; 数据统计分析由官文华与杨堃完成; 本论文写作由官文华与刘希双完成。

通讯作者: 刘希双, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院内镜诊疗科。liuxishuang1@sina.com  
电话: 0532-82911525

收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

## Significance of expression of Wnt3 and Wnt3a in gastric carcinoma

Wen-Hua Guan, Kun Yang, Wen-Jun Zhao,  
Xi-Shuang Liu, Xiu-Juan Wang

Wen-Hua Guan, Wen-Jun Zhao, Xi-Shuang Liu, Department of Endoscopic Diagnostics and Therapeutics, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Kun Yang, Central Laboratory, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Xiu-Juan Wang, Eighth People's Hospital of Qingdao City, Qingdao 266100, Shandong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. ZR2009CQ040

Correspondence to: Xi-Shuang Liu, Chief Physician, Department of Endoscopic Diagnostics and Therapeutics, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. liuxishuang1@sina.com

Received: 2013-01-15 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of Wnt3, Wnt3a, Wnt5a, Wnt8a and β-catenin in chronic atrophic gastritis (CAG) and gastric carcinoma (GC), and to investigate the role of the Wnt signaling pathway in the pathogenesis of GC.

**METHODS:** The mRNA expression of Wnt3, Wnt3a, Wnt5a and Wnt8a in 26 fresh CAG and 40 GC tissue samples was examined using Real-time RT-PCR. The protein expression of

β-catenin was detected by Western blot.

**RESULTS:** The mRNA expression levels of Wnt3 and Wnt3a were significantly increased in GC ( $1.9940 \pm 0.1311$  vs  $1.3349 \pm 0.2487$ ,  $P < 0.05$ ;  $2.3033 \pm 0.3979$  vs  $1.2835 \pm 0.2815$ ,  $P < 0.05$ ) and were associated with lymph node metastasis and TNM stage. The expression of Wnt5a and Wnt8a did not significantly differ between CAG and GC (both  $P > 0.05$ ). Western blot analysis showed that the relative expression of β-catenin protein was significantly elevated in GC compared with CAG ( $0.6290 \pm 0.1369$  vs  $0.2341 \pm 0.0975$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Our results suggest that Wnt3 and Wnt3a may be critically involved in the activation of the Wnt signaling pathway and in the carcinogenesis and progression of GC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Chronic atrophic gastritis; Gastric cancer; β-catenin; Wnt signaling pathway; Gene expression

Guan WH, Yang K, Zhao WJ, Liu XS, Wang XJ. Significance of expression of Wnt3 and Wnt3a in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 624-628 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/624.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.624>

## 摘要

**目的:** 探讨Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a和β-catenin基因在胃癌及慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)组织中的表达及在胃癌发生、发展中的作用。

**方法:** 应用Real-time RT-PCR方法检测26例CAG和40例胃癌组织中Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a mRNA的表达情况, Western blot检测β-catenin蛋白的表达。

**结果:** Wnt3和Wnt3a mRNA的表达在胃癌组织中较CAG中升高( $1.9940 \pm 0.1311$  vs  $1.3349 \pm 0.2487$ ,  $P < 0.05$ ;  $2.3033 \pm 0.3979$  vs  $1.2835 \pm 0.2815$ ,  $P < 0.05$ ), 并与胃癌的淋巴结转移及

## ■同行评议者

冯志杰, 主任医师,  
河北医科大学第二医院消化内科

TNM分期具有相关性, 而Wnt5a和Wnt8a在两种组织中的表达无显著差异( $P>0.05$ ), Western blot结果显示 $\beta$ -catenin蛋白在胃癌中表达升高( $0.6290 \pm 0.1369$ ,  $0.2341 \pm 0.0975$ ,  $P<0.05$ ).

**结论:** Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在胃癌组织中呈活化状态, 而Wnt3和Wnt3a可能在启动此通路的激活过程中起到了主要作用, 并参与了胃癌的发生发展.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 慢性萎缩性胃炎; 胃癌;  $\beta$ -catenin; Wnt信号通路; 基因表达

官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟. Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 624-628 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/624.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.624>

## 0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 大部分患者在确诊时已处于中晚期, 其病死率居各种肿瘤第2位, 5年生存率较低. 胃癌的发生发展是一个多因素、多基因、多阶段共同作用的复杂过程, 其具体的致病机制仍不清楚. 目前已有研究发现, 在包括胃癌在内的多种人类肿瘤中都存在Wnt通路的异常激活<sup>[1-6]</sup>. Wnt通路是细胞中一条重要的、保守的信号转导途径, 参与了胚胎发育、细胞增殖、分化与凋亡等多种生物学过程的调控. Wnt通路的失调与许多人类疾病有着密切的联系. 当细胞中存在异常Wnt信号时, 可导致其下游成分 $\beta$ -catenin不能经过正常磷酸化及降解而在胞质中过度累积. 而 $\beta$ -catenin是一种多功能胞浆蛋白, 既是经典Wnt通路的关键枢纽分子, 也参与正常细胞中黏着复合体的形成, 介导同型细胞间的黏附. 本研究对40例胃癌及26例慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)组织中Wnt家族成员Wnt3、Wnt3a、Wnt5a和Wnt8a的表达情况进行观察, 初步探讨几种Wnt蛋白在Wnt信号通路的激活以及胃癌发生发展中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集 2011-05/2011-12青岛大学医学院附属医院普外科胃癌手术标本40例. 其中男29例, 女11例, 年龄36-79岁, 中位年龄62.5岁, 男女比例2.64:1, 经病理诊断低分化腺癌27例, 高

分化腺癌12例, 印戒细胞癌1例. 患者术前均未接受放化疗. 另外胃镜普通活检钳取26例胃窦组织, 经病理诊断为CAG. 其中男14例, 女12例, 年龄43-70岁, 中位年龄57岁. 所有组织取出后立即置于液氮冻存, 并迅速转移至-80℃冰箱保存. RNAiso RNA抽提试剂、逆转录试剂盒和SYBR Green荧光定量PCR试剂盒均购自TaKaRa公司; PCR引物使用ABI公司Primer Express软件设计, 由上海生工生物工程公司合成; 蛋白酶抑制剂Halt™ Protease Inhibitor Cocktail购自Thermo Scientific公司;  $\beta$ -catenin和GAPDH一抗、HRP标记羊抗兔二抗购自美国Cell Signaling公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 总RNA提取及Real-time RT-PCR检测:** TRIzol法提取组织总RNA, 紫外分光光度仪测定RNA的纯度和含量. 逆转录反应依照TaKaRa公司逆转录试剂盒说明书进行操作. 将逆转录产物进行PCR反应, 反应体系如下: cDNA 2  $\mu$ L, 2 $\times$  SYBR Premix Ex Taq II 10  $\mu$ L, 5  $\mu$ mol/L上、下游引物各1.6  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 4.8  $\mu$ L(PCR引物序列见表1). 于Roche LightCycler Real-time PCR仪中进行PCR反应, 反应条件为: 95℃变性30 s; 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 共40个循环. 反应结束后分析融解曲线, 并由扩增曲线得到各产物的Ct值, 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法计算目的基因和内参基因之间的相对含量.

**1.2.2 蛋白抽提及Western blot分析:** 于20 mg组织中加入150  $\mu$ L含有蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液, 低温下匀浆提取总蛋白. BCA法测定蛋白浓度后, 保存在-80℃冰箱备用. 电泳前取50  $\mu$ g蛋白标本加入上样缓冲液于100℃加热变性5 min, 10%SDS-PAGE胶中电泳2 h后将蛋白转移至PVDF膜. 将膜置于含有5%脱脂奶粉的PBST中封闭1 h, 加入1:1 000稀释的 $\beta$ -catenin或GAPDH一抗于4℃孵育过夜, 再与1:3 000稀释的HRP标记羊抗兔二抗室温孵育1 h, PBST洗膜3次后ECL化学发光显色. Vilber Fusion Fx7凝胶成像仪摄取图像, Quantity One软件测定条带灰度值, 计算 $\beta$ -catenin/GAPDH灰度比值.

**统计学处理** 使用SPSS19.0软件进行统计学分析, 应用非配对t检验分析各组间的差异. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 Wnt3、Wnt3a在胃癌中表达升高** Real-time PCR结果显示, 胃癌组织中Wnt3和Wnt3a mRNA的相对表达量与CAG组相比较分别升

### ■ 研发前沿

Wnt信号通路在调控胚胎发育、参与细胞增殖、分化与凋亡中的作用已逐渐被人们认识, 其异常活化可以导致人类多种肿瘤的发生. 两者间的相关性已成为目前的研究热点.



## ■ 相关报道

Benhaj等发现Wnt3a在部分人类乳腺癌细胞系中表达增高,而Wnt3、Wnt8a则没有明显变化。Katoh等在对37种人类癌细胞系的研究中发现Wnt3在A549肺癌细胞系和MNK45胃癌细胞系中的表达水平相对较高。

表 1 PCR引物序列

	上游序列	下游序列	扩增产物片段(bp)
Wnt3	AGCGCCTCGGAGATGGTAGTA	CTGGGTTGGGCTCACAAAAGT	148
Wnt3a	CAGGGTGAAGACATGCTGGTG	CGAGGCGCTGTCGTACTTGT	82
Wnt5a	TCGACTATGGCTACCGCTTTG	CGTTGTTGTGCAGGTTTCATGA	114
Wnt8a	GTGAGAGCCACCATGAAAAGGA	ATTTCATTTTCAGCGCCTGG	146

表 2 胃癌和慢性萎缩性胃炎组织中Wnt基因mRNA表达水平

	慢性萎缩性胃炎	胃癌	P值
Wnt3	1.3349 ± 0.2487	1.9940 ± 0.1311	0.0174
Wnt3a	1.2835 ± 0.2815	2.3033 ± 0.3979	0.0497
Wnt5a	1.8269 ± 0.1781	1.7802 ± 0.1772	0.8545
Wnt8a	1.5263 ± 0.2302	1.0229 ± 0.2238	0.1255

高了49.37%和79.45%,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。而Wnt5a和Wnt8a mRNA在两种组织中的表达量未发现明显差异( $P < 0.05$ ,表2)。

2.2 胃癌中 $\beta$ -catenin蛋白水平较CAG组升高 我们应用Western blot方法检测了 $\beta$ -catenin蛋白的表达,结果显示 $\beta$ -catenin蛋白在CAG及胃癌组织中的相对表达量分别为 $0.2341 \pm 0.0975$ 和 $0.6290 \pm 0.1369$ ,胃癌组较CAG组升高1.69倍,差异具有统计学意义( $P = 0.0407$ ,图1,2)。

2.3 Wnt基因表达水平与胃癌临床病理参数之间的关系 Wnt3a和Wnt5a在50岁以上以及TNM III-IV期的胃癌患者中的表达显著高于50岁以下以及TNM I-II期的患者;Wnt3a在淋巴结转移组中的表达量较无转移组升高0.97倍,而Wnt3和Wnt8a在淋巴结转移组中的表达量则较无转移组分别降低了19.73%和67.28%,差异均具有统计学意义;Wnt3、Wnt3a和Wnt5a的表达与胃癌的浸润深度无显著关联,而Wnt8a在未侵及浆膜层的患者中表达升高(表3)。

### 3 讨论

Wnt家族是一类富含半胱氨酸的分泌性糖蛋白,目前在人类中已发现19种Wnt蛋白家族成员,他们通过与细胞表面基质及其特异性受体卷曲蛋白(Frizzled, Fz)相互作用,激活下游的Wnt信号转导通路<sup>[7]</sup>。 $\beta$ -catenin是经典Wnt信号通路的关键枢纽分子, $\beta$ -catenin的氨基末端有数个酪氨酸蛋白激酶(CK1 $\alpha$ )和糖原合成酶激酶3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )的磷酸化位点,这些位点的磷酸化与去磷酸化对调控 $\beta$ -catenin的功能转换起到重要作用<sup>[8,9]</sup>。当

Wnt信号通路激活时,细胞中的 $\beta$ -catenin不能经过正常磷酸化及降解而导致其在胞质中累积并转移到细胞核中激活下游靶基因转录,从而产生特定的生物学效应<sup>[10]</sup>。

目前研究发现在多种人类肿瘤中都存在一种或多种Wnt基因家族成员的异常表达,这些基因的表达失调可能参与了下游Wnt信号通路的激活,从而导致了肿瘤的发生、发展<sup>[11-13]</sup>。也有研究发现,正常成熟细胞中缺乏Wnt信号,在导入异常外源性Wnt信号或突变的 $\beta$ -catenin基因后,细胞的转录活性提高,进而导致正常细胞发生癌变<sup>[14]</sup>。Benhaj等<sup>[15]</sup>发现Wnt3a在部分人类乳腺癌细胞系中表达增高,而Wnt3、Wnt8a则没有明显变化。Katoh等<sup>[16]</sup>在对37种人类癌细胞系的研究中发现Wnt3在A549肺癌细胞系和MNK45胃癌细胞系中的表达水平相对较高。上述结果提示Wnt3、Wnt3a表达失调导致的Wnt信号通路活化与肿瘤的发生有着密切的关系。本研究检测了Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a mRNA以及 $\beta$ -catenin蛋白在CAG和胃癌组织中的表达情况,发现在胃癌组织中Wnt3、Wnt3a及 $\beta$ -catenin的表达量明显增高,这些结果提示Wnt/ $\beta$ -catenin通路在胃癌中处于活化状态,且Wnt3、Wnt3a可能在启动胃癌中Wnt通路的活化过程中起到了主要作用。本研究同时发现Wnt3a的高表达与胃癌患者的年龄、淋巴结转移及TNM分期相关,说明其参与了胃癌的发展过程,并且与胃癌转移以及较差的预后具有相关性。我们推测这可能与胃癌中高表达的Wnt3a激活Wnt通路导致大量 $\beta$ -catenin在胞质中累积有关。正常细胞中无Wnt信号时,胞质内 $\beta$ -catenin大部分与细胞膜上E-钙黏蛋白(E-cadherin)结合形成黏着复合体,介导同型细胞间的黏附,对维持上皮形态结构的完整性和细胞极性起到重要作用<sup>[17]</sup>。在癌组织中可能存在黏着复合体异常表达,使癌细胞丧失极性,具备侵袭性。肿瘤细胞间黏附功能减弱是肿瘤浸润和转移的关键。而李俊国等<sup>[18]</sup>应用免疫组织化学法发现Wnt3a在胃溃疡和胃癌组织中无

表 3 Wnt基因mRNA表达水平与胃癌临床病理参数之间的关系

	年龄(岁)		侵及浆膜层		淋巴结转移		TNM分期	
	≤50	>50	无	有	无	有	无	有
Wnt3	2.01 ± 0.21	1.95 ± 0.17	2.26 ± 0.07	1.87 ± 0.18	2.23 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.79 ± 0.19	2.26 ± 0.13 <sup>b</sup>	1.61 ± 0.17
Wnt3a	1.49 ± 0.26	2.67 ± 0.55 <sup>a</sup>	1.66 ± 0.23	2.58 ± 0.56	1.50 ± 0.21	2.95 ± 0.66 <sup>a</sup>	1.41 ± 0.21	3.64 ± 0.89 <sup>a</sup>
Wnt5a	1.17 ± 0.38	1.99 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.50 ± 0.39	1.90 ± 0.18	1.56 ± 0.29	1.95 ± 0.21	1.43 ± 0.31	2.40 ± 0.12 <sup>a</sup>
Wnt8a	0.82 ± 0.49	1.03 ± 0.25	1.52 ± 0.47 <sup>a</sup>	1.90 ± 0.18	1.62 ± 0.35 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.22	1.46 ± 0.37	0.64 ± 0.31

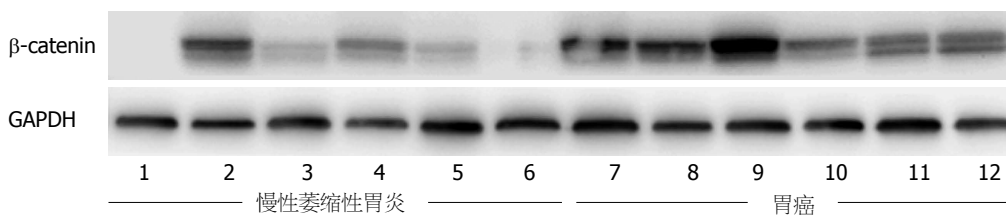
<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01.

图 1 β-catenin和内参GAPDH在胃癌和慢性萎缩性胃炎组织中的表达. 1-6: 慢性萎缩性胃炎组织标本; 7-12: 胃癌组织标本.

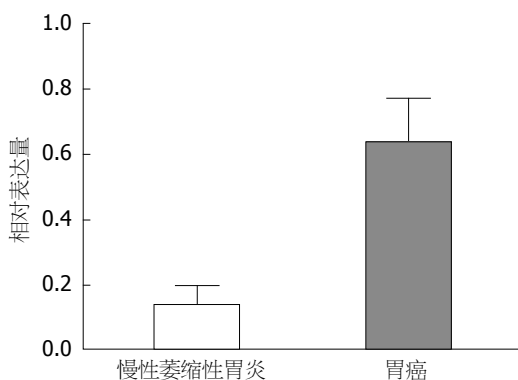


图 2 胃癌和慢性萎缩性胃炎组织中β-catenin蛋白表达水平的比较.

表达, 推测Wnt3a蛋白仅对细胞的分化成熟起重要作用, 并未作为分泌蛋白参与胃癌的发病与转移. 本研究与此相反, 可能是由于实验的局限性而未能完全反应表达情况, 因此尚需进一步全面深入的研究.

另外, 我们的研究结果显示Wnt5a和Wnt8a的表达在胃癌组织和CAG组织中无显著差异, 提示Wnt5a和Wnt8a可能不是启动胃癌中Wnt通路活化的主要分子. Saitoh等<sup>[19,20]</sup>在研究中发现Wnt8a在多种人类胚胎癌细胞系中存在高表达, 而在胰腺癌、乳腺癌及脑瘤细胞系中并未检测到其表达. 而且他们还发现Wnt5a在部分胃癌组织中表达升高, 而在许多胃癌细胞系中Wnt5a表达水平却较低, 甚至未检测到<sup>[21,22]</sup>. 这些研究表明, 在不同的肿瘤发生、发展过程中, Wnt5a

和Wnt8a可能发挥了不同甚至截然相反的作用, 其分子机制可能存在较大差异. 但也有相反的报道, Wnt5a mRNA在胃癌组织中高表达, 且与胃癌的分期、预后、组织学分型及淋巴结转移相关<sup>[23,24]</sup>. 我们推测这可能与Wnt5a参与非经典Wnt通路有关, 而其具体的分子机制仍不清楚.

综上所述, 本文对胃癌中Wnt家族成员Wnt3、Wnt3a、Wnt5a和Wnt8a的表达以及他们与胃癌各临床病理参数之间的关系进行了系统的研究, 结果表明相对Wnt5a和Wnt8a, Wnt3和Wnt3a可能在启动胃癌中Wnt信号通路的活化过程中起到了更为主要的作用, 并且其表达与胃癌转移及较差的预后相关, 参与了胃癌的发生发展. 这些发现可望为胃癌的早期诊断及基因治疗提供依据, 但目前关于胃癌中Wnt基因表达活化机制及其与胃癌发生发展之间的关系还远未明确, 其在胃癌诊断和治疗中的作用需要更深层次的研究.

#### 4 参考文献

- 1 Moravec M. [Colorectal cancer and canonical Wnt signalling pathway]. *Cas Lek Cesk* 2012; 151: 335-342 [PMID: 22913786]
- 2 Lachenmayer A, Alsinet C, Savic R, Cabellos L, Toffanin S, Hoshida Y, Villanueva A, Minguez B, Newell P, Tsai HW, Barretina J, Thung S, Ward SC, Bruix J, Mazzaferro V, Schwartz M, Friedman SL, Llovet JM. Wnt-pathway activation in two molecular classes of hepatocellular carcinoma and experimental modulation by sorafenib. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4997-5007 [PMID: 22811581 DOI:

#### ■应用要点

由于胃癌病因未明, 缺乏有效地一级预防, 二级预防成为重点, 因此早期诊断及治疗成为重点. 分子靶向治疗是目前肿瘤治疗的研究热点之一. 本文研究了Wnt信号通路中Wnt基因及β-catenin在慢性胃炎到胃癌的发生过程的表达量, 为胃癌的治疗提供新的思路.

## ■同行评价

本文技术路线可行,方法先进,对探讨胃癌的发生发展具有一定的理论价值。

- 3 Zhu J, Zhang S, Gu L, Di W. Epigenetic silencing of DKK2 and Wnt signal pathway components in human ovarian carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2334-2343 [PMID: 22964660 DOI: 10.1093/carcin/bgs278]
- 4 Cai C, Zhu X. The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *Mol Med Report* 2012; 5: 1191-1196 [PMID: 22367735 DOI: 10.3892/mmr.2012.802]
- 5 Pan KF, Liu WG, Zhang L, You WC, Lu YY. Mutations in components of the Wnt signaling pathway in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1570-1574 [PMID: 18330950 DOI: 10.3748/wjg.14.1570]
- 6 Zhang H, Xue Y. Wnt pathway is involved in advanced gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1126-1130 [PMID: 18705344]
- 7 Dierick H, Bejsovec A. Cellular mechanisms of wingless/Wnt signal transduction. *Curr Top Dev Biol* 1999; 43: 153-190 [PMID: 9891886 DOI: 10.1016/S0070-2153(08)60381-6]
- 8 Kitagawa M, Hatakeyama S, Shirane M, Matsumoto M, Ishida N, Hattori K, Nakamichi I, Kikuchi A, Nakayama K, Nakayama K. An F-box protein, FWD1, mediates ubiquitin-dependent proteolysis of  $\beta$ -catenin. *EMBO J* 1999; 18: 2401-2410 [PMID: 10228155 DOI: 10.1093/emboj/18.9.2401]
- 9 Liu C, Li Y, Semenov M, Han C, Baeg GH, Tan Y, Zhang Z, Lin X, He X. Control of  $\beta$ -catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* 2002; 108: 837-847 [PMID: 11955436 DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00685-2]
- 10 Boyer B, Vallés AM, Edme N. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1091-1099 [PMID: 11007946 DOI: 10.1016/S0006-2952(00)00427-5]
- 11 Carmon KS, Loose DS. Development of a bioassay for detection of Wnt-binding affinities for individual frizzled receptors. *Anal Biochem* 2010; 401: 288-294 [PMID: 20227380 DOI: 10.1016/j.ab.2010.03.009]
- 12 Yan L, Della Coletta L, Powell KL, Shen J, Thames H, Aldaz CM, MacLeod MC. Activation of the canonical Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in ATF3-induced mammary tumors. *PLoS One* 2011; 6: e16515 [PMID: 21304988 DOI: 10.1371/journal.pone.0016515]
- 13 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602 DOI: 10.1152/ajpgi.00263.2007]
- 14 Aoki M, Hecht A, Kruse U, Kemler R, Vogt PK. Nuclear endpoint of Wnt signaling: neoplastic transformation induced by transactivating lymphoid-enhancing factor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 139-144 [PMID: 9874785 DOI: 10.1073/pnas.96.1.139]
- 15 Benhaj K, Akcali KC, Ozturk M. Redundant expression of canonical Wnt ligands in human breast cancer cell lines. *Oncol Rep* 2006; 15: 701-707 [PMID: 16465433]
- 16 Katoh M. Molecular cloning and characterization of human WNT3. *Int J Oncol* 2001; 19: 977-982 [PMID: 11604997]
- 17 Tian X, Liu Z, Niu B, Zhang J, Tan TK, Lee SR, Zhao Y, Harris DC, Zheng G. E-cadherin/ $\beta$ -catenin complex and the epithelial barrier. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 567305 [PMID: 22007144 DOI: 10.1155/2011/567305]
- 18 李俊国, 寸向农, 杨开明. Wnt3a、 $\beta$ -catenin与CyclinD1在胃癌和胃溃疡组织中的表达及其临床意义. *川北医学院学报* 2012; 27: 201-205
- 19 Saitoh T, Mine T, Katoh M. Expression and regulation of WNT8A and WNT8B mRNAs in human tumor cell lines: up-regulation of WNT8B mRNA by beta-estradiol in MCF-7 cells, and down-regulation of WNT8A and WNT8B mRNAs by retinoic acid in NT2 cells. *Int J Oncol* 2002; 20: 999-1003 [PMID: 11956596]
- 20 Saitoh T, Katoh M. Molecular cloning and characterization of human WNT8A. *Int J Oncol* 2001; 19: 123-127 [PMID: 11408932]
- 21 Saitoh T, Mine T, Katoh M. Up-regulation of WNT8B mRNA in human gastric cancer. *Int J Oncol* 2002; 20: 343-348 [PMID: 11788899]
- 22 Saitoh T, Mine T, Katoh M. Frequent up-regulation of WNT5A mRNA in primary gastric cancer. *Int J Mol Med* 2002; 9: 515-519 [PMID: 11956659]
- 23 Kurayoshi M, Oue N, Yamamoto H, Kishida M, Inoue A, Asahara T, Yasui W, Kikuchi A. Expression of Wnt-5a is correlated with aggressiveness of gastric cancer by stimulating cell migration and invasion. *Cancer Res* 2006; 66: 10439-10448 [PMID: 17079465 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2359]
- 24 刘晓红, 曹智新, 耿明, 曹永成, 王义, 辛萱, 王翠翠, 毕利泉. Wnt-5a基因在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1222-1226

编辑 田滢 电编 鲁亚静





## 胆红素吸附联合血浆置换治疗高胆红素血症42例

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方, 中国人民解放军150医院肝病诊疗研究中心 河南省洛阳市 471003

赵和平, 主任医师, 主要从事各种肝病的诊疗研究。

作者贡献分布: 此课题由赵和平、丁保华及张自然设计; 研究过程由邢笑洁、智慧及申晓方操作完成; 数据分析由侯田青完成; 本论文写作由赵和平、侯田青、丁保华及张自然完成。

通讯作者: 赵和平, 主任医师, 471003, 河南省洛阳市高新区, 中国人民解放军150医院肝病诊疗研究中心。

zhaohp150@sina.com

收稿日期: 2012-11-16 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-03-08

### Therapeutic effect of plasma exchange combined with bilirubin absorption for hyperbilirubinemia: An analysis of 42 cases

He-Ping Zhao, Tian-Qing Hou, Bao-Hua Ding, Zi-Ran Zhang, Xiao-Jie Xing, Hui Zhi, Xiao-Fang Shen

He-Ping Zhao, Tian-Qing Hou, Bao-Hua Ding, Zi-Ran Zhang, Xiao-Jie Xing, Hui Zhi, Xiao-Fang Shen, Center for Hepatology Diagnosis and Treatment, the 150th Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471003, Henan Province, China

Correspondence to: He-Ping Zhao, Chief Physician, Center for Hepatology Diagnosis and Treatment, the 150th Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471003, Henan Province, China. zhaohp150@sina.com

Received: 2012-11-16 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-03-08

### Abstract

**AIM:** To analyze the therapeutic effect of plasma exchange (PE) combined with bilirubin absorption (BA) in the treatment of hyperbilirubinemia.

**METHODS:** Forty-two patients with hyperbilirubinemia (55 events altogether) treated by PE combined with BA, including 28 males and 14 females, were enrolled. Their mean age was 52.14 years  $\pm$  8.52 years.

**RESULTS:** The overall response rate was 95.24% for the combination treatment group and 76.66% for the normal treatment group. There was a significant difference in the overall response rate between the two groups ( $P < 0.05$ ). Both groups

had a significant improvement in liver function after treatment. The combination treatment was more effective in the improvement of TBil and alkaline phosphatase (ALP) levels (both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** PE combined with BA is safe and effective in the treatment of hyperbilirubinemia.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hyperbilirubinemia complication; Liver failure; Complications occurrence; Bilirubin absorption; Plasma exchange; Artificial liver

Zhao HP, Hou TQ, Ding BH, Zhang ZR, Xing XJ, Zhi H, Shen XF. Therapeutic effect of plasma exchange combined with bilirubin absorption for hyperbilirubinemia: An analysis of 42 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 629-632 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/629.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.629>

### 摘要

**目的:** 观察胆红素吸附(bilirubin absorption, BA)联合血浆置换(plasma exchange, PE)治疗高胆红素血症的临床疗效。

**方法:** 采用BA联合PE治疗高胆红素血症患者42例(共55例次), 其中男28例, 女14例; 平均年龄52.14岁  $\pm$  8.52岁。

**结果:** BA联合PE治疗组总有效率为95.24%, 常规治疗组总有效率为76.66%。两组总有效率相比, 有显著性差异( $P < 0.05$ ); 两组治疗前后肝功能改善比较有显著性差异, 两组治疗后血清总胆红素、碱性磷酸酶改善比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。

**结论:** BA联合PE治疗高胆红素血症是安全有效的治疗方法, 并发症发生率低。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 高胆红素血症; 肝功能衰竭; 并发症; 胆红素吸附; 血浆置换; 人工肝

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方。胆

### ■背景资料

各种原因导致的高胆红素血症患者, 病情较重, 临床不适症状明显, 然而单纯内科药物治疗效果不佳。胆红素吸附(BA)联合血浆置换(PE), 是近年来应用于临床的新型组合型人工肝支持系统, 该联合治疗既具有吸附和置换的优点, 同时又相互弥补各自的不足, 并可减少血浆的用量, 治疗高胆红素血症疗效确切。

### ■同行评议者

江建新, 副主任医师, 贵阳医学院附属医院肝胆外科; 杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科; 马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科; 邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科

## ■研究前沿

胆红素吸附联合血浆置换作为近年来应用于临床的新型组合型人工肝支持系统, 对其疗效及安全性的深入评价成为临床应用的研究热点。

红素吸附联合血浆置换治疗高胆红素血症42例. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 629-632 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/629.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.629>

## 0 引言

高胆红素血症是指各种肝病引起的胆红素代谢障碍, 血液中胆红素水平升高, 从而造成一系列病理生理改变. 胆红素吸附(bilirubin absorption, BA)联合血浆置换(plasma exchange, PE), 是近年来应用于临床的新型组合型人工肝支持系统, 该联合治疗既具有吸附和置换的优点, 同时又相互弥补各自的不足, 并可减少血浆的用量, 治疗高胆红素血症疗效确切<sup>[1]</sup>. 本研究回顾性分析2008-01/2011-12在中国人民解放军第150医院肝病诊疗研究中心治疗的102例高胆红素血症患者的临床资料, 其中有42例高胆红素血症患者进行BA联合PE治疗, 取得较好疗效, 现报道如下.

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-01/2011-12在中国人民解放军第150医院肝病诊疗研究中心住院的高胆红素血症患者102例, 其中男69例, 女33例; 平均年龄53.84岁±9.41岁. 急性乙型黄疸性肝炎5例, 急性戊型肝炎9例, 急性重型肝炎5例, 亚急性肝功能衰竭9例, 慢性重型肝炎23例, 乙型肝炎肝硬化16例, 丙型肝炎肝硬化8例, 酒精性肝硬化8例, 药物性肝炎8例, 自身免疫性肝炎6例, 原发性胆汁性肝硬化5例. 其中BA联合PE治疗组42例, 男28例, 女14例; 年龄33-63岁, 平均52.14岁±8.52岁. 常规治疗组60例, 男45例, 女15例; 年龄38-73岁, 平均55.07岁±10.04岁. 两组患者在性别、年龄、治疗前肝功能检测结果等方面比较, 差异无显著性意义( $P>0.05$ ). BA: 人工肝治疗仪(IQ-21型, 日本), 应用人工肝专用管路, 行股静脉插管建立体外循环通路. PE: 一次性血浆分离用血液回路(日本旭化成), 膜型血浆分离器(OP-05w), 胆红素吸附器(BRS-350, 日本).

### 1.2 方法

1.2.1 诊断标准: 病毒性肝炎诊断按2000年全国(西安)病毒性肝炎学术会议确定的标准<sup>[2]</sup>: 85.5  $\mu\text{mol/L}$ <血清总胆红素(total bilirubin, TBil)<171.1  $\mu\text{mol/L}$ 诊断为高胆红素血症.

1.2.2 治疗: (1)常规治疗组患者异甘草酸镁注射液150 mg, 还原型谷胱甘肽1.2 g, 加入5%葡萄糖注射液250 mL, 静滴, 1次/d; 多烯磷酸胆碱注射

液20 mL加入5%葡萄糖注射液250 mL, 静滴; 腺苷蛋氨酸注射液(思美泰)1.5 g, 加入5%葡萄糖注射液250 mL, 静滴, 1次/d; 口服熊去氧胆酸胶囊250 mg, 2次/d. BA联合PE治疗组在对照组治疗的基础上给予BA联合PE治疗; (2)先制定治疗模式, 行BA, 吸附时间4 h, 血液流量100-150 mL/min, 血浆分离速度30-45 mL/min, 达到目标吸附量后停止治疗. 变治疗模式为PE, 对血液循环管路进行安装后进行选择性PE, 血液流量100-150 mL/min, 使血浆输入与血浆分离速度一致(为20-34 mL/min), 采用2 L用过的置换液袋收集废浆, 置换液为新鲜冰冻血浆2 600-3 000 mL. 两组均以3 wk为1个疗程. 1个疗程后统计疗效.

1.2.3 观察指标: 临床检测项目包括TBil( $\mu\text{mol/L}$ ), 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)(U/L), 谷酰转氨酶( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, GGT)(U/L)等, 治疗期间每周检测1次, 比较治疗前后的变化.

1.2.4 疗效判定标准<sup>[3]</sup>: 显效: 血清总胆红素较原值下降50%以上; 有效: 血清总胆红素较原值下降20%-50%; 无效: 血清总胆红素较原值下降不足20%.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 分析采用 $t$ 检验; 计数资料以率(%)表示, 分析采用 $\chi^2$ 检验;  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 两组临床疗效比较 常规治疗组患者中显效26例(43.33%), 有效20例(33.33%), 无效14例(23.33%), 总有效率为76.66%; BA联合PE治疗组患者中显效28例(66.67%), 有效12例(28.57%), 无效2例(4.76%), 总有效率为95.24%; 两组总有效率比较, 有显著性差( $P<0.05$ ).

2.2 两组治疗前后TBil、ALP、GGT检测结果 两组治疗前后肝功能改善比较有显著性差异, 两组治疗后血清总胆红素、碱性磷酸酶改善比较有显著性差异( $P<0.05$ , 表1).

2.3 并发症的发生情况及处置措施 BA联合PE治疗组42例患者在55例次BA联合PE治疗中出现并发症9例次(16.36%), 其中血浆过敏反应6例次(10.91%), 循环血路压力异常增高3例次(5.45%), 被迫暂停治疗, 更换静脉管路后继续治疗; 一过性血压下降1例次(1.82%). 全部病例治疗期间及治疗后无畏寒、寒战、发热、出血或深静脉留置管部位渗血等情况发生. 血浆过敏反应: 主要

表 1 两组治疗前后TBil, ALP, GGT检测结果比较 (mean ± SD)

分组	总胆红素( $\mu\text{mol/L}$ )	碱性磷酸酶(U/L)	谷氨转氨酶(U/L)
常规治疗组			
治疗前	118.6 ± 18.4	229.4 ± 59.3	191.3 ± 73.5
治疗后	48.2 ± 19.1 <sup>b</sup>	129.2 ± 48.1 <sup>a</sup>	58.0 ± 24.6 <sup>b</sup>
BA联合PE治疗组			
治疗前	121.5 ± 17.8	211.2 ± 53.2	198.4 ± 79.1
治疗后	33.7 ± 15.4 <sup>bc</sup>	94.2 ± 57.1 <sup>ac</sup>	52.4 ± 27.6 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  同组治疗前组vs治疗后; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 治疗后组间比较。

表现为皮肤瘙痒及荨麻疹, 无严重过敏反应发生, 经肌内注射盐酸氯丙嗪、静脉滴注葡萄糖酸钙后不适症状消失, 均不影响治疗。循环管路压力异常增高: 发生在BA治疗阶段, 给予小分子肝素, 0.9%氯化钠溶液冲洗处理。一过性血压下降: 发生在循环回路建立后15 min, 表现为胸闷、憋气, 血压逐渐下降, 立即予快速补充0.9%氯化钠溶液约200 mL后不适症状消失, 血压逐渐回升至正常, 顺利完成治疗。

### 3 讨论

高胆红素血症是目前肝病治疗的难题之一, 肝脏是机体解毒、合成、代谢的重要器官, 肝功能障碍时, 常常合并严重的胆红素代谢紊乱, 高胆红素血症可以直接对中枢系统、肾脏、凝血功能、心血管系统等产生严重影响, 各种原因导致的高胆红素血症患者病情重, 临床症状明显, 并发症多, 极易发展为重型肝炎, 单纯内科药物治疗效果不佳。目前血液净化技术已广泛的应用于肝衰竭的辅助治疗<sup>[4-6]</sup>, 人工肝支持系统治疗高胆红素血症患者疗效确切。

PE治疗能够清除患者血液中大量胆红素、内毒素、改善内环境, 从而暂时替代或辅助肝脏功能, 阻断有害物质加重肝损害, 为肝细胞再生争取时间; 同时还有补充凝血因子、调节免疫等作用。血浆置换后胆红素降低接近50%<sup>[7-9]</sup>, 但治疗需要大量的血浆, 容易受血浆用量限制, 特别是罕见血型患者, 而且血浆有导致过敏反应及输血感染等并发症可能。

BA采用树脂吸附剂, 树脂的类型、颗粒大小、孔率决定了对毒素的吸附能力<sup>[7]</sup>。治疗中使用的吸附柱对胆红素及各种毒素有较好的吸附能力, 文献报道每根吸附柱可使血浆总胆红素下降29%<sup>[7,10-12]</sup>。血浆中游离胆红素被吸附后, 与血浆白蛋白结合的胆红素部分解离再被吸附,

而白蛋白及凝血因子未被吸附清除。血浆胆红素吸附作为人工肝支持系统的重要组成部分, 克服了血浆用量限制、血浆过敏、输血感染风险等不良反应。

BA联合PE既充分发挥了两种治疗模式的各自治疗作用, 又相互弥补了两种治疗模式单独应用时的不足, 故该联合治疗模式拓宽了单纯BA的适用范围, 减少了血浆用量, 缓解了血浆供应短缺的困难, 能及时为高胆红素血症患者提供人工肝支持治疗, 延缓疾病的发展, 提高肝功能衰竭患者的救治水平<sup>[13-16]</sup>。

杨杰等<sup>[11]</sup>方法将25例肝衰竭的患者随机分为吸附组和置换组, 吸附组采用血浆胆红素吸附治疗, 置换组采用血浆置换治疗, 比较两组治疗前后胆红素的浓度变化、临床症状改善情况, 同时观察治疗后不良反应及存活率; 结果显示吸附组及置换组治疗后, 胆红素明显降低, 吸附组无1例发生出血、休克、过敏等严重并发症, 置换组1例患者出现过敏性皮疹, 1例发热, 对症处理后均好转; 得出结论: 血浆胆红素吸附能有效降低血清胆红素水平, 降低炎症因子水平, 改善肝衰竭患者预后, 与血浆置换比较, 血浆胆红素吸附无明显不良反应, 不受血浆用量限制, 无输血感染风险。本组研究中55例次的BA联合PE治疗结果显示: (1)BA联合PE治疗组总有效率为95.23%, 常规治疗组总有效率为76.66%。两组总有效率比较, 有显著性差异( $P < 0.05$ ); (2)两组治疗前后肝功能改善比较有显著性差异, 两组治疗后血清总胆红素、碱性磷酸酶改善比较有显著性差异( $P < 0.05$ ), 且并发症发生率低, 说明该联合治疗方法是安全的、有效的, 在目前血源紧张的情况下, 应用BA联合PE治疗高胆红素血症不失为有效、安全的治疗手段之一。但高胆红素血症患者经治疗肝功能恢复后, 在原发病得到根本治疗以前, 临床观察到血浆胆红素水

### ■创新盘点

胆红素吸附联合血浆置换对于高胆红素血症的临床疗效及安全性的报道较少见到, 本研究为此类患者的临床治疗开辟了新的途径。



## ■同行评价

本文设计合理、论据充分、结论明确,对临床具有一定指导意义。

平仍有一定反弹,仍有部分患者病情进展,我们建议根据患者病情和经济情况定期(3-7 d)多次(2-3次)进行血浆置换和胆红素吸附对远期预后更好。此外,抗病毒、保肝消炎、抗纤维化等综合治疗也是关键性治疗。

## 4 参考文献

- 1 邢汉前,高登莲,赵鸿,张彬,洪艳清,刘振红,刘俊微,钟志芳,吕平,赵军. 血浆吸附灌流联合血浆置换治疗肝衰竭和高胆红素血症的临床研究. 传染病信息 2009; 22: 284-287
- 2 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 12: 324-329
- 3 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组、中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华内科杂志 2006; 45: 1053-1056
- 4 赵继红,王冰月,田洁,袁萍,杜智. 应用血浆灌流吸附联合血液滤过技术治疗重症肝炎的临床探讨. 中国血液净化杂志 2006; 5: 82-84
- 5 Denisova EN, Sharipova VR, Purlo NV, Sukhanova GA, Biriukova LS. [Use of fractional plasma separation and adsorption (Prometheus technology) in the treatment of acute liver failure]. *Anesteziol Reanimatol* 2009; (2): 45-49 [PMID: 19514440]
- 6 Oppert M, Rademacher S, Petrasch K, Jörres A. Extracorporeal liver support therapy with Prometheus in patients with liver failure in the intensive care unit. *Ther Apher Dial* 2009; 13: 426-430 [PMID: 19788460 DOI: 10.1111/j.1744-9987.2009.00761.x]
- 7 李涛,袁萍,韩涛,李隼,方淑昌,骆力群. 用HB-H-6树脂血浆灌流治疗重度黄疸临床研究. 中国血液净化 2009; 8: 264-266
- 8 魏屏,张景辉,刘薇,朱祥珍. TRAIL在重型肝炎患者PBMC和血清中的表达及血浆置换治疗前后的变化. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2063-2067
- 9 高加齐,骆家富. 茵陈赤丹汤联合腺苷蛋氨酸注射液治疗高胆红素血症16例. 河南中医 2011; 31: 45-46
- 10 邢汉前,高登莲,赵鸿,刘俊微,刘素霞,钟志芳,颜丽,赵军. 胆红素吸附联合血浆置换治疗肝功能衰竭和高胆红素血症的并发症防治. 生物医学工程与临床 2010; 14: 494-497
- 11 杨杰,王惠明,杨聚荣,任姜汶,王云燕,何娅妮. 血浆置换与胆红素吸附治疗肝衰竭的临床研究. 中国血液净化 2010; 9: 624-626
- 12 覃雪英,陆启峰,覃后继,黄美金,陆春雷,丘海先. 血浆置换联合大黄灌肠治疗重型肝炎高胆红素血症疗效观察. 中国医药导报 2010; 7: 15-17
- 13 明全,邱绍勤,钱宜丹,陈行军. 小剂量血浆置换治疗慢性肝炎高胆红素血症临床研究. 肝脏 2007; 12: 158-159
- 14 中华传染病与寄生虫病学会人工肝学组. 人工肝支持系统的适应证、禁忌证和疗效判断. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 405
- 15 张胜男,顾汉卿. 胆红素吸附树脂的研究进展. 透析与人工器官 2007; 18: 26-38
- 16 陈星,刘欣瑜,彭佑铭,张磊,刘伏友. 不同吸附剂对肝衰竭患者血浆总胆红素、血氨及胆汁酸的吸附作用对比研究. 中国血液净化 2008; 7: 657-660

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评,基础研究,临床研究,焦点论坛,文献综述,研究快报,临床经验,病例报告,会议纪要.文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性,重点突出,文字简练,数据可靠,写作规范,表达准确。

# 电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 张文毅, 朱毅

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 朱毅, 南京中医药大学第二临床医学院  
江苏省南京市 210046

张文毅, 江苏省人民医院钟山康复分院 江苏省南京市  
210014

岳雨珊, 硕士, 主要从事康复医学与理疗学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81202735

2012年度江苏省高校“青蓝工程”培养对象基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由朱毅设计; 研究过程由岳雨珊、谢斌、程洁及张文毅共同完成; 文献检索由岳雨珊与谢斌完成; 资料提取由岳雨珊与程洁完成; 数据分析由岳雨珊与张文毅完成; 本文写作由岳雨珊完成。

通讯作者: 朱毅, 教授, 210046, 江苏省南京市栖霞区仙林大道138号, 南京中医药大学第二临床医学院。zhuyi1010@163.com  
收稿日期: 2013-01-08 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

## Electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury

Yu-Shan Yue, Bin Xie, Jie Cheng, Wen-Yi Zhang, Yi Zhu

Yu-Shan Yue, Bin Xie, Jie Cheng, Yi Zhu, the Second Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China  
Wen-Yi Zhang, Zhongshan Rehabilitation Branch, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81202735; and the 2012 Jiangsu Provincial University Qinglan Training Program

Correspondence to: Yi Zhu, Professor, the Second Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, 138 Xianlin Dadao, Xixia District, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China. zhuyi1010@163.com

Received: 2013-01-08 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

## Abstract

**AIM:** To assess the efficacy of electrical stimulation therapy in the treatment of neurogenic bowel dysfunction after spinal injury.

**METHODS:** PubMed, MEDLINE, EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), ISI Web of Knowledge, OVID, CNKI, VIP, and Wanfang Data were searched for clinical studies that evaluated electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury from the date of creation of databases to October 2012. The bibliographies of the retrieved studies

were also searched. Researchers read included studies carefully and extracted data strictly.

**RESULTS:** A total of 11 studies were included. Electrical stimulation therapies mainly included transcutaneous electrical stimulation, transrectal electrostimulation, intravesical electrical stimulation, and sacral nerve modulation. Electrical stimulation could adjust gut innervation, increase the local blood flow of the gastrointestinal tract, promote protein synthesis, and improve bowel control of bowel and symptoms of fecal incontinence or constipation in patients with spinal injury.

**CONCLUSION:** The current evidence shows that to some extent, electrical stimulation therapy could improve neurogenic bowel dysfunction after spinal injury. However, the number of clinical studies that have been reported on this direction was small, especially the number of randomized controlled trials. In addition, the number of subjects included in the retrieved studies was small, and the intensity, outcomes and follow-up cycles were inconsistent. More large-sample and high-quality clinical studies need to be done to evaluate the efficacy of electrical stimulation therapy in the management of bowel function in patients with spinal injury.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Electrical stimulation therapy; Spinal injury; Neurogenic bowel dysfunction; Clinical research

Yue YS, Xie B, Cheng J, Zhang WY, Zhu Y. Electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 633-640 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/633.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.633>

## 摘要

**目的:** 了解电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究现状。

**方法:** 计算机检索PubMed、MEDLINE、

## ■背景资料

脊髓损伤患者常伴有不同程度的神经源性肠道功能障碍, 严重妨碍患者的社会融入及生活质量。电刺激疗法创伤小, 安全有效, 操作简单方便, 可通过调节神经支配, 促进蛋白质合成, 改善局部血流等方式来提高脊髓损伤患者的肠道控制能力, 改善肠道功能。但目前国内外关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道数量有限, 并且质量也有待进一步的提高。

## ■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科; 刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

## ■ 研发前沿

基于ICF理论的指导,脊髓损伤患者的康复不仅需要关注功能与结构的改善,还需关注活动能力的提高,社会参与及融合的实现。电刺激疗法作为一种疗效显著、性价比高、耐受性好、不良反应少的干预手段,未来在脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍方面有较大发展和应用前景。

EMbase、Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID、中国知网、万方和维普数据库中关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道,同时检索已纳入文献的参考文献。检索时间从建库至2012-10。研究人员对纳入文献进行全文阅读及资料提取。

**结果:**共纳入11篇文献,通过分析发现:电刺激疗法主要包括经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法、骶神经调节疗法,通过调节脊髓损伤患者包括脊柱裂患儿、脊髓脊膜膨出患者、腰椎间盘突出症患者的肠道内、外的神经支配,改善胃肠道的局部血流,促进蛋白质合成,提高患者的肠道控制能力,改善患者的大便失禁或便秘的症状。

**结论:**电刺激疗法在一定程度上能改善脊髓损伤患者的神经源性肠道功能障碍,但目前关于这方面的临床研究报道数量较少,且其中的随机对照试验数量尤为稀少,同时纳入研究中样本量小,干预强度、结局指标、随访周期不一致,故仍需开展大样本量、实验设计更完善的临床研究,来进一步验证电刺激疗法对脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的治疗效果。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:**电刺激疗法;脊髓损伤;神经源性肠道功能障碍;临床研究

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 张文毅, 朱毅. 电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 633-640  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/633.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.633>

## 0 引言

大部分脊髓损伤患者在受伤后,肠道运动异常,肛门结肠感觉功能下降,肛门内、外括约肌控制力降低,既发一系列的神经源性肠道功能障碍,包括大便失禁或不成形、便秘、腹痛、腹胀等,这些均严重影响患者的日常生活活动能力的提高及社会参与功能的实现。有研究表明,患者肠道功能受损的程度与脊髓损伤的部位、程度及病程相关<sup>[1,2]</sup>。

常规的治疗方法,包括电刺激疗法,饮食调节,口服润肠通便类药物、栓剂,结肠造口,生物电刺激等,主要通过促进肠道内粪便的排空,加强肛门括约肌的力量,来改善脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍。

其中,电刺激疗法主要包括经皮电刺激、经直肠电刺激、经膀胱电刺激及骶神经调节疗法。自1958年, Katona<sup>[3]</sup>首次采用电刺激疗法治疗神经源性肠道功能障碍之后,陆续有相关研究报道出来,表明电刺激疗法是安全有效的,通过促进蛋白质合成,改善局部血流,调节受刺激肌肉的神经支配等方式,来提高肠道控制能力,改善肠道功能。但就目前这方向的临床研究现状而言,虽然肠道功能障碍对脊髓损伤患者生活质量的影响程度不亚于下肢功能障碍和膀胱功能障碍,但关于电刺激疗法在肠道功能障碍方面的研究数量明显低于该疗法在下肢功能障碍和膀胱功能障碍方面的研究,且在有限的临床研究报道中,随机对照试验数目不多,多数为自身对照试验,且纳入研究中样本量的数目有限。

故我们希望通过通过对PubMed、MEDLINE、EMbase、Cochrane Central Register of Controlled Trials(CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID、中国知网、万方和维普数据库进行检索,更为深入的了解目前国内外关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究现状,并做一简单调查分析,以期对科研工作者、医务工作者提供理论指导。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究以目前国内外已发表的可检索获取的电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道为材料。

### 1.2 方法

**1.2.1 文献纳入标准:**(1)研究设计为关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道;(2)研究对象为脊髓损伤患者,包括脊髓损伤、脊柱裂、脊髓脊膜膨出、椎间盘突出、椎间孔狭窄等;(3)干预措施为电刺激疗法,包括经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法、骶神经调节疗法等;(4)结局指标主要包括每周排便次数、每周大便失禁次数、每次排便时间、肛门直肠感觉、肛门结肠测压、大便性状、排便时的感觉、神经源性肠道功能评分、患者主观满意度、阴部神经末端运动延迟时间和肛门内超声检查。

**1.2.2 文献排除标准:**(1)重复多次发表;(2)未提供主要结局指标及所提供数据不全面,且索取无果;(3)仅有摘要而索取全文未果。

**1.2.3 检索策略:**外文数据库PubMed、MEDLINE、EMbase、Cochrane Central Register



of Controlled Trials (CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID的检索策略为: [Electrical Stimulation\* or Stimulation\*, Electric or Stimulation Therapy, Electric or Electrotherapy or Therapeutic Electric Stimulation or Electrical Stimulation Therapy or Therapy, Electrical Stimulation or Therapeutic Electrical Stimulation or Stimulation, Therapeutic Electrical or Transcutaneous Electric Nerve Stimulation](干预措施) and [Spinal Cord Injury\* or Spinal Cord Trauma\* or Myelopathy\*, Traumatic or Spinal Cord Transection\* or Spinal Cord Laceration\* or Post-Traumatic Myelopathy\* or Spinal Cord Contusion\* or Injury\*, Spinal or Spina bifida or Myelomeningocele or Intervertebral disc or Foraminal stenosis](损伤部位) and [Neurogenic bowel dysfunction or Constipation or Dyschezia or Colonic Inertia or Fecal Incontinence\* or Incontinence\*, Fecal or Bloating or Abdominal Pain\* or Pain\*, Abdominal](功能障碍) and [Biomedical Research or Medical Research or Clinical Research or Clinical Protocol\* or Treatment Protocol\* or Clinical Research Protocol\*](研究类型). 中文数据库知网、万方、维普的检索策略为: [电刺激或者经皮电刺激或者经皮干扰电刺激或者经直肠电刺激或者经膀胱电刺激或者骶神经调节或者干扰电疗法](干预措施)并且[脊髓损伤或者脊柱裂 或者脊髓脊膜膨出或者脊柱损伤或者椎间盘突出或者椎间孔狭窄](损伤部位)并且[神经源性肠道功能障碍或者便秘或者大便失禁或者腹胀或者腹痛](功能障碍)并且[临床研究或者临床报道](研究类型). 文献检索起止时间均为从建库至2012-10, 文种不限.

1.2.4 检索步骤: (1)在PubMed、MEDLINE、EMbase、Cochrane Central Register of Controlled Trials(CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID数据库中, 对检索词进行自由词及主题词检索; 在知网、万方及维普数据库中对检索词进行全文检索; (2)对所获文献去重后, 阅读文献的题目和摘要, 若文题和摘要初步符合纳入标准, 则进一步查找阅读全文, 若不符合纳入标准, 则剔除; (3)对所获全文的文献依据纳入标准进行全文阅读, 并通过手工检索和电子数据库检索的方式查找所获全文的文献后附录的参考文献.

1.2.5 文献资料提取: (1)对所获文献去重; (2)2名独立的研究人员依据纳入标准, 对所获文献的题目和摘要进行初步阅读, 选取初步符合纳入

标准的文献; (3)对初步符合纳入标准的文献获取全文, 2名独立的研究人员, 依据纳入标准, 对这批文献进行全文阅读, 达成共识, 做出最终纳入还是剔除该文献的决定; (4)2名研究人员认真阅读全文, 提取资料并交叉核对, 内容包括纳入文献、纳入研究对象、干预措施及结果的一般信息.

## 2 结果

2.1 纳入研究的一般情况 初步检索得相关文献103篇, 其中英文87篇, 中文16篇; 剔除重复文献60篇; 依据纳入标准, 阅读文题和摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献29篇, 纳入文献14篇; 进一步查找并阅读全文, 剔除文献3篇, 均为综述类文献, 其中2篇关注经直肠电刺激疗法改善神经源性肠道功能障碍, 1篇关注电极植入疗法改善大、小便失禁症状, 最终纳入文献11篇, 其中英文文献10篇, 中文文献1篇; 随机对照试验2篇, 自身对照试验8篇, 病例分析1篇. 纳入研究的基本信息见表1.

2.2 纳入研究对象的一般情况 纳入的研究对象中, 以儿童居多, 脊髓损伤类型主要为脊髓脊膜膨出、脊柱裂, 且研究对象的数量普遍<30(表2).

2.3 干预措施的一般信息 纳入研究中采用的干预手段主要为经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法及骶神经调节疗法. 一般情况下, 经皮、直肠、膀胱电刺激疗法为无创疗法, 而骶神经调节疗法为有创疗法, 强度大多以患者的主观感觉来衡量. 但各疗法的治疗周期及治疗参数如电极摆放位置、电极面积大小、频率、脉宽、振幅等均不一致(表3, 4).

2.4 结果的一般信息 纳入研究表明: 电刺激疗法是安全、高效的, 纳入研究中出现不良反应或脱落、失访情况的文献率不到50%. 该疗法可通过促进蛋白质合成, 改善局部血流, 调节骶神经、局部皮肤神经纤维及肠道周边的交感、副交感神经对肠道的调控, 从而提高肠道控制能力, 缩短肠道管理时间, 改善肠道功能. 但现有临床研究的可靠性、真实性受到随机对照试验数量有限, 纳入研究样本量小, 同质性不高, 随访周期短等因素的干扰, 还有待进一步论证(表5).

## 3 讨论

脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍严重影响患者的生活质量及社会融入<sup>[15]</sup>, 主要包括大便失禁和便秘. 部分患者脊髓损伤后, 肛门外括约肌神

## ■ 相关报道

目前国内外关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的最新报道, 分别为: 廖曼霞等的研究表明干扰电疗法能调节胃结肠反射及直肠的排便反射, 促进胃肠蠕动, 以免内容物在肠道内长时间停留以致水分被过度吸收, 改善肠道功能; Worsøe等的研究表明背生殖器神经电刺激疗法可降低肠道的肌张力, 加快肠道运动, 促进肠道排空, 提高肠道控制能力.

## ■创新盘点

近年来陆续有报道说明电刺激疗法干预脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍有很好的疗效,但多为单中心、样本量较少的自身对照试验,缺乏大规模、多中心的随机对照试验或高质量的循证报道为其疗效提供证明。本文通过对电刺激疗法干预脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道进行调查分析,提供客观、理性、公正的结论,为进一步的临床及科研工作提供科学指导。

表 1 纳入研究的一般信息

作者	年份	期刊	影响因子	期刊级别	地区	文献类型
Marshall等 <sup>[4]</sup>	1997	Eur J Pediatr Surg	0.335	SCI	英国	随机对照试验
Kajbafzadeh等 <sup>[5]</sup>	2012	Int J Colorectal Dis	2.4	SCI	伊朗	随机对照试验
Balcom等 <sup>[6]</sup>	1997	J Urol	2.486	SCI	美国	自身对照试验
Palmer等 <sup>[7]</sup>	1997	J Urol	2.486	SCI	美国	自身对照试验
Creasey等 <sup>[8]</sup>	2001	Arch Phys Med Rehabil	1.371	SCI	美国	自身对照试验
Han等 <sup>[9]</sup>	2004	J Urol	3.713	SCI	韩国	自身对照试验
Jarrett等 <sup>[10]</sup>	2005	Br J Surg	3.722	SCI	英国	自身对照试验
Walker等 <sup>[11]</sup>	2011	Clin Orthop Relat Res	2.5	SCI	美国	自身对照试验
Lansen-Koch等 <sup>[12]</sup>	2011	Colorectal Dis	2.9	SCI	荷兰	自身对照试验
Worsøe等 <sup>[13]</sup>	2012	Spinal Cord	1.805	SCI	丹麦	自身对照试验
廖曼霞 <sup>[14]</sup>	2005	中国临床康复	0.658	中文核心	中国	病例分析

表 2 纳入研究对象的一般信息

纳入研究	诊断	数量	年龄(年)(mean ± SD)	性别(女/男)
Marshall等 <sup>[4]</sup>	脊柱裂	50	9.1(3.4)	21/29
Kajbafzadeh等 <sup>[5]</sup>	脊髓脊膜膨出	30	6.7(2.9)	17/13
Balcom等 <sup>[6]</sup>	腰骶部脊髓脊膜膨出	11	未报导	2/9
Palmer等 <sup>[7]</sup>	脊髓脊膜膨出	55	6.7(2-14)	27/28
Creasey等 <sup>[8]</sup>	脊柱损伤(截瘫、四肢瘫)	23	40(14-67)	7/16
Han等 <sup>[9]</sup>	脊柱裂	24	8.1(3.9-13.2)	15/9
Jarrett等 <sup>[10]</sup>	脊柱损伤(椎间盘突出、外伤、椎间孔狭窄, 外科手术干预)	13	58(39-73)	9/4
Walker等 <sup>[11]</sup>	脊柱裂	15	7(4-12)	7/8
Lansen-Koch等 <sup>[12]</sup>	脊柱裂	10	26.4(11.1-46.0)	4/6
Worsøe等 <sup>[13]</sup>	完全性脊髓损伤(胸部)	7	50(39-67)	1/6
廖曼霞 <sup>[14]</sup>	脊髓损伤	30	36.4(15-70)	5/25

表 3 干预措施的一般信息(I)

纳入研究	干预措施	创伤	强度	治疗时间/次	疗程	治疗频率
Marshall等 <sup>[4]</sup>	经皮电刺激	无	以患者产生主观感觉为度, 如刺痛或远端肌肉收缩	60 min	6 wk	1次/d
Kajbafzadeh等 <sup>[5]</sup>	经皮干扰电刺激	无	以患者能耐受且不引发运动反应为度	20 min	5 wk	3次/wk
Balcom等 <sup>[6]</sup>	经皮低强度的治疗性电刺激	无	低强度, 以患者自感刺痛或痒痛为度	10.5 h	9 mo	6次/wk
Palmer等 <sup>[7]</sup>	经直肠电刺激疗法	无	2-3 mA	30 min	2-3 wk	5次/wk
Creasey等 <sup>[8]</sup>	植入式神经假体疗法	有	自主调节	自主调节	12 mo	自主调节
Han等 <sup>[9]</sup>	经膀胱内电刺激	有	以患者能耐受为度, 40-45 mA	60 min	4 wk	5次/wk
Jarrett等 <sup>[10]</sup>	骶神经调节疗法	有	以患者产生自主感觉为度	自主调节	12 mo	自主调节
Walker等 <sup>[11]</sup>	夜间阈值电刺激疗法	无	以患者自感可耐受刺痛感为度	夜间睡眠时	9 mo	6次/wk
Lansen-Koch等 <sup>[12]</sup>	骶神经调节疗法	有	以产生感觉和运动反应为度	自主调节	3 wk	自主调节
Worsøe等 <sup>[13]</sup>	背生殖器神经电刺激	无	2倍的泌尿生殖肛门反射阈值	96 min	自主调节	自主调节
廖曼霞 <sup>[14]</sup>	干扰电疗法	无	以能引起明显肌肉收缩反应为度	20 min	35-37 d	1次/d

经支配缺失, 压力下降, 自主神经功能紊乱, 结肠收缩不规则, 运动功能减弱, 导致便秘, 主要表现为平均每周大便性状不规则的次数>1次。另还有部分脊髓损伤患者, 病程较长, 活动减少,

食欲减退, 蛋白质、维生素及纤维素摄入不足, 胃肠蠕动减慢, 食物在肠道内停留时间过长, 水分被过度吸收, 同时由于疼痛、紧张等情绪会诱发植物神经功能紊乱, 引起交感神经兴奋, 导

表 4 干预措施的一般信息(2)

纳入研究	干预措施	电极摆放位置	电极面积(cm <sup>2</sup> )	频率	脉宽	振幅	循环周期
Marshall等 <sup>[4]</sup>	经皮电刺激	1. 与骶2、骶3、骶4神经根对应的骶前皮肤; 2. 肛门	1. 2×2 2. 3×5	10 Hz	200 ms	以患者主观感觉为度如刺痛 觉、远端肌肉收缩或能耐受 情况下, 调至最高水平	4 s(2 s收缩; 2 s放松)
Kajbafzadeh等 <sup>[6]</sup>	经皮干扰电刺激	1. 双侧肋缘以下的前腹部皮肤 2. 胸12至腰1对应的任意一侧背部皮肤	2.5×3.5	5-25 Hz	250 us	0-50 mA	6 s(3 s收缩; 3 s放松)
Balcom等 <sup>[6]</sup>	经皮低强度的治疗性电刺激	第一阶段: 1. 手臂 第二阶段: 1. 正中线旁的前腹部肌肉、椎旁肌肉; 2. 臀肌、 直肠	未报导	5-55次/s	280 ms	最大电流强度为0.46 uA/mm <sup>2</sup>	未报导
Palmer等 <sup>[7]</sup>	经直肠电刺激疗法	骶2至骶4神经根	未报导	15-20 Hz	未报导	2-3mA	8-9 s(5 s收缩; 3-4 s放松)
Creasey等 <sup>[8]</sup>	植入式神经假体疗法	膀胱	未报导	22 Hz	0.2 ms	40-45mA	未报导
Han等 <sup>[9]</sup>	经膀胱内电刺激	骶神经	未报导	15 Hz	210 us	患者能自主感觉水平上下微动	连续性
Jarrett等 <sup>[10]</sup>	骶神经调节疗法	胸段脊髓损伤: 1. 腰肌; 2. 臀中肌	未报导	35 Hz	280 ms	以患者感到舒适的刺激感为	24 s(12 s收缩; 12 s放松)
Walker等 <sup>[11]</sup>	夜间阈值电刺激疗法	腰骶段脊髓损伤: 1. 臀中肌; 2. 股四头肌 骶骨膜	未报导	未报导	未报导	度, 一般<7 mA	未报导
Lansen-Koch等 <sup>[12]</sup>	骶神经调节疗法	1. 阴蒂; 2. 阴唇	1. 10×20; 2. 直径32 mm	20 Hz	200 us	2倍的泌尿生殖肛门反射阈值	连续性
Worsole等 <sup>[13]</sup>	背生殖器神经电刺激	1. 升结肠、降结肠; 2. 左半结肠、直肠	未报导	10 Hz	未报导	未报导	未报导
廖曼霞 <sup>[14]</sup>	干扰电疗法						

表 5 结果的一般信息

纳入研究	不良反应	脱落或失访	结果	治疗机制	局限性	优势
Marshall等 <sup>[4]</sup>	无	无	经皮电刺激疗法可明显降低夜间尿失禁 率, 但对最大及平均膀胱容量、自发性排 便等方面没有明显影响	经皮电刺激疗法可通过电磁场给予肠道 直接的电刺激输入, 调节肠道功能。同时 患儿本身的自然恢复能力, 父母及治疗参 与者的鼓励均能促进患儿肠道功能的 恢复	纳入研究对象的同质性不高, 在年龄、损伤部位、损伤程 度、父母的辅助程度、儿童 主观努力程度等方面均存在 较大差异	无创、安全
Kajbafzadeh等 <sup>[6]</sup>	无	无	干扰电疗法是安全、无创、高效的, 可 降低括约肌的压力及肠道肛门抑制反射, 增加排便次数, 改善脊髓脊髓膨出患儿 的便秘症状	经皮干扰电疗法可以加强盆骶肌的力量, 调节骶神经、局部皮肤神经纤维及肠道 周边的交感、副交感神经对肠道的控制	纳入研究量少, 随访时间短; 安 全、无创、无 痛、性价比 高、操作简单方便	

■应用要点  
运用电刺激疗法  
干预脊髓损伤后  
神经源性肠道功  
能障碍, 克服了创  
伤较大、不良反  
应较多的缺陷, 创  
伤小、安全性及  
依从性好、不良  
反应少、性价比  
高、操作简单方  
便、疗效显著, 为  
电刺激疗法干预  
脊髓损伤后神经  
源性肠道功能障  
碍的传统疗法提  
供了新思路, 适于  
临床推广。



### 同行评价

本文对脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的症状、治疗现状做了较全面的综述,尤其对不同方法的电刺激的疗效作了客观的分析,也对目前研究存在的问题以及进一步研究的注意点,进行了个人意见的介入,是一篇不错的Meta分析之间的文章。

Balcom等 <sup>[6]</sup>	无	有(小孩主观不愿在夜间睡眠时接受经皮电刺激疗法)	经皮低强度治疗性电刺激疗法可增加脊髓膨出患者的膀胱容量,改善膀胱、肠道控制能力和骨盆充盈感,但对尿道压力无明显影响	经皮低强度的治疗性电刺激疗法可以促进蛋白质合成,改善受刺激肌肉的血供及神经支配	周期长	强度低、性价比高、依从性及安全性好,操作简单方便
Palmer等 <sup>[7]</sup>	无	有(由于交通原因无法及时到达医疗单位接受治疗)	经直肠电刺激疗法可减少患者的排便次数,降低患者的尿布使用率,增强便感,提高肠道控制能力	经直肠电刺激疗法能改善患者对肠道运动的感觉,提高患者的肠道及肛门内、外括约肌的控制能力	缺乏随机对照双盲	高效,低创伤,耐受性好,疗效持久
Creasey等 <sup>[8]</sup>	有(感染;短暂的神经损害;压力性尿失禁;下肢肌张力增高)	有(发生意外性垂直骨折;更换就医单位;骶神经根阻断术不完全)	植入式神经假体疗法可增加自主排尿量,降低残余尿量,减少尿路感染及导尿管、抗胆碱能药物的使用,避免反射性尿失禁及自主神经反射异常等情况的发生,缩短肠道管理时间	植入式神经假体疗法可改善肠道运动,加快肠道排空,诱发逼尿肌及骨盆部肌肉收缩,促进排尿	纳入研究对象数量有限	安全,有效,不良反应少,满意度高,经济花费较低
Han等 <sup>[9]</sup>	有(不适感;下肢肌张力增高;尿路感染)	无	经膀胱内电刺激疗法可降低大便失禁发生率,提高肠道控制能力,但每日的肠道运动数未有明显改变	膀胱、内、外肛门括约肌跟相同的背根神经节相联系,两者之间相互影响,经膀胱内电刺激疗法可刺激背根神经节,通过神经元之间的连接及中枢输入,调节肠道及内、外肛门括约肌的运动。同时有研究表明,随着膀胱功能的明显改善,大便失禁的状况明显减少,两者呈负相关	疗效仅限于大便失禁,对便秘无明显影响	低创伤、高效
Jarrett等 <sup>[10]</sup>	有(电极摆放位置疼痛;既发便秘和排泄问题)	有(有电极、电线弯曲或移位;电池没电;既发疼痛、便秘等功能障碍)	骶神经刺激疗法能提高肠道控制能力,降低大便失禁的发生率	骶神经刺激疗法能改善肠道的自主神经功能,增加骶副交感神经的活性,调节远端肠道的运动,增加结肠粘膜的血流量	纳入研究对象数目有限;治疗周期长	无不良反应,耐受性好
Walker等 <sup>[11]</sup>	无(治疗强度过大,既发骨折或需进一步的手术干预;未看到明显的改善;无法探索既发功能障碍的原因;失去联系)	有	夜间阈值电刺激疗法可提高脊柱裂患儿的肠道控制能力及肌肉力量,改善步态,但对运动功能没有明显影响	夜间阈值电刺激疗法能促进蛋白质合成,改善血流及受刺激肌肉的神经支配,增强肌肉的力量	纳入研究对象数目有限;治疗周期长	
Lansen-Koch等 <sup>[12]</sup>	无	无	骶神经调节疗法能降低大便失禁的发生率,改善肠道功能	骶神经调节疗法可提高肠道道控制能力,改善肠道功能,降低大便失禁发生率	纳入研究对象数量有限	创伤小;在进行骶神经调节疗法前,可提前对外周神经进行评估,以判断患者是否适合该疗法
Worsøe等 <sup>[13]</sup>	无	无	背生殖器神经电刺激疗法可降低肠道压力	背生殖器神经电刺激疗法可降低肠道的肌张力,加快肠道运动,促进肠道排空	患者的病程及治疗时直肠探头摆放的位置不统一、不恒定	耐受性好
廖曼霞 <sup>[14]</sup>	无	无	干扰电疗法能使患者在短时间内排出大量粪便,并能减轻患者排便时的痛苦	干扰电疗法能调节胃结肠反射及直肠的排便反射,促进胃肠蠕动,以免内容物在肠道内长时间停留以致水分被过度吸收	纳入研究量少,疗程不长,无随访跟踪报导	无创,安全,有效

致胃肠蠕动功能减弱, 从而引发便秘, 主要表现为每周大便活动少于2次或者在超过一半的肠道活动中感到排空困难或未排空。目前关于脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的常规疗法主要包括药物治疗(抗胆碱能药物、抗生素等)、饮食调节<sup>[16]</sup>、灌肠<sup>[17-19]</sup>、生物反馈疗法<sup>[20]</sup>、栓剂或软化剂、手术治疗等。但效果不是很理想, 例如生物反馈疗法治疗12 mo后, 患者的排便频率虽趋向正常化, 但却始终未学会主动收缩肛门外括约肌。因而推出了电刺激疗法, 主要包括经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法、骶神经调节疗法, 通过改善血流, 促进蛋白质合成, 加强肌肉力量, 调节感觉的传入、传出及自主神经通路, 改善肠道功能。

经皮电刺激疗法安全、无创、无痛<sup>[21,22]</sup>, 性价比高, 操作简单方便, 适用于轻、中度便秘患者。该疗法通过刺激腹部皮肤的神经纤维, 激活肠道内、外的交感、副交感神经纤维, 调节神经网络中控制肠道功能的骶反射, 降低肛门内、外括约肌的压力及肛门直肠抑制反射, 降低排便难度, 增加排便频率, 改善腹痛、腹胀的症状<sup>[5]</sup>。

经直肠电刺激疗法耐受性好, 疗效持久, 无不良反应, 创伤小, 适用于脊髓损伤后大便失禁患者。该疗法通过提高肠道控制能力, 增强便感, 减少肠道运动, 从而降低尿布或垫子的使用率及大便失禁的发生率。

经膀胱内电刺激疗法操作简单方便且高效, 适用于脊髓损伤后的大便失禁人群, 但疗程偏长。该疗法通过改善C纤维功能, 刺激膀胱影响背根神经节, 再通过神经元之间的连结及中枢的输入, 调节肠道及内、外肛门括约肌的活动, 进而改变肠道的习惯, 提高肠道的控制能力。有研究表明通过经膀胱内电刺激疗法治疗后, 75%患儿的肠道控制能力改善, 且其中50%的患儿获得了完全的肠道控制能力。另还有研究表明, 肠道功能的改善与膀胱功能的改善呈正相关<sup>[9]</sup>。

研究者通过选择性的骶神经根电刺激疗法, 发现骶2至骶4神经根对于膀胱及肠道功能调节尤为重要, 故提出骶神经调节疗法。该疗法低创高效<sup>[23-30]</sup>, 适用于脊髓损伤后大便失禁患者。通过调节肠道的自主神经功能, 减少自主神经反射异常, 增加骶副交感神经的活性, 控制远端肠道的运动, 增加结肠黏膜的血流量, 来提高肠道控制能力, 降低大便失禁及衣物受污情况的发生率, 减少栓剂及抗胆碱能药物的使用, 缩短肠道管理时间<sup>[8]</sup>。

目前关于电刺激疗法改善脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究中, 由于把研究对象纳入空白对照组进行至少为期2-3 wk的空白治疗不符合伦理学要求, 故随机对照试验的数量很少, 多为自身对照试验, 但这会导致一些问题, 如无法准确说明自然恢复或物理治疗的疗效占多大比例, 及由于随机分组、盲法的缺失, 会融入研究对象、干预者及资料搜集人员的主观情绪的干扰, 影响数据的真实性、可靠性。同时阅读本文的纳入研究, 发现研究对象数量有限, 病程长短不一, 存在脱落或失访, 这些均可能影响研究本身的质量。故为了进一步验证电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的治疗效果, 还需开展大样本量的, 设计更完善的随机对照试验研究。现阶段的研究中, 患者的脊髓损伤程度描述不清, 部分结局指标为主观指标, 故在下一阶段的研究中, 我们应更加准确地设定研究对象的纳入标准, 探寻各种电刺激疗法的具体适用人群, 为临床工作提供指导, 同时还需将我们的结局指标客观化, 避免患者及其家属的主观情绪如过高的期望值影响到对干预效果的客观评价, 提高研究质量。

#### 4 参考文献

- 1 Liu CW, Huang CC, Chen CH, Yang YH, Chen TW, Huang MH. Prediction of severe neurogenic bowel dysfunction in persons with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2010; 48: 554-559 [PMID: 20065986 DOI: 10.1038/sc.2009.181]
- 2 Faaborg PM, Christensen P, Finnerup N, Laurberg S, Krogh K. The pattern of colorectal dysfunction changes with time since spinal cord injury. *Spinal Cord* 2008; 46: 234-238 [PMID: 17893697 DOI: 10.1038/sj.sc.3102121]
- 3 Katona F. [Electric stimulation in the diagnosis and therapy of bladder paralysis]. *Orv Hetil* 1958; 99: 277-278 [PMID: 13553376]
- 4 Marshall DF, Boston VE. Altered bladder and bowel function following cutaneous electrical field stimulation in children with spina bifida--interim results of a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Eur J Pediatr Surg* 1997; 7 Suppl 1: 41-43 [PMID: 9497117 DOI: 10.1055/s-2008-1071209]
- 5 Kajbafzadeh AM, Sharifi-Rad L, Nejat F, Kajbafzadeh M, Talaei HR. Transcutaneous interferential electrical stimulation for management of neurogenic bowel dysfunction in children with myelomeningocele. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 453-458 [PMID: 22065105 DOI: 10.1007/s00384-011-1328-z]
- 6 Balcom AH, Wiatrak M, Biefeld T, Rauen K, Langenstroer P. Initial experience with home therapeutic electrical stimulation for continence in the myelomeningocele population. *J Urol* 1997; 158: 1272-1276 [PMID: 9258193 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)64452-5]
- 7 Palmer LS, Richards I, Kaplan WE. Transrectal electrostimulation therapy for neuropathic bowel

- dysfunction in children with myelomeningocele. *J Urol* 1997; 157: 1449-1452 [PMID: 9120978 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)65017-1]
- 8 Creasey GH, Grill JH, Korsten M, U HS, Betz R, Anderson R, Walter J. An implantable neuroprosthesis for restoring bladder and bowel control to patients with spinal cord injuries: a multicenter trial. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82: 1512-1519 [PMID: 11689969 DOI: 10.1053/apmr.2001.25911]
  - 9 Han SW, Kim MJ, Kim JH, Hong CH, Kim JW, Noh JY. Intravesical electrical stimulation improves neurogenic bowel dysfunction in children with spina bifida. *J Urol* 2004; 171: 2648-2650 [PMID: 15118442 DOI: 10.1097/01.ju.0000108542.27476.b8]
  - 10 Jarrett ME, Matzel KE, Christiansen J, Baeten CG, Rosen H, Bittorf B, Stösser M, Madoff R, Kamm MA. Sacral nerve stimulation for faecal incontinence in patients with previous partial spinal injury including disc prolapse. *Br J Surg* 2005; 92: 734-739 [PMID: 15838899 DOI: 10.1002/bjs.4859]
  - 11 Walker JL, Ryan SW, Coburn TR. Does threshold nighttime electrical stimulation benefit children with spina bifida? A pilot study. *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469: 1297-1301 [PMID: 20878557 DOI: 10.1007/s11999-010-1596-x]
  - 12 Lansen-Koch SM, Govaert B, Oerlemans D, Melenhorst J, Vles H, Cornips E, Weil EH, van Heurn E, Baeten CG, van Gemert WG. Sacral nerve modulation for defaecation and micturition disorders in patients with spina bifida. *Colorectal Dis* 2012; 14: 508-514 [PMID: 21689346 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02678.x]
  - 13 Worsøe J, Fynne L, Laurberg S, Krogh K, Rijkhoff NJ. Acute effect of electrical stimulation of the dorsal genital nerve on rectal capacity in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2012; 50: 462-466 [PMID: 22231543 DOI: 10.1038/sc.2011.159]
  - 14 廖曼霞. 吸附电极位置对干扰电治疗神经源性肠道功能障碍的改善作用. *中国临床康复* 2005; 9: 190 [DOI: 10.3321/j.issn: 1673-8225.2005.02.113]
  - 15 Engkasan JP, Sudin SS. Neurogenic bowel management after spinal cord injury: Malaysian experience. *J Rehabil Med* 2013; 45: 141-144 [PMID: 23053003 DOI: 10.2340/16501977-1074]
  - 16 Krogh K, Christensen P. Neurogenic colorectal and pelvic floor dysfunction. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 531-543 [PMID: 19647688 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.04.012]
  - 17 Kim JY, Koh ES, Leigh J, Shin HI. Management of bowel dysfunction in the community after spinal cord injury: a postal survey in the Republic of Korea. *Spinal Cord* 2012; 50: 303-308 [PMID: 22105460 DOI: 10.1038/sc.2011.124]
  - 18 Furlan JC, Urbach DR, Fehlings MG. Optimal treatment for severe neurogenic bowel dysfunction after chronic spinal cord injury: a decision analysis. *Br J Surg* 2007; 94: 1139-1150 [PMID: 17535012 DOI: 10.1002/bjs.5781]
  - 19 Faaborg PM, Christensen P, Kvitsau B, Buntzen S, Laurberg S, Krogh K. Long-term outcome and safety of transanal colonic irrigation for neurogenic bowel dysfunction. *Spinal Cord* 2009; 47: 545-549 [PMID: 19104513 DOI: 10.1038/sc.2008.159]
  - 20 Yang DH, Myung SJ, Jung KW, Yoon IJ, Seo SY, Koh JE, Yoon SM, Kim KJ, Ye BD, Byeon JS, Jung HY, Yang SK, Kim JH. Anorectal function and the effect of biofeedback therapy in ambulatory spinal cord disease patients having constipation. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1281-1288 [PMID: 20602567 DOI: 10.3109/00365521.2010.483741]
  - 21 Gossrau G, Wähner M, Kuschke M, Konrad B, Reichmann H, Wiedemann B, Sabatowski R. Micro-current transcutaneous electric nerve stimulation in painful diabetic neuropathy: a randomized placebo-controlled study. *Pain Med* 2011; 12: 953-960 [PMID: 21627767 DOI: 10.1111/j.1526-4637.2011.01140.x]
  - 22 Bennett MI, Hughes N, Johnson MI. Methodological quality in randomised controlled trials of transcutaneous electric nerve stimulation for pain: low fidelity may explain negative findings. *Pain* 2011; 152: 1226-1232 [PMID: 21435786 DOI: 10.1016/j.pain.2010.12.009]
  - 23 Thomas GP, Dudding TC, Rahbour G, Nicholls RJ, Vaizey CJ. Sacral nerve stimulation for constipation. *Br J Surg* 2013; 100: 174-181 [PMID: 23124687 DOI: 10.1002/bjs.8944]
  - 24 Hilmy M, Tatarov O, McQueen L, Small D, Granitsiotis P, Conn IG. Sacral nerve stimulation for urinary dysfunction: the first year of the Scottish national service. *Scott Med J* 2012; 57: 200-203 [PMID: 23138579 DOI: 10.1258/smj.2012.012117]
  - 25 Skull A, Hull TL. Sacral nerve stimulation for fecal incontinence. *Expert Rev Med Devices* 2012; 9: 477-482 [PMID: 23116074 DOI: 10.1586/erd.12.37]
  - 26 Steele SS. Sacral nerve stimulation: 50 years in the making. *Can Urol Assoc J* 2012; 6: 231-232 [PMID: 23093527 DOI: 10.5489/cuaj.12194]
  - 27 Hubsher CP, Jansen R, Riggs DR, Jackson BJ, Zaslaw S. Sacral nerve stimulation for neuromodulation of the lower urinary tract. *Can J Urol* 2012; 19: 6480-6484 [PMID: 23040633]
  - 28 Martellucci J, Naldini G, Carriero A. Sacral nerve modulation in the treatment of chronic pelvic pain. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 921-926 [PMID: 22203519 DOI: 10.1007/s00384-011-1394-2]
  - 29 Govaert B, Maeda Y, Alberga J, Buntzen S, Laurberg S, Baeten CG. Medium-term outcome of sacral nerve modulation for constipation. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 26-31 [PMID: 22156864 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31823898a5]
  - 30 Leroi AM, Lenne X, Dervaux B, Chartier-Kastler E, Mauroy B, Normand LL, Grise P, Faucheron JL, Parc Y, Lehur PA, Mion F, Damon H, Barth X, Leriche A, Saussine C, Guy L, Haab F, Bresler L, Sarraon JP, Bensadoun H, Rullier E, Slim K, Sielezneff I, Mourey E, Ballanger P, Michot F. Outcome and cost analysis of sacral nerve modulation for treating urinary and/or fecal incontinence. *Ann Surg* 2011; 253: 720-732 [PMID: 21475012 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318210f1f4]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook. et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d。3.56 ± 0.27 pg/mL应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

**2.6 数字用法** 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

**2.7 标点符号** 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

**3.6 同行评议者** 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com



《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址:<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈洪 副教授  
东南大学附属中大医院消化科

陈其奎 教授  
中山大学附属第二医院消化内科

陈亚军 教授  
首都医科大学附属北京儿童医院普外科

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

郭晓钟 教授  
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

郭永红 副主任医师  
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

韩天权 教授  
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何晓顺 教授  
中山大学附属第一医院

洪天配 教授  
北京大学第三医院内分泌科

江建新 副主任医师  
贵阳医学院附属医院肝胆外科

江学良 教授  
中国人民解放军济南军区总医院消化科

孔静 副教授  
中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

李刚 教授  
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李华 副教授  
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李勇 副教授  
上海中医药大学附属市中医医院消化科

刘连新 教授  
哈尔滨医科大学第一临床医学院

刘亮 副主任医师  
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

刘平 教授  
南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)肿瘤内科

陆云飞 教授  
广西医科大学第一附属医院

潘阳林 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

秦春宏 副主任医师  
南华大学附属第二医院普外科

施诚仁 教授  
上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

汤静 主管药师  
上海交通大学附属第一人民医院药学部

唐文富 副教授  
四川大学华西医院中西医结合科

王俊平 教授  
山西省人民医院消化科

王来友 副教授  
广东药学院中医药研究院

吴道澄 教授  
西安交通大学生命学院

肖秀英 副主任医师  
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

姚登福 教授  
南通大学附属医院

周南进 研究员  
江西省医学科学研究所

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai,  
Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



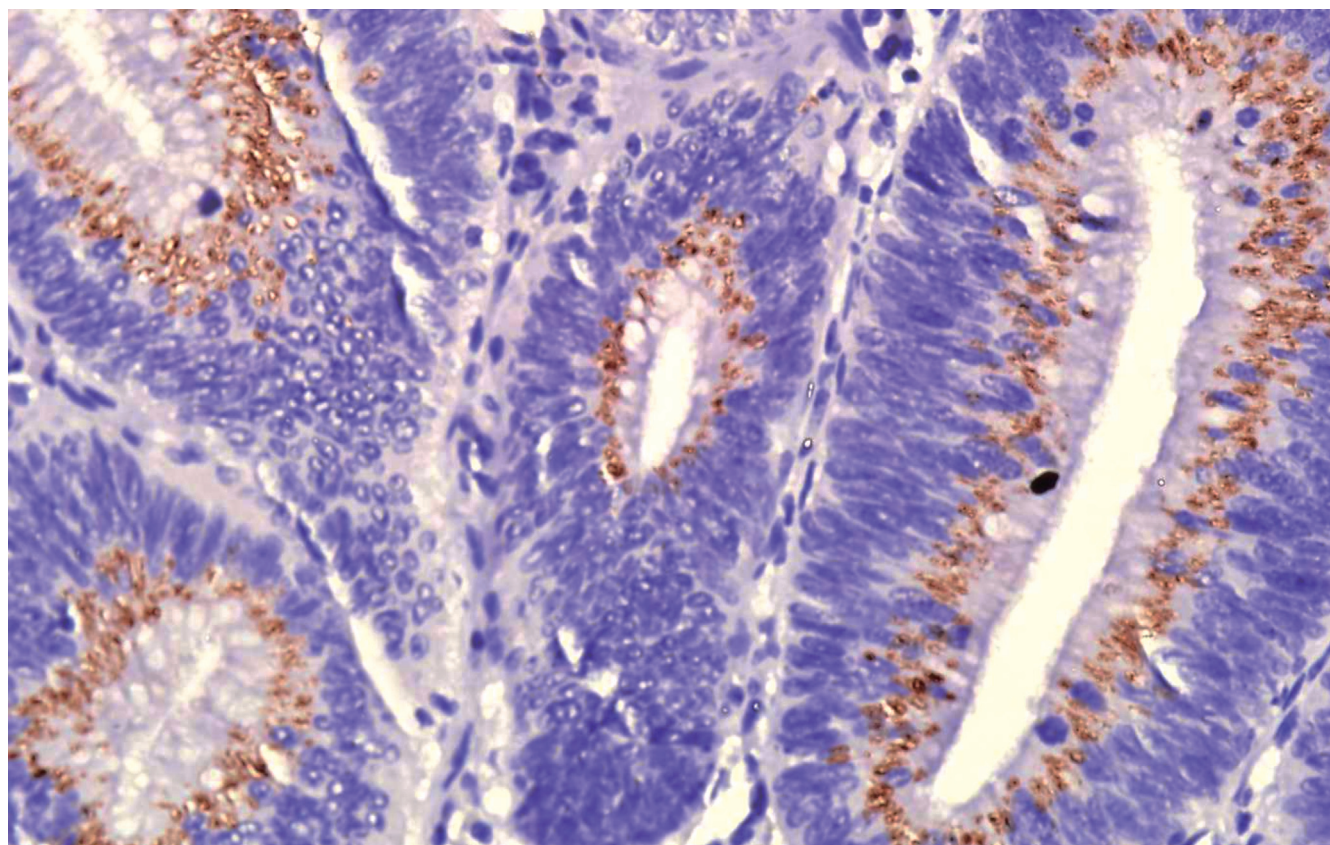


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 3 月 18 日      第 21 卷      第 8 期      (Volume 21 Number 8)**



**8/2013**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授



汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰瑞教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泐副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴沛宏教授

余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄国教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静主管药师

滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年3月18日 第21卷 第8期 (总第412期)

## 基础研究

- 641 短期间歇性闭合式腹腔灌洗治疗大鼠早期重症胰腺炎的免疫机制  
杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷
- 647 复方苦参汤对溃疡性结肠炎DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用  
范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 段雪云, 左冬梅, 唐庆

## 临床研究

- 655 经典Wnt通路关键成员在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的表达  
陆相吉, 顾国利, 魏学明, 任力, 宁守斌, 李德昌
- 661 PI3Kp110不同亚单位在结直肠癌癌变中的表达及相关性  
孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东

## 文献综述

- 667 PNPLA3 rs738409基因多态性在肝病中的作用  
陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇
- 673 Lgr5与结肠癌关系的研究进展  
陈小燕, 赵逵
- 679 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系  
全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕

## 研究快报

- 685 NRP-1在大鼠肝纤维化组织中的表达及其与细胞外基质成分的相关性  
魏海艳, 潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华

## 临床经验

- 690 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例  
黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲
- 694 酒精及代谢性因素对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的作用  
阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平
- 700 超声内镜引导细针穿刺诊断肝尾状叶肿瘤4例  
许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王伟, 田爱霞, 张勤
- 705 自身免疫性胰腺炎患者胰腺外器官受累时的超声表现  
张云飞, 欧国成, 王学梅
- 709 上消化道息肉临床特征分析2 376例  
刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪
- 714 老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例  
罗显克, 唐雪媛, 谭建荣
- 719 USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及临床意义  
贾莹莹, 王进, 杨丽敏
- 724 MDA-MSP技术检测粪便miR34b/c甲基化及其在结直肠癌早期诊断中的意义  
张丰云, 管静芝, 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华
- 729 II / III期直肠癌术后奥沙利铂联合5-FU同步放化疗的疗效  
李永恒, 李小凡, 李金奎, 朱向高, 徐博, 蔡勇
- 734 c-Met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系  
侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	646 《世界华人消化杂志》栏目设置 660 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 678 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 684 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 689 《世界华人消化杂志》修回稿须知 693 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 699 《世界华人消化杂志》出版流程 708 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 713 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 723 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 728 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 661-666 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661</a>
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

# 世界华人消化杂志

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-03-18

原刊名 新消化病学杂志

### 期刊名称

世界华人消化杂志

### 国际标准连续出版物号

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

### 主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

### 编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### 出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### 制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

### 特别声明

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

### 定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## March 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 8

<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>641 Effect of short-term intermittent peritoneal lavage on immune function in rats with early severe acute pancreatitis <i>Yang C, Fan H, Yue W, Chen YM, Song ZJ, Xun LT</i></p> <p>647 Intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on DOR-<math>\beta</math>-arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis <i>Fan H, Zhang LJ, Zhong M, Liu XX, Duan XY, Zuo DM, Tang Q</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>655 Expression of key members of classical Wnt signal pathway in Peutz-Jeghers syndrome <i>Lu XJ, Gu GL, Wei XM, Ren L, Ning SB, Li DC</i></p> <p>661 Expression of PI3Kp110<math>\alpha</math> and PI3Kp110<math>\beta</math> in colorectal canceration <i>Meng X, Wu SH, Li YY, Tian D</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>667 Role of PNPLA3 polymorphism in pathogenesis of liver diseases <i>Chen LJ, Wen XY, Niu JQ</i></p> <p>673 Progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer <i>Chen XY, Zhao K</i></p> <p>679 Relationship between functional dyspepsia and <i>Helicobacter pylori</i> infection <i>Tong JZ, Qu B, Wang BB, Jiang HY</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>685 Correlation between expression of neuropilin-1 and that of extracellular matrix components in liver fibrosis in rats <i>Wei HY, Pan L, Huang H, Xiao MB, Lu CH</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>690 Use of propofol versus propofol combined with fentanyl during painless gastroscopy in elderly patients <i>Li YJ, Qi CH, Tian J, Wu XL</i></p> <p>694 Risk factors for hepatic fibrosis in CHB patients <i>Yan DB, Halida-Xiaerfuhazi, Feng J, Sang W, Fan XT, He FP</i></p> <p>700 Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of hepatic caudate lobe malignancy: Report of four cases <i>Xu DQ, Ding XW, Wang DR, Gao S, Wang W, Tian AX, Zhang Q</i></p> <p>705 Ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis <i>Zhang YF, Ou GC, Wang XM</i></p> <p>709 Clinical characteristics of upper gastrointestinal tract polyps: An analysis of 2 376 cases <i>Liu WW, Ma J, Yu LY, Sha WH, Wang QY</i></p> <p>714 Clinical, endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps in elderly patients: An analysis of 248 cases <i>Luo XK, Tang XY, Tan JR</i></p> <p>719 Clinical significance of expression of USP22 and Nanog in colon cancer <i>Jia YY, Wang J, Yang LM</i></p> <p>724 Clinical significance of detection of stool miR34b/c methylation by MDA-MSP in patients with colorectal cancer <i>Zhang FY, Guan JZ, Zhao HX, Li QW, Dong WW, Duan XY, Zhu JH, Wang RL, Hao YX, Ye M, Xiao WH</i></p> <p>729 Therapeutic effect of postoperative radiotherapy in combination with oxaliplatin and 5-Fu in patients with stage II/III rectal cancer <i>Li YH, Li XF, Li JL, Zhu XG, Xu B, Cai Y</i></p> <p>734 Correlation between c-Met expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer <i>Hou L, Zhao MM, Sun BM, Tian YT</i></p>



<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Meng X, Wu SH, Li YY, Tian D.</i> Expression of PI3Kp110 $\alpha$ and PI3Kp110 $\beta$ in colorectal canceration. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(8): 661-666 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** March 18, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 短期间歇性闭合式腹腔灌洗治疗大鼠早期重症胰腺炎的免疫机制

杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷

杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷, 昆明医科大学附属昆华医院, 云南省第一人民医院消化科 云南省昆明市 650032

杨超, 在读硕士, 主要从事消化内科方面的研究.

云南省自然科学基金资助项目, No. 2011WS0001

作者贡献分布: 动物实验由杨超与宋正己完成; 范红为项目负责人; 资料整理和统计分析由岳伟与宋正己完成; 资料整理由陈艳敏与寻琳婷完成.

通讯作者: 范红, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 昆明医科大学附属昆华医院, 云南省第一人民医院消化科. fanhong1080@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-01-21

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Effect of short-term intermittent peritoneal lavage on immune function in rats with early severe acute pancreatitis

Chao Yang, Hong Fan, Wei Yue, Yan-Min Chen, Zheng-Ji Song, Lin-Ting Xun

Chao Yang, Hong Fan, Wei Yue, Yan-Min Chen, Zheng-Ji Song, Lin-Ting Xun, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, the People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Yunnan Province, No. 2011WS0001

Correspondence to: Hong Fan, Professor, Chief Physician, the Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Technological University, the People's Hospital of Yunnan Province, 157 Jinbi Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. fanhong1080@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-27 Revised: 2013-01-21

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To analyze the role of Toll-like receptor 4 (TLR4), soluble CD14 (sCD14) on monocyte-macrophage cell surface, and nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) in immune mechanisms involved in the therapeutic effect of peritoneal lavage against *L*-arginine-induced severe acute pancreatitis in rats.

**METHODS:** Severe acute pancreatitis was induced in rats by intraperitoneal injection of *L*-arginine (3.5 g/100 g) at a concentration of

70 g/L. Forty-eight rats were randomly divided into three groups: severe acute pancreatitis group (for testing at 12, 24, and 36 h, 6 rats per subgroup), control group (12, 24, and 36 h, 4 rats per subgroup), and lavage group (12, 24, and 36 h, 6 rats per subgroup). Rats of the severe acute pancreatitis group were killed at 12, 24 and 36 h after modeling. Rats of the control group were also killed at the above point of time after intraperitoneal injection of normal saline. Rats of the lavage group were catheterized in the upper and lower abdomen for peritoneal lavage at 1 h after modeling (100 mL, once per 6 h, lavage speed at 60 drops/min; 12 h subgroup, twice; 24 h subgroup, four times; 36 h subgroup, six times). After the lavage was finished, the rats were killed. The contents of serum amylase and lipase and the concentrations of TLR4 and sCD14 in the blood were determined, and histopathological changes and expression levels of NF- $\kappa$ B in the pancreatic tissue were observed.

**RESULTS:** The rat model of severe acute pancreatitis was successfully replicated by intraperitoneal injection of *L*-arginine. The contents of serum amylase and lipase in the lavage group were significantly lower than those in the severe acute pancreatitis group (12 h:  $1253.3 \pm 195.2$  vs  $1953.3 \pm 316.9$ ,  $20.0 \pm 6.5$  vs  $86.3 \pm 36.8$ ; 24 h:  $2299.2 \pm 416.4$  vs  $4047.7 \pm 589.3$ ,  $33.7 \pm 15.5$  vs  $238.2 \pm 73.2$ ; 36 h:  $1581.3 \pm 391.6$  vs  $2327.8 \pm 354.6$ ,  $22.0 \pm 9.3$  vs  $158.3 \pm 38.5$ , all  $P < 0.05$ ), but showed no significant difference compared to the control group (all  $P > 0.05$ ). Pathological changes in the pancreatic tissue in the lavage group were significantly improved compared to the severe acute pancreatitis group and control group (both  $P < 0.05$ ). The concentrations of TLR4 and sCD14 in the blood were significantly lower in the lavage group than in the severe acute pancreatitis group ( $P < 0.05$ ), but showed no statistically significant difference compared with the control group at various time points. Expression of NF- $\kappa$ B in the pancreatic tissue was lower in the lavage group than in the severe acute pancreatitis group, but was almost undetectable in the control group.

## ■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)是病死率较高的疾病,其发病机制尚未完全阐明,近年来发现促抗炎失衡与其发病密切相关,该过程中免疫因子的研究已成为热点.作为血液净化治疗的手段之一,腹腔灌洗可非选择性清除过度释放的促抗炎因子,调节免疫及恢复机体内稳态,取得了较好的治疗效果.本文采用腹腔灌洗治疗早期SAP,并对重要免疫因子进行初步研究,结合下一步的临床实验,希望为探索SAP的新疗法提供一些帮助.

## ■同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

## ■研究前沿

目前,腹腔灌洗引流还存在很大争议,临床治疗发现:腹腔镜腹腔灌洗引流可以有效控制炎症反应,对免疫起到抑制作用,但其确切机制尚不明确,其对SAP病程中炎症反应干预机制还有待研究。

**CONCLUSION:** Short-term intermittent peritoneal lavage has a remarkable inhibitory effect on immune function in rats with early severe acute pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Short-term intermittent; Peritoneal lavage; Severe acute pancreatitis; Immune mechanism

Yang C, Fan H, Yue W, Chen YM, Song ZJ, Xun LT. Effect of short-term intermittent peritoneal lavage on immune function in rats with early severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 641-646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.641>

## 摘要

**目的:** 建立L-精氨酸诱导的重症急性胰腺炎大鼠模型,研究腹膜透析液腹腔灌洗治疗下Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)、单核-巨噬细胞表面可溶性抗原(soluble CD14, sCD14)、核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)在其免疫机制中的作用。

**方法:** 腹腔注射70 g/L的L-精氨酸(3.5 g/100 g)制成重症急性胰腺炎大鼠模型。48只大鼠,随机分成3组: SAP模型组(12、24、36 h, 每组6只); 对照组(12、24、36 h, 每组4只); 灌洗组(12、24、36 h, 每组6只)。模型组和对照组分别腹腔注射70 g/L的L-精氨酸(3.5 g/100 g, 分3次注射, 1次/h)和等量0.9%生理盐水(分3次注射, 1次/h)后12、24、36 h麻醉处死。灌洗组在造模后1 h于腹部上、下方置管行腹膜透析液腹腔灌洗(1次/6 h, 100 mL/次, 灌洗速度60滴/min左右; 12 h组灌洗2次, 24 h组灌洗4次, 36 h组灌洗6次), 完成灌洗后即刻处死大鼠。测定血清淀粉酶、脂肪酶含量及血TLR4、sCD14浓度, 观察胰腺组织病理学改变和胰腺组织NF-κB表达水平。

**结果:** L-精氨酸诱导重症急性胰腺炎大鼠模型成功。灌洗组血清淀粉酶、脂肪酶含量较模型组降低(12 h:  $1\ 253.3 \pm 195.2$  vs  $1\ 953.3 \pm 316.9$ ,  $20.0 \pm 6.5$  vs  $86.3 \pm 36.8$ ; 24 h:  $2\ 299.2 \pm 416.4$  vs  $4\ 047.7 \pm 589.3$ ,  $33.7 \pm 15.5$  vs  $238.2 \pm 73.2$ ; 36 h:  $1\ 581.3 \pm 391.6$  vs  $2\ 327.8 \pm 354.6$ ,  $22.0 \pm 9.3$  vs  $158.3 \pm 38.5$ , 均 $P < 0.05$ ), 较对照组无明显统计学意义( $P > 0.05$ )。灌洗组胰腺组织病理学评分较模型组和对照组均有统计学意义( $P < 0.05$ )。灌洗组血TLR4、sCD14浓度在各时点较模型组降低( $P < 0.05$ ), 较对照组无明显统计学意义( $P > 0.05$ )。灌洗组胰腺组织

NF-κB表达水平较模型组下降, 对照组NF-κB表达较少或基本无表达。

**结论:** 短期间歇性闭合式腹腔灌洗对早期重症急性胰腺炎大鼠有较好的免疫抑制作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 短期间歇性; 腹腔灌洗; 重症急性胰腺炎; 免疫机制

杨超, 范红, 岳伟, 陈艳敏, 宋正己, 寻琳婷. 短期间歇性闭合式腹腔灌洗治疗大鼠早期重症胰腺炎的免疫机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 641-646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.641>

## 0 引言

尽管重症监护水平得到加强, 但重症急性胰腺炎(severe acute pancreatic, SAP)的死亡率仍很高, 达10%-25%<sup>[1]</sup>。随着对SAP发病机制的深入探索, 对其治疗策略逐渐由首选手术治疗转变为首选综合治疗<sup>[2]</sup>。近年来发现促抗炎机制紊乱与其发病密切相关, 研究证实多种细胞因子如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-6等活化在急性胰腺炎的发生进展中起着重要作用<sup>[3]</sup>, 而Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)、核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)与这些细胞因子的活化关系紧密。可溶性抗原(soluble CD14, sCD14)介导脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)性细胞反应, 能诱导产生IL-1、IL-6等细胞因子<sup>[4]</sup>, 以及细胞不良反应, 干预免疫。本实验通过腹膜透析液腹腔灌洗治疗L-精氨酸诱导的重症急性胰腺炎大鼠模型, 研究TLR4、NF-κB、sCD14在其免疫机制中的作用, 为进一步分析奠定理论基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康♂SD大鼠(清洁级)48只, 2-3 mo, 体质量 $250 \pm 20$  g, 由昆明医科大学动物科提供, 随机分成3组: SAP模型组( $n = 18$ , SAP 12 h, SAP 24 h, SAP 36 h, 每组6只); 对照组( $n = 12$ , 生理盐水12 h, 生理盐水24 h, 生理盐水36 h, 每组4只); 灌洗组( $n = 18$ , 灌洗12 h, 灌洗24 h, 灌洗36 h, 每组6只)。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:** 模型组参照尚宏清等<sup>[5]</sup>方法经改良<sup>[6]</sup>



表 1 大鼠血清淀粉酶、脂肪酶检测结果

分组	观测时点(h)	n	血清淀粉酶(U/L)	脂肪酶(U/L)
模型组	12	6	1 953.3 ± 316.9	86.3 ± 36.8
	24	6	4 047.7 ± 589.3	238.2 ± 73.2
	36	6	2 327.8 ± 354.6	158.3 ± 38.5
对照组	12	4	921.75 ± 208.6	11.0 ± 4.2
	24	4	1 371.2 ± 109.6	16.3 ± 1.5
	36	4	1 209.8 ± 78.6	15.5 ± 4.0
灌洗组	12	6	1 253.3 ± 195.2	20.0 ± 6.5
	24	6	2 299.2 ± 416.4	33.7 ± 15.5
	36	6	1 581.3 ± 391.6	22.0 ± 9.3

大剂量L-精氨酸(浓度70 g/L, 3.5 g/100 g)ip制备大鼠AP模型. 对照组腹腔注射等量0.9%生理盐水. 灌洗组在造模后1 h于腹部上、下方置管行腹膜透析液腹腔灌洗. 1次/6 h, 100 mL/次, 灌洗速度60滴/min左右; 12 h组灌洗2次, 24 h组灌洗4次, 36 h组灌洗6次. 所有大鼠实验前禁食12 h, 自由饮水.

1.2.2 标本采集和保存: (1)血样采集: 经腹主动脉采血10 mL, 分离上清液(1 500 r/min, 5 min)至4 °C冷藏送检, 剩余血浆-20 °C保存; (2)胰腺组织取样: 取下胰腺组织置于40 g/L甲醛溶液保存. 1.2.3 观察指标和检测: 血清淀粉酶、脂肪酶活性测定, 采用全自动生化检测仪检测, 单位U/L. 血TLR4、sCD14浓度测定, 采用双抗夹心ELISA法(试剂盒购自美国RD公司). 病理学检查, 取胰腺组织置于40 g/L甲醛溶液固定24 h后, 石蜡包埋切片5 μm, HE染色后以Olympus显微镜观察, 并参考Kusske等<sup>[7]</sup>标准进行组织病理学评分. 对大鼠胰腺组织在光镜下的表现按水肿、炎细胞浸润、坏死3方面的轻重程度评分. 胰腺组织NF-κB表达水平检测, 采用免疫组织化学染色DAB法(试剂盒购自上海劲马实验设备有限公司), 切片处理同前, DAB染色后以Olympus显微镜观察并照相.

**统计学处理** 所有计量资料以mean±SD表示, 应用SPSS17.0统计软件分析, 组与组间均数比较采用方差分析和 $q$ 检验, 3组间病理评分应用秩和检验, SigmaPlot12.0版科学绘图软件进行相关作图.

## 2 结果

2.1 血清淀粉酶、脂肪酶水平 灌洗组血清淀粉酶、脂肪酶含量较模型组降低( $P<0.05$ ), 较对照组无明显统计学意义( $P>0.05$ ); 模型组血清淀粉

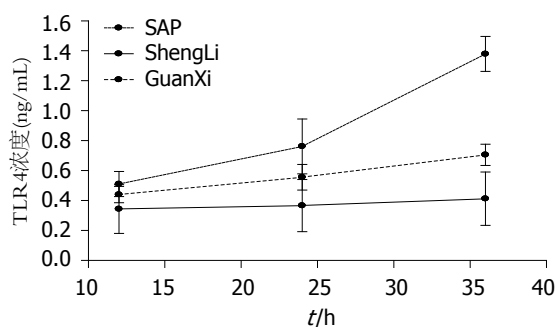


图 1 Toll样受体4变化趋势.

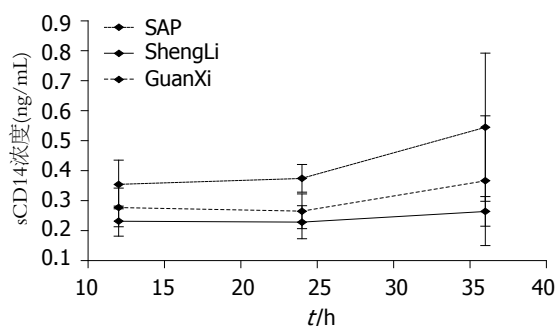


图 2 单核-巨噬细胞表面可溶性抗原变化趋势.

酶、脂肪酶含量在各时点均较对照组高, 在24 h达高峰, 其脂肪酶水平升高, 提示胰腺组织有坏死(表1).

2.2 血TLR4浓度 灌洗组血TLR4浓度在各时点较模型组降低( $P<0.05$ ), 较对照组无明显统计学意义( $P>0.05$ ). 黑线为对照组血TLR4浓度趋势线, 基本随时点无变化(图1).

2.3 血sCD14浓度 灌洗组血sCD14浓度较模型组明显降低( $P<0.05$ ), 12、24 h较对照组无明显统计学意义, 36 h较明显( $P>0.05$ ). 红线为对照组血sCD14浓度趋势线, 基本随时点无变化(图2).

2.4 胰腺组织NF-κB表达水平 灌洗组胰腺组织NF-κB表达水平较模型组下降, 对照组NF-κB表

## ■相关报道

血液净化治疗临床不同人群(老年人、儿童、孕妇及并发症患者)都取得了较好的临床疗效, 具有广泛的治疗前景, 但报道多为临床回顾分析, 缺少基础研究支持.

## ■创新盘点

腹腔注射大剂量L-精氨酸诱导急性胰腺炎模型,具有方法简便、成本低、可重复性好的优点,且动物模型成功率高,模拟出的组织改变较为一致。采用经皮穿刺置管的闭合式腹腔灌洗法,避免了开放式操作充分暴露腹腔可能引发的感染等,并减少了实验动物的创伤。

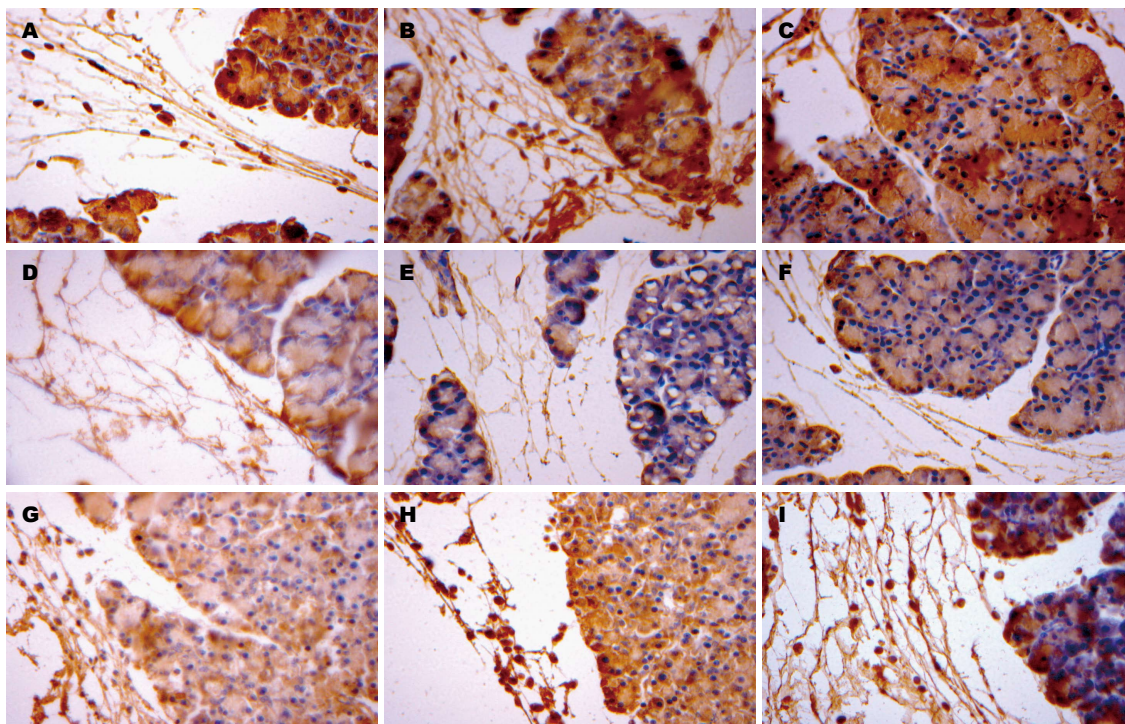


图3 胰腺组织NF-κB表达水平(10×40倍)。A-C: 模型组12、24、36 h胰腺组织NF-κB表达; D-F: 对照组12、24、36 h胰腺组织NF-κB表达; G-I: 灌洗组12、24、36 h胰腺组织NF-κB表达。

表2 病理分级标准评分

指标	分级标准	评分
水肿	无	0
	小叶间灶性水肿	1
	小叶间弥散性水肿	2
	腺体紊乱分离	3
炎症细胞浸润	无	0
	局限导管内	1
	实质内(<50%小叶)	2
	实质内(>50%小叶)	3
腺泡坏死	无	0
	导管周围坏死(<5%)	1
	灶性坏死(5%~20%)	2
	弥散性实质坏死(>20%)	3

达较少或基本无(图3)。

2.5 胰腺组织病理学 胰腺组织病理学见表2和3。

### 3 讨论

腹腔注射L-精氨酸诱导急性胰腺炎模型,方法简便、成本低、可重复性好、动物损伤小,病变程度在不同的胰腺部位比较一致,克服了侵入性模型需行剖腹术的缺点,减少了外源性细菌污染机会,与人类ANP的病程及组织学改变相似,是目前研究ANP发病机制及防治措施较为理想、值得推广的动物模型<sup>[8]</sup>。由于L-精氨酸诱

导大鼠ANP所使用方法、剂量和浓度在国内外报道不一<sup>[9]</sup>,之前有文献报道<sup>[10]</sup>,使用80 g/L及以上L-精氨酸浓度注射时大鼠死亡率高,不利于观察12 h以后的变化;当注射浓度降低到6%时胰腺损伤以水肿为主,坏死少见,且须增加ip次数(3次)才能诱导出满意的ANP模型。本实验通过70 g/L ip预实验摸索,在注射L-精氨酸4 h后得到理想的重症急性胰腺炎模型。大鼠重症胰腺炎目前尚无明确的判定标准及类似于APACH II或者RANSON评分报道,主要通过淀粉酶、脂肪酶升高及病理组织改变进行确定。

本次试验中,模型组大鼠全部发生了重症急性胰腺炎(大鼠正常淀粉酶值从450-2 300 U/L均有报道<sup>[10-12]</sup>)。其血清淀粉酶、脂肪酶水平增高,高峰出现在24 h。灌洗组大鼠血清淀粉酶、脂肪酶水平各时点均较模型组下降。随观察时点的延长,模型组大鼠组织病理学改变加重,胰腺组织坏死明显、病理评分高。灌洗组大鼠组织病理学改变及评分各时点均较模型组降低。腹腔灌洗对早期大鼠SAP模型有较好的免疫抑制作用,初步研究可能与下列因素有关:(1)TLR4: Toll样受体的发现使人们认识到其作为炎症反应上游始动环节的重要作用<sup>[13]</sup>,其中TLR4被认为是最重要的成员之一,对革兰氏阴性菌反应起作用,主要介导内毒素的信号转



表 3 3组大鼠病理评分 (mean ± SD)

分组	n	12 h	24 h	36 h
模型组	6	5.33 ± 0.52 <sup>a</sup>	6.83 ± 0.41 <sup>a</sup>	7.67 ± 0.52 <sup>a</sup>
对照组	4	0.50 ± 0.57 <sup>c</sup>	0.50 ± 0.57 <sup>c</sup>	0.50 ± 0.57 <sup>c</sup>
灌洗组	6	3.83 ± 0.75	4.50 ± 0.55	5.67 ± 0.52

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>c</sup>P<0.05 vs 灌洗组.

导<sup>[14]</sup>. 重症急性胰腺炎时, TLR4表达不仅在胰腺中存在上调趋势<sup>[15]</sup>, 其他组织如肝、肺、回肠等表达也明显增加<sup>[16]</sup>. 研究表明, 内毒素、炎症因子与发病密切相关, 并对病情发展与转归起决定性作用<sup>[17]</sup>. 同时, TLR4经过一系列信号转导途径激活NF-κB, 随之产生大量细胞因子(如TNF-α、IL-1)的过度释放<sup>[18]</sup>, 而这些与急性胰腺炎关系密切的细胞因子, 在基因表达上均受NF-κB调控. 虽然TLR4缺失并不影响胰腺炎的严重程度, 但能引起早期前炎症因子的释放减少和腹部脓毒症时细菌的繁殖增加<sup>[19]</sup>. 本实验血TLR4浓度随炎症性反应时点增高而增高, 但在腹腔灌洗后增高趋势下降明显; (2)NF-κB: NF-κB是一类能与多种基因启动子部位的κB点发生特异性结合促进转录的DNA结合蛋白总称. 目前认为其是参与胰腺炎合并意外器官损伤的关键因子<sup>[20]</sup>. 研究表明, 多种ANP动物模型的共同机制都与其相关, 他能与多种细胞因子、黏附分子的基因启动子结合, 增强这些基因的转录和表达<sup>[21]</sup>. NF-κB的早期激活可能通过扳机样作用触发炎症递质的级联放大反应, 使得炎症不断扩散, 恶化<sup>[22]</sup>, 在急性胰腺炎炎症细胞的浸润、聚集过程中起着极其重要的介导和促进作用<sup>[23]</sup>. 本实验诱导ANP模型后12-36 h观察到胰腺组织NF-κB表达水平增强, 应用腹腔灌洗治疗可抑制其表达, 减轻病理损害. 研究发现, 当NF-κB表达被抑制后, 炎症细胞因子合成减少, 这对减轻ANP有利<sup>[24]</sup>; (3)sCD14: CD14作为脂多糖受体, 在免疫系统中发挥着非常重要的作用<sup>[25]</sup>. sCD14是介导内毒素反应应答的功能性受体, 他与循环中的LPS结合形成sCD14-LPS复合物, 可提高多种细胞对内毒素的敏感性, 使内毒素的活性增高数倍, 产生增敏效应, 影响预后, 针对CD14进行免疫调理成为新的研究途径之一<sup>[26]</sup>. 急性胰腺炎早期单核细胞对sCD14表达和分泌明显增加, 其信号途径的激活也明显加强<sup>[27]</sup>.

在临床工作中, 连续性血液净化治疗重症急

性胰腺炎取得了很好的临床疗效. 不同人群<sup>[28-30]</sup> (老年人、儿童、孕妇及并发症患者)临床指标及症状上均较对照组有明显改善.

SAP早期, 胰酶活化、炎症介质、细胞因子和氧自由基的诱生引发的机体超强的炎症反应, 是造成早期病理损害的主要原因. 随后的肠源性细菌移位导致的严重感染、内毒素血症、细胞因子诱生及DIC的发生造成了后期病理生理的恶性循环, 引起严重的多器官功能障碍综合征, 形成SAP病理变化的第二“高峰”.

TLR4、NF-κB、sCD14在介导炎症反应中起重要作用, 他们触发了炎症递质的级联放大反应, 从而引发恶性循环. 腹腔灌洗能够有效地降低这些化学因子, 在胰腺炎发病的早期有效地起到抑制免疫的作用.

#### 4 参考文献

- Bai Y, Liu Y, Jia L, Jiang H, Ji M, Lv N, Huang K, Zou X, Li Y, Tang C, Guo X, Peng X, Fang D, Wang B, Yang B, Wang L, Li Z. Severe acute pancreatitis in China: etiology and mortality in 1976 patients. *Pancreas* 2007; 35: 232-237 [PMID: 17895843 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3180654d20]
- Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152 [PMID: 18191686]
- Liu HS, Pan CE, Liu QG, Yang W, Liu XM. Effect of NF-kappaB and p38 MAPK in activated monocytes/macrophages on pro-inflammatory cytokines of rats with acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2513-2518 [PMID: 14606087]
- Yehuda S, Mostofsky DI. Nutrients, Stress, and Medical Disorders. Totowa: Humana Press, 2005: 267-278
- 尚宏清, 李非, 张再兴, 孙家邦. 分次大剂量L-精氨酸腹腔内注射致大鼠急性坏死性胰腺炎模型的研究. 首都医科大学学报 2000; 21: 322-324
- 谭至柔, 唐国都, 姜海行, 邓德海, 袁海峰. 抗氧化剂对急性胰腺炎大鼠核因子-κB和一氧化氮合酶的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 711-713
- Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, McFadden DW, Reber HA. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice. *Surgery* 1996; 120: 284-288; discussion 289 [PMID: 8751594]
- Bell WH, Fonseca RJ, Kenney JW, Levy BM. Bone healing and revascularization after total maxillary osteotomy. *J Oral Surg* 1975; 33: 253-260 [PMID: 1054396]
- Czakó L, Takács T, Varga IS, Hai DQ, Tiszlavicz

#### ■应用要点

对探索实验动物模拟急性胰腺炎模型有一定意义, 在研究药物治疗方式和评价疗效上有优势, 可作为一种新的分析策略, 并可成为进一步开展临床治疗方法的前期工作之一.



## ■同行评价

本文设计及统计分析合理,对探索重症急性胰腺炎的新疗法有一定意义。

- 10 赖铭裕, 梁志海, 唐国都, 孙学成. 腹腔注射左旋精氨酸诱导急性坏死性胰腺炎大鼠模型. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2233-2236
- 11 向珂, 田伏洲, 汤礼军, 刘文清, 罗皓, 崔建峰, 唐铭骏, 李永继. 蛋白酶抑制剂短期腹腔灌洗治疗重症急性胰腺炎的实验观察. 西南国防医药 2009; 19: 485-487
- 12 余少鸿, 雷正明, 张培明, 陈永兵. 大黄素对大鼠重症胰腺炎TNF $\alpha$ 、IL-6及胰腺腺泡细胞凋亡的影响. 中国中西医结合外科杂志 2003; 9: 209-211
- 13 Ding SP, Li JC, Jin C. A mouse model of severe acute pancreatitis induced with caerulein and lipopolysaccharide. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 584-589 [PMID: 12632523]
- 14 Hietaranta A, Mustonen H, Puolakkainen P, Haapiainen R, Kemppainen E. Proinflammatory effects of pancreatic elastase are mediated through TLR4 and NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323: 192-196 [PMID: 15351720 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.077]
- 15 Li Y, Zhou ZG, Xia QJ, Zhang J, Li HG, Cao GQ, Wang R, Lu YL, Hu TZ. Toll-like receptor 4 detected in exocrine pancreas and the change of expression in cerulein-induced pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 375-381 [PMID: 15841051]
- 16 Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511 [PMID: 15229469 DOI: 10.1038/nri1391]
- 17 Oruc N, Ozutemiz AO, Yukselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, Batur Y. Influximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004; 28: e1-e8 [PMID: 14707742]
- 18 Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzeki M, Nakajima T, Kuroda Y. Role of toll-like receptor 4 in the pathophysiology of severe acute pancreatitis in mice. *Surg Today* 2007; 37: 867-873 [PMID: 17879036 DOI: 10.1007/s00595-007-3520-x]
- 19 van Westerloo DJ, Weijer S, Bruno MJ, de Vos AF, Van't Veer C, van der Poll T. Toll-like receptor 4 deficiency and acute pancreatitis act similarly in reducing host defense during murine Escherichia coli peritonitis. *Crit Care Med* 2005; 33: 1036-1043 [PMID: 15891333 DOI: 10.1097/01.CCM.0000162684.11375.85]
- 20 Rakonczay Z, Hegyi P, Takács T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259-267 [PMID: 17675325 DOI: 10.1136/gut]
- 21 Wu HS, Zhang L, Chen Y, Guo XJ, Wang L, Xu JB, Wang CY, Zhang JH. Effect of nitric oxide on toll-like receptor 2 and 4 gene expression in rats with acute lung injury complicated by acute hemorrhage necrotizing pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005; 4: 609-613 [PMID: 16286274]
- 22 王昆宁, 徐敏, 吴凯, 王兴鹏. 抑制核因子- $\kappa$ B对Toll样受体4在急性坏死性胰腺炎大鼠胰腺组织中表达的影响. 中国临床医学 2008; 15: 360-363
- 23 潘涛, 王一平. 胰腺微循环障碍与急性胰腺炎的关系及临床意义. 华西医学 2003; 18: 289-290
- 24 Rakonczay Z, Jármay K, Kaszaki J, Mándi Y, Duda E, Hegyi P, Boros I, Lonovics J, Takács T. NF-kappaB activation is detrimental in arginine-induced acute pancreatitis. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 696-709 [PMID: 12633747]
- 25 Ziegler-Heitbrock HW, Ulevitch RJ. CD14: cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol Today* 1993; 14: 121-125 [PMID: 7682078 DOI: 10.1016/0167-5699(93)90212-4]
- 26 Kitchens RL, Thompson PA. Impact of sepsis-induced changes in plasma on LPS interactions with monocytes and plasma lipoproteins: roles of soluble CD14, LBP, and acute phase lipoproteins. *J Endotoxin Res* 2003; 9: 113-118 [PMID: 12803885 DOI: 10.1177/09680519030090020701]
- 27 程青虹, 薛欣盛, 刘宁, 应明英. 急性胰腺炎早期外周血CD14表达水平及临床意义. 农垦医学 2004; 26: 168-169
- 28 柯丽娜, 刘景霞, 李斌. 妊娠合并急性胰腺炎6例临床分析. 邵阳医学院学报 2009; 28: 72-73
- 29 于颖, 孟建中, 赵雷, 吕苏一, 岳冀. 连续性血液净化对老年重症急性胰腺炎的临床治疗与观察. 中国现代医学杂志 2011; 5: 641-644
- 30 马威, 王家祥, 杨合英, 张大, 郑守华. 短时静-静脉血液滤过在小儿重症急性胰腺炎治疗中的应用. 中华小儿外科杂志 2011; 32: 179-182

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

# 复方苦参汤对溃疡性结肠炎DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用

范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 段雪云, 左冬梅, 唐庆

范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 左冬梅, 唐庆, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

段雪云, 湖北中医药大学附属医院药剂科 湖北省武汉市 430061

范恒, 教授, 主任医师, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072944

作者贡献分布: 此课题由范恒设计; 研究过程由张丽娟、钟敏、刘星星、段雪云、左冬梅及唐庆操作完成; 数据分析由张丽娟完成; 论文写作由张丽娟与范恒完成。

通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市江汉区汉口解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@yahoo.com.cn

电话: 027-85726395

收稿日期: 2012-12-20 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis

Heng Fan, Li-Juan Zhang, Min Zhong, Xing-Xing Liu, Xue-Yun Duan, Dong-Mei Zuo, Qing Tang

Heng Fan, Li-Juan Zhang, Min Zhong, Xing-Xing Liu, Dong-Mei Zuo, Qing Tang, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Xue-Yun Duan, Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Sciences Foundation of China, No. 81072944

Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-20 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To explore the intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on the DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis.

**METHODS:** Eighty-four Sprague-Dawley rats were equally and randomly divided into normal control group, model group, mesalazine group, high-, medium-, and low-dose Compound Sophorae Flavescentis decoction groups. Except for the normal control group, ulcerative colitis was induced with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) in rats of other groups. After induction of ulcerative colitis, bloody stools, mental state and diarrhea were observed and recorded daily. Two rats in the model group were randomly selected and executed on day 3 for observing pathological changes in the colon tissue. Rats in the mesalazine group and Compound Sophorae Flavescentis decoction groups were lavaged with mesalazine solution and Compound Sophorae Flavescentis decoction for 15 d, while those in the normal control group and model group were given equal volume of distilled water for the same duration. On day 16, the remaining rats were executed to detect histopathological changes in the colon tissue and the mRNA and protein expression of DOR,  $\beta$ -arrestin1 and Bcl-2 in the colon tissue by real-time PCR and immunohistochemistry, respectively.

**RESULTS:** The mRNA and protein expression of DOR,  $\beta$ -arrestin1 and Bcl-2 differed significantly among each group ( $P < 0.05$ ). Compared to the normal control group, the mRNA and protein expression of DOR,  $\beta$ -arrestin1 and Bcl-2 protein was significantly increased ( $24.11 \pm 12.61$  vs  $11.88 \pm 5.90$ ,  $38.90 \pm 5.30$  vs  $14.34 \pm 8.97$ ,  $23.57 \pm 9.96$  vs  $9.68 \pm 3.94$ , all  $P < 0.05$ ) in the colon mucosa in the model group. Compared to the model group, the mRNA and protein expression of DOR,  $\beta$ -arrestin1 and Bcl-2 in the colon mucosa was significantly decreased in the mesalazine group and Compound Sophorae Flavescentis decoction groups; however, the mRNA and protein expression of DOR,  $\beta$ -arrestin1 and Bcl-2 did not differ significantly between the mesalazine group and Compound Sophorae Flavescentis decoction groups.

**CONCLUSION:** The expression of DOR,  $\beta$ -arrestin1

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)是一种发病机制尚不明朗的慢性非特异性炎症性肠道疾病。近几十年来在我国其发病率逐年增加。肠黏膜免疫调节功能紊乱,在其发病中起关键性作用。在遗传和环境作用下,机体肠道菌群产生异常免疫反应,最终导致肠道慢性炎症的发生。治疗上目前也没有较成熟的方案。因此,对本病的发病机制和治疗上的研究显得十分必要。

## ■同行评议者

张春虎, 副教授, 中南大学湘雅医院中西医结合研究所; 李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医院消化科

## ■研究前沿

本研究运用实施荧光定量PCR和免疫组织化学的方法,从基因和蛋白水平来分析 $\delta$ 阿片受体(DOR)、 $\beta$ -arrestin1及Bcl-2表达的作用机制,阐明复方苦参汤对UC的治疗作用。

and Bcl-2 is elevated in ulcerative colitis. The DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway may be involved in the pathogenesis of ulcerative colitis, and Compound Sophorae Flavescentis decoction may have a significant therapeutic effect against ulcerative colitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Delta opioid receptor;  $\beta$ -arrestin1; B-cell lymphoma-2; Signal transduction pathway; Ulcerative colitis; Compound Sophorae Flavescentis decoction

Fan H, Zhang LJ, Zhong M, Liu XX, Duan XY, Zuo DM, Tang Q. Intervention effect of Compound Sophorae Flavescentis decoction on DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2 signal transduction pathway in rats with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 647-654 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.647>

## 摘要

**目的:** 探讨复方苦参汤对溃疡性结肠炎大鼠DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用。

**方法:** SD $\delta$ 大鼠84只(体质量200 g $\pm$ 20 g)随机分为空白对照组、模型组、美沙拉嗪组、复方苦参汤大剂量组、复方苦参汤中剂量组和复方苦参汤小剂量组,每组14只。除对照组外,其余5组均依据Morris等三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)建立大鼠溃疡性结肠炎模型。造模后观察记录大鼠的大便和精神状态,并于第3天随机处死2只造模大鼠,取结肠镜下观察其病理组织学变化发现:大鼠结肠糜烂、充血及溃疡,证明造模成功。建立大鼠溃疡性结肠炎模型后给予美沙拉嗪组大鼠3 mL/d(0.5 g/L)美沙拉嗪混悬液灌胃,复方苦参汤大、中、小剂量组分别按不同含生药浓度的复方苦参汤液3 mL/d(0.67、0.34、0.17 g/L)灌胃,对照组和模型组给予等量的生理盐水3 mL/d灌胃,连续灌胃15 d后,禁食24 h,处死大鼠,取结肠组织石蜡包埋切片,HE染色比较各组结肠组织病理组织学改变,Real time-PCR和免疫组织化学技术检测实验大鼠结肠组织的Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及 $\delta$ 阿片受体(delta opioid receptor, DOR) mRNA和蛋白表达变化。

**结果:** 各组大鼠结肠组织中Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1和DOR表达有显著差异( $P<0.05$ )。与对照组比较,模型组的大鼠结肠黏膜组织Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1和DOR表达明显升高(24.11 $\pm$ 12.61 vs 11.88 $\pm$ 5.90, 38.90 $\pm$ 5.30 vs 14.34 $\pm$ 8.97,

23.57 $\pm$ 9.96 vs 9.68 $\pm$ 3.94, 均 $P<0.05$ );与模型组比较,美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组的大鼠结肠黏膜组织Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1、DOR表达均显著下降,但美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组之间比较Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1、DOR表达无显著差异。

**结论:** 在实验性溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2的表达升高,DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路可能参与了溃疡性结肠炎的病理过程,复方苦参汤可改善溃疡性结肠炎大鼠的结肠组织病理学改变,机制可能与调节该信号通路有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:**  $\delta$ 阿片受体;  $\beta$ -arrestin1; Bcl-2; 信号转导通路; 溃疡性结肠炎; 复方苦参汤

范恒, 张丽娟, 钟敏, 刘星星, 段雪云, 左冬梅, 唐庆. 复方苦参汤对溃疡性结肠炎DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 647-654 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.647>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的病因及发病机制尚不明确<sup>[1]</sup>。目前认为溃疡性结肠炎是由环境、遗传、感染、肠黏膜屏障功能缺陷等多种因素相互作用导致的肠道黏膜免疫功能失调所致的复杂结果。肠黏膜免疫调节功能紊乱在溃疡性结肠炎发病机制中起关键性作用,在某些环境和遗传因素的作用下,肠道微环境改变,肠上皮细胞防御屏障遭到破坏,肠腔抗原物质激活多种炎症相关信号转导通路,引起肠黏膜异常免疫反应,导致肠道炎症的发生。活化的T淋巴细胞在肠黏膜内过度聚集是溃疡性结肠炎发病机制中的关键环节之一,致使溃疡性结肠炎迁延不愈<sup>[2-4]</sup>。 $\delta$ 阿片受体(delta opioid receptor, DOR)是一种G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCR),活化的DOR信号能诱导 $\beta$ -arrestin1向细胞核内转移, $\beta$ -arrestin1募集组蛋白乙酰化酶p300至Bcl-2编码基因的启动子序列,促进Bcl-2基因转录和Bcl-2表达,Bcl-2通过阻断半胱天冬酶(caspase)的活化和细胞色素C的释放抑制T细胞凋亡<sup>[5-10]</sup>。复方苦参汤治疗溃疡性结肠炎取得了较好的治疗效果。通过建立三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的溃疡性结肠炎模型,研究DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路在溃疡性结肠炎



发病机制中的作用, 探讨复方苦参汤对治疗溃疡性结肠炎的作用机制, 证明该通路参与了溃疡性结肠炎的发病机制, 复方苦参汤通过调节DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路有效改善溃疡性结肠炎的组织病理学变化, 为治疗溃疡性结肠炎提供了新的治疗方法和途径。

## 1 材料和方法

1.1 材料 健康成年SD $\delta$ 大鼠84只, 清洁级, 体质量200 g $\pm$ 20 g, 由华中科技大学同济医学院动物中心提供[实验动物质量合格证SCXK(鄂)2004-0007及使用许可证SYXK(鄂)2004-0028]; 5%、2、4、6-TNBS(Sigma公司); 美沙拉嗪(法国爱的发制药集团), 规格500 mg $\times$ 10袋/盒; 复方苦参汤中药饮片(购自武汉协和医院药剂科); 中药在湖北中医药大学药剂科经药用砂锅煎煮浓缩并消毒。  $\beta$ -arrestin1多克隆抗体(abcam, ab30299); DOR多克隆抗体(Enzo Life Sciences, ADI-905-745-100); Bcl-2多克隆抗体(BioVision, 3033-100); 即用型免疫组织化学Elivision plus试剂盒(鼠/兔)(迈新KIT-9901); 实时定量ToalRNA提取剂(D9108A), 逆转录(DRR036A)及PCR扩增试剂盒(DRR420A)均购自TaKaRa公司; 用Primer6.0软件设计DOR、Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及 $\beta$ -actin引物, 其序列如下: DOR上游: 5'-GCATCTGGGTCTTGGCTTCA-3', 下游: 5'-GCGAAGAGGAACACGCAGAT-3', 扩增产物片段长度151 bp; Bcl-2上游: 5'-TTT-GATTTCTCCTGGCTGTCT-3', 下游: 5'-CT-GATTGACCATTTGCCTG-3', 扩增产物片段长度151 bp;  $\beta$ -arrestin1上游: 5'-GCTGTGGAAGT-GCCCTTTACC-3', 下游5'-CCATCATCCTCTTC-GTCCTTG-3', 扩增产物片段197 bp;  $\beta$ -actin上游: 5'-CGTTGACATCCGTAAAGACCTC-3', 下游: 5'-TAGGAGCCAGGGCAGTAATCT-3', 扩增产物片段长度110 bp。 上述引物均由大连宝生物公司合成。

### 1.2 方法

1.2.1 分组: 清洁级成年 $\delta$ SD大鼠84只, 随机分为6组: (1)空白对照组; (2)模型对照组; (3)美沙拉嗪组; (4)复方苦参汤大剂量组; (5)复方苦参汤中剂量组; (6)复方苦参汤小剂量组, 每组14只。

1.2.2 模型建立及评价: 依据Morris等提出的方法采用TNBS灌肠建立大鼠溃疡性结肠炎模型<sup>[11-14]</sup>, 操作如下: 各组大鼠禁食不禁水24 h, 用10%水合氯醛腹腔注射麻醉, 将直径为2 mm的

橡胶软管经肛门缓缓插入8 cm, 用1 mL注射器注入5%TNBS 0.6 mL(溶于50%乙醇), 然后提起大鼠尾部倒立30 s防药液流出, 造模结束让大鼠平躺, 自然清醒后自由饮食。

1.2.3 药物干预和标本处理: 观察各组大鼠大便、精神状态及皮毛等变化3 d, 随机处死2只大鼠解剖, 镜下观察结肠组织大体病理变化情况, 造模成功后, 美沙拉嗪组的大鼠用美沙拉嗪悬液(0.5 g/L)3 mL/d灌胃, 复方苦参汤大、中、小剂量组的大鼠分别给予复方苦参汤药液(0.67、0.34、0.17 g/L)3 mL/d灌胃, 而模型组与正常对照组给予蒸馏水3 mL/d灌胃, 连续15 d。 每天观察记录实验大鼠的精神状态、大便和饮食情况。 第16天各组实验大鼠禁食不禁水24 h后处死, 选取距肛门8 cm处病变最明显结肠组织, 结肠组织分两部分, 一部分4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片并HE染色, 镜下观察标本病理学改变; 另一部分标本组织液氮冰冻保存备用。 实验过程中各组均有因为灌胃操作、穿孔、误吸等死亡, 最后纳入统计为: 对照组11只、模型组12只、复方苦参汤大剂量组10只、中剂量组12只、小剂量组12只、美沙拉嗪组11只。

1.2.4 免疫组织化学法检测大鼠结肠黏膜组织DOR、 $\beta$ -arrestin1、Bcl-2蛋白表达: 常规石蜡包埋, 切片; 切片脱蜡和水化; 微波高压修复抗原, 冷却; 3%双氧水阻断内源性过氧化物酶; 正常山羊血清封闭液(5%BSA)孵育; 分别按稀释度1:400滴加兔抗鼠DOR多克隆抗体、1:200滴加兔抗鼠 $\beta$ -arrestin1多克隆抗体、1:500滴加兔抗鼠多克隆抗体, 4 $^{\circ}$ C过夜; 每张切片滴加50  $\mu$ L聚合酶增加剂A; 每张切片滴加50  $\mu$ L试剂B酶标羊抗鼠兔抗IgG聚合物; 显色; 苏木素复染, 盐酸酒精分化, 切片脱水干燥, 透明, 中性树胶封片。 在显微镜下观察免疫组织化学结果, 用图像分析软件Image-Pro Plus 6.0进行图像分析, 以黄色或棕黄色染色为阳性表达, 测定平均光密度值(mean density)。

1.2.5 Real time-PCR检测结肠标本中Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及DOR mRNA表达: 将TRIzol 1 mL加入5 mL匀浆器, 然后将大约100 mg结肠组织放入匀浆器, 研磨; 将液体转入离心管中, 加入1/5RNAisoPlus体积量的氯仿, 上下颠倒充分混匀后, 冰上静置5 min, 4 $^{\circ}$ C条件12 000 r/min离心, 15 min; 取上清液约300  $\mu$ L于另一新的离心管内, 加入等体积异丙醇, 静置, 4 $^{\circ}$ C条件12 000 r/min离心, 10 min; 弃上清, 向沉淀中加入现配75%冰

■相关报道  
临床上本课题组用复方苦参汤溶胶囊治疗UC取得良好的临床效果。

## ■创新盘点

本文通过研究大鼠结肠中DOR、 $\beta$ -arrestin1及Bcl-2的表达情况及DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号通路作用机制,为阐明复方苦参汤治疗作用靶点提供理论依据。

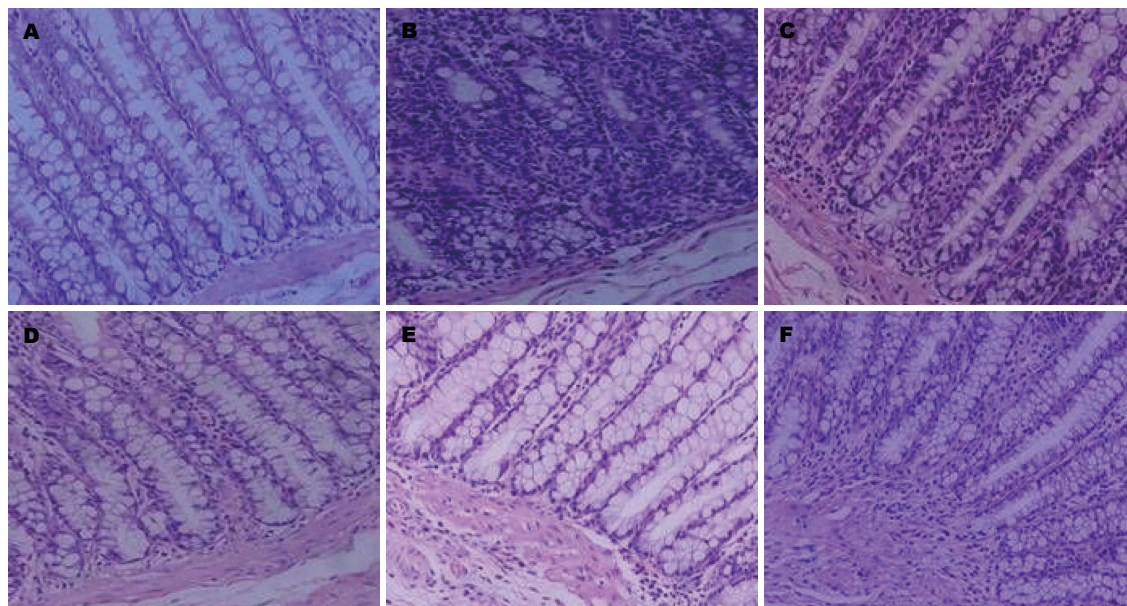


图1 大鼠结肠组织HE染色( $\times 400$ )。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪组; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组。

表1 实验大鼠结肠黏膜组织 $\delta$ 阿片受体、 $\beta$ -arrestin1、Bcl-2蛋白表达

分组	<i>n</i>	$\delta$ 阿片受体	$\beta$ -arrestin1	Bcl-2
正常组	11	9.68 $\pm$ 3.94	14.34 $\pm$ 8.97	11.88 $\pm$ 5.90
模型组	12	23.57 $\pm$ 9.96 <sup>a</sup>	38.90 $\pm$ 5.30 <sup>a</sup>	24.11 $\pm$ 12.61 <sup>a</sup>
美沙拉嗪组	11	8.22 $\pm$ 4.37 <sup>c</sup>	21.55 $\pm$ 13.16 <sup>c</sup>	13.42 $\pm$ 6.09 <sup>c</sup>
中药大剂量组	10	13.17 $\pm$ 4.88 <sup>c</sup>	17.52 $\pm$ 8.77 <sup>c</sup>	9.10 $\pm$ 4.37 <sup>c</sup>
中药中剂量组	12	10.37 $\pm$ 2.71 <sup>c</sup>	25.75 $\pm$ 6.78 <sup>c</sup>	12.85 $\pm$ 7.29 <sup>c</sup>
中药小剂量组	12	10.90 $\pm$ 4.69 <sup>c</sup>	28.33 $\pm$ 7.32 <sup>c</sup>	10.92 $\pm$ 5.97 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型组, 在灌胃过程中不慎灌至大鼠气管中窒息死亡, 大剂量组死亡2只。

乙醇1 mL清洗沉淀, 4  $^{\circ}\text{C}$  条件7 500 r/min离心; 弃上清, 加入20  $\mu\text{L}$  DEPC水溶解沉淀; 核酸分析仪检测RNA浓度。逆转录(10  $\mu\text{L}$ 体系): 5 $\times$ Prime Script Buffer 2  $\mu\text{L}$ , Total RNA 0.5  $\mu\text{L}$ , RNase 7.5  $\mu\text{L}$ , 在逆转录PCR仪上设置反转录条件: 37  $^{\circ}\text{C}$  15 min, 85  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 4  $^{\circ}\text{C}$ , 运行程序, 将反转录合成的cDNA, 用SYBR Green荧光染料实时定量PCR法检测。PCR扩增(10  $\mu\text{L}$ 体系): SYBR Premix ExTaq(2 $\times$ )5  $\mu\text{L}$ , 上下游引物(各0.2 pmol/ $\mu\text{L}$ )(10  $\mu\text{mol/L}$ )0.4  $\mu\text{L}$ , ROX Reference Dye(50 $\times$ )0.2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 3.4  $\mu\text{L}$ , cDNA(10倍稀释)1  $\mu\text{L}$ ; 反应条件: 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 95  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 40个循环, 4  $^{\circ}\text{C}$  终止反应。PCR扩增使用Step One<sup>TM</sup> Software v2.1扩增仪用2 $^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法进行相对定量分析。

**统计学处理** 采用SPSS19.0统计软件进行统计学分析。多组间两两比较采用单因素方差分

析(One Way ANOVA)的LSD检验,  $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠结肠组织病理学改变** 溃疡性结肠炎大鼠病变结肠组织切片常规HE染色后见正常对照组结肠组织黏膜纹理清晰, 结构完整, 腺体排列整齐, 无炎性细胞浸润; 模型组结肠黏膜腺体排列紊乱, 杯状细胞明显减少, 黏膜及黏膜下层充血水肿, 黏膜层可见炎性细胞浸润; 复方苦参汤大、中、小剂量组和美沙拉嗪组结肠黏膜结构尚完整, 黏膜层和固有层炎性细胞浸润减轻, 杯状细胞较模型组增多, 腺体排列较整齐(图1)。

**2.2 实验大鼠结肠组织中 $\delta$ 阿片受体、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2蛋白表达** 免疫组织化学技术研究证明与空白组比较, 模型组结肠组织中DOR、



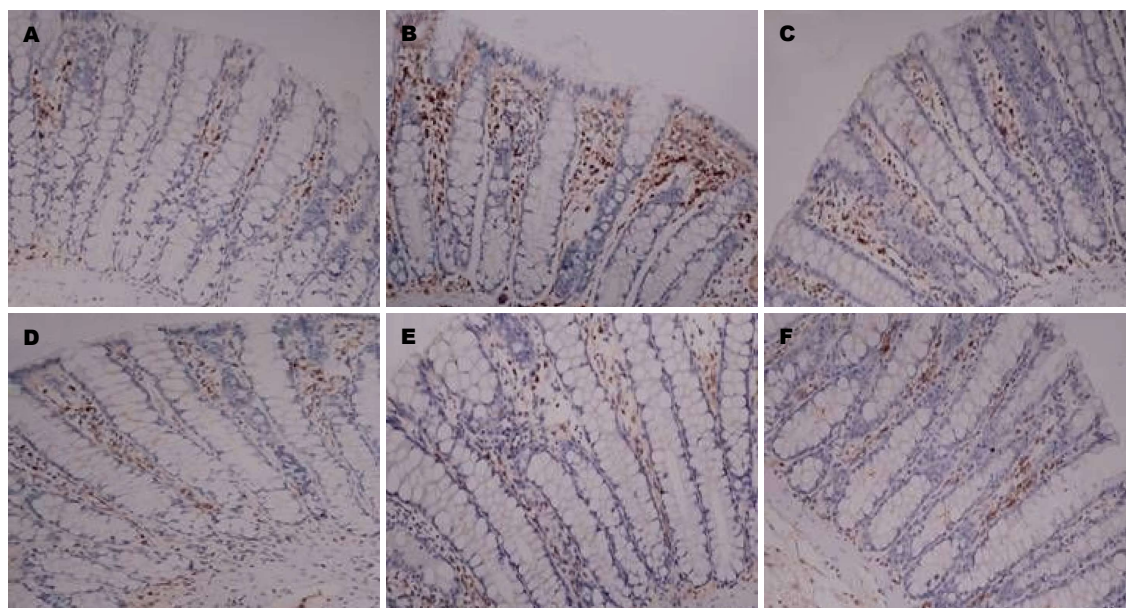


图2 实验大鼠结肠组织 $\delta$ 阿片受体表达( $\times 400$ ). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组.

#### ■应用要点

本研究发现复方苦参汤和美沙拉嗪均可以有效治疗溃疡性结肠炎, 特别复方苦参汤对该病有较好的治疗作用, 却没有西药的不良反应, 值得进一步研究和开发, 有一定的临床应用前景.

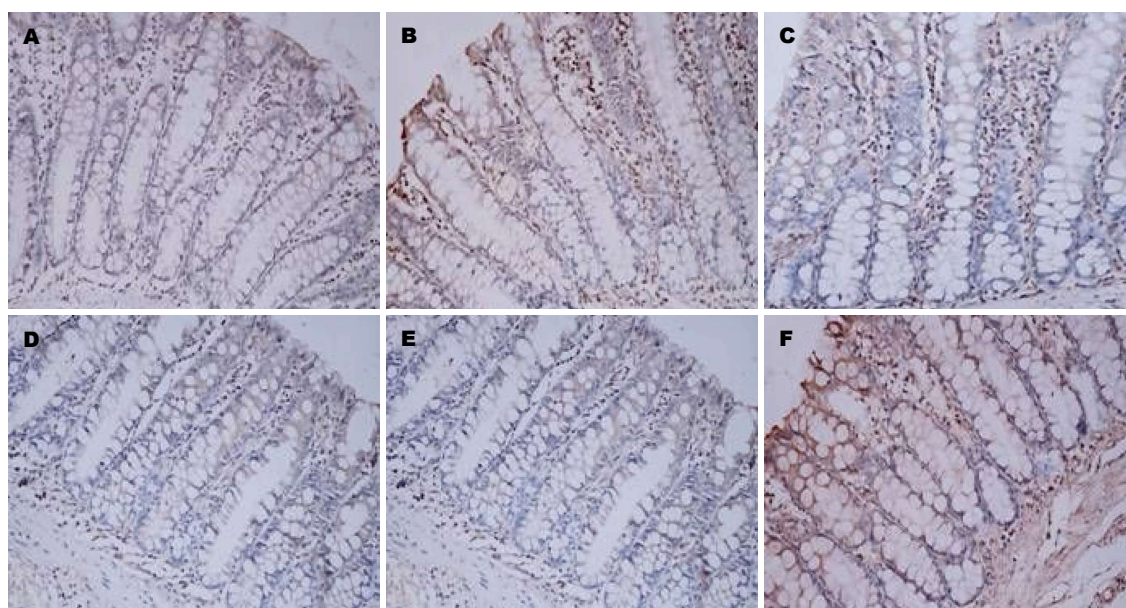


图3 实验大鼠结肠组织 $\beta$ -arrestin1表达( $\times 400$ ). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组.

$\beta$ -arrestin1和Bcl-2蛋白表达水平显著增高( $P<0.05$ ). 与模型组比较, 美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组结肠组织中DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2蛋白表达明显下降( $P<0.05$ ). 但美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组4组间采取两两比较, DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2蛋白表达无显著差异(图2-4, 表1).

2.3 各组大鼠结肠组织中DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达 与空白组比较, 模型组结肠组织中DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达水

平显著增高( $P<0.05$ ). 与模型组比较, 美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组脾脏和结肠组织中DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达明显下降( $P<0.05$ ). 但美沙拉嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组4组间采取两两比较, DOR、 $\beta$ -arrestin1和Bcl-2 mRNA表达无显著差异(图5-7).

### 3 讨论

目前, 溃疡性结肠炎与肠黏膜免疫功能失调相



## ■名词解释

复方苦参汤：由苦参、地榆、青黛、白及、甘草等组成。

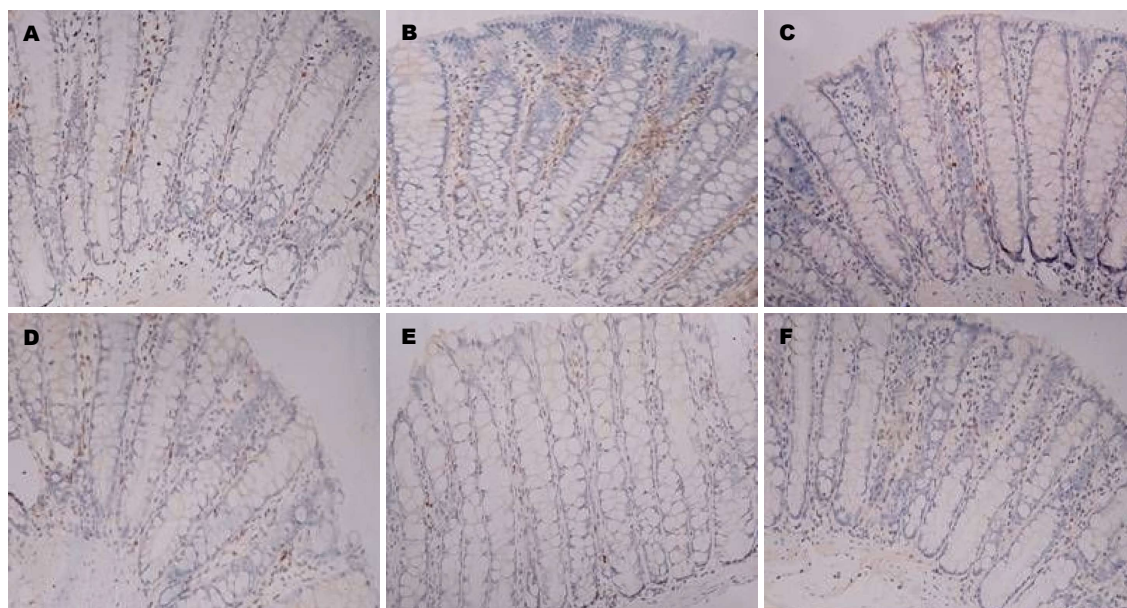


图4 实验大鼠结肠组织Bcl-2表达( $\times 400$ )。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 美沙拉嗪组; D: 复方苦参汤大剂量组; E: 复方苦参汤中剂量组; F: 复方苦参汤小剂量组。

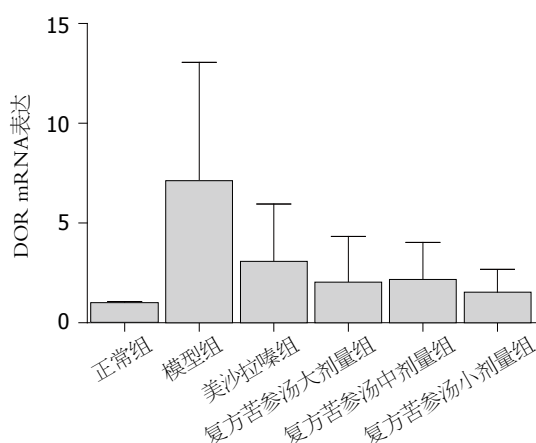


图5 各组 $\delta$ 阿片受体 mRNA表达。

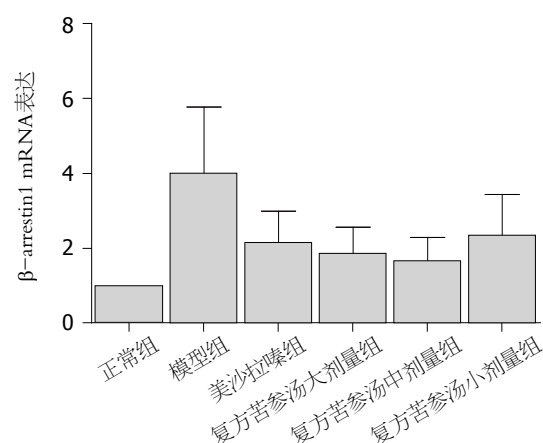


图6 各组 $\beta$ -arrestin1 mRNA表达。

关,主要表现为结肠黏膜表浅广泛缺失及固有层炎症改变,与细胞坏死和细胞凋亡有关<sup>[15]</sup>,虽然其病因及发病机制尚未明确,但是细胞凋亡在结肠黏膜的缺失及溃疡形成中的作用已达成共识<sup>[16]</sup>。DOR是GPCR家族成员<sup>[17]</sup>。 $\beta$ -arrestin1为arrestins家族的主要成员之一,是一种可溶蛋白质,在细胞质和细胞核内都有分布<sup>[18]</sup>。 $\beta$ -arrestin1分子的经典功能是终止GPCR下游信号转导,可以通过其下游的效应因子相互作用调节G蛋白信号,同时,其还是细胞质和细胞核之间传递GPCR信号的信使分子<sup>[19,20]</sup>。 $\beta$ -arrestin1不仅可以介导GPCRS的内吞<sup>[21-23]</sup>,还是其信号转导的转换者,与G蛋白下游信号分子形成复合物,调节G-蛋白偶联受体信号转导<sup>[24]</sup>。

Bcl-2为凋亡相关基因,Bcl-2基因家族对细

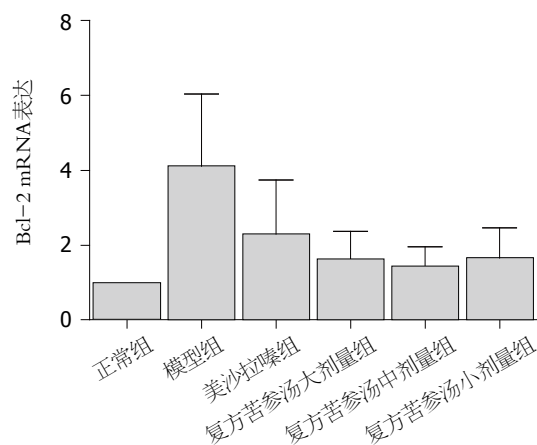


图7 各组Bcl-2 mRNA表达。

胞凋亡基因调控起着关键作用,Bcl-2基因位于染色体18q21,其编码一个26 kDa的蛋白,有延长

细胞寿命, 增加细胞对多种凋亡刺激因素抗性的生物功能<sup>[25]</sup>. Bcl-2是一种细胞凋亡抑制蛋白, 同时Bcl-2也是 $\beta$ -arrestin1调控的靶基因. 当DOR激活, GPCR信号通路的细胞质和细胞核间信号传递分子 $\beta$ -arrestin1, 能将GPCR胞膜上的信号传递至细胞核中<sup>[26]</sup>, 并在p27启动子区聚集, 使此区的组蛋白H4乙酰化, 促进p27和Bcl-2的基因转录, 并且介导组蛋白乙酰化酶p300在此区域的招募从而调控基因表达<sup>[27,28]</sup>.

我们研究表明与正常对照组相比, 模型组实验大鼠结肠组织中DOR、 $\beta$ -arrestin1及Bcl-2蛋白和mRNA表达均明显升高( $P<0.05$ ), 可能通过激活DOR信号、调节 $\beta$ -arrestin1功能和促进抗凋亡蛋白Bcl-2表达, 抑制了溃疡性结肠炎肠黏膜的CD4<sup>+</sup>T细胞凋亡, 结肠黏膜内CD4<sup>+</sup>T细胞过度持续聚集, 致使溃疡性结肠炎反复发作, 故我们认为DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路可能参与了溃疡性结肠炎的发病过程.

溃疡性结肠炎属于祖国医学“痢疾”“泄泻”、“休息痢”等范畴, 《难经》称为“大瘕泄”. 本病是本虚标实的病症, 急性期主要以表实为主, 即湿热蕴结、血热妄行为主, 故治以清热燥湿凉血, 通过实验和临床研究发现, 复方苦参汤治疗急性发作期疗效较好. 复方苦参汤(compound sophorae flavescents decoction, CSFD)由苦参、地榆、青黛、白及、甘草等组成. 现代药理研究表明苦参的主要成分氧化苦参碱及苦参碱等具有抗炎、抗菌、抗病毒和抗肿瘤作用, 抑制体液免疫和调节细胞免疫, 并可直接用于治疗UC; 青黛能降低毛细血管的通透性, 对平滑肌有抑制作用, 可调节机体免疫功能, 具有类皮质激素样作用, 具有较强的抗肿瘤、抗病毒和抗菌功效, 能有效清除氧自由基, 稳定细胞膜通透性, 具有较好的镇痛作用, 为治疗UC提供了依据; 地榆能缩短凝血时间, 使烫伤面积减少, 有抗菌及收敛止泄作用; 白及能在溃疡面上形成保护膜, 促进肠黏膜的修复, 抑制病菌的生长, 止血作用明显, 较强的黏附能力, 能将药物黏附于病变组织发挥作用. CSFD具有生肌止血、消肿敛疮、清热解毒、燥湿、杀虫、凉血止血之功效<sup>[29-31]</sup>. 实验发现经复方苦参汤和美沙拉嗪治疗后, 实验大鼠体质量、饮食较前增加, 大便次数减少, 成形, 无脓血便, 毛发光滑等得到明显的改善, 与模型组相比, 4个治疗组实验大鼠结肠组织中Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及DOR mRNA和蛋白表达均明显降低( $P<0.05$ ). 美沙拉

嗪组和复方苦参汤大、中、小剂量组之间比较Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及DOR mRNA和蛋白表达, 无显著差异, 表明复方苦参汤和美沙拉嗪可能通过对DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预, 对溃疡性结肠炎达到治疗的目的, 与西药相比中药汤剂价格便宜, 不良反应小, 故我们认为复方苦参汤可能通过对DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号转导通路的干预, 促使肠道内T细胞的凋亡, 为复方苦参汤治疗溃疡性结肠炎提供新的分子机制理论.

总之, 在实验大鼠结肠黏膜组织中Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及DOR表达明显升高, 致使UC肠黏膜T细胞凋亡抑制, 在肠黏膜过度聚集致使UC反复发作. 经复方苦参汤治疗后, 实验大鼠体质量、饮食较前增加, 大便次数减少, 成形, 无脓血便, 毛发光滑等症状得到明显的改善, Bcl-2、 $\beta$ -arrestin1及DOR表达显著降低, 故复方苦参汤可能通过对DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl-2信号通路活化环节的干预, 促进肠黏膜中T细胞凋亡, 减轻溃疡性结肠炎的症状, 达到治疗的效果.

#### 4 参考文献

- 1 Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380: 1606-1619 [PMID: 22914296 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0]
- 2 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640 [PMID: 17499605 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60750-8]
- 3 Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 390-407 [PMID: 16819502 DOI: 10.1038/ncpgasthep0528]
- 4 Monteleone G, Caprioli F. T-cell-directed therapies in inflammatory bowel diseases. *Clin Sci (Lond)* 2010; 118: 707-715 [PMID: 20350293 DOI: 10.1042/CS20100027]
- 5 Filippi J, Roger PM, Schneider SM, Durant J, Breitmayer JP, Benzaken S, Bernard A, Dellamonica P, Hébuterne X. Infliximab and human immunodeficiency virus infection: Viral load reduction and CD4<sup>+</sup> T-cell loss related to apoptosis. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1783-1784 [PMID: 16983059 DOI: 10.1001/archinte.166.16.1783]
- 6 Van den Brande JM, Koehler TC, Zelinkova Z, Benink RJ, te Velde AA, ten Cate FJ, van Deventer SJ, Peppelenbosch MP, Hommes DW. Prediction of antitumour necrosis factor clinical efficacy by real-time visualisation of apoptosis in patients with Crohn's disease. *Gut* 2007; 56: 509-517 [PMID: 17082252]
- 7 Kucharzik T, Maaser C, Lügering A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, Domschke W. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1068-1083 [PMID: 17075348 DOI: 10.1097/01.mib.0000235827.21778.d5]

#### ■同行评价

本文实验动物模型选择合理, 实验命题明确, 研究方法选用得当, 讨论条理尚清晰, 结果尚客观, 有一定的学术价值.

- 8 Mudter J, Neurath MF. Apoptosis of T cells and the control of inflammatory bowel disease: therapeutic implications. *Gut* 2007; 56: 293-303 [PMID: 16956919 DOI: 10.1136/gut.2005.090464]
- 9 Shi Y, Feng Y, Kang J, Liu C, Li Z, Li D, Cao W, Qiu J, Guo Z, Bi E, Zang L, Lu C, Zhang JZ, Pei G. Critical regulation of CD4<sup>+</sup> T cell survival and autoimmunity by beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 817-824 [PMID: 17618287 DOI: 10.1038/ni1489]
- 10 Frederick TJ, Miller SD. Arresting autoimmunity by blocking beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 791-792 [PMID: 17641656 DOI: 10.1038/ni0807-791]
- 11 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szwczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803 [PMID: 2914642]
- 12 Giriş M, Depboylu B, Doğru-Abbasoğlu S, Erbil Y, Olgaç V, Aliş H, Aykaç-Toker G, Uysal M. Effect of taurine on oxidative stress and apoptosis-related protein expression in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Clin Exp Immunol* 2008; 152: 102-110 [PMID: 18241224 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2008.03599.x]
- 13 Fan H, Shen L, Tang Q, Xiong P, Shou Z, Liao Y, Liang L, Chen X. Effect of Wumeiwan on cytokines TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and expression of NF-kappaBp65 in rats with ulcerative colitis. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2009; 29: 650-654 [PMID: 19821103 DOI: 10.1007/s11596-009-0523-4]
- 14 Fan H, Qiu MY, Mei JJ, Shen GX, Liu SL, Chen R. Effects of four regulating-intestine prescriptions on pathology and ultrastructure of colon tissue in rats with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4800-4806 [PMID: 16097047]
- 15 Seidelin JB, Nielsen OH. Epithelial apoptosis: cause or consequence of ulcerative colitis? *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1429-1434 [PMID: 19958058]
- 16 Li Z, Zhang de K, Yi WQ, Ouyang Q, Chen YQ, Gan HT. NF-kappaB p65 antisense oligonucleotides may serve as a novel molecular approach for the treatment of patients with ulcerative colitis. *Arch Med Res* 2008; 39: 729-734 [PMID: 18996285 DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.08.001]
- 17 Piestrzeniewicz MK, Fichna J, Janecka A. [Opioid receptors and their selective ligands]. *Postepy Biochem* 2006; 52: 313-319 [PMID: 17201067]
- 18 Ibrahim IA, Kurose H.  $\beta$ -arrestin-mediated signaling improves the efficacy of therapeutics. *J Pharmacol Sci* 2012; 118: 408-412 [PMID: 22447307 DOI: 10.1254/jphs.11R10CPois10.1254/jphs.11R10CP]
- 19 Warren JS. Intrapulmonary interleukin 1 mediates acute immune complex alveolitis in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 175: 604-610 [PMID: 1826836 DOI: 10.1152/physiol.00042.2007]
- 20 Shenoy SK, Lefkowitz RJ.  $\beta$ -Arrestin-mediated receptor trafficking and signal transduction. *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32: 521-533 [PMID: 21680031 DOI: 10.1016/j.tips.2011.05.002]
- 21 Alvarez CE. On the origins of arrestin and rhodopsin. *BMC Evol Biol* 2008; 8: 222 [PMID: 18664266 DOI: 10.1186/1471-2148-8-222]
- 22 Patel PA, Tilley DG, Rockman HA. Physiologic and cardiac roles of beta-arrestins. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46: 300-308 [PMID: 19103204 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.11.015]
- 23 Shenoy SK, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane receptor signaling through beta-arrestin. *Sci STKE* 2005; 2005: cm10 [PMID: 16267056]
- 24 范恒, 廖奕, 唐庆, 梁丽, 陈小艳.  $\beta$ -arrestin信号转导通路在炎症性肠病发生过程中的作用机制. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3114-3120
- 25 Cvejic D, Selemetjev S, Savin S, Paunovic I, Petrovic I, Tatic S. Apoptosis and proliferation related molecules (Bcl-2, Bax, p53, PCNA) in papillary microcarcinoma versus papillary carcinoma of the thyroid. *Pathology* 2008; 40: 475-480 [PMID: 18604733 DOI: 10.1080/00313020802026989]
- 26 Kang J, Shi Y, Xiang B, Qu B, Su W, Zhu M, Zhang M, Bao G, Wang F, Zhang X, Yang R, Fan F, Chen X, Pei G, Ma L. A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription. *Cell* 2005; 123: 833-847 [PMID: 16325578 DOI: 10.1016/j.cell.2005.09.011]
- 27 Ulukaya E, Acilan C, Yilmaz Y. Apoptosis: why and how does it occur in biology? *Cell Biochem Funct* 2011; 29: 468-480 [PMID: 21773978 DOI: 10.1002/cbf.1774]
- 28 Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev Cell* 2011; 21: 92-101 [PMID: 21763611 DOI: 10.1016/j.devcel.2011.06.017]
- 29 范恒, 庄雄, 段雪云, 梁丽, 廖奕, 唐庆. 复方苦参结肠溶胶囊对溃疡性结肠炎患者的治疗作用及其机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2429-2432
- 30 范恒, 寿折星, 吕建芳, 沈霖, 杨胜兰, 陈瑞. 复方苦参结肠溶胶囊治疗溃疡性结肠炎11例临床研究. *中国中西医结合消化杂志* 2007; 15: 60, 61
- 31 梁丽, 范恒, 唐庆, 陈小艳. 复方苦参结肠溶胶囊治疗溃疡性结肠炎(湿热型)40例临床观察. *中西医结合研究* 2010; 2: 7-10

编辑 李军亮 电编 闫晋利





# 经典Wnt通路关键成员在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的表达

陆相吉, 顾国利, 魏学明, 任力, 宁守斌, 李德昌

陆相吉, 河北北方学院 河北省张家口市 075000  
顾国利, 魏学明, 中国人民解放军空军总医院普通外科 北京市 100142  
任力, 李德昌, 中国人民解放军空军总医院病理科 北京市 100142  
宁守斌, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142  
陆相吉, 主要从事普外科的临床研究。  
全军“十二五”后勤科研课题面上基金资助项目, No. CWS11J193  
首都市民健康项目培育课题、空军总医院临床攻关课题基金资助项目, No. KZG2009006  
作者贡献分布: 本课题由顾国利选题; 资料标本收集由顾国利、陆相吉及宁守斌完成; 实验操作由陆相吉与李德昌完成; 结果判定由任力与李德昌完成; 写作由陆相吉与魏学明完成; 修改及审校由顾国利完成。  
通讯作者: 顾国利, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院普通外科。  
kzggl@163.com  
电话: 010-68410099-6302  
收稿日期: 2012-12-28 修回日期: 2013-02-08  
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Expression of key members of classical Wnt signal pathway in Peutz-Jeghers syndrome

Xiang-Ji Lu, Guo-Li Gu, Xue-Ming Wei, Li Ren, Shou-Bin Ning, De-Chang Li

Xiang-Ji Lu, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China  
Guo-Li Gu, Xue-Ming Wei, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China  
Li Ren, De-Chang Li, Department of Pathology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China  
Shou-Bin Ning, Department of Digestive Disease, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Supported by: the General Project of the PLA “Twelfth Five-Year” Logistics Research Subject, No. CWS11J193; the Capital Citizen Health Cultivation Project and the Clinical Key Project of Air Force General Hospital of Chinese PLA, No. KZG2009006

Correspondence to: Guo-Li Gu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China. kzggl@163.com

Received: 2012-12-28 Revised: 2013-02-08  
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of E-cadherin

(E-Cad),  $\beta$ -catenin ( $\beta$ -Cat), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), c-Myc and Cyclin D1 proteins in Peutz-Jeghers syndrome (PJS).

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the protein expression of E-Cad,  $\beta$ -Cat, MMP-7, C-Myc and Cyclin D1 in 40 cases of PJS, 20 cases of colorectal cancer and 20 cases of normal colorectal mucosa. The clinical data for the included patients were analyzed retrospectively.

**RESULTS:** The positive rates of E-Cad and  $\beta$ -Cat expression on the membrane,  $\beta$ -Cat expression in the nucleus, and MMP-7, c-Myc and Cyclin D1 expression differed significantly among the normal mucosa group, PJS group and colorectal cancer group. In the PJS group, the expression of E-Cad and  $\beta$ -Cat on the membrane increased with the increase in patient age or polyp size, and the expression of  $\beta$ -Cat in the nucleus and the expression of MMP-7, c-Myc and Cyclin D1 increased with the increase in polyp size. The expression of E-Cad and  $\beta$ -Cat on the membrane had a negative correlation with that of  $\beta$ -Cat in the nucleus and the expression of MMP-7, c-Myc and Cyclin D1 in PJS.

**CONCLUSION:** The aberrant activation of classical Wnt pathway and the epithelial-mesenchymal transition mediated by Wnt signalling may play an important role in the tumorigenesis and development of PJS. This may correlate with the crosstalk with the LKB1/mTOR pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Peutz-Jeghers syndrome;  $\beta$ -catenin; E-cadherin; C-Myc; Matrix metalloproteinase-7; Cyclin D1; Immunohistochemistry

Lu XJ, Gu GL, Wei XM, Ren L, Ning SB, Li DC. Expression of key members of classical Wnt signal pathway in Peutz-Jeghers syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 655-660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/655.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.655>

## ■背景资料

Peutz-Jeghers综合征(PJS)消化系统息肉可继发肠套叠、梗阻、出血、恶变等严重并发症,具有发病早、病程迁延反复的特点。目前的手术、内镜治疗无法达到预防息肉生长的目标;这使众多PJS患者常常陷入“消极被动地等待息肉复发、恶变”的悲惨境遇。如能明确PJS息肉组织中细胞信号通路的活化状态,并对异常活化者进行干预和抑制,就有可能抑制PJS息肉的发生发展。从而使众多PJS患者摆脱目前的临床治疗困境。

## ■同行评议者

万军,教授,中国人民解放军总医院南楼老年消化科

## ■研究前沿

PJS息肉好发于小肠(特别是高位空肠),这是传统内镜的检查盲区,也是导致众多PJS患者被漏诊的重要原因。我院依托双气囊电子小肠镜技术在近3年就积累了120余例PJS病例。这为本研究提供了丰富的临床资料。目前,国内尚未重视针对PJS的研究,而细胞信号通路在PJS息肉组织中的活化状态的研究鲜有报道。

## 摘要

**目的:**探讨经典Wnt信号通路的关键成员-上皮性钙黏附素(E-Cadherin, E-Cad),  $\beta$ -链接素( $\beta$ -catenin,  $\beta$ -Cat), 基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7), C-Myc和细胞周期素D1(Cyclin D1)在黑斑息肉病(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)息肉组织中的表达及意义。

**方法:**应用免疫组织化学SP法检测40例PJS息肉组织、20例大肠癌组织及20例正常大肠道黏膜组织中E-Cad、 $\beta$ -Cat、MMP-7、C-Myc、Cyclin D1蛋白的表达情况,并结合其临床病理材料进行回顾性分析。

**结果:**E-Cad、 $\beta$ -Cat、MMP-7、C-Myc、Cyclin D1蛋白在正常黏膜组、PJS息肉组和大肠癌组中的表达具有显著差异。PJS息肉组中E-Cad和膜表达 $\beta$ -Cat随着患者年龄增长、息肉增大而表达减弱;而核表达 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7则随着息肉增大而表达增强。E-Cad和膜表达 $\beta$ -Cat呈明显正相关,而与核表达 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7均呈明显的负相关。而膜表达 $\beta$ -Cat与核表达 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显的负相关;核表达 $\beta$ -Cat与Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显的正相关;Cyclin D1与C-Myc、MMP-7呈明显的正相关;C-Myc与MMP-7呈明显的正相关。

**结论:**经典Wnt信号通路的异常活化,以及由Wnt所介导的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)可能在PJS息肉的发生发展过程中扮演着重要角色。这可能与LKB1/mTOR信号通路的整合有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:**黑斑息肉病;  $\beta$ -链接素; 上皮性钙黏附蛋白; C-Myc; 基质金属蛋白酶-7; 细胞周期素D1; 免疫组织化学

陆相吉, 顾国利, 魏学明, 任力, 宁守斌, 李德昌. 经典Wnt通路关键成员在Peutz-Jeghers综合征息肉组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 655-660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/655.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.655>

## 0 引言

Peutz-Jeghers综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)是一种以皮肤黏膜色素斑和消化系多发错构瘤息肉为临床特征的常染色体显性遗传病<sup>[1,2]</sup>。PJS息肉可继发肠套叠、梗阻、出血、恶变等

严重并发症;目前其治疗以手术为主,配合内镜下息肉切除,无法达到预防息肉发生发展的目的。众多PJS患者常常陷入“消极被动地等待息肉复发、恶变”的悲惨境遇。研究发现:多种细胞信号通路可能参与PJS息肉的发生发展。如对PJS息肉中异常的细胞信号通路加以阻断,就有可能抑制PJS息肉的发生和发展。研究发现<sup>[3,4]</sup>:经典Wnt信号通路在肿瘤的生物进程扮演着重要角色;但是研究其在PJS息肉中的作用的文章鲜有报道。本研究通过研究经典Wnt信号通路的关键成员-上皮性钙黏附素(E-Cadherin, E-Cad)、 $\beta$ -链接素( $\beta$ -catenin,  $\beta$ -Cat)、细胞周期素D1(Cyclin D1)、基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP-7)、人c-myc癌基因产物(C-Myc)在PJS息肉组织中的表达状态,探讨其在PJS息肉发生、发展过程中的作用,为将Wnt通路抑制剂用于PJS息肉的靶向治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机选取2010-06/2012-06在空军总医院普通外科手术治疗和消化内科小肠镜下治疗的40例PJS患者组成实验组,全部病例符合PJS诊断标准<sup>[5]</sup>,并经组织学证实均为错构瘤。随机选取同期行根治性手术的20例结直肠癌患者组成阳性对照组,选取在门诊肠镜检查的20例健康人组成阴性对照组。具体资料见表1。

**1.2 方法** 选取上述3组病例的组织石蜡块切片染色。上述标本均经HE染色确诊。E-Cad鼠抗人mAb(克隆系4A2C7, ZM-0092)、 $\beta$ -Cat鼠抗人mAb(克隆系CAT-5H10, ZM-0442)、Cyclin D1兔抗人mAb(克隆系EP12, ZM-0101)、MMP-7鼠抗人mAb(克隆系1D2, ZM-0334)、C-Myc鼠抗人mAb(克隆系9E10, ZM-0079)工作液、SP试剂盒、DAB显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物公司。试验由LAB vision Autostainer 360自动染色仪系统(福建迈新公司)程控完成、镜下图像以Olympus Dp70图像采集分析仪采集。采用免疫组织化学SP染色法<sup>[6]</sup>, E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc经抗原热修复, MMP-7不需处理。30 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>孵育10 min,蒸馏水冲洗,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)浸泡5 min,滴加正常兔血清工作液,孵育10 min后倾去,不洗;滴加一抗37 °C孵育2 h, PBS冲洗3 min×3次。滴加二抗,孵育15 min, PBS冲洗3 min×3次。滴加三抗,孵育15 min, PBS冲洗3 min×3次, DAB



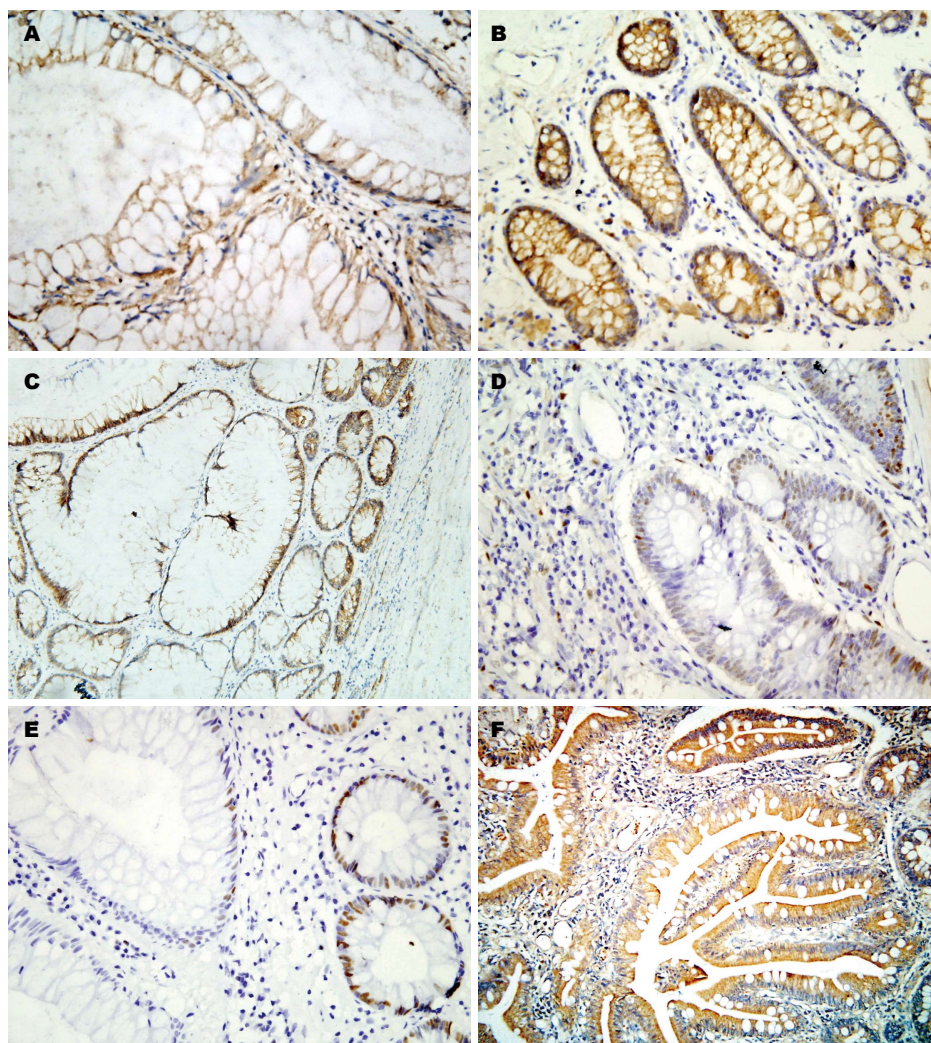


图1 E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7的表达(SP $\times$ 200). A: E-Cad的表达; B:  $\beta$ -Cat的膜表达; C:  $\beta$ -Cat的核表达; D: Cyclin D1的表达; E: C-Myc的表达; F: MMP-7的表达.

#### 应用要点

本研究有助于明确PJS息肉组织中经典Wnt信号通路的活化状态,为针对Wnt信号通路的分子靶向药物应用于PJS息肉的预防性治疗提供有益的理论参考,从而有可能使PJS患者摆脱目前的临床治疗困境.

显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片. PBS代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照. 在200倍的视野下随机选取10个视野, 记数每个视野中正常黏膜或肿瘤细胞的染色情况, 取平均值. E-Cad和 $\beta$ -Cat定位于细胞膜,  $\beta$ -Cat也可在细胞浆和细胞核中表达; MMP-7定位于细胞浆, Cyclin D1和C-Myc定位于细胞核. 依据染色强度和阳性细胞率来计算评分<sup>[6-8]</sup>. 染色强度: 无染色为0分; 染色弱为1分; 染色强为2分. 阳性细胞率: E-Cad和 $\beta$ -Cat在细胞膜阳性细胞数<70%为0分, 70%-90%为3分, >90%为5分;  $\beta$ -Cat在细胞核阳性细胞数<3%为0分, 3%-5%为3分, >5%为5分; Cyclin D1和C-Myc在细胞核阳性细胞数<10%为0分, 10%-30%为3分, >30%为5分; MMP-7在细胞浆阳性细胞数<10%为0分, 10%-30%为3分, >30%为5分. 以染色强度与阳性细胞率之和计算评分, 0-2分为阴性(-), 3-5分为一般阳性(+), 6-7分为强阳性(+++). 评分过程由两名高年资病理科医生双盲法独立完成.

**统计学处理** 应用SPSS19.0统计软件包进行

统计分析. 计数资料采用2个(或多个)样本率比较的 $\chi^2$ 检验, 正态分布的计量资料采用随机设计的两总体均数的 $t$ 检验, 偏态分布的计量资料采用两组完全随机设计的Mann-Whitney秩和检验. 积分相关性采用Spearman等级相关分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7的表达特征** E-Cad和 $\beta$ -Cat表达于上皮细胞的细胞膜上, 呈棕黄色颗粒, 间质不染色(图1A, B),  $\beta$ -Cat也可在细胞质和细胞核中异位表达(图1C). Cyclin D1和C-Myc主要表达于细胞核(图1D, E), 呈棕黄色颗粒, 细胞间质不染色. MMP-7主要表达于细胞浆, 呈棕黄色颗粒, 间质不染色(图1F).

**2.2 E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7在3组中的表达情况** 3组中E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7蛋白的表达情况见表2. 各组间比较均具有统计学差异.

**2.3 E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7**



## ■名词解释

Peutz-Jeghers综合征(PJS): 一种由LKB1/STK11突变引起的常染色体显性遗传病, 以特定部位皮肤黏膜色素斑、消化系统多发错构瘤息肉和家族遗传性为特征性的临床表现; 故又称黑斑息肉病。

表 1 3组病例的临床资料 (n)

分组	n	男	女	年龄 (mean ± SD, 岁)	标本大小 (cm)	取材部位					
						十二指肠	空肠	回肠	右半结肠	左半结肠	直肠
正常黏膜组	20	14	6	35-64(47.8 ± 8.1)	0.3-0.5				12	12	4
PJS组	40	24	16	12-45(24.7 ± 5.6)	0.5-8.2	3	19	16		2	
结直肠癌组	20	12	8	38-81(66.9 ± 7.2)	2.6-9.7				14	4	2

表 2 E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7在3组中的表达情况 (n)

分组	n	E-Cad			膜表达β-Cat			核表达β-Cat			Cyclin D1			c-Myc			MMP-7		
		+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-	+++	+	-
正常黏膜组	20	15	4 <sup>ac</sup>	1	16	3 <sup>ac</sup>	1	1	1 <sup>ac</sup>	18	2 <sup>ac</sup>	4	14	2	2 <sup>ac</sup>	16	1	1 <sup>ac</sup>	18
PJS组	40	14	20 <sup>a</sup>	6	10	20 <sup>a</sup>	10	6	23 <sup>a</sup>	11	8 <sup>a</sup>	19	13	9	13 <sup>b</sup>	18	16	12 <sup>a</sup>	12
结直肠癌组	20	1	1	18	1	2	17	15	4	1	17	2	1	14	4	2	18	1	1
χ <sup>2</sup> 值			52.80			48.13			55.98			40.44			27.37			44.14	

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 结直肠癌组; <sup>c</sup>P<0.05 vs PJS组。

表 3 E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达与PJS临床病理的关系 (n)

项目	n	E-Cad			膜表达β-Cat			核表达β-Cat			Cyclin D1			c-Myc			MMP-7		
		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-		(+)-(+++)	-	
性别																			
男	24	20	4		18	6		17	7		17	7		13	11		16	8	
女	16	14	2		12	4		12	4		10	6		9	7		12	4	
年龄(岁)																			
<15	13	12	1		11	2		9	4		8	5		5	8		9	4	
15-30	18	17	1		15	3		13	5		12	6		10	8		13	5	
>30	9	5 <sup>a</sup>	4		4 <sup>a</sup>	5		7	2		7	2		7	2		6	3	
部位																			
十二指肠	3	2	1		3	0		1	2		2	1		1	2		1	2	
空肠	19	16	3		13	6		14	5		13	6		10	9		14	5	
回肠	16	14	2		12	4		13	3		11	5		9	7		12	4	
结直肠	2	2	0		2	0		1	1		1	1		0	2		1	1	
息肉大小(cm)																			
<1	11	11	0		10	1		5	6		4	7		4	7		4	7	
1-3	16	15	1		15	1		12	4		11	5		7	9		12	4	
>3	13	8 <sup>c</sup>	5		5 <sup>c</sup>	8		12 <sup>c</sup>	1		12 <sup>c</sup>	1		11 <sup>c</sup>	2		12 <sup>c</sup>	1	

<sup>a</sup>P≤0.05, <sup>c</sup>P≤0.05 vs 每项目下分区间比较。

表达与PJS临床病理的关系 分析PJS组E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达与其临床病理特征的关系见表3。可见E-Cad和膜表达β-Cat随着患者年龄增长、息肉增大而表达减弱; 而核表达β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7则随着息肉增大而表达增强。

2.4 PJS息肉组织中E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达的相关性 将PJS息肉组织

中E-Cad、β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达积分数据进行Spearman等级相关分析显示: PJS息肉组中E-Cad和膜表达β-Cat呈明显正相关, 而与核表达β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7均呈明显的负相关。而膜表达β-Cat与核表达β-Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显的负相关; 核表达β-Cat与Cyclin D1、C-Myc、MMP-7呈明显正相关; Cyclin D1与C-Myc、

表 4 PJS息肉中E-Cad、 $\beta$ -Cat、Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达的相关性

项目	E-Cad	膜表达 $\beta$ -Cat	核表达 $\beta$ -Cat	C-Myc	MMP-7
膜表达 $\beta$ -Cat					
相关系数	0.914 <sup>b</sup>				
P值	0.000				
核表达 $\beta$ -Cat					
相关系数	-0.531 <sup>b</sup>	-0.560 <sup>b</sup>			
P值	0.000	0.000			
C-Myc					
相关系数	-0.398 <sup>a</sup>	-0.433 <sup>b</sup>	0.714 <sup>b</sup>		
P值	0.011	0.005	0.000		
MMP-7					
相关系数	-0.323 <sup>a</sup>	-0.453 <sup>b</sup>	0.611 <sup>b</sup>	0.582 <sup>b</sup>	
P值	0.042	0.003	0.000	0.000	
Cyclin D1					
相关系数	-0.439 <sup>b</sup>	-0.483 <sup>b</sup>	0.874 <sup>b</sup>	0.720 <sup>b</sup>	0.712 <sup>b</sup>
P值	0.005	0.002	0.000	0.000	0.000

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .

MMP-7呈明显正相关; C-Myc与MMP-7呈明显正相关(表4)。

### 3 讨论

PJS是常染色体显性遗传病, 流行病学调查显示<sup>[9]</sup>: PJS的发病率为1: 25 000。因此, PJS并不罕见。造成其在临床漏诊的一个重要原因: PJS息肉好发于小肠(特别是高位空肠), 而这是传统内镜检查的盲区。我院依托双气囊电子小肠镜技术, 在近3年内就积累了120余例PJS病例。目前临床治疗PJS以手术和内镜为主, 仅能达到解救各种并发症的作用, 无法预防息肉发生发展。这使PJS患者常常陷入“息肉反复治疗却反复生长, 最终恶变而致命”的悲惨困境, 给患者本人及其家庭带来了巨大的精神痛苦和沉重的经济负担。因此, 探索PJS息肉的预防性治疗应是PJS的临床科研方向。研究显示<sup>[10]</sup>: 异常活化的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路可是 $\beta$ -cat在胞浆中聚集并进入胞核, 启动下游靶基因产物(*c-myc*、cyclin D1、Survivin、gastrin、VEGF、ASEF、MMP-7等)的表达。这些靶基因产物参与基因转录、细胞周期、细胞增殖、细胞凋亡等生物活动。因此, Wnt/ $\beta$ -cat信号通路在胚胎发育和肿瘤发生发展过程中扮演着重要角色<sup>[11,12]</sup>。

本研究发现: PJS错构瘤息肉中E-Cad和 $\beta$ -Cat在胞膜的表达明显高于结直肠癌组, 但低于正常黏膜组; 这与文献报道的E-Cad和膜表达 $\beta$ -Cat在正常黏膜→腺瘤性息肉→腺癌的演化过

程中的表达趋势一致<sup>[13]</sup>。由于E-Cad的表达降低是EMT的主要标志之一<sup>[14,15]</sup>。因此, 本研究结果显示: 由Wnt所介导的EMT可能在PJS的发生发展中也扮演着重要角色。本研究发现: E-Cad与膜表达 $\beta$ -Cat呈正相关, 与核表达 $\beta$ -Cat呈负相关。这说明: E-Cad可通过调节 $\beta$ -Cat在PJS错构瘤息肉细胞的胞膜和胞核中的表达水平来调控经典Wnt信号通路的活化水平, 影响其下游靶基因产物的表达。由于E-Cad和 $\beta$ -Cat与细胞骨架系统相联系, 参与细胞间黏附和维持组织结构<sup>[16]</sup>; 而细胞间黏附的紊乱是肿瘤侵袭和转移的先决条件。因此, PJS错构瘤息肉细胞膜上E-Cad和 $\beta$ -Cat的表达降低将会影响其组织细胞间黏附, 这提示PJS具有潜在恶性倾向。

MMP-7、C-Myc、Cyclin D1均为经典Wnt通路的下游靶基因产物, 其中MMP-7可通过降解细胞外基质而参与肿瘤的侵袭转移<sup>[17,18]</sup>。C-Myc作为一种转录因子和正性细胞周期调控因子, 可刺激细胞增殖和诱导细胞凋亡。而Cyclin D1在细胞周期一系列调控点发挥调节作用, 其过度表达则使细胞周期的G<sub>1</sub>期缩短, 加速细胞增殖<sup>[19]</sup>。本研究发现: MMP-7、C-Myc、Cyclin D1在PJS错构瘤息肉组织中表达明显高于正常黏膜, 但低于结直肠癌组织。而且MMP-7、C-Myc、Cyclin D1的表达与核表达 $\beta$ -Cat呈正相关, 与E-Cad成负相关<sup>[20]</sup>。本研究还发现: PJS息肉组织中E-Cad和膜表达 $\beta$ -Cat随着患者年龄增长、息肉增大而表达减弱; 而核表达 $\beta$ -Cat、

### 同行评价

本文立题明确, 设计合理, 数据可靠, 为在临床上将Wnt通路抑制剂如非甾体抗炎药阿司匹林及舒林酸等应用于PJS息肉的治疗提供了可能的理论依据。

Cyclin D1、C-Myc、MMP-7表达则随着息肉增大而增强。这说明PJS息肉从错构瘤向腺癌转变一个渐进的过程。这显示：经典Wnt信号通路的异常活化后，其下游靶基因产物的过表达可能参与了PJS息肉发生发展的全部生物学过程。

#### 4 参考文献

- 1 陆相吉, 顾国利. mTOR通路与Peutz-Jeghers综合征. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2443-2447
- 2 Mehenni H, Resta N, Guanti G, Mota-Vieira L, Lerner A, Peyman M, Chong KA, Aissa L, Ince A, Cosme A, Costanza MC, Rossier C, Radhakrishna U, Burt RW, Picard D. Molecular and clinical characteristics in 46 families affected with Peutz-Jeghers syndrome. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1924-1933 [PMID: 17404884 DOI: 10.1007/s10620-006-9435-3]
- 3 Kopacova M, Tacheci I, Rejchrt S, Bures J. Peutz-Jeghers syndrome: diagnostic and therapeutic approach. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5397-5408 [PMID: 19916169 DOI: 10.3748/wjg.15.5397]
- 4 Lai C, Robinson J, Clark S, Stamp G, Poulson R, Silver A. Elevation of WNT5A expression in polyp formation in Lkb1<sup>+/+</sup> mice and Peutz-Jeghers syndrome. *J Pathol* 2011; 223: 584-592 [PMID: 21341271 DOI: 10.1002/path.2835]
- 5 全国遗传性大肠癌协作组. 中国人遗传性大肠癌筛查标准的实施方案. 中华肿瘤杂志 2004; 26: 191-192
- 6 顾国利, 魏学明, 王石林, 任力, 郑爱民, 黄蓉蓉, 胡益云. 大肠癌E-cadherin,  $\beta$ -catenin, MMP-7表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 375-380
- 7 吴民华, 陈小毅, 梁艳清. STAT5和C-myc在大肠癌中的表达及意义. 肿瘤防治研究 2011; 38: 806-808
- 8 龚龙, 易春华, 童彦初, 陈文奎, 薛新波. Menin蛋白和细胞周期素D1在甲状腺腺瘤中的表达及临床意义. 中国现代医学杂志 2011; 21: 3708-3709
- 9 Ollila S, Mäkelä TP. The tumor suppressor kinase LKB1: lessons from mouse models. *J Mol Cell Biol* 2011; 3: 330-340 [PMID: 21926085 DOI: 10.1093/jmcb/mjr016]
- 10 Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004; 303: 1483-1487 [PMID: 15001769 DOI: 10.1126/science.1094291]
- 11 Tan LP, Ng BK, Balraj P, Lim PK, Peh SC. No difference in the occurrence of mismatch repair defects and APC and CTNNB1 genes mutation in a multi-racial colorectal carcinoma patient cohort. *Pathology* 2007; 39: 228-234 [PMID: 17454753]
- 12 Bryja V, Cajánek L, Grahm A, Schulte G. Inhibition of endocytosis blocks Wnt signalling to beta-catenin by promoting dishevelled degradation. *Acta Physiol (Oxf)* 2007; 190: 55-61 [PMID: 17428233 DOI: 10.1111/j.1365-201X.2007.01688.x]
- 13 占春玲, 吴保平, 张亚历.  $\beta$ -catenin基因在Peutz-Jeghers综合征组织中的突变及表达. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1739-1744
- 14 Mohamet L, Hawkins K, Ward CM. Loss of function of e-cadherin in embryonic stem cells and the relevance to models of tumorigenesis. *J Oncol* 2011; 2011: 352616 [PMID: 21197469 DOI: 10.1155/2011/352616]
- 15 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]
- 16 Ma Y, Zhang G, Fu X, Xia O, Zhan C, Li L, Wang Z, Wu B. Wnt signaling may be activated in a subset of Peutz-Jeghers syndrome polyps closely correlating to LKB1 expression. *Oncol Rep* 2010; 23: 1569-1576 [PMID: 20428811 DOI: 10.3892/or.00000797]
- 17 顾国利, 王石林, 魏学明, 任力, 熊梅, 胡益云, 李德昌, 邹福先, 成健. COX-2、 $\beta$ -cat、MMP-7表达与遗传性非息肉病性大肠癌特殊侵袭转移行为的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17: 151-157
- 18 Ougolkov AV, Yamashita K, Mai M, Minamoto T. Oncogenic beta-catenin and MMP-7 (matrilysin) cosegregate in late-stage clinical colon cancer. *Gastroenterology* 2002; 122: 60-71 [PMID: 11781281 DOI: 10.1053/gast.2002.30306]
- 19 Hedberg Y, Ljungberg B, Roos G, Landberg G. Expression of cyclin D1, D3, E, and p27 in human renal cell carcinoma analysed by tissue microarray. *Br J Cancer* 2003; 88: 1417-1423 [PMID: 12778072 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600922]
- 20 蒋晓忠, 陈历恒, 严律南, 朱勇, 李富贵, 杜一平, 龚光. Peutz-Jeghers综合征及其合并癌变的临床分析. 中国普外基础与临床杂志 2006; 13: 709-711

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)



# PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性

孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东

孟晓, 吴淑华, 滨州医学院病理学教研室 山东省滨州市 256603

李扬扬, 田东, 滨州医学院附属医院病理科 山东省滨州市 256603

孟晓, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究。

山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259

作者贡献分布: 本课题由孟晓与吴淑华设计; 研究过程由孟晓与李扬扬操作完成; 研究所用试剂由吴淑华提供; 切片阅片及结果判断由吴淑华、田东及孟晓完成; 本论文写作由孟晓完成。

通讯作者: 吴淑华, 教授, 硕士生导师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院病理学教研室。wsh6108@126.com  
电话: 0543-3258653

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-01-20

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Expression of PI3Kp110 $\alpha$ and PI3Kp110 $\beta$ in colorectal canceration

Xiao Meng, Shu-Hua Wu, Yang-Yang Li, Dong Tian

Xiao Meng, Shu-Hua Wu, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Yang-Yang Li, Dong Tian, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Supported by: the Scientific and Technological Project of Shandong Province, No. 2010GSF10259

Correspondence to: Shu-Hua Wu, Professor, Department of Pathology, 661 Huanghe 2 Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. wsh6108@126.com

Received: 2012-12-24 Revised: 2013-01-20

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of PI3Kp110 $\alpha$  and PI3Kp110 $\beta$  in colorectal canceration and to analyze their correlation.

**METHODS:** PI3Kp110 $\alpha$  and PI3Kp110 $\beta$  expression was detected by immunohistochemistry in 30 cases of normal colorectal mucosa, 46 cases of low-grade intraepithelial neoplasia (LGIN), 32 cases of high-grade intraepithelial neoplasia (HGIN) and 60 cases of colorectal carcinoma.

**RESULTS:** The expression of PI3Kp110 $\alpha$  in colorectal carcinoma was significantly higher than that in normal colorectal mucosa and LGIN (both  $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between colorectal carcinoma and

HGIN ( $P > 0.05$ ). The expression of PI3Kp110 $\beta$  was highest in colorectal carcinoma, followed by HGIN, LGIN and normal colorectal mucosa ( $P < 0.05$ ). PI3Kp110 $\alpha$  expression was correlated with patient age, tumor size and tumor differentiation (all  $P < 0.05$ ). PI3Kp110 $\beta$  expression was correlated with TNM stage and degree of tumor differentiation (both  $P < 0.05$ ). The expression of PI3Kp110 $\alpha$  was positively correlated with that of PI3Kp110 $\beta$  in LGIN ( $P < 0.05$ ). There was no significant correlation between the expression of PI3Kp110 $\alpha$  and that of PI3Kp110 $\beta$  in colorectal carcinoma, HGIN or normal colorectal mucosa (all  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** PI3Kp110 $\alpha$  and p110 $\beta$  may play different roles in colorectal canceration.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Intraepithelial neoplasia; Adenoma canceration; PI3Kp110 $\alpha$ ; PI3Kp110 $\beta$

Meng X, Wu SH, Li YY, Tian D. Expression of PI3Kp110 $\alpha$  and PI3Kp110 $\beta$  in colorectal canceration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 661-666 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.661>

## 摘要

**目的:** 探讨PI3Kp110不同亚单位p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在结直肠腺瘤癌变过程中的表达及其相关性。

**方法:** 随机选择低级别上皮内瘤变(low-grade intraepithelial neoplasia, LGIN)腺瘤组织46例、高级别上皮内瘤变(high-grade intraepithelial neoplasia, HGIN)腺瘤组织32例、结直肠腺瘤癌变组织60例以及30例正常黏膜组织, 应用免疫组织化学染色法, 分别检测p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达情况, 分析两者表达的相关性及其与临床病理因素的关系。

**结果:** (1)p110 $\alpha$ 在癌组织中的表达明显高于LGIN腺瘤及正常组织( $P < 0.05$ ), 但与HGIN腺瘤无明显差异( $P > 0.05$ ); 而在HGIN腺瘤

## ■背景资料

结直肠癌是最常见的消化系统肿瘤之一, 在我国, 随着生活水平的提高和饮食习惯的改变, 发病率日趋升高。探讨结直肠癌发生发展过程中的分子机制, 对于寻找分子靶向治疗的新的靶点尤为重要。

## ■同行评议者

斯坎德尔·白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

## ■ 研发前沿

p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 已证实多种恶性肿瘤中高表达, 本实验选取经腺瘤癌变的腺癌组织, 删除经其他方式癌变的癌组织, 为保证均衡性仅选择管状腺瘤组织, 探索p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在结直肠癌腺瘤癌变过程中表达的相关性。

中的表达高于LGIN腺瘤及正常组织, 且差异有统计学意义( $58.64 \pm 15.37$  vs  $37.80 \pm 14.47$ ,  $P < 0.05$ )。p110 $\beta$ 在癌组织、HGIN腺瘤、LGIN腺瘤及正常组织中的表达逐渐降低, 且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。 (2) 癌组织中p110 $\alpha$ 的表达与年龄、肿瘤直径、分化程度有相关性( $P < 0.05$ ), 而与患者的性别、肿瘤的发病部位、TNM分期及淋巴结转移等因素无关( $P > 0.05$ )。p110 $\beta$ 的表达与肿瘤的分化程度、TNM分期等临床因素间具有相关性( $P < 0.05$ ), 与患者的性别、年龄、肿瘤直径、发病部位及淋巴结转移等因素无关( $P > 0.05$ )。 (3) p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在LGIN腺瘤中的表达呈正相关关系( $r = 0.419$ ,  $P < 0.05$ ), 而在癌组织、HGIN腺瘤、正常组织中的表达无相关性( $r = 0.145$ 、 $-0.036$ 、 $0.242$ ,  $P > 0.05$ )。

**结论:** p110 $\alpha$ 与p110 $\beta$ 分别在腺瘤向腺癌转化过程的不同阶段中发挥重要作用, 联合检测p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达可作为早期预测腺瘤癌变的指标。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 上皮内瘤变; 腺瘤癌变; PI3Kp110 $\alpha$ ; PI3Kp110 $\beta$

孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠癌腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 661-666 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/661>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.661>

## 0 引言

PI3Kp110是磷酸肌醇-3-激酶(phosphoinositide-3-kinases, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)细胞信号通路中核心分子PI3Ks的催化亚基<sup>[1]</sup>。PI3K/AKT细胞信号通路的活化可通过影响下游信号因子调节细胞的生长、生存、增殖以及迁移等<sup>[2-5]</sup>, 而PI3Ks的突变可导致PI3K/AKT细胞信号通路异常, 与结直肠癌的发生、发展密切相关<sup>[6,7]</sup>。90%的结直肠癌来自腺瘤的恶变, 即腺瘤-腺癌序列<sup>[8]</sup>, 但在此过程中PI3Kp110的不同亚单位所发挥的作用及其相关性尚不明确。本文分别在正常组织、低级别上皮内瘤变腺瘤组织、高级别上皮内瘤变腺瘤组织以及由腺瘤癌变的癌组织中对PI3Kp110的不同亚单位p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达情况进行了研究, 进一步探索PI3Kp110不同亚单位在结直肠癌腺瘤癌变过程中的表达情况及其意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集滨州医学院附属医院病理科2011-01/2012-03存档的结直肠组织蜡块共168例。其中, 结直肠腺瘤癌变60例, HGIN腺瘤组织32例, LGIN腺瘤组织46例, 正常黏膜组织30例。选取的所有病例均为首次发现, 术前未进行任何放化疗且未发现其他部位的原发癌灶。正常黏膜组织取自距肿瘤边缘5 cm处。根据2010年消化系统肿瘤WHO分类标准<sup>[9]</sup>, 由两位高年资病理医师重新阅片诊断。腺瘤癌变组中, 男42例, 女18例; 年龄: 45-85岁, 平均62.9岁。肿瘤直径:  $\geq 5$  cm者28例,  $< 5$  cm者32例; 发病部位: 结肠30例, 直肠30例; 肿瘤分化程度: 高分化腺癌26例, 中、低分化34例; 淋巴结转移26例, 无淋巴结转移34例。按美国肿瘤研究联合会(AJCC)和国际癌症防治联合会(UICC)共同制定的2009年的TNM分期, I期和II期共42例, III期和IV期共18例。所有标本均经40 g/L甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 3  $\mu$ m厚度切片。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色:** 兔抗人PI3Kp110 $\alpha$ 单克隆抗体浓缩液(HongKong, 批号ab71090)和小鼠抗人PI3Kp110 $\beta$ 单克隆抗体浓缩液(HongKong, 批号ab55593)购自Abcam公司; 通用型二抗以及其他辅助试剂均购自北京中杉金桥公司; 将石蜡包埋组织制成3  $\mu$ m切片, PI3Kp110 $\alpha$ 、PI3Kp110 $\beta$ 一抗稀释度分别为1:150、1:200, 分别用已知阳性表达的脑组织、乳腺癌组织做阳性对照, 均用PBS代替一抗做空白对照, 免疫组织化学染色采用EnVision法, 染色步骤按说明书进行。

**1.2.2 结果判断:** p110 $\alpha$ 以上皮细胞胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性标志, p110 $\beta$ 以上皮细胞胞浆均质黄染为阳性标志。在高倍镜下( $\times 400$ )随机选取5个不同视野, 用Imageproplus 6.0病理图像分析软件分别测试每个视野下p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 蛋白阳性表达的平均吸光度, 以5个视野平均吸光度的平均值作为该例组织的测量值, 平均吸光度值越高该例组织中目的蛋白的表达水平越高。

**统计学处理** 所有实验数据采用SPSS16.0统计软件分析, 各组吸光度值以mean $\pm$ SD表示。不同病变各组均数比较用方差分析; p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 表达相关性用Pearson相关分析; p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达与结直肠癌临床病理等因素的关系采用多元线性回归分析。以 $P = 0.05$ 为检验水准,  $P \leq 0.05$ 为具有统计学意义。



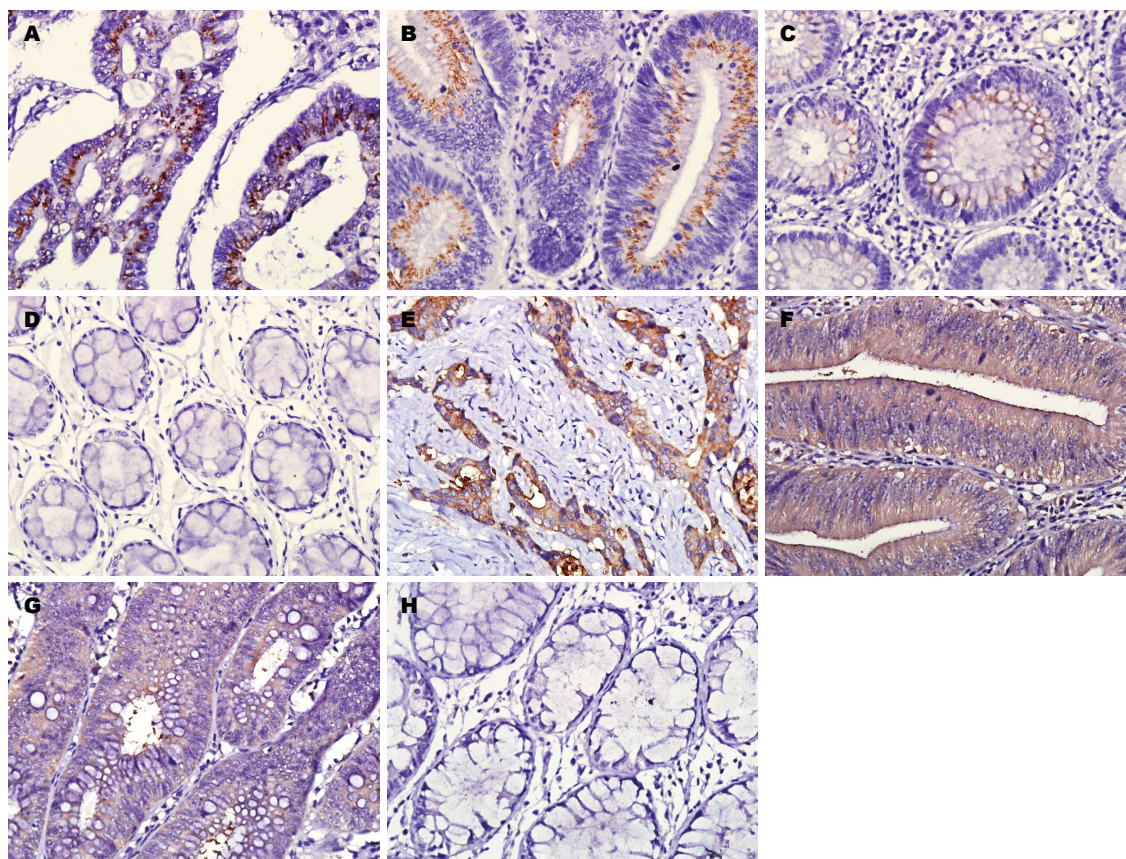


图1 PI3Kp110 $\alpha$ 和PI3Kp110 $\beta$ 在各组织中的表达(EnVision法,  $\times 400$ )。A: 癌组织PI3Kp110 $\alpha$ 强阳性; B: HGIN腺瘤PI3Kp110 $\alpha$ 阳性; C: LGIN腺瘤PI3Kp110 $\alpha$ 阳性; D: 正常组织PI3Kp110 $\alpha$ 阴性; E: 癌组织PI3Kp110 $\beta$ 强阳性; F: HGIN腺瘤PI3Kp110 $\beta$ 阳性; G: LGIN腺瘤PI3Kp110 $\beta$ 弱阳性; H: 正常组织PI3Kp110 $\beta$ 阴性。

#### ■ 相关报道

近年来的研究显示,在多种恶性肿瘤中存在PIK3CA基因的突变以及其编码的蛋白p110 $\alpha$ 的过度表达,且p110 $\alpha$ 在调控细胞的增殖、分化、存活、侵袭、转移等方面发挥着重要作用。在前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、恶性胶质瘤等恶性肿瘤中均存在p110 $\beta$ 的高表达,且p110 $\beta$ 是在细胞的周期调控、增殖和凋亡等活动中发挥着重要作用。

表1 p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在结直肠不同病变组织中的表达(平均吸光度)

分组	n	p110 $\alpha$	p110 $\beta$
正常组	30	30.74 $\pm$ 9.96	29.50 $\pm$ 7.34
LGIN组	46	37.80 $\pm$ 14.47	50.99 $\pm$ 23.52
HGIN组	32	58.64 $\pm$ 15.37	58.12 $\pm$ 11.83
腺癌组	60	58.51 $\pm$ 28.34	78.97 $\pm$ 46.39

LGIN: 低级别上皮内瘤变; HGIN: 高级别上皮内瘤变。

## 2 结果

**2.1 结直肠不同病变组织中p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达** p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的阳性表达部位均位于上皮细胞的胞浆内(图1)。结果显示, p110 $\alpha$ 在癌组织中的表达明显高于LGIN腺瘤组及正常组织( $P < 0.05$ ), 而与HGIN腺瘤中的表达无差异( $P > 0.05$ ); 在HGIN腺瘤中p110 $\alpha$ 的表达明显高于LGIN腺瘤、正常组织, 其差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而LGIN腺瘤中的表达与正常组织间无差异( $P > 0.05$ )。p110 $\beta$ 在癌组织、HGIN、LGIN、正常组织中的表达逐渐降低, 且各组间的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ , 表1)。

**2.2 结直肠癌组织p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达与临床病理因素的关系** 经多元线性回归分析, 癌组织组中p110 $\alpha$ 的表达与年龄、肿瘤直径、分化程度有相关性( $P < 0.05$ ), 而与患者的性别、肿瘤的发病部位、TNM分期及淋巴结转移等因素无关( $P > 0.05$ , 表2); p110 $\beta$ 的表达与肿瘤的分化程度、TNM分期等临床因素间具有相关性( $P < 0.05$ ), 与患者的性别、年龄、肿瘤直径、发生部位及淋巴结转移等因素无关( $P > 0.05$ , 表2)。

**2.3 结直肠不同病变组织PI3Kp110 $\alpha$ 、PI3Kp110 $\beta$ 表达的相关性** 应用Pearson相关分析p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 表达的相关性, 在LGIN腺瘤组织



## ■创新盘点

为深入研究结直肠癌-腺癌变机制,本文特选取结直肠癌-腺癌变组织,在同一例组织中同时检测了p110 $\alpha$ 和p110 $\beta$ 的表达情况,分析两者在腺癌-腺癌序列中的表达特点及相关性以及临床病理因素的关系。

表 2 p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 表达水平与结直肠癌临床病理的关系 (平均吸光度,  $n = 60$ , mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	p110 $\alpha$	$P$ 值	p110 $\beta$	$P$ 值
性别			0.331		0.708
男	42	61.59 $\pm$ 29.74		70.67 $\pm$ 51.62	
女	18	51.31 $\pm$ 23.99		98.33 $\pm$ 21.82	
年龄(岁)			0.002		0.666
$\leq 50$	6	102.17 $\pm$ 31.0		53.22 $\pm$ 20.69	
50-60	14	62.81 $\pm$ 28.35		82.75 $\pm$ 74.69	
$\geq 60$	40	50.45 $\pm$ 21.35		81.50 $\pm$ 35.03	
肿瘤部位			0.821		0.650
结肠	30	54.26 $\pm$ 28.42		82.78 $\pm$ 59.43	
直肠	30	62.75 $\pm$ 28.089		75.15 $\pm$ 28.58	
肿瘤直径(cm)			0.004		0.257
$< 5$	32	45.18 $\pm$ 24.95		64.72 $\pm$ 29.27	
$\geq 5$	28	73.74 $\pm$ 24.28		95.24 $\pm$ 56.60	
分化程度			0.038		0.044
低、中	34	62.23 $\pm$ 29.72		105.86 $\pm$ 44.36	
高	26	53.64 $\pm$ 26.19		43.79 $\pm$ 14.51	
分期			0.469		0.024
I+II	42	61.28 $\pm$ 28.98		58.84 $\pm$ 24.07	
III+IV	18	52.03 $\pm$ 26.42		125.92 $\pm$ 52.31	
淋巴结转移			0.118		0.428
无	34	62.19 $\pm$ 29.29		50.99 $\pm$ 19.70	
有	26	53.69 $\pm$ 26.84		115.56 $\pm$ 45.93	

表 3 p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在结直肠癌腺癌变不同阶段表达的相关性

分组	$n$	$r$ 值	$P$ 值
正常组	30	0.242	0.197
LGIN组	46	0.419	0.004
HGIN组	32	-0.036	0.844
腺癌组	60	0.145	0.286

中两者的表达呈正相关( $P < 0.05$ ),而在癌组织、HGIN腺癌组织、正常组织中两者表达水平无相关性( $P > 0.05$ ,表3)。

## 3 讨论

结直肠癌在消化系统肿瘤中发病率仅次于胃癌和食管癌,位于第3位<sup>[10]</sup>,且发病率逐年增高,发病年龄日趋年轻化。结直肠癌在大肠良性上皮性肿瘤中的发病率最高,且伴有不同程度的上皮内瘤变,其发病率随年龄增长逐年增高。由于绝大部分结直肠癌由腺瘤演变而来,寻找早期的分子学诊断标志物,探寻腺瘤向腺癌演变的癌变机制,从而做到结直肠癌的早发现、早诊断、早治疗,已经成为提高结直肠癌患者5年生存率、减少复发的关键。PI3K/AKT细胞信号转

导通路的异常参与肿瘤发生发展的进程,且与细胞的增殖、分化、转移等密切相关<sup>[11-13]</sup>,而PI3Ks作为该通路的核心分子,其催化亚基p110 4个亚单位中的2个亚型p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在腺癌癌变过程中的作用及其相关性尚不明确,需要进一步研究。

PI3Kp110 $\alpha$ 是原癌基因PIK3CA编码的蛋白,研究发现,在多种恶性肿瘤中存在PIK3CA基因的突变以及其编码的蛋白p110 $\alpha$ 的过度表达,尤其在大肠癌、神经胶质细胞瘤、胃癌中PIK3CA突变率较高<sup>[14,15]</sup>。p110 $\alpha$ 在调控细胞的增殖、分化、存活、侵袭、转移等方面发挥着重要作用<sup>[16,17]</sup>。Samuel等<sup>[18]</sup>认为,PIK3CA的突变可能发生在细胞即将获得侵袭能力时或在获得侵袭能力的同时。Weber等<sup>[19]</sup>通过shRNA(short hairpin RNA, 短发夹RNA)干扰多形性成胶质细胞瘤中PIK3CA表达发现,p110 $\alpha$ 的表达降低后细胞的增殖、迁移能力降低,提示PIK3CA在细胞转变为癌的过程中可能起到重要作用。Miron等<sup>[20]</sup>通过对处于3种不同分期的乳腺癌中PIK3CA突变位点的研究发现,3种乳腺癌组织中PIK3CA的突变频率并无明显差异,从而推测PIK3CA的突变可能在肿瘤的起始过程发挥

一定的作用. 本实验研究结果显示, p110 $\alpha$ 在结直肠癌组织中的表达明显高于正常黏膜组织、LGIN腺瘤, 提示在结直肠癌中存在PIK3CA基因的突变, 可能在腺瘤癌变过程中发挥作用. 而在结直肠癌组织中p110 $\alpha$ 的表达与HGIN腺瘤无明显差异, 提示p110 $\alpha$ 的突变可能发生在癌变的早期阶段, 可能是结直肠癌发生的始动因素之一. 在研究中发现, p110 $\alpha$ 的表达与患者的性别、肿瘤的发病部位、TNM分期及有无淋巴结转移等无相关性; 而肿瘤的分化程度越低、年龄越大、肿瘤直径越大, p110 $\alpha$ 的表达程度越高, 提示在年龄越大的人群中, 更容易发生PIK3CA的突变, p110 $\alpha$ 的高表达与大肠癌的恶性潜能相关.

PI3Kp110 $\beta$ 是原癌基因PIK3CB编码的蛋白, 在细胞的增殖、周期调控和凋亡等活动中发挥着重要作用, 且与肿瘤的耐药密切相关<sup>[21-23]</sup>. 目前的研究证实p110 $\beta$ 参与多种类型肿瘤的发生发展, 在前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、恶性胶质瘤<sup>[24-28]</sup>等恶性肿瘤中均存在p110 $\beta$ 的高表达. Liu等<sup>[29]</sup>通过特异性靶向shRNA干扰p110 $\beta$ 的表达后发现, p110 $\beta$ 的表达降低后抑制了肿瘤细胞的增殖、促进了肿瘤细胞的凋亡. Wee等<sup>[30]</sup>通过shRNA干扰技术干扰PTEN缺失的癌细胞中的PIK3CB编码的蛋白的表达, 发现在p110 $\beta$ 表达降低后PI3K/AKT信号通路失活, 且在体内和体外实验中均出现细胞生长抑制, 提示p110 $\beta$ 在PTEN缺失肿瘤的进展过程中发挥重要作用. 目前对于p110 $\beta$ 的研究已成为国内外研究的热点. 本实验研究结果显示, p110 $\beta$ 在正常黏膜组织、LGIN腺瘤、HGIN腺瘤、癌组织中的表达呈逐渐增高趋势, 提示p110 $\beta$ 可能在腺瘤向腺癌的演进过程的不同阶段均发挥重要作用. 研究同时发现, p110 $\beta$ 的表达与患者的性别、年龄、肿瘤直径、发病部位及有无淋巴结转移等无相关性; TNM分期越高、肿瘤的分化程度越低, p110 $\beta$ 的表达程度越高, 提示p110 $\beta$ 与肿瘤的生物特性密切相关.

目前关于PI3Ks在肿瘤发生发展中所起到的作用日趋受到关注, p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在肿瘤发生中的作用也已经逐渐被认识, 但在同一组织中p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达情况及其相关性尚不明确. 本研究在结直肠腺瘤癌变不同阶段中同步检测了p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的表达并分析其相关性, 结果显示p110 $\alpha$ 与p110 $\beta$ 在LGIN腺瘤中的表达呈正相关, 而在癌组织、HGIN腺瘤、正常组织中的表达无相关性. 我们推测在腺瘤-腺癌序列的起

始阶段, 即在细胞开始出现异型增生时, p110 $\alpha$ 与p110 $\beta$ 有协同促进细胞增殖及异型程度进展的作用, 而随着细胞异型程度的增加及癌变过程的进展, p110 $\alpha$ 与p110 $\beta$ 分别在腺瘤向腺癌转化过程的不同阶段中发挥重要作用, 而两者在癌组织中的同时高表达促进了肿瘤细胞的分化.

总之, 在结直肠癌变过程中存在p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 的高表达, 并均与肿瘤的分化程度呈正相关, 但其在腺瘤-腺癌序列中的表达情况不完全相同. p110 $\alpha$ 在HGIN腺瘤中表达显著异常, 而p110 $\beta$ 在结直肠癌变过程中随病变的异型程度增加, 其表达逐渐升高. 因此, 我们认为, p110 $\alpha$ 的异常表达可能在腺瘤即将发生癌变时起作用, 而p110 $\beta$ 的异常表达可能在结直肠腺瘤癌变的整个发生发展过程中发挥作用. 由此可见, PI3Kp110的不同亚单位在腺瘤向腺癌转化过程的不同阶段中分别发挥促癌变作用. 因此, p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 均可作为结直肠癌早期诊断的分子标志物, 联合检测p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 对于早期预测腺瘤癌变具有临床意义, 并且也为结直肠癌的分子靶向治疗提供了新的思路.

#### 4 参考文献

- 1 Funaki M, Katagiri H, Inukai K, Kikuchi M, Asano T. Structure and function of phosphatidylinositol-3, 4 kinase. *Cell Signal* 2000; 12: 135-142 [DOI: 10.1016/S0898-6568(99)00086-8]
- 2 Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 627-644 [PMID: 19644473 DOI: 10.1038/nrd2926]
- 3 Carnero A. The PKB/AKT pathway in cancer. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 34-44 [PMID: 20214616 DOI: 10.2174/138161210789941865]
- 4 Kolasa IK, Rembiszewska A, Felisiak A, Ziolkowska-Seta I, Murawska M, Moes J, Timorek A, Dansonka-Mieszkowska A, Kupryjanczyk J. PIK3CA amplification associates with resistance to chemotherapy in ovarian cancer patients. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 21-26 [PMID: 19029838 DOI: 10.4161/cbt.8.1.7209]
- 5 Samuels Y, Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 77-82 [PMID: 16357568 DOI: 10.1097/01.cco.0000198021.99347.b9]
- 6 Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2012; 5: 19-27 [PMID: 22574233]
- 7 Catasus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. PIK3CA mutations in the kinase domain (exon 20) of uterine endometrial adenocarcinomas are associated with adverse prognostic parameters. *Mod Pathol* 2008; 21: 131-139 [PMID: 18084252]
- 8 Abdou AG, Aiad H, Asaad N, Abd El-Wahed M, Serag El-Dien M. Immunohistochemical evaluation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in

#### ■应用要点

本研究采用免疫组织化学法检测p110 $\alpha$ 、p110 $\beta$ 在结直肠腺瘤癌变不同阶段中的表达情况, 有助于阐释p110 $\alpha$ 和p110 $\beta$ 在腺瘤-腺癌序列中所起到的作用及其两者在腺瘤癌变过程中表达的相关性, 为寻找分子靶向治疗的新靶点提供了参考依据.

# 同行评价

本文在寻找结直肠早期诊断的分子标志物研究中具有重要的意义,符合伦理学要求,也有一定的新颖性。

- colorectal carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2006; 18: 311-322 [PMID: 18301455]
- 9 周晓军, 樊祥山. 解读2010年消化系统肿瘤WHO分类(I). 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 341-346
- 10 Kerr D. Clinical development of gene therapy for colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 615-622 [PMID: 12894249 DOI: 10.1038/nrc1147]
- 11 Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 2007; 129: 1261-1274 [PMID: 17604717 DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.009]
- 12 Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene* 2008; 27: 5497-5510 [PMID: 18794884 DOI: 10.1038/onc.2008.245]
- 13 夏曙, 于世英. PI3K/Akt信号转导通路在恶性肿瘤中的研究进展. 肿瘤 2006; 26: 576-578
- 14 Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *Br J Cancer* 2006; 94: 455-459 [PMID: 16449998 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602970]
- 15 Li VS, Wong CW, Chan TL, Chan AS, Zhao W, Chu KM, So S, Chen X, Yuen ST, Leung SY. Mutations of PIK3CA in gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer* 2005; 5: 29 [PMID: 15784156 DOI: 10.1186/1471-2407-5-29]
- 16 Zhou XK, Tang SS, Yi G, Hou M, Chen JH, Yang B, Liu JF, He ZM. RNAi knockdown of PIK3CA preferentially inhibits invasion of mutant PIK3CA cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3700-3708 [PMID: 21990951]
- 17 Liu JF, Zhou XK, Chen JH, Yi G, Chen HG, Ba MC, Lin SQ, Qi YC. Up-regulation of PIK3CA promotes metastasis in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4986-4991 [PMID: 20954287]
- 18 Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Yan H, Gazdar A, Powell SM, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz S, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004; 304: 554 [PMID: 15016963 DOI: 10.1126/science.1096502]
- 19 Weber GL, Parat MO, Binder ZA, Gallia GL, Riggins GJ. Abrogation of PIK3CA or PIK3R1 reduces proliferation, migration, and invasion in glioblastoma multiforme cells. *Oncotarget* 2011; 2: 833-849 [PMID: 22064833]
- 20 Miron A, Varadi M, Carrasco D, Li H, Luongo L, Kim HJ, Park SY, Cho EY, Lewis G, Kehoe S, Iglehart JD, Dillon D, Allred DC, Macconail L, Gelman R, Polyak K. PIK3CA mutations in in situ and invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 2010; 70: 5674-5678 [PMID: 20551053 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2660]
- 21 Jia S, Liu Z, Zhang S, Liu P, Zhang L, Lee SH, Zhang J, Signoretti S, Loda M, Roberts TM, Zhao JJ. Essential roles of PI(3)K-p110beta in cell growth, metabolism and tumorigenesis. *Nature* 2008; 454: 776-779 [PMID: 18594509]
- 22 Cirao E, Iezzi M, Marone R, Marengo S, Curcio C, Costa C, Azzolino O, Gonella C, Rubinetto C, Wu H, Dastrù W, Martin EL, Silengo L, Altruda F, Turco E, Lanzetti L, Musiani P, Rückle T, Rommel C, Backer JM, Forni G, Wymann MP, Hirsch E. Phosphoinositide 3-kinase p110beta activity: key role in metabolism and mammary gland cancer but not development. *Sci Signal* 2008; 1: ra3 [PMID: 18780892 DOI: 10.1126/scisignal.1161577]
- 23 Dbouk HA, Backer JM. A beta version of life: p110β takes center stage. *Oncotarget* 2010; 1: 729-733 [PMID: 21321382]
- 24 Zhu Q, Youn H, Tang J, Tawfik O, Dennis K, Teranova PF, Du J, Raynal P, Thrasher JB, Li B. Phosphoinositide 3-OH kinase p85alpha and p110beta are essential for androgen receptor transactivation and tumor progression in prostate cancers. *Oncogene* 2008; 27: 4569-4579 [PMID: 18372911 DOI: 10.1038/onc.2008.91]
- 25 Yip SC, El-Sibai M, Hill KM, Wu H, Fu Z, Condeelis JS, Backer JM. Over-expression of the p110beta but not p110alpha isoform of PI 3-kinase inhibits motility in breast cancer cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 2004; 59: 180-188 [PMID: 15468162 DOI: 10.1002/cm.20032]
- 26 Crowder RJ, Phommaly C, Tao Y, Hoog J, Luo J, Perou CM, Parker JS, Miller MA, Huntsman DG, Lin L, Snider J, Davies SR, Olson JA, Watson MA, Saporita A, Weber JD, Ellis MJ. PIK3CA and PIK3CB inhibition produce synthetic lethality when combined with estrogen deprivation in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 3955-3962 [PMID: 19366795 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4450]
- 27 An HJ, Cho NH, Yang HS, Kwak KB, Kim NK, Oh DY, Lee SW, Kim HO, Koh JJ. Targeted RNA interference of phosphatidylinositol 3-kinase p110-beta induces apoptosis and proliferation arrest in endometrial carcinoma cells. *J Pathol* 2007; 212: 161-169 [PMID: 17427168 DOI: 10.1002/path.2158]
- 28 Pu P, Kang C, Zhang Z, Liu X, Jiang H. Downregulation of PIK3CB by siRNA suppresses malignant glioma cell growth in vitro and in vivo. *Technol Cancer Res Treat* 2006; 5: 271-280 [PMID: 16700623]
- 29 Liu W, Wang G, Cao X, Luo X, Li Z, Deng Y, Li X, Wang S, Liu M, Hu J, Wang J. Down-regulation of p110β expression increases chemosensitivity of colon cancer cell lines to oxaliplatin. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2012; 32: 280-286 [PMID: 22528234 DOI: 10.1007/s11596-012-0049-z]
- 30 Wee S, Wiederschain D, Maira SM, Loo A, Miller C, deBeaumont R, Stegmeier F, Yao YM, Lengauer C. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 13057-13062 [PMID: 18755892 DOI: 10.1073/pnas.0802655105]

编辑 李军亮 电编 闫晋利





# PNPLA3 rs738409基因多态性在肝病中的作用

陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇

陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇, 吉林大学第一医院肝胆胰内科 吉林省长春市 130021  
国家自然科学基金资助项目, No. 81072430  
作者贡献分布: 本文综述由陈林姣完成; 温晓玉与牛俊奇审校.  
通讯作者: 牛俊奇, 教授, 博士生导师, 130021, 吉林省长春市新民大街, 吉林大学第一医院肝胆胰内科. junqiniu@yahoo.com.cn  
电话: 0431-85612708  
收稿日期: 2012-12-21 修回日期: 2013-01-20  
接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-18

## Role of PNPLA3 polymorphism in pathogenesis of liver diseases

Lin-Jiao Chen, Xiao-Yu Wen, Jun-Qi Niu

Lin-Jiao Chen, Xiao-Yu Wen, Jun-Qi Niu, Department of Hepatology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072430  
Correspondence to: Jun-Qi Niu, Professor, Department of Hepatology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China. junqiniu@yahoo.com.cn  
Received: 2012-12-21 Revised: 2013-01-20  
Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-18

## Abstract

Hepatic fat accumulation, a common phenomenon in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcoholic liver disease (ALD), is associated with liver inflammation development and disease progression. Besides, hepatic fat accumulation is also seen in HCV-infected patients, which influences the response to anti-HCV therapy. Although the causes of fatty accumulation in the above three diseases are different, hereditary factors causing fatty accumulation have attracted more and more attention. PNPLA3, a member of patatin-like phospholipase family, has the activity of triglyceride hydrolase and can influence the liver fatty metabolism. In recent years, PNPLA3 polymorphism has become a hot topic in research of NAFLD, ALD, and HCV, and important results have been achieved. This article describes the expression of PNPLA3 in human tissues and review recent progress in understanding the role of PNPLA3 polymorphism in the pathogenesis of the above three liver diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** PNPLA3; Polymorphism; Nonalcoholic fatty liver disease; Alcoholic liver disease; Hepatitis C virus

Chen LJ, Wen XY, Niu JQ. Role of PNPLA3 polymorphism in pathogenesis of liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 667-672 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/667.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.667>

## 摘要

肝脏脂肪蓄积是非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)的普遍现象, 并与炎症发展、疾病进程有关, 在丙型肝炎病毒(hepatitis V virus, HCV)感染患者中也多见报道, 并影响抗HCV治疗效果. 虽然引起三者脂肪蓄积的因素不尽相同, 但是不同肝病的肝细胞脂肪蓄积的遗传因素越来越引起人们关注. PNPLA3作为patatin样磷脂酶家族成员, 考虑其可能有三酰甘油水解酶活性从而影响肝脏脂肪代谢. 近年来PNPLA3 rs738409基因多态性成为NAFLD、ALD、HCV的研究热点并取得诸多重要成果. 本文就PNPLA3在人体内的表达及其rs738409基因多态性在上述疾病中的研究现状作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** PNPLA3; 多态性; 非酒精性脂肪肝; 酒精性肝病; 丙型肝炎病毒

陈林姣, 温晓玉, 牛俊奇. PNPLA3 rs738409基因多态性在肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(8): 667-672 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/667.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.667>

## 0 前言

PNPLA3(patatin-like phospholipase domain containing 3)是一种属于patatin样磷脂酶家族的非分泌性蛋白<sup>[1]</sup>, 具有非特异的脂肪酰基水解酶活性<sup>[2-4]</sup>. PNPLA3在人体的表达受到多种

## ■背景资料

PNPLA3是一种属于patatin样磷脂酶家族的非分泌性蛋白, 具有非特异的脂肪酰基水解酶活性, 该基因rs738409(C>G)变异的PNPLA3丧失脂肪酰基水解活性, 从而导致肝脏脂肪蓄积. 目前研究表明PNPLA3 rs738409(C>G)变异与非酒精性脂肪肝(NAFLD)、酒精性肝病(ALD)及HCV感染患者的易感性、脂肪变、纤维化进展密切相关.

## ■同行评议者

莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

## ■ 研究前沿

PNPLA3 rs738409多态性对HCV感染患者疾病进展和抗病毒疗效的影响是目前研究的热点和重点。

因素的影响,如饮食、肥胖、胰岛素水平等。其rs738409(C>G)变异与肝脏脂肪代谢、非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)、丙型肝炎病毒(hepatitis V virus, HCV)感染患者的疾病进展相关,近年来在国外被广泛研究,但国内未见相关研究报道,对其成果也缺乏综合整理与分析。为紧跟国际前沿,本文就PNPLA3分子机制、影响因素及其rs738409基因多态性在临床肝病中的研究现状作一综述。

## 1 PNPLA3的分子特性及其表达调控

PNPLA3是一个由481个氨基酸组成的非分泌性蛋白,又称为adiponectin,属于patatin样磷脂酶家族<sup>[1]</sup>。PNPLA3结构与非钙离子依赖的磷脂酶A2(PNPLA2)相似,具有非特异的脂肪酰基水解酶活性<sup>[2-4]</sup>。体外实验证实PNPLA3有三酰甘油水解酶和部分酰基甘油转酰基酶活性,但其在体内表达的生物学活性尚无统一结论。

PNPLA3基因位于22号染色体(22q13.31)<sup>[5]</sup>。目前,PNPLA3基因多态性研究最多和最热的是rs738409 C>G位点,该位点编码PNPLA3蛋白的148位氨基酸,C>G转换使异亮氨酸转化为蛋氨酸,蛋氨酸将阻止底物结合到有催化活性的47位丝氨酸上<sup>[6]</sup>,从而使其丧失脂肪酰基水解活性<sup>[4,6]</sup>。因此,PNPLA3 I148M通过阻止甘油三酯水解而增加甘油三酯的蓄积。此外还有rs6006460、rs2294918、rs2281135等位点,但PNPLA3 rs738409(I148M)变异与肝脏脂肪代谢、NAFLD、ALD、HCV感染患者的相关性最强。

人体PNPLA3主要表达在肝脏,其次为皮肤和脂肪组织<sup>[7]</sup>。PNPLA3的表达由脂肪组织及肝脏代谢调控<sup>[1,8,9]</sup>。根据目前研究,PNPLA3的表达受以下因素影响:(1)饮食:PNPLA3 mRNA在空腹状态下很低,进食碳水化合物后明显升高<sup>[1,8,9]</sup>。相关实验表明,2 d的低热量饮食可以将PNPLA3 mRNA表达降低至原来的1/3<sup>[10]</sup>。Perttilä等<sup>[11]</sup>通过染色体免疫沉淀反应发现PNPLA3启动子区存在碳水化合物反应元件(carbohydrate response element, ChRE),葡萄糖通过该元件结合蛋白(ChRE binding protein, ChREBP)在转录水平调节PNPLA3的表达;(2)体质指数(body mass index, BMI)和肥胖:PNPLA3 mRNA在肝脏中的表达与BMI和肥胖及肝脏脂肪含量正相关<sup>[12,13]</sup>;(3)胰岛素和葡萄糖:二者都可以刺激脂肪组织

中PNPLA3的表达:胰岛素正常的高血糖患者PNPLA3水平为正常人的2.2倍;血糖正常而伴有高胰岛素血症患者为正常人的2.5倍;高血糖高胰岛素血症患者为正常人的4.8倍<sup>[10]</sup>;(4)基因变异:PNPLA3 rs738409G等位基因与NAFLD及健康人群的低水平PNPLA3相关,即该位点变异可导致其蛋白和mRNA表达下降<sup>[14]</sup>。但是在HCV感染患者中因存在PNPLA3抵抗,故PNPLA3 rs738409基因突变与其表达在HCV感染患者中不存在相关性<sup>[14]</sup>。

## 2 PNPLA3 rs738409基因多态性对组织代谢、肝脏酶学的影响

(1)增加肝内细胞脂质沉积:研究表明<sup>[11]</sup>在存在过量游离脂肪酸的情况下,PNPLA3 rs738409突变增加甘油三酯在细胞内的蓄积。在人体及体外实验研究均表明PNPLA3 rs738409突变影响apo-B脂蛋白的分泌,且该突变通过降低极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)而提高肝细胞内脂质沉积<sup>[15]</sup>;(2)降低血脂水平:Krærup等<sup>[16]</sup>对1 357例糖调节异常的个体进行分析发现rs738409G等位基因与下降的空腹血清甘油三酯和血清总胆固醇水平显著相关。Palmer等<sup>[17]</sup>也发现rs738409G等位基因的肥胖患者具有更低的血清甘油三酯水平;(3)对血清胰岛素及胰岛素敏感性的影响:多数研究表明rs738409G等位基因对肝内及外周胰岛素抵抗没有影响<sup>[16,18]</sup>,rs738409基因突变与血清胰岛素、胰岛素敏感性和糖耐量不相关<sup>[12,19-21]</sup>。但Palmer等<sup>[17]</sup>的研究提出PNPLA3 I148与胰岛素抵抗相关。Wang等<sup>[22]</sup>在最近的研究报道中也有类似的发现;(4)对脂肪细胞大小的影响:与CC型患者相比,GG型患者脂肪细胞更小<sup>[18]</sup>;(5)对肝脏酶学的影响:多项研究均表明PNPLA3 rs738409基因突变可引起普通人群<sup>[23]</sup>、肥胖人群<sup>[19]</sup>、肝病患者肝脏酶学谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)增高,且该基因变异对肝损伤的影响从儿童时期即开始<sup>[19]</sup>。Li等<sup>[23]</sup>对1532例墨西哥群体进行大样本、随机对照研究发现PNPLA3 rs738409变异与ALT显著相关;在男性患者中,与AST也相关,可能与性激素水平有关。

## 3 PNPLA3基因多态性与临床肝病的关系

### 3.1 PNPLA3基因多态性与NAFLD的关系 多项

研究表明PNPLA3 rs738409变异增加脏脂肪蓄积,与成人及儿童的NAFLD严重程度有关,并最终增加脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发生风险<sup>[24-28]</sup>。(1)PNPLA3 rs738409突变与肝脏脂肪含量显著相关:GG型患者肝脏脂肪含量高于CC型患者2.7倍。调整年龄、性别、BMI、糖尿病、酒精摄入和种族等因素的影响,PNPLA3变异与肝脏脂肪含量的相关性依然非常显著<sup>[12,28-33]</sup>,研究证明PNPLA3基因是肝脏脂肪变的独立危险因素<sup>[33]</sup>,能够增加肝脏的脂肪蓄积<sup>[18,19]</sup>。此外,其他研究还表明PNPLA3 rs738409突变与内脏脂肪、皮下脂肪、胰腺脂肪不相关,唯独增加肝内脂肪蓄积<sup>[20]</sup>;(2)与NAFLD的易感性相关:多项研究表明PNPLA3 rs738409突变增加NAFLD的易感性<sup>[28,29,34]</sup>;(3)PNPLA3 rs738409突变与NAFLD患者肝损伤相关:该位点突变可引起NAFLD患者血清ALT升高<sup>[19,28,29,34,35]</sup>,AST升高<sup>[19,36]</sup>。此外,PNPLA3 rs738409 GG基因型与NAFLD患者的肝组织下脂肪变、炎症评分、纤维化、M-D小体相关,即与肝组织损伤程度及疾病进展相关<sup>[27,28,37-39]</sup>。经过对529例NAFLD和932例健康对照的日本群体进行全基因组关联分析,Kawaguchi等<sup>[37]</sup>研究发现PNPLA3 rs738409多态性与NAFLD发生的相关性最强( $P = 1.4 \times 10^{-10}$ ),并且与Matteoni等<sup>[40]</sup>提出的NAFLD组织损伤程度分级最为相关。该研究表明PNPLA3 rs738409基因突变与NAFLD严重性及NASH进展强烈相关。另一项研究也表明rs738409G等位基因与NASH的易感性、严重性及纤维化的发生相关<sup>[41]</sup>;(4)PNPLA3 rs738409突变可能与NAFLD的预后相关:研究显示rs738409SNP与透明质酸、HbA1c、肝内铁沉积相关<sup>[37]</sup>,三者均为NAFLD预后相关的临床指标;(5)PNPLA3基因突变与总胆固醇、低密度脂蛋白水平显著相关<sup>[29,42]</sup>,可引起总胆固醇累计<sup>[29]</sup>,高密度脂蛋白下降<sup>[20]</sup>。

**3.2 PNPLA3多态性与ALD的关系** 2010年,Tian等<sup>[43]</sup>首次报道了PNPLA3 rs738409多态性与酒精性肝病之间的相关性:该位点突变与过量饮酒、发生酒精性肝病及酒精性肝硬化相关。随后,众多研究者对此进行了进一步深入研究。Trépo等<sup>[44]</sup>对330例ALD患者进行研究发现:PNPLA3 rs738409G等位基因与ALD患者发生脂肪变、纤维化和肝硬化显著相关,多因素分析显示该基因型为ALD患者发生肝硬化的最强独立危险因素。Stickel等<sup>[45]</sup>对1 047例ALD患者及376例高危饮酒者的德国样本进行研究

发现:与没有肝损伤的酒精性肝病患者相比,rs738409GG基因型在酒精性肝硬化患者中明显增高( $OR = 2.79$ ),在ALT升高的酒精性肝炎患者中也明显升高( $OR = 2.33$ ),这表明PNPLA3 rs738409GG基因型与饮酒者发生肝损害、酒精性肝炎、酒精性肝硬化相关。

**3.3 PNPLA3多态性与HCV感染患者的关系** (1)PNPLA3 rs738409G等位基因与HCV感染患者的脂肪变及其严重程度有关。Valenti等<sup>[46]</sup>发现rs738409突变影响HCV患者脂肪变进展。经分析972例HCV-1型白种人,Clark等<sup>[47]</sup>发现了PNPLA3危险等位基因和明显的脂肪变(肝细胞脂肪含量>5%)、严重脂肪变(肝细胞脂肪含量>32%)之间的相关性;(2)PNPLA3 rs738409G等位基因与HCV患者纤维化进展有关。Valenti和Trépo等<sup>[46,48]</sup>通过分析欧洲大样本HCV患者,2011年首次报道了rs738409G等位基因不仅与HCV感染者组织性确定的肝脏脂肪变有关,还与其纤维化进展及肝硬化有关;(3)PNPLA3基因突变对抗HCV治疗效果的影响:Valenti等<sup>[46]</sup>只是在HCV-1和HCV-4型患者中发现PNPLA3 rs738409G等位基因与抗HCV治疗效果有关,GG基因型患者持续性病毒应答(sustained virologic response, SVR)率10%,CG/CC基因型SVR率36%( $P = 0.02$ ),然而在所有基因型HCV患者中未发现PNPLA3 rs738409基因突变与SVR率之间存在相关性。另一项由意大利和澳大利亚联合开展的对602例HCV患者进行研究<sup>[49]</sup>也得到同样结论:PNPLA3 rs738409GG基因型与PegIFN $\alpha$ 联合利巴韦林的抗HCV治疗的SVR率之间缺乏相关性,而与HCV-1/HCV-4型的严重纤维化或肝硬化患者的SVR和早期病毒学应答(early virological response, EVR)相关<sup>[41]</sup>。但是Trépo在他们的样本中不能复现Valenti的研究结果。且经过对Clark等<sup>[47]</sup>和Valenti等研究中的1 500多例患者进行分析发现PNPLA3基因多态性对PegIFN联合利巴韦林治疗的SVR率很少或没有影响。

**3.4 PNPLA3多态性与肝癌发生的相关性** PNPLA3 rs738409G等位基因增加肥胖人群发生肝细胞癌的概率<sup>[49]</sup>。有研究发现PNPLA3 rs738409GG基因型是酒精性肝硬化患者发生肝癌的危险因素,与正常人相比,其肝癌发生的OR值为16.8<sup>[50]</sup>。Corradini等<sup>[51]</sup>的研究发现PNPLA3 rs738409GG型患者发生肝细胞癌的概率更高。多因素分析也确实显示rs738409GG基因型是HCC发生的独立危险因素,其OR值为2.23<sup>[51]</sup>。

#### ■相关报道

Valenti等只是在HCV-1和HCV-4型患者中发现PNPLA3 rs738409G等位基因与抗HCV治疗效果有关,然而在所有基因型HCV患者中未发现PNPLA3 rs738409基因突变与SVR率之间存在相关性。该研究提示PNPLA3 rs738409变异可能与抗HCV疗效相关,但是抗HCV疗效受到基因分型、纤维化程度、机体免疫等因素的影响,因此有必要对HCV感染患者进行分层分组的进一步研究,以明确该位点与抗HCV疗效的关系。



## ■创新盘点

本文对近几年来PNPLA3相关文献进行了综合整理和阐述,重点介绍了PNPLA3多态性与临床肝病(NAFLD、ALD、HCV感染患者、HCC)的相关性,内容新颖,资料详实。

## 4 结论

PNPLA3属于patatin样磷脂酶家族,具有非特异的脂肪酰基水解酶活性<sup>[2-4]</sup>。PNPLA3 I148M变异蛋白通过阻止甘油三酯水解而增加肝脏脂肪蓄积。PNPLA3在人体内主要表达在肝脏<sup>[7]</sup>,其在体内的表达受到饮食、肥胖、胰岛素水平、基因变异等因素的影响。PNPLA3 rs738409(C>G)变异可引起普通人群、肥胖人群及肝病患者(NAFLD、ALD、HCV感染患者)的肝脏酶学(ALT、AST)增高<sup>[19,23]</sup>。该位点的突变与临床肝病(NAFLD、ALD、HCV感染患者)发生的易感性、肝脂肪变、肝脏损害及纤维化进展相关。PNPLA3基因多态性与抗HCV治疗效果之间的关系尚未得出统一结论,因此有必要进一步开展该方面研究。此外,研究还发现该位点变异是肥胖人群、ALD患者发生肝细胞癌的危险因素,但相关研究还极少,故需更多相关研究进一步论证。

## 5 参考文献

- Baulande S, Lasnier F, Lucas M, Pairault J. Adiponutrin, a transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA specifically expressed in the adipose lineage. *J Biol Chem* 2001; 276: 33336-33344 [PMID: 11431482]
- Rydel TJ, Williams JM, Krieger E, Moshiri F, Stallings WC, Brown SM, Pershing JC, Purcell JP, Alibhai MF. The crystal structure, mutagenesis, and activity studies reveal that patatin is a lipid acyl hydrolase with a Ser-Asp catalytic dyad. *Biochemistry* 2003; 42: 6696-6708 [PMID: 12779324]
- Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J Biol Chem* 2004; 279: 48968-48975 [PMID: 15364929]
- Huang Y, Cohen JC, Hobbs HH. Expression and characterization of a PNPLA3 protein isoform (I148M) associated with nonalcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* 2011; 286: 37085-37093 [PMID: 21878620 DOI: 10.1074/jbc.M111.290114]
- 徐静, 辛永宁, 宣世英. PNPLA3基因多态性与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展. *临床肝胆病杂志* 2012; 28: 316-320
- He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, Cohen JC, Hobbs HH. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 2010; 285: 6706-6715 [PMID: 20034933 DOI: 10.1074/jbc.M109.064501]
- 李冬阳, 林连捷, 郑长青. PNPLA3基因在非酒精性脂肪性肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1796-1801
- Lake AC, Sun Y, Li JL, Kim JE, Johnson JW, Li D, Revett T, Shih HH, Liu W, Paulsen JE, Gimeno RE. Expression, regulation, and triglyceride hydrolase activity of Adiponutrin family members. *J Lipid Res* 2005; 46: 2477-2487 [PMID: 16150821]
- Rae-Whitcombe SM, Kennedy D, Voyles M, Thompson MP. Regulation of the promoter region of the human adiponutrin/PNPLA3 gene by glucose and insulin. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 402: 767-772 [PMID: 21036152 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.10.106]
- Liu YM, Moldes M, Bastard JP, Bruckert E, Viguerie N, Hainque B, Basdevant A, Langin D, Pairault J, Clément K. Adiponutrin: A new gene regulated by energy balance in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2684-2689 [PMID: 15181042]
- Perttilä J, Huaman-Samanez C, Caron S, Tanhuanpää K, Staels B, Yki-Järvinen H, Olkkonen VM. PNPLA3 is regulated by glucose in human hepatocytes, and its I148M mutant slows down triglyceride hydrolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 302: E1063-E1069 [PMID: 22338072 DOI: 10.1152/ajpendo.00125.2011]
- Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, Roos C, Westerbacka J, Hamsten A, Bergholm R, Arkkilä P, Arola J, Kiviluoto T, Fisher RM, Ehrenborg E, Orho-Melander M, Ridderstråle M, Groop L, Yki-Järvinen H. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia* 2009; 52: 1056-1060 [PMID: 19224197 DOI: 10.1007/s00125-009-1285-z]
- Johansson LE, Hoffstedt J, Parikh H, Carlsson E, Wabitsch M, Bondeson AG, Hedenbro J, Tornqvist H, Groop L, Ridderstråle M. Variation in the adiponutrin gene influences its expression and associates with obesity. *Diabetes* 2006; 55: 826-833 [PMID: 16505250]
- Valenti L, Rametta R, Ruscica M, Dongiovanni P, Steffani L, Motta BM, Canavesi E, Fracanzani AL, Mozzi E, Roviato G, Magni P, Fargion S. The I148M Pnpla3 polymorphism influences serum adiponectin in patients with fatty liver and healthy controls. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 111 [PMID: 22898488]
- Pirazzi C, Adiels M, Burza MA, Mancina RM, Levin M, Ståhlman M, Taskinen MR, Orho-Melander M, Perman J, Pujia A, Andersson L, Maglio C, Montalcini T, Wiklund O, Borén J, Romeo S. Patatin-like phospholipase domain-containing 3 (PNPLA3) I148M (rs738409) affects hepatic VLDL secretion in humans and in vitro. *J Hepatol* 2012; 57: 1276-1282 [PMID: 22878467 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.030]
- Krurup NT, Grarup N, Banasik K, Friedrichsen M, Færch K, Sandholt CH, Jørgensen T, Poulsen P, Witte DR, Vaag A, Sørensen T, Pedersen O, Hansen T. The PNPLA3 rs738409 G-allele associates with reduced fasting serum triglyceride and serum cholesterol in Danes with impaired glucose regulation. *PLoS One* 2012; 7: e40376 [PMID: 22792295 DOI: 10.1371/journal.pone.0040376]
- Palmer CN, Maglio C, Pirazzi C, Burza MA, Adiels M, Burch L, Donnelly LA, Colhoun H, Doney AS, Dillon JF, Pearson ER, McCarthy M, Hattersley AT, Frayling T, Morris AD, Peltonen M, Svensson PA, Jacobson P, Borén J, Sjöström L, Carlsson LM, Romeo S. Paradoxical lower serum triglyceride levels and higher type 2 diabetes mellitus susceptibility in obese individuals with the PNPLA3 148M variant. *PLoS One* 2012; 7: e39362 [PMID: 22724004 DOI: 10.1371/journal.pone.0039362]
- Santoro N, Kursawe R, D'Adamo E, Dykas DJ, Zhang CK, Bale AE, Calí AM, Narayan D, Shaw MM, Pierpont B, Savoye M, Lartaud D, Eldrich S, Cushman SW, Zhao H, Shulman GI, Caprio S. A

- common variant in the patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) is associated with fatty liver disease in obese children and adolescents. *Hepatology* 2010; 52: 1281-1290 [PMID: 20803499 DOI: 10.1002/hep.23832]
- 19 Romeo S, Sentinelli F, Cambuli VM, Incani M, Congiu T, Matta V, Pilia S, Huang-Doran I, Cossu E, Loche S, Baroni MG. The 148M allele of the PNPLA3 gene is associated with indices of liver damage early in life. *J Hepatol* 2010; 53: 335-338 [PMID: 20546964 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.034]
  - 20 Goran MI, Walker R, Le KA, Mahurkar S, Vikman S, Davis JN, Spruijt-Metz D, Weigensberg MJ, Al-layee H. Effects of PNPLA3 on liver fat and metabolic profile in Hispanic children and adolescents. *Diabetes* 2010; 59: 3127-3130 [PMID: 20852027 DOI: 10.2337/db10-0554]
  - 21 Romeo S, Sentinelli F, Dash S, Yeo GS, Savage DB, Leonetti F, Capoccia D, Incani M, Maglio C, Iacovino M, O'Rahilly S, Baroni MG. Morbid obesity exposes the association between PNPLA3 I148M (rs738409) and indices of hepatic injury in individuals of European descent. *Int J Obes (Lond)* 2010; 34: 190-194 [PMID: 19844213 DOI: 10.1038/ijo.2009.216]
  - 22 Wang CW, Lin HY, Shin SJ, Yu ML, Lin ZY, Dai CY, Huang JF, Chen SC, Li SS, Chuang WL. The PNPLA3 I148M polymorphism is associated with insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in a normoglycaemic population. *Liver Int* 2011; 31: 1326-1331 [PMID: 21745282 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02526.x]
  - 23 Li Q, Qu HQ, Rentfro AR, Grove ML, Mirza S, Lu Y, Hanis CL, Fallon MB, Boerwinkle E, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. PNPLA3 polymorphisms and liver aminotransferase levels in a Mexican American population. *Clin Invest Med* 2012; 35: E237-E245 [PMID: 22863562]
  - 24 Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, Gudnason V, Eiriksdottir G, Garcia ME, Launer LJ, Nalls MA, Clark JM, Mitchell BD, Shuldiner AR, Butler JL, Tomas M, Hoffmann U, Hwang SJ, Massaro JM, O'Donnell CJ, Sahani DV, Salomaa V, Schadt EE, Schwartz SM, Siscovick DS, Voight BF, Carr JJ, Feitosa MF, Harris TB, Fox CS, Smith AV, Kao WH, Hirschhorn JN, Borecki IB. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet* 2011; 7: e1001324 [PMID: 21423719 DOI: 10.1371/journal.pgen.1001324]
  - 25 Valenti L, Alisi A, Galmozzi E, Bartuli A, Del Menco B, Alterio A, Dongiovanni P, Fargion S, Nobili V. I148M patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene variant and severity of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 1274-1280 [PMID: 20648474 DOI: 10.1002/hep.23823]
  - 26 Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, Galmozzi E, Rametta R, Dongiovanni P, Nobili V, Mozzi E, Roviario G, Vanni E, Bugianesi E, Maggioni M, Fracanzani AL, Fargion S, Day CP. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 1209-1217 [PMID: 20373368 DOI: 10.1002/hep.23622]
  - 27 Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically con-
  - fer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology* 2010; 52: 904-912 [PMID: 20648472 DOI: 10.1002/hep.23768]
  - 28 Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 1883-1894 [PMID: 21381068 DOI: 10.1002/hep.24283]
  - 29 Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1461-1465 [PMID: 18820647 DOI: 10.1038/ng.257]
  - 30 Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res* 2009; 50: 2111-2116 [PMID: 19738004 DOI: 10.1194/jlr.P900013-JLR200]
  - 31 Kantartzis K, Peter A, Machicao F, Machann J, Wagner S, Königsrainer I, Königsrainer A, Schick F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene. *Diabetes* 2009; 58: 2616-2623 [PMID: 19651814 DOI: 10.2337/db09-0279]
  - 32 Wagenknecht LE, Palmer ND, Bowden DW, Rotter JL, Norris JM, Ziegler J, Chen YD, Haffner S, Scherzinger A, Langefeld CD. Association of PNPLA3 with non-alcoholic fatty liver disease in a minority cohort: the Insulin Resistance Atherosclerosis Family Study. *Liver Int* 2011; 31: 412-416 [PMID: 21281435 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02444.x]
  - 33 Hyysalo J, Stojkovic I, Kotronen A, Hakkarainen A, Sevestianova K, Makkonen J, Lundbom N, Rissanen A, Krauss RM, Melander O, Orholm-Melander M, Yki-Järvinen H. Genetic variation in PNPLA3 but not APOC3 influences liver fat in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 951-956 [PMID: 22141340 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07045.x]
  - 34 Lin YC, Chang PF, Hu FC, Yang WS, Chang MH, Ni YH. A common variant in the PNPLA3 gene is a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease in obese Taiwanese children. *J Pediatr* 2011; 158: 740-744 [PMID: 21168155 DOI: 10.1016/j.jpeds.2010.11.016]
  - 35 Yuan X, Waterworth D, Perry JR, Lim N, Song K, Chambers JC, Zhang W, Vollenweider P, Stirnadel H, Johnson T, Bergmann S, Beckmann ND, Li Y, Ferrucci L, Melzer D, Hernandez D, Singleton A, Scott J, Elliott P, Waeber G, Cardon L, Frayling TM, Kooner JS, Mooser V. Population-based genome-wide association studies reveal six loci influencing plasma levels of liver enzymes. *Am J Hum Genet* 2008; 83: 520-528 [PMID: 18940312 DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.09.012]
  - 36 Hoekstra M, Li Z, Kruijck JK, Van Eck M, Van Berkel TJ, Kuiper J. The expression level of non-alcoholic fatty liver disease-related gene PNPLA3 in hepatocytes is highly influenced by hepatic lipid status. *J Hepatol* 2010; 52: 244-251 [PMID: 20015565 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.11.004]
  - 37 Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T,

## 应用要点

本文内容新颖、资料丰富、思路清晰,为读者了解PNPLA3的作用、研究现状及研究热点提供了重要的资料。

## ■同行评价

本文内容新颖, 对 PNPLA3 的作用机制以及今后临床肝病的研究有一定的指导意义。

- Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PLoS One* 2012; 7: e38322 [PMID: 22719876 DOI: 10.1371/journal.pone.0038322]
- 38 Petta S, Grimaudo S, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, Licata G, Pipitone RM, Craxi A. IL28B and PNPLA3 polymorphisms affect histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2012; 56: 1356-1362 [PMID: 22314430 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.01.007]
- 39 Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 894-903 [PMID: 20684021 DOI: 10.1002/hep.23759]
- 40 Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419 [PMID: 10348825]
- 41 Valenti L, Aghemo A, Stättermayer AF, Maggioni P, De Nicola S, Motta BM, Rumi MG, Dongiovanni P, Ferenci P, Colombo M, Fargion S. Implications of PNPLA3 polymorphism in chronic hepatitis C patients receiving peginterferon plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 1434-1442 [PMID: 22530607 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05109.x]
- 42 Kollerits B, Coassin S, Beckmann ND, Teumer A, Kiechl S, Döring A, Kavousi M, Hunt SC, Lamina C, Paulweber B, Kutalik Z, Nauck M, van Duijn CM, Heid IM, Willeit J, Brandstätter A, Adams TD, Mooser V, Aulchenko YS, Völzke H, Kronenberg F. Genetic evidence for a role of adiponutrin in the metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 4669-4676 [PMID: 19729411 DOI: 10.1093/hmg/ddp424]
- 43 Tian C, Stokowski RP, Kershenovich D, Ballinger DG, Hinds DA. Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nat Genet* 2010; 42: 21-23 [PMID: 19946271 DOI: 10.1038/ng.488]
- 44 Trépo E, Gustot T, Degré D, Lemmers A, Verset L, Demetter P, Ouziel R, Quertinmont E, Vercruysse V, Amininejad L, Deltenre P, Le Moine O, Devière J, Franchimont D, Moreno C. Common polymorphism in the PNPLA3/adiponutrin gene confers higher risk of cirrhosis and liver damage in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 906-912 [PMID: 21334404 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.028]
- 45 Stickel F, Buch S, Lau K, Meyer zu Schwabedissen H, Berg T, Ridinger M, Rietschel M, Schafmayer C, Braun F, Hinrichsen H, Günther R, Arlt A, Seeger M, Müller S, Seitz HK, Soyka M, Lerch M, Lammert F, Sarrazin C, Kubitz R, Häussinger D, Hellerbrand C, Bröring D, Schreiber S, Kiefer F, Spanagel R, Mann K, Datz C, Krawczak M, Wodarz N, Völzke H, Hampe J. Genetic variation in the PNPLA3 gene is associated with alcoholic liver injury in caucasians. *Hepatology* 2011; 53: 86-95 [PMID: 21254164 DOI: 10.1002/hep.24017]
- 46 Valenti L, Rumi M, Galmozzi E, Aghemo A, Del Menico B, De Nicola S, Dongiovanni P, Maggioni M, Fracanzani AL, Rametta R, Colombo M, Fargion S. Patatin-like phospholipase domain-containing 3 I148M polymorphism, steatosis, and liver damage in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 53: 791-799 [PMID: 21319195 DOI: 10.1002/hep.24123]
- 47 Clark PJ, Thompson AJ, Zhu Q, Vock DM, Zhu M, Patel K, Harrison SA, Naggie S, Ge D, Tillmann HL, Urban TJ, Shianna K, Fellay J, Goodman Z, Noviello S, Pedicone LD, Afdhal N, Sulikowski M, Albrecht JK, Goldstein DB, McHutchison JG, Muir AJ. The association of genetic variants with hepatic steatosis in patients with genotype 1 chronic hepatitis C infection. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2213-2221 [PMID: 22543885 DOI: 10.1007/s10620-012-2171-y]
- 48 Trépo E, Pradat P, Potthoff A, Momozawa Y, Quertinmont E, Gustot T, Lemmers A, Berthillon P, Amininejad L, Chevallier M, Schlué J, Kreipe H, Devière J, Manns M, Trépo C, Sninsky J, Wedemeyer H, Franchimont D, Moreno C. Impact of patatin-like phospholipase-3 (rs738409 C > G) polymorphism on fibrosis progression and steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 54: 60-69 [PMID: 21488075 DOI: 10.1002/hep.24350]
- 49 Burza MA, Pirazzi C, Maglio C, Sjöholm K, Mancina RM, Svensson PA, Jacobson P, Adiels M, Baroni MG, Borén J, Ginanni Corradini S, Montalcini T, Sjöström L, Carlsson LM, Romeo S. PNPLA3 I148M (rs738409) genetic variant is associated with hepatocellular carcinoma in obese individuals. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 1037-1041 [PMID: 22704398 DOI: 10.1016/j.dld.2012.05.006]
- 50 Nischalke HD, Berger C, Luda C, Berg T, Müller T, Grünhage F, Lammert F, Coenen M, Krämer B, Körner C, Vidovic N, Oldenburg J, Nattermann J, Sauerbruch T, Spengler U. The PNPLA3 rs738409 148M/M genotype is a risk factor for liver cancer in alcoholic cirrhosis but shows no or weak association in hepatitis C cirrhosis. *PLoS One* 2011; 6: e27087 [PMID: 22087248 DOI: 10.1371/journal.pone.0027087]
- 51 Corradini SG, Burza MA, Molinaro A, Romeo S. Patatin-like phospholipase domain containing 3 sequence variant and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 53: 1776; author reply 1777 [PMID: 21351112 DOI: 10.1002/hep.24244]

编辑 李军亮 电编 闫晋利





# Lgr5与结肠癌关系的研究进展

陈小燕, 赵 逵

陈小燕, 赵逵, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

陈小燕, 在读硕士, 主要从事大肠癌的研究工作.

贵州省高层次人才科研条件特助基金资助项目, No. TZJF-2011-32

作者贡献分布: 陈小燕完成本文综述; 赵逵审校.

通讯作者: 赵逵, 教授, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市大连路 149号, 遵义医学院附属医院消化内科. kuizhao95868@msn.com

收稿日期: 2013-01-14 修回日期: 2013-02-05

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer

Xiao-Yan Chen, Kui Zhao

Xiao-Yan Chen, Kui Zhao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 536099, Guizhou Province, China

Supported by: the Guizhou Provincial Special Scientific Research Condition Fund for High-level Talents, No. TZJF-2011-32

Correspondence to: Kui Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 536099, Guizhou Province, China. kuizhao95868@msn.com

Received: 2013-01-14 Revised: 2013-02-05

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (Lgr5), a member of the G protein-coupled receptor family, contains 17 leucine-rich repeats and N- and C-terminal cysteine-rich flanking domains. Lgr5 is a marker for stem cells in the stomach, small intestine, colon, and hair follicles. Recently, Lgr5 has been identified as a target of Wnt signaling. As a potential marker for colorectal cancer stem cells, Lgr5 might be responsible for the initiation and progression of colorectal cancer. In this article we review recent progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Stem cell markers; Lgr5; Wnt pathway; Colorectal cancer

Chen XY, Zhao K. Progress in understanding the relationship between Lgr5 and colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(8): 673-678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/673.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.673>

## 摘要

Lgr5(leucine-rich repeat-containing g-protein coupled receptor 5)属于G蛋白耦联受体家族, 含17个富含亮氨酸重复序列和7次a螺旋跨膜区, 其N-和C-末端尾部侧翼富含半胱氨酸序列, 可在胃肠道、毛囊等多种组织中表达. Lgr5是最新发现的Wnt通路的靶基因, 而且是潜在的结肠癌干细胞标志物, 与结肠癌的发生和发展密切相关, 现就Lgr5与结肠癌的关系作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 干细胞标志物; Lgr5; Wnt通路; 结肠癌

陈小燕, 赵逵. Lgr5与结肠癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 673-678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/673.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.673>

## 0 引言

结肠癌是胃肠道中最常见的恶性肿瘤之一, 居全球肿瘤发病率的第3位<sup>[1]</sup>, 但其发病机制尚不明确. 新近研究表明Lgr5(leucine-rich repeat-containing g-protein coupled receptor 5)是Wnt通路的目标基因, 与R-脊椎蛋白(R-spondins, RSPOs)结合能够增强Wnt/ $\beta$ -catenin信号, 进而参与结肠癌等肿瘤的发生. 许多研究发现Lgr5<sup>+</sup>干细胞是结肠癌的起始细胞, 作为潜在的结肠癌干细胞标志物的Lgr5在结肠癌中大量表达, 并与结肠癌的转移、复发以及患者的预后密切相关. 本文将系统阐述Lgr5与结肠癌发生发展关系的研究进展.

## 1 Lgr5的分子生物学特性

Lgr5, 又名GPR49、HG38、FEX、GPR67和MGC117008, 是7次跨膜(seven-transmembrane, TM)蛋白, 属于G蛋白耦联受体(G-protein-

## ■背景资料

Lgr5属于G蛋白耦联受体家族, 含17个富含亮氨酸重复序列和7次a螺旋跨膜区, 可在胃肠道、毛囊等多种组织中表达. Lgr5是最新发现的Wnt通路的靶基因, 而且是潜在的结肠癌干细胞标志物, 与结肠癌的发生和发展密切相关, 本文主要介绍Lgr5与结肠癌关系的研究进展.

## ■同行评议者

赵青川, 教授, 主任医师, 西京医院消化外科

## ■ 研发前沿

许多研究发现Lgr5<sup>+</sup>干细胞是结肠癌的起始细胞, 作为潜在的结肠癌干细胞标志物的Lgr5在结肠癌中大量表达, 并与结肠癌的转移、复发以及患者的预后密切相关, 表明其可作为结肠癌治疗的一个潜在靶点。

coupled receptors, GPCRS)家族的成员, 其胞外区含有与糖蛋白配体作用的17个富含亮氨酸重复序列, 7次 $\alpha$ 螺旋跨膜区高度保守, N-端和C-端尾部侧翼富含半胱氨酸序列。最初因未发现其生理性配体, 故称为孤儿受体。目前研究发现Lgr5的配体为R-脊椎蛋白, 两者的结合能够增强Wnt/ $\beta$ -catenin信号, 并对干细胞生长起多效作用<sup>[2]</sup>。Lgr蛋白通过其胞外的N-端与R-脊椎蛋白结合, 但是现有证据指出其并不利用G蛋白<sup>[2,3]</sup>。Lgr5与G蛋白偶联受体相关, 例如促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone, TSH)、卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)及促黄体激素(luteinizing hormone, LH)。这些激素受体在胞外N-端富含亮氨酸并含有9个与糖蛋白激素相结合的重复单位。DNA的杂交分析表明Lgr5基因在哺乳动物的进化中高度保守。人类lgr5基因定位于染色体12q22-23, cDNA全长4 208 bp, 含有22个外显子和21个内含子, 转录产生8个不同的mRNA, 其中5个为选择性剪切体, 可读框编码由907个氨基酸残基组成的多肽链, 其中信号肽21个, 外功能区540个, 跨膜区263个, C-端尾部83个。相比TSH等糖蛋白激素的限制性表达, Lgr5可在多种组织中表达, 例如骨骼肌<sup>[4]</sup>、胃肠道<sup>[5]</sup>、毛囊<sup>[6-8]</sup>、大脑<sup>[9]</sup>、脊髓、乳腺<sup>[10]</sup>、眼睛及生殖器官等。

## 2 Lgr5与结直肠癌

**2.1 Lgr5与Wnt/ $\beta$ -catenin通路** 在关于结肠癌的研究中发现Lgr5是许多自我更新组织包括肠道和毛囊等的干细胞标志物, 而且是与结肠癌发生密切相关的Wnt通路的靶基因<sup>[5,11,12]</sup>。Wnt信号诱导Axin与磷酸化的LRP结合, 降解复合体分离,  $\beta$ -catenin在胞浆中稳定存在并转位入核, 与Tcf/Lef结合, 形成转录复合体, 激活Lgr5及gastrin等靶基因的转录<sup>[13,14]</sup>。Lgr5家族可介导R-脊椎蛋白参与Wnt经典信号通路<sup>[15,16]</sup>, 并证实Lgr受体与R-脊椎蛋白密切结合, 即使是少量Wnt信号刺激时也能够增强Wnt的信号作用, 进而参与肿瘤的发生。Carmon等<sup>[17]</sup>关于Lgr5与Wnt受体的相互作用的研究表明, Lgr5是Wnt信号复合体的一部分, 并在膜水平增强Wnt/ $\beta$ -catenin信号。Fan等<sup>[18]</sup>运用免疫组织化学检测102例结肠癌患者中Lgr5和 $\beta$ -catenin的表达, 结果显示, Lgr5与 $\beta$ -catenin的表达呈正相关, 由此推测Lgr5可能通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路参与结肠癌的发生。Barker等<sup>[12]</sup>通过消除Lgr5-cre阳性表达小鼠肠干细胞

的APC基因, 3-5 wk后发生转变的肠干细胞仍留在隐窝底部, 并形成由微腺瘤到肉眼可见的Lgr5<sup>+</sup>的腺瘤, 并伴有细胞核内 $\beta$ -catenin高表达, 这说明Lgr5可促进 $\beta$ -catenin表达, 启动Wnt通路。关于Lgr5是如何增强Wnt信号的机制依然不清楚<sup>[3]</sup>。然而, 一些学者却提出了相反的观点, 认为Lgr5非但不能增强Wnt信号, 反而起负性调节作用。Walker等<sup>[19]</sup>通过RNA干扰技术调控Lgr5的表达, 发现Lgr5的表达减少会诱导肿瘤侵袭和锚地依赖性生长以及致瘤性增强。相反, Lgr5的过表达导致细胞黏附增强, 集落生成及致瘤性减弱。表达谱同样显示, 基因敲出Lgr5的细胞使Wnt信号增强和EMT基因上调, 这与Lgr5高表达细胞中改变是相反的。由此证实在结肠癌细胞株中, Lgr5拮抗Wnt信号和调控细胞黏附, 负性调节肿瘤的发展。Garcia等<sup>[20]</sup>关于Lgr5对胚胎期小肠上皮发育的作用的研究也发现Lgr5基因敲除导致了Wnt通路靶基因的过度表达, 进一步证实了Lgr5作为Wnt信号通路的负调控因子。此外, 有研究显示肿瘤坏死因子受体家族成员-Troy, 可抑制Lgr5<sup>+</sup>肠道干细胞中Wnt信号转导<sup>[21]</sup>。

**2.2 Lgr5与结肠癌干细胞** 结肠黏膜上皮的再生, 是通过位于结肠隐窝底部潘氏细胞之间的肠干细胞(intestinal stem cells, ISCs)而维持。ISCs的特点就是Lgr5高表达, 对Wnt信号的调节非常敏感。ISCs的后代被称为短暂扩充(transient amplifying, TA)细胞, 经数次有丝分裂并沿着隐窝轴向上迁移而得到扩充。TA细胞离开隐窝向肠腔靠近时, TA细胞经历细胞周期阻滞和终末分化。最近的研究采用生物标志物技术以便更准确地评估这些干细胞在肠隐窝的定位。这些新的标记中, 最值得注意的是Lgr5。Lgr5是ISCs分裂活跃的标记<sup>[22]</sup>。鼠的小肠<sup>[23]</sup>、结肠<sup>[12]</sup>和胃<sup>[3]</sup>的干细胞均可特异性表达Lgr5。Lgr5<sup>+</sup>肠干细胞寿命长, 持续增殖并且能够分化为不同的终末分化上皮细胞类型, 包括吸收细胞、杯状细胞、肠内分泌细胞、帕内特细胞<sup>[24]</sup>, 同时也能保持其干细胞状态。单个Lgr5<sup>+</sup>隐窝干细胞在体外可以形成类器官结构, Yui等<sup>[25]</sup>将一个Lgr5<sup>+</sup>结肠干细胞植入到小鼠结肠表面受损的GFP<sup>+</sup>细胞中以检测Lgr5<sup>+</sup>结肠干细胞的移植能力, 其结果发现, 4 wk后Lgr5<sup>+</sup>结肠干细胞形成单层上皮细胞, 并且还形成功能和组织学均正常的而且具有自我更新能力的肠隐窝, 6 mo之后, Lgr5<sup>+</sup>结肠干细胞在体外不断扩增形成了移植组织。Snippert等<sup>[26]</sup>通过运用多色的Cre重组酶受体对Lgr5<sup>+</sup>干细胞

进行追踪发现肠隐窝动态平衡依赖于Lgr5<sup>+</sup>干细胞的对称分裂. Schepers等<sup>[27]</sup>再次运用谱系追踪小鼠肠腺瘤中Lgr5<sup>+</sup>干细胞活性发现, 占腺瘤细胞5%-10%的Lgr5<sup>+</sup>细胞产生额外的Lgr5<sup>+</sup>细胞以及所有其他腺瘤细胞类型, 并且加速腺瘤生长. 在大多数情况下, 肠道肿瘤的发生是受Wnt信号转导通路突变的驱动. 小鼠中, Lgr5<sup>+</sup>细胞比其他Wnt信号通路突变的肠上皮细胞群更容易引起肠道肿瘤<sup>[12]</sup>. 这一结果表明Lgr5<sup>+</sup>干细胞是结肠癌的起始细胞<sup>[28,29]</sup>. 换言之, Lgr5是结肠癌干细胞的标志物<sup>[30]</sup>.

**2.3 Lgr5在结肠癌中的表达、定位** 已经证实人类多种类型的肿瘤中<sup>[31-33]</sup>, 例如卵巢瘤、脑胶质瘤等, 特别是结肠癌<sup>[34]</sup>, 可见Lgr5的高表达. 由Lgr5在肠腺瘤中限制性表达的模式推测: Lgr5可能在结肠癌干细胞中也是选择性表达. Takahashi等<sup>[35]</sup>随后报道了Lgr5限制性表达通常在人腺瘤细胞的基底层, 肿瘤和间质细胞的交界处. Becker等<sup>[36]</sup>运用免疫组织化学的方法比较正常结肠、癌前病变以及结肠腺瘤Lgr5的表达发现, 正常的组织中Lgr5在隐窝基底部表达, 而在癌前病变的组织中Lgr5的表达并不局限于隐窝基底部且表达量较高, 结肠腺瘤中Lgr5较少在基底部表达, 而是在腺腔的表面大量表达. 此研究表明Lgr5是人肠道干细胞的一个潜在标志物, 其失巢表达是干细胞向癌前病变转变的早期事件, 并在肿瘤的发生中起重要作用. Takeda等<sup>[37]</sup>也采用免疫组织化学对17例低分化和13例高分化的腺瘤以及30例腺癌分析Lgr5的表达, 结果显示腺瘤中, Lgr5的表达部位与肿瘤分化有关, 在腔面表达与分化呈负相关, 然而隐窝部表达与分化呈正相关; 腺癌中, Lgr5的表达部位与肿瘤分期有关, 在腔面表达与分期呈负相关, 隐窝部表达与分期呈正相关, 进一步表明结肠癌发生的各个阶段中, Lgr5的空间分布存在着明显的差异, 这与Simon等<sup>[38]</sup>的研究不谋而合. 此外, Amsterdam等<sup>[39]</sup>研究同样发现, 在正常组织中, 只在隐窝有散在的Lgr5<sup>+</sup>细胞, 胞膜和胞浆均有染色; 在癌旁组织中, 隐窝部位Lgr5<sup>+</sup>细胞更密集, 包括上皮细胞都有着色; 在癌组织中, Lgr5<sup>+</sup>细胞主要集中在低分化肿瘤中, 而高分化的肿瘤只散在分布着Lgr5<sup>+</sup>细胞. 许多研究表明Lgr5在癌组织及癌旁组织大量表达, 但Uchida等<sup>[33]</sup>的研究显示, Lgr5在肿瘤间质中不表达, 这与Takahashi等<sup>[35]</sup>报道相一致. 以上的研究均表明, Lgr5的表达定位与结肠癌发生发展密切相关.

**2.4 Lgr5与结直肠癌患者的预后** Lgr5在多种类型的癌症中都过度表达, 并能促进的肿瘤细胞的生长和转移<sup>[31,32,40,41]</sup>. 研究表明, 在转移性结肠癌细胞系中, Lgr5的表达较高. Kleist等<sup>[42]</sup>比较原发性结肠癌和转移性结肠癌的Lgr5的表达发现, 后者的Lgr5表达水平远超过前者. Uchida等<sup>[33]</sup>对结肠癌Lgr5的表达与其临床病理意义进行评估, 结果显示Lgr5蛋白表达水平与淋巴结转移、淋巴管浸润、血管浸润及肿瘤分期呈正相关, 而与患者年龄、性别、肿瘤的分化程度、位置及大小无明显相关, 这与付焱等<sup>[43]</sup>的研究结果相似. 但是Wu等<sup>[44]</sup>为了确定Lgr5是否是一个潜在的结肠癌干细胞的标志物以及其与患者预后是否相关, 检测结肠癌中Lgr5与Ki-67在大肠癌中的表达, 发现Lgr5的表达不仅与浸润深度、淋巴结转移以及远处转移有关, 而且与组织学分级亦呈正相关, 结果还表明Lgr5是作为一个独立的影响结肠癌患者预后的因素. 这与Takahashi等<sup>[35]</sup>的研究结果相一致, 也显示Lgr5表达可能是大肠癌患者的不良预后因素. Saigusa等<sup>[45,46]</sup>采用实时定量PCR技术测定术前放化疗后直肠癌患者的Lgr5基因表达水平, 发现Lgr5基因高表达, 其无病生存期越短, 两者呈正相关. 上述结果均表明Lgr5过表达可能促进肿瘤的转移, 对结肠癌的进展发挥重要作用, 由此表明Lgr5可以作为一个判断结肠癌患者预后的指标, 是一个潜在的结肠癌治疗新靶点.

### 3 Lgr5<sup>+</sup>结肠癌细胞的分离

许多作者认为Lgr5可以作为结肠癌干细胞最为理想的标志物之一<sup>[42,47]</sup>. Kemper等<sup>[48]</sup>甚至认为Lgr5不仅可以作为一个肠干细胞的生物学和功能性标志物, 而且是结肠癌干细胞的选择标志物. 鉴于Lgr5对结肠癌的发生和发展有重要作用, 因此越来越多的研究学者更迫切希望对Lgr5<sup>+</sup>的结肠癌干细胞进行研究, 以便对其有更为深入的了解. 那么如何分选Lgr5<sup>+</sup>的结肠癌干细胞呢? 我们可以通过分选SP(side population, SP)细胞以及悬浮培养法分离肿瘤干细胞, 但是上述两种方法只能够富集包括Lgr5<sup>+</sup>细胞在内的肿瘤干细胞, 而不能直接分选出Lgr5<sup>+</sup>的结肠癌干细胞. 因此, 只有应用细胞表面特异性标志进行分选.

研究发现结肠癌干细胞较已分化的肿瘤干细胞相比, Wnt信号更强, 表明可以用Wnt信号强度来识别干细胞, 因此有人猜想可以通过

**■相关报道**  
Becker等报道了Lgr5是人肠道干细胞的一个潜在标志物, 其表达异常是干细胞向癌前病变转变的早期事件, 并在肿瘤的发生中起重要作用.



### ■创新盘点

本文总结了Lgr5与结肠癌的关系, 如与Wnt/ $\beta$ -catenin通路、结肠癌干细胞、结肠癌患者预后等, 并提出了关于Lgr5<sup>+</sup>结肠癌干细胞分选的相关问题。

构建Wnt的受体来分离结肠癌干细胞<sup>[49]</sup>。但是结肠癌干细胞中Wnt信号增强的表现就是核 $\beta$ -catenin升高, 显然基于 $\beta$ -catenin的方法是可行的。Lgr5是一个7个跨膜糖蛋白, 关于其在细胞的定位仍存在着较大争议, 通过免疫组织化学或免疫荧光技术发现Lgr5在胞膜上或胞质中亦或是胞膜上和胞质中都有表达, 原因主要在于现有抗体对Lgr5抗原表位的识别。要通过细胞表面特异性标记法运用荧光激活细胞分选术 (fluorescence-activated cell sorting, FACS) 又称流式细胞技术或磁珠分选技术, 需要该抗体识别Lgr5的胞外部分。然而, 到目前为止, 已发现多种Lgr5的抗体, 但都不能用于FACS分析。

King等<sup>[50]</sup>一系列的研究表明CD24在肠道的空间分布与Lgr5极其相似, 于是推测通过膜蛋白CD24可以分离Lgr5<sup>+</sup>结肠上皮干细胞, 他们用FACS检测发现, Lgr5-EGFP小鼠中CD24<sup>+</sup>细胞中含有大部分Lgr5<sup>+</sup>结肠上皮干细胞。最近, Kemper等<sup>[48]</sup>针对Lgr5设计出3种新的单克隆抗体, 通过无血清方法富集结肠癌干细胞之后再进行流式分选, 但需同时加入3种Lgr5抗体, 在Epcam<sup>+</sup>细胞中Lgr5<sup>+</sup>细胞比例在1.9%-11.1%之间。然而这3种抗体运用还不够成熟, 流式分选时所需抗体多, 成本高, 而且不能用于Lgr5的Western blot和免疫组织化学检测。因此, 我们的建议是最好先经无血清培养法富集肿瘤干细胞, 再运用FACS技术经CD24间接分选出Lgr5<sup>+</sup>结肠癌细胞。

## 4 参考文献

- Grizzi F, Celesti G, Basso G, Laghi L. Tumor budding as a potential histopathological biomarker in colorectal cancer: hype or hope? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6532-6536 [PMID: 23236225 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6532]
- Carmon KS, Gong X, Lin Q, Thomas A, Liu Q. R-spondins function as ligands of the orphan receptors LGR4 and LGR5 to regulate Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 11452-11457 [PMID: 21693646 DOI: 10.1073/pnas.1106083108]
- de Lau W, Barker N, Low TY, Koo BK, Li VS, Teunissen H, Kujala P, Haegebarth A, Peters PJ, van de Wetering M, Stange DE, van Es JE, Guardavaccaro D, Schasfoort RB, Mohri Y, Nishimori K, Mohammed S, Heck AJ, Clevers H. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature* 2011; 476: 293-297 [PMID: 21727895 DOI: 10.1038/nature]
- Rot S, Taubert H, Bache M, Greither T, Würfl P, Eckert AW, Schubert J, Vordermark D, Kappler M. A novel splice variant of the stem cell marker LGR5/GPR49 is correlated with the risk of tumor-related death in soft-tissue sarcoma patients. *BMC Cancer* 2011; 11: 429 [PMID: 21978106 DOI: 10.1186/1471-2407-11-429]
- Barker N, Huch M, Kujala P, van de Wetering M, Snippert HJ, van Es JH, Sato T, Stange DE, Begthel H, van den Born M, Danenberg E, van den Brink S, Korving J, Abo A, Peters PJ, Wright N, Poulsom R, Clevers H. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell* 2010; 6: 25-36 [PMID: 20085740]
- Plaks V, Brenot A, Lawson DA, Linnemann JR, Van Kappel EC, Wong KC, de Sauvage F, Klein OD, Werb Z. Lgr5-expressing cells are sufficient and necessary for postnatal mammary gland organogenesis. *Cell Rep* 2013; 3: 70-78 [PMID: 23352663 DOI: 10.1016/j.celrep.2012.12.017]
- da Silva-Diz V, Solé-Sánchez S, Valdés-Gutiérrez A, Urpí M, Riba-Artés D, Penin RM, Pascual G, González-Suárez E, Casanovas O, Viñals F, Paramio JM, Batlle E, Muñoz P. Progeny of Lgr5-expressing hair follicle stem cell contributes to papillomavirus-induced tumor development in epidermis. *Oncogene* 2012 Sep 3. [Epub ahead of print] [PMID: 22945646 DOI: 10.1038/onc.2012.375]
- Mardaryev AN, Meier N, Poterlowicz K, Sharov AA, Sharova TY, Ahmed MI, Rapisarda V, Lewis C, Fessing MY, Ruenger TM, Bhawan J, Werner S, Paus R, Botchkarev VA. Lhx2 differentially regulates Sox9, Tcf4 and Lgr5 in hair follicle stem cells to promote epidermal regeneration after injury. *Development* 2011; 138: 4843-4852 [PMID: 22028024 DOI: 10.1242/dev.070284]
- Nakata S, Campos B, Bageritz J, Bermejo JL, Becker N, Engel F, Acker T, Momma S, Herold-Mende C, Lichter P, Radlwimmer B, Goidts V. LGR5 is a marker of poor prognosis in glioblastoma and is required for survival of brain cancer stem-like cells. *Brain Pathol* 2013; 23: 60-72 [PMID: 22805276 DOI: 10.1111/j.1750-3639.2012.00618.x]
- de Visser KE, Ciampricotti M, Michalak EM, Tan DW, Speksnijder EN, Hau CS, Clevers H, Barker N, Jonkers J. Developmental stage-specific contribution of LGR5(+) cells to basal and luminal epithelial lineages in the postnatal mammary gland. *J Pathol* 2012; 228: 300-309 [PMID: 22926799 DOI: 10.1002/path.4096]
- Ruffner H, Sprunger J, Charlat O, Leighton-Davies J, Grosshans B, Salathe A, Zietzling S, Beck V, Therier M, Isken A, Xie Y, Zhang Y, Hao H, Shi X, Liu D, Song Q, Clay I, Hintzen G, Tchorz J, Bouchez LC, Michaud G, Finan P, Myer VE, Bouwmeester T, Porter J, Hild M, Bassilana F, Parker CN, Cong F. R-Spondin potentiates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling through orphan receptors LGR4 and LGR5. *PLoS One* 2012; 7: e40976 [PMID: 22815884 DOI: 10.1371/journal.pone.0040976]
- Barker N, Ridgway RA, van Es JH, van de Wetering M, Begthel H, van den Born M, Danenberg E, Clarke AR, Sansom OJ, Clevers H. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature* 2009; 457: 608-611 [PMID: 19092804]
- Clevers H, Nusse R. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149: 1192-1205 [PMID: 22682243 DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012]
- MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17: 9-26 [PMID: 19619488 DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.011]
- Glinka A, Dolde C, Kirsch N, Huang YL, Kazanskaya O, Ingelfinger D, Boutros M, Cruciat CM,

- Niehrs C. LGR4 and LGR5 are R-spondin receptors mediating Wnt/ $\beta$ -catenin and Wnt/PCP signalling. *EMBO Rep* 2011; 12: 1055-1061 [PMID: 21909076 DOI: 10.1038/embor.2011.175]
- 16 de Lau W, Barker N, Low TY, Koo BK, Li VS, Teunissen H, Kujala P, Haegbarth A, Peters PJ, van de Wetering M, Stange DE, van Es JE, Guadavaccaro D, Schasfoort RB, Mohri Y, Nishimori K, Mohammed S, Heck AJ, Clevers H. Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature* 2011; 476: 293-297 [PMID: 21727895 DOI: 10.1038/nature10337]
  - 17 Carmon KS, Lin Q, Gong X, Thomas A, Liu Q. LGR5 interacts and cointernalizes with Wnt receptors to modulate Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Mol Cell Biol* 2012; 32: 2054-2064 [PMID: 22473993 DOI: 10.1128/MCB.00272-12]
  - 18 Fan XS, Wu HY, Yu HP, Zhou Q, Zhang YF, Huang Q. Expression of Lgr5 in human colorectal carcinogenesis and its potential correlation with  $\beta$ -catenin. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 583-590 [PMID: 20195621 DOI: 10.1007/s00384-010-0903-z]
  - 19 Walker F, Zhang HH, Odorizzi A, Burgess AW. LGR5 is a negative regulator of tumorigenicity, antagonizes Wnt signalling and regulates cell adhesion in colorectal cancer cell lines. *PLoS One* 2011; 6: e22733 [PMID: 21829496 DOI: 10.1371/journal.pone.0022733]
  - 20 Garcia MI, Ghiani M, Lefort A, Libert F, Strollo S, Vassart G. LGR5 deficiency deregulates Wnt signaling and leads to precocious Paneth cell differentiation in the fetal intestine. *Dev Biol* 2009; 331: 58-67 [PMID: 19394326 DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.04.020]
  - 21 Fafilek B, Krausova M, Vojtechova M, Pospichalova V, Tumova L, Sloncová E, Huranova M, Stancikova J, Hlavata A, Svec J, Sedlacek R, Luksan O, Oliverius M, Voska L, Jirsa M, Paces J, Kolar M, Krivjanska M, Klimesova K, Tlaskalova-Hogenova H, Korinek V. Troy, a Tumor Necrosis Factor Receptor Family Member, Interacts With Lgr5 to Inhibit Wnt Signaling in Intestinal Stem Cells. *Gastroenterology* 2012 Nov 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23142137 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.048]
  - 22 Yan KS, Chia LA, Li X, Ootani A, Su J, Lee JY, Su N, Luo Y, Heilshorn SC, Amieva MR, Sangiorgi E, Capecchi MR, Kuo CJ. The intestinal stem cell markers Bmi1 and Lgr5 identify two functionally distinct populations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 466-471 [PMID: 22190486 DOI: 10.1073/pnas.1118857109]
  - 23 Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van den Born M, Cozijnsen M, Haegbarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ, Clevers H. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 2007; 449: 1003-1007 [PMID: 17934449]
  - 24 Gerbe F, van Es JH, Makrini L, Brulin B, Mellitzer G, Robine S, Romagnolo B, Shroyer NF, Bourgaux JF, Pignodel C, Clevers H, Jay P. Distinct ATOH1 and Neurog3 requirements define tuft cells as a new secretory cell type in the intestinal epithelium. *J Cell Biol* 2011; 192: 767-780 [PMID: 21383077 DOI: 10.1083/jcb.201010127]
  - 25 Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5<sup>+</sup> stem cell. *Nat Med* 2012; 18: 618-623 [PMID: 22406745 DOI: 10.1038/nm.2695]
  - 26 Snippert HJ, van der Flier LG, Sato T, van Es JH, van den Born M, Kroon-Veenboer C, Barker N, Klein AM, van Rheenen J, Simons BD, Clevers H. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. *Cell* 2010; 143: 134-144 [PMID: 20887898 DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.041]
  - 27 Schepers AG, Snippert HJ, Stange DE, van den Born M, van Es JH, van de Wetering M, Clevers H. Lineage tracing reveals Lgr5<sup>+</sup> stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science* 2012; 337: 730-735 [PMID: 22855427 DOI: 10.1126/science.1224676]
  - 28 Sato T, Vries RG, Snippert HJ, van de Wetering M, Barker N, Stange DE, van Es JH, Abo A, Kujala P, Peters PJ, Clevers H. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 2009; 459: 262-265 [PMID: 19329995]
  - 29 Schuijers J, Clevers H. Adult mammalian stem cells: the role of Wnt, Lgr5 and R-spondins. *EMBO J* 2012; 31: 2685-2696 [PMID: 22617424 DOI: 10.1038/emboj.2012.149]
  - 30 Leushacke M, Barker N. Lgr5 and Lgr6 as markers to study adult stem cell roles in self-renewal and cancer. *Oncogene* 2012; 31: 3009-3022 [PMID: 22002312]
  - 31 McClanahan T, Koseoglu S, Smith K, Grein J, Gustafson E, Black S, Kirschmeier P, Samatar AA. Identification of overexpression of orphan G protein-coupled receptor GPR49 in human colon and ovarian primary tumors. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 419-426 [PMID: 16575208]
  - 32 Tanese K, Fukuma M, Yamada T, Mori T, Yoshikawa T, Watanabe W, Ishiko A, Amagai M, Nishikawa T, Sakamoto M. G-protein-coupled receptor GPR49 is up-regulated in basal cell carcinoma and promotes cell proliferation and tumor formation. *Am J Pathol* 2008; 173: 835-843 [PMID: 18688030 DOI: 10.2353/ajpath.2008.071091]
  - 33 Uchida H, Yamazaki K, Fukuma M, Yamada T, Hayashida T, Hasegawa H, Kitajima M, Kitagawa Y, Sakamoto M. Overexpression of leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 in colorectal cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 1731-1737 [PMID: 20384634 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01571.x]
  - 34 Merlos-Suárez A, Barriga FM, Jung P, Iglesias M, Céspedes MV, Rossell D, Sevillano M, Hernando-Mombona X, da Silva-Diz V, Muñoz P, Clevers H, Sancho E, Mangués R, Batlle E. The intestinal stem cell signature identifies colorectal cancer stem cells and predicts disease relapse. *Cell Stem Cell* 2011; 8: 511-524 [PMID: 21419747 DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.001]
  - 35 Takahashi H, Ishii H, Nishida N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yokobori T, Mimori K, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Significance of Lgr5(+ve) cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1166-1174 [PMID: 21125339 DOI: 10.1245/s10434-11-1811-1]
  - 36 Becker L, Huang Q, Mashimo H. Immunostaining of Lgr5, an intestinal stem cell marker, in normal and premalignant human gastrointestinal tissue. *ScientificWorldJournal* 2008; 8: 1168-1176 [PMID: 19030762 DOI: 10.1100/tsw.2008.148]
  - 37 Takeda K, Kinoshita I, Shimizu Y, Matsuno Y, Shi-

# ■名词解释

Lgr5: 又名GPR49、HG38、FEX、GPR67和MGC117008, 是一个7次跨膜(TM)蛋白, 属于G蛋白耦联受体(GPCR)家族的成员, 其胞外区含有与糖蛋白配体作用的17个富含亮氨酸重复序列, 7次a螺旋跨膜区高度保守, N-端和C-端尾部侧翼富含半胱氨酸序列。最初因未发现其生理性配体, 故称为孤儿受体。

### ■同行评价

本文针对Lgr5的结构和功能进行了综述,标志物与结肠癌的发生和发展密切相关。这些进展的介绍有利于读者获取新知识,为结肠癌的研究提供了新的思路。

- chinohe T, Dosaka-Akita H. Expression of LGR5, an intestinal stem cell marker, during each stage of colorectal tumorigenesis. *Anticancer Res* 2011; 31: 263-270 [PMID: 21273608]
- 38 Simon E, Petke D, Böger C, Behrens HM, Warneke V, Ebert M, Röcken C. The spatial distribution of LGR5+ cells correlates with gastric cancer progression. *PLoS One* 2012; 7: e35486 [PMID: 22530031 DOI: 10.1371/journal.pone.0035486]
- 39 Amsterdam A, Raanan C, Schreiber L, Freyhan O, Fabrikant Y, Melzer E, Givol D. Differential localization of LGR5 and Nanog in clusters of colon cancer stem cells. *Acta Histochem* 2012 Oct 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23098761 DOI: 10.1016/j.acthis]
- 40 Gao Y, Kitagawa K, Hiramatsu Y, Kikuchi H, Isobe T, Shimada M, Uchida C, Hattori T, Oda T, Nakayama K, Nakayama KI, Tanaka T, Konno H, Kitagawa M. Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27Kip1 enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Cancer Res* 2006; 66: 11623-11631 [PMID: 17178856]
- 41 Al-Kharusi MR, Smartt HJ, Greenhough A, Collard TJ, Emery ED, Williams AC, Paraskeva C. LGR5 promotes survival in human colorectal adenoma cells and is upregulated by PGE2: implications for targeting adenoma stem cells with NSAIDs. *Carcinogenesis* 2013 Feb 13. [Epub ahead of print] [PMID: 23349017]
- 42 Kleist B, Xu L, Li G, Kersten C. Expression of the adult intestinal stem cell marker Lgr5 in the metastatic cascade of colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4: 327-335 [PMID: 21577318]
- 43 付焱, 刘志苏, 江从庆, 钱群, 唐胜利, 李景, 刘凌. 肠道干细胞标记基因Lgr5在结直肠癌中的表达及其意义. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 1142-1144
- 44 Wu XS, Xi HQ, Chen L. Lgr5 is a potential marker of colorectal carcinoma stem cells that correlates with patient survival. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 244 [PMID: 23153436]
- 45 Saigusa S, Inoue Y, Tanaka K, Toiyama Y, Kawamura M, Okugawa Y, Okigami M, Hiro J, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Significant correlation between LKB1 and LGR5 gene expression and the association with poor recurrence-free survival in rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 131-138 [PMID: 22986809 DOI: 10.1007/s00432-012-1308-x]
- 46 Saigusa S, Inoue Y, Tanaka K, Toiyama Y, Matsushita K, Kawamura M, Okugawa Y, Hiro J, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Clinical significance of LGR5 and CD44 expression in locally advanced rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy. *Int J Oncol* 2012; 41: 1643-1652 [PMID: 22923071 DOI: 10.3892/ijo.2012.1598]
- 47 Takahashi H, Ishii H, Nishida N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yokobori T, Mimori K, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Significance of Lgr5(+ve) cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1166-1174 [PMID: 21125339]
- 48 Kemper K, Prasetyanti PR, De Lau W, Rodermond H, Clevers H, Medema JP. Monoclonal antibodies against Lgr5 identify human colorectal cancer stem cells. *Stem Cells* 2012; 30: 2378-2386 [PMID: 22969042 DOI: 10.1002/stem.1233]
- 49 Vermeulen L, De Sousa E Melo F, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, Sprick MR, Kemper K, Richel DJ, Stassi G, Medema JP. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 468-476 [PMID: 20418870]
- 50 King JB, von Furstenberg RJ, Smith BJ, McNaughton KK, Galanko JA, Henning SJ. CD24 can be used to isolate Lgr5+ putative colonic epithelial stem cells in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G443-G452 [PMID: 22723265]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

### • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次,影响因子0.775,综合评价总分65.5分,分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位,分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位;其他指标:即年指标0.081,他引率0.82,引用刊数526种,扩散因子13.59,权威因子1260.02,被引半衰期4.3,来源文献量642,文献选出率0.93,地区分布数29,机构分布数302,基金论文比0.45,海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。



# 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

全甲钊, 在读硕士, 主要从事功能性胃肠疾病与幽门螺杆菌关系的研究。

哈尔滨市科委青年科技创新人才基金资助项目, No. 2018rfqys103

作者贡献分布: 本文综述由全甲钊、王蓓蓓及姜海燕完成; 曲波审校。

通讯作者: 曲波, 副教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。

qubo\_1970@hotmail.com

电话: 0451-86605143

收稿日期: 2012-11-05 修回日期: 2012-12-04

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Bei-Bei Wang, Hai-Yan Jiang

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Bei-Bei Wang, Hai-Yan Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Young Talent Science and Technology Innovation Fund of Harbin Municipal Science and Technology Commission, No. 2018rfqys103

Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo\_1970@hotmail.com

Received: 2012-11-05 Revised: 2012-12-04

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

Functional dyspepsia is one of the most common clinical functional gastrointestinal disorders. Currently, many pathogenic factors have been proposed to explain the pathogenesis of functional dyspepsia. Although the relationship between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and functional dyspepsia has been studied extensively, the results obtained are contradictory. In recent years, the better understanding of functional dyspepsia and several revisions of the Roman standards have led to the revelation of shortcomings of previous studies. In this paper we discuss the relationship between *H. pylori* infection and functional dyspepsia.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Dyspepsia; Functional dyspepsia; *Helicobacter pylori*

Tong JZ, Qu B, Wang BB, Jiang HY. Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 679-684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.679>

## 摘要

功能性消化不良是临床上最常见的一种功能性胃肠病。目前, 多种致病因素被认为与其有关。其中, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与功能性消化不良之间的关系虽然已经得到了广泛的研究, 但仍然没有得出确切一致的结论。近些年来, 随着对功能性消化不良疾病认识的逐渐加深, 且由于罗马标准的几经修改, 较多先前的研究已经显现出自身的弊端, 且各种观点相差甚远。本文旨在对功能性消化不良与*H. pylori*之间关系的研究及目前各方面的观点作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 消化不良; 功能性消化不良; 幽门螺杆菌

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 679-684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.679>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的发病机制目前尚未完全清楚, 且其具有慢性、复发性和难以缓解性<sup>[1]</sup>, 因而不仅明显的影响患者的生活质量, 而且也造成了相当高的医疗费用支出。目前认为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可能是FD的致病因素之一, 然而对其可能存在的潜在病理生理机制以及根除*H. pylori*的确切疗效方面, 仍然存在较多的争议。过去的研究<sup>[2]</sup>主要集中在根除*H. pylori*治疗的消化不良症状消失率与使用安慰剂效果的对比上, 而对FD的其他潜在影响因素并没有进行严格的控

## ■背景资料

功能性消化不良(FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病, 且被认为与多种致病因素有关。目前认为幽门螺杆菌(*H. pylori*)可能是FD的致病因素之一, 然而对其可能存在的潜在病理生理机制以及根除*H. pylori*的确切疗效方面, 仍然存在较多的争议。

## ■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

## ■ 研发前沿

目前对于*H. pylori*与FD疾病之间关系的研究是功能性胃肠疾病领域的一个热点,但FD疾病致病因素较多,制约了*H. pylori*与FD疾病之间关系的研究。

制,这样得出的结果或许可信度较低。目前国内对外对*H. pylori*阳性FD的多方面因素提出了一些新的观点。下面就FD与*H. pylori*之间关系的研究及目前各种观点做一系统论述,以期促进对其病理生理学机制的深入研究,从而为临床治疗提供帮助。

## 1 功能性消化不良的定义及目前状况

**1.1 功能性消化不良** FD是指主要表现于上腹部区域的不适症状,包括胃疼、烧心、餐后不适和胃部饱胀感等,而不能通过器质性原因来解释这些症状的消化不良被称为FD,他也是众多功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal disorders, FGID)的其中之一<sup>[3]</sup>。目前,FD的诊断主要依靠罗马III标准,他被定义为<sup>[3]</sup>起源于胃十二指肠区域的症状,而且排除可以解释这些症状的任何器质性、全身性或代谢性疾病。这些症状包括上腹痛、上腹烧灼感、餐后饱胀和早饱。诊断之前至少6 mo出现症状,近3 mo符合症状诊断标准。

**1.2 功能性消化不良疾病的目前状况** 据对一所西方大学医院门诊患者的连续性研究得出<sup>[4]</sup>,40%以腹部症状为主诉的患者被诊断为FGID。而FD作为FGID的其中之一,在西方国家的成年人中的发病率约为15%,其中约25%的患者将会寻求医疗服务<sup>[5]</sup>。在我国,消化不良患者约占普通内科门诊的10%,占消化内科门诊的50%<sup>[2]</sup>。不幸的是,尽管存在如此多的FD患者,但在严格的临床研究中,几乎没有显示出比安慰剂更为有效的治疗方法<sup>[6]</sup>。由于治疗效果的不理想,患者不断求医,且检查和治疗这种疾病的花费很大,因而使治疗FD的费效比很高<sup>[7]</sup>。同时,FD也造成了重大的社会负担。

## 2 功能性消化不良的致病因素与幽门螺杆菌

**2.1 功能性消化不良的致病因素** 目前,许多致病因素被认为可能与FD有关,包括:胃动力异常、内脏高敏感性、社会心理学因素、胃酸分泌过多、*H. pylori*、遗传、环境、饮食<sup>[8-10]</sup>、生活方式<sup>[11]</sup>和感染后FD<sup>[12]</sup>。其中,胃动力异常和内脏高敏感性被认为是症状表现的主要因素,但其他因素之间也互相影响且通过调节胃动力、内脏敏感性来起作用<sup>[3]</sup>。在致病因素中,社会心理学因素获得了较多的关注。国外研究发现FD患者常具有更多的负性生活事件,而负性生活事件则与功能性胃肠病的发生和抑郁、焦虑症的发病有直接关联,而童年受虐待史是成年后FD发

病的报警因素<sup>[13,14]</sup>。临床研究也显示FD患者对安慰剂的有效率比其他疾病患者高35%-40%,这很大程度上表明FD涉及心理学因素,并且催眠疗法也显示出对FD患者有效<sup>[15]</sup>。吴改玲等<sup>[16]</sup>也通过研究认为存在抑郁和焦虑状态的FD患者更易出现自主功能受损,从而影响胃肠道的感觉和运动。遗传性方面,Holtmann等<sup>[17]</sup>发现消化不良症状与G-蛋白 $\beta 3$ 亚族基因825位置的单核苷酸多态性基因型有关,这一发现也激发了很多在FD领域遗传学的研究<sup>[18-20]</sup>,并得出FD与遗传的关系可能随民族和地理区域的不同而改变<sup>[3]</sup>。其他因素在FD疾病中亦有可能起着较重要的作用。因此,我们认为胃动力异常和内脏高敏感性可能是功能性消化不良症状的直接因素,而其他因素在FD的发生、发展、相互作用过程中所起的作用亦不能忽视,但其病理生理学机制尚需进一步的研究。

**2.2 幽门螺杆菌的发现及其与FD的关系** *H. pylori*是发现于胃黏膜上皮细胞表面的一种革兰氏阴性细菌,他首先由Marshall和Warren两人分离出来<sup>[21]</sup>。*H. pylori*能够导致胃上皮黏膜层的慢性炎症,且全世界内约有50%的人感染*H. pylori*<sup>[22]</sup>。众多的人群基数研究显示<sup>[23]</sup>,与对照组相比,在消化不良患者的胃黏膜中更容易发现*H. pylori*。且国内外多数研究<sup>[24-30]</sup>显示,对*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗有助于FD症状的改善。因此,*H. pylori*感染被认为可能是引起FD症状的因素之一。

## 3 功能性消化不良与幽门螺杆菌之间相关性的研究

**3.1 根除幽门螺杆菌与功能性消化不良症状改善的关系** 多年来,*H. pylori*与FD之间的关系已经得到了广泛的研究,且目前国内外的主流共识意见对*H. pylori*阳性FD明确推荐根除*H. pylori*,然而先前的部分研究除了得出根除*H. pylori*在消除消化不良症状方面有轻微的优势外,其余研究资料尚不足以证明*H. pylori*感染与FD之间存在因果关系<sup>[2]</sup>。并且很多严格、高质量的随机、双盲对照临床研究对于根除*H. pylori*是否有助于改善FD症状的问题仍然存在高度争议<sup>[30,31]</sup>。McColl等<sup>[30]</sup>认为在治疗*H. pylori*感染的非溃疡性FD患者时,应用奥美拉唑和抗生素联合根除*H. pylori*感染比单独使用奥美拉唑更有可能缓解FD症状。而Blum等<sup>[31]</sup>则得出相反结论,他们认为对非溃疡性消化不良患者根除*H. pylori*不大

可能缓解FD症状。

一篇Meta分析<sup>[32]</sup>显示根除*H. pylori*能够明显地改善FD患者的症状, 但效果不明显: 在每15个经过治疗的患者中, 仅有1例可得到症状的完全消除。Moayyedi等<sup>[33]</sup>认为根除*H. pylori*的效果是微小的, 且绝大多数明确诊断为FD的患者将不会得到任何益处。考虑到这些结果, 很难使人相信幽门螺杆菌感染是功能性消化不良病理生理学机制的一个重要因素<sup>[3]</sup>。然而, 对FD患者进行根除*H. pylori*治疗仍得到了一些作者的认同<sup>[34]</sup>。这主要的益处或许不在于比安慰剂来说更为有效的症状缓解, 而是确保没有*H. pylori*相关性消化性溃疡引起的症状<sup>[35]</sup>。亚洲的*H. pylori*感染临床实践指导方针<sup>[36]</sup>主张对伴有*H. pylori*感染的FD予以根除*H. pylori*。然而, 他们也意识到这种措施的有限性, 这个声明或许是考虑到通过根除*H. pylori*来预防溃疡和癌症所给社会带来的益处。我国*H. pylori*感染处理的庐山共识(2007年)<sup>[2]</sup>, 推荐对“有消化不良症状的慢性胃炎”根除*H. pylori*, 也多是考虑根除*H. pylori*对FD患者所带来的其他益处, 包括: 改善胃黏膜组织学、预防消化性溃疡、有可能降低胃癌发病率等因素。

最近, Mazzoleni等<sup>[29]</sup>在巴西初级医疗中进行了一个大型随机对照试验, 得出对初级医疗中的*H. pylori*阳性FD患者应用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)三联疗法比应用PPI联合安慰剂抗生素更加有效, 而且得出这种疗效能够持续到治疗后的12 mo。他们认为从初级医疗中选择研究人群更富有代表性, 因此结果比先前的研究更为可靠。

我国众多学者在此方面也做了大量的研究, 除极少部分学者<sup>[37]</sup>得出*H. pylori*感染与FD之间并无相关联系之外, 大多数学者<sup>[24-27]</sup>认为根除*H. pylori*可在较长时间内改善FD症状。

**3.2 功能性消化不良疾病中幽门螺杆菌因素以往研究的不确定性** 目前普遍认为FD是多种因素综合作用的结果。而先前几乎所有调查FD与*H. pylori*关系的研究仅通过两个基本的、非常广泛的标准(罗马标准和正常上消化道内镜表现)来招募患者, 且几乎都没有控制引起FD症状的其他因素, 这必然使结果可信度低, 且得出不一致的结论<sup>[2,6,30,31]</sup>。回想起来, 这种方法是有缺陷的, 因为他假设所有的FD患者具有相似的病理生理学, 因而把所有的FD患者分在一个大的、非匀质的范畴里面<sup>[38]</sup>。

据此, Lacy等<sup>[38]</sup>提出建立新的实验设计方

法, 包括对FD患者进行准确的分类、重视合适目的症状的应用和使用生物标记、功能测试、问卷调查表。而Lacy等<sup>[38]</sup>仅根据罗马III标准把FD患者分类为上腹痛综合征和餐后不适综合征两类, 也没有考虑FD的社会心理学、生活方式、遗传等其他影响因素。因此, 我们在进行后续实验设计时, 或许需要把FD症状的诸多因素同时考虑在内, 严格控制其他影响因素, 这样得出的结果才具有可信性。

**3.3 功能性消化不良疾病中幽门螺杆菌因素的新观点** 根据罗马III标准, FD为一组症状群, 他着重强调消化不良症状。而*H. pylori*感染后自发清除少见, 长期感染则不可避免地形成慢性胃炎, 其则主要强调胃黏膜组织学改变<sup>[2]</sup>。因此, *H. pylori*阳性FD可被认为具有FD的症状, 同时也具有慢性胃炎的组织病理学改变。而仅少数(约30%)慢性胃炎患者可有消化不良症状, 这也与多数*H. pylori*感染患者不会有任何明显的临床症状相符<sup>[39]</sup>, 且与先前的多数研究得出根除*H. pylori*对部分*H. pylori*阳性FD患者有效相一致。因此, Moayyedi<sup>[40]</sup>认为根除*H. pylori*或许治疗了内镜下漏掉的消化性溃疡, 预防了随访期间消化性溃疡的发生。另一方面, 有学者<sup>[41]</sup>对*H. pylori*感染动物模型进行研究, 得出能够诱导出类似FD患者的胃感觉和运动异常症状。而Moayyedi<sup>[40]</sup>认为根除*H. pylori*减少了胃黏膜层的炎症, 导致胃动力问题的逆转, 但或许并不是*H. pylori*在其中起主要作用。因为在*H. pylori*感染阴性患者的上消化道中也能看到炎症改变<sup>[12]</sup>。Hu等<sup>[42]</sup>通过研究得出胃部其他细菌与*H. pylori*感染的伴发率很高, 这些非*H. pylori*性细菌或许也在胃部疾病中起着一定的重要作用。

因此, *H. pylori*阳性FD或许是两种疾病的重叠, *H. pylori*感染以及其他细菌所导致的消化不良症状应当被认为一种独立的疾病, 需要与FD本身相区别。Suzuki等<sup>[23]</sup>认为FD是一种高度异质性疾病, 传统的病理生理模式, 不足以解释观察到的现象变化。目前的主要症状分类也未能确定FD患者具体的治疗方法; 另一方面, *H. pylori*感染不仅在胃黏膜层, 而且在胃肌层和十二指肠都能够引起明显的炎症改变。并且*H. pylori*感染的诊断似乎比较同质化, 因此不能简单的把*H. pylori*相关性消化不良归类为非器质性疾病。Anagnostopoulos等<sup>[43]</sup>亦对目前FD疾病的诊断及治疗提出质疑。对*H. pylori*感染引起的消化不良, 他们认为这是由于*H. pylori*感染引起的器质性病

#### ■同行评价

本文对功能性消化不良与*H. pylori*之间关系的研究及一些观点做了综述, 具有一定指导意义。



变所引起,且这种病变能够通过内镜,尤其是放大内镜所观察到。此外,*H. pylori*感染还能影响一个重要的胃内分泌功能,如胃饥饿素动力学<sup>[44]</sup>。通过根除*H. pylori*,一定程度上能够逆转胃酸分泌和胃饥饿素水平<sup>[45-47]</sup>。这些生理机制改变的恢复或许能够说明根除*H. pylori*给*H. pylori*阳性患者消化不良症状所带来的有益效应。他们还认为在某些器质性消化不良患者中,患者的持续症状或许与FD症状具有重叠,这样才能更好地解释那些治疗“器质性疾病”后仍然消化不良的情况<sup>[48]</sup>。

然而,由于目前FD的病理生理学机制复杂多样,以往的FD与*H. pylori*相关性临床试验得出的结论也不一致。因此,单纯*H. pylori*感染与FD的确切关系还需要进一步的研究。

#### 4 结论

FD的病因涉及多种因素,且他们在引起FD症状表现的过程中相互影响,从而造成了FD病理生理学机制的复杂性<sup>[3]</sup>。*H. pylori*感染目前被认为可能与FD有关,且主流意见推荐对其进行根除*H. pylori*治疗。而我国是*H. pylori*高感染率国家,FD中*H. pylori*阳性患者占39%-87%,如果对如此大的人群进行根除*H. pylori*治疗,必须考虑其可能产生的其他不利影响,例如肠道菌群状态和耐药变化<sup>[49]</sup>。并且FD为多因素疾病,如果不对其其他影响因素进行控制,单从*H. pylori*阳性FD人群方面进行限制的研究,得出的结果必然可信度低。因此,*H. pylori*是否真正与FD有关?对*H. pylori*阳性FD根除*H. pylori*治疗是改善了FD的症状,还是通过改善胃黏膜组织学改变带来的影响?且*H. pylori*感染性消化不良是否需要排除于FD之外?这都需要我们设计更加精确的实验去明确根除*H. pylori*对FD症状的影响,且探究这种影响的深层病理生理学机制。相信在不久的将来,我们一定能够更好地治疗这种常见且代价昂贵的疾病。

#### 5 参考文献

- 1 Ford AC. Eradicating *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2012; 142: 1613-1614 [PMID: 22537648]
- 2 刘文忠. 幽门螺杆菌感染与非溃疡性消化不良. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 91-97
- 3 Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Matsumoto T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 53-60 [PMID: 21443711 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06633.x]
- 4 Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 187-194 [PMID: 19997854 DOI: 10.1007/s00535-009-0168-x]

- 5 Thompson WG, Heaton KW. Functional bowel disorders in apparently healthy people. *Gastroenterology* 1980; 79: 283-288 [PMID: 7399231]
- 6 Talley NJ, Vakil N. Guidelines for the management of dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2324-2337 [PMID: 16181387 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00225.x]
- 7 柯美云. 功能性胃肠病并非单纯性功能病. 中国实用内科杂志 2006; 26: 721-722
- 8 Pilichiewicz AN, Horowitz M, Holtmann GJ, Talley NJ, Feinle-Bisset C. Relationship between symptoms and dietary patterns in patients with functional dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 317-322 [PMID: 18929687]
- 9 Kusano M, Zai H, Hosaka H, Shimoyama Y, Nagoshi A, Maeda M, Kawamura O, Mori M. New frontiers in gut nutrient sensor research: monosodium L-glutamate added to a high-energy, high-protein liquid diet promotes gastric emptying; a possible therapy for patients with functional dyspepsia. *J Pharmacol Sci* 2010; 112: 33-36 [PMID: 20093786 DOI: 10.1254/jphs.09R08FM]
- 10 Gonlachanvit S. Are rice and spicy diet good for functional gastrointestinal disorders? *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 131-138 [PMID: 20535343 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.2.131]
- 11 Mahadeva S, Yadav H, Rampal S, Goh KL. Risk factors associated with dyspepsia in a rural Asian population and its impact on quality of life. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 904-912 [PMID: 20179699 DOI: 10.1038/ajg.2010.26]
- 12 Futagami S, Shindo T, Kawagoe T, Horie A, Shimpuku M, Gudis K, Iwakiri K, Itoh T, Sakamoto C. Migration of eosinophils and CCR2-/CD68-double positive cells into the duodenal mucosa of patients with postinfectious functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1835-1842 [PMID: 20461070 DOI: 10.1038/ajg.2010.151]
- 13 Miranda A. Early life stress and pain: an important link to functional bowel disorders. *Pediatr Ann* 2009; 38: 279-282 [PMID: 19476301]
- 14 Sherbourne CD, Edelen MO, Zhou A, Bird C, Duan N, Wells KB. How a therapy-based quality improvement intervention for depression affected life events and psychological well-being over time: a 9-year longitudinal analysis. *Med Care* 2008; 46: 78-84 [PMID: 18162859]
- 15 Miller V, Whorwell PJ. Hypnotherapy for functional gastrointestinal disorders: a review. *Int J Clin Exp Hypn* 2009; 57: 279-292 [PMID: 19459089 DOI: 10.1080/00207140902881098]
- 16 吴改玲, 蓝宇. 符合罗马Ⅲ标准FD患者心理测试及自主神经功能观察44例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1473-1477
- 17 Holtmann G, Siffert W, Haag S, Mueller N, Langkafel M, Senf W, Zotz R, Talley NJ. G-protein beta 3 subunit 825 CC genotype is associated with unexplained (functional) dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 126: 971-979 [PMID: 15057736]
- 18 Camilleri CE, Carlson PJ, Camilleri M, Castillo EJ, Locke GR, Geno DM, Stephens DA, Zinsmeister AR, Urrutia R. A study of candidate genotypes associated with dyspepsia in a U.S. community. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 581-592 [PMID: 16464220 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00481.x]

- 19 Oshima T, Nakajima S, Yokoyama T, Toyoshima F, Sakurai J, Tanaka J, Tomita T, Kim Y, Hori K, Matsumoto T, Miwa H. The G-protein beta3 subunit 825 TT genotype is associated with epigastric pain syndrome-like dyspepsia. *BMC Med Genet* 2010; 11: 13 [PMID: 20102604 DOI: 10.1186/1471-2350-11-13]
- 20 Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Wang F, Nakamura M, Sakata M, Hirata I, Nakano H. Homozygous 825T allele of the GNB3 protein influences the susceptibility of Japanese to dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 642-646 [PMID: 17717746 DOI: 10.1007/s10620-007-9923-0]
- 21 Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275 [PMID: 6134060]
- 22 Everhart JE. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 559-578 [PMID: 11030073]
- 23 Suzuki H, Nishizawa T, Hibi T. Can *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia be categorized as functional dyspepsia? *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 42-45 [PMID: 21443708 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06629.x]
- 24 吴叔明, 高琴琰, 潘燕, 张德中, 萧树东, 王杏梅, 叶凌云. 根除幽门螺杆菌对功能性消化不良的影响. *中华消化杂志* 2001; 21: 684-686
- 25 卢世建. 根除幽门螺杆菌治疗功能性消化不良. *临床医学* 2008; 28: 79-80
- 26 沈洲立, 陈秀英. 联合根除幽门螺杆菌治疗功能性消化不良362例的临床分析. *重庆医学* 2009; 38: 1779-1780
- 27 李爱平. 根除幽门螺杆菌在以罗马Ⅲ为诊断标准的功能性消化不良中的作用. *中国中医药咨讯* 2010; 2: 18-19, 27
- 28 de Artaza Varasa T, Valle Muñoz J, Pérez-Grueso MJ, García Vela A, Martín Escobedo R, Rodríguez Merlo R, Cuenca Boy R, Carrobes Jiménez JM. [Effect of *Helicobacter pylori* eradication on patients with functional dyspepsia]. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 532-539 [PMID: 19025303]
- 29 Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, Milbradt TC, Von Reisswitz PS, Berwanger O, Bressel M, Edelweiss MI, Marini SS, Molina CG, Folador L, Lunkes RP, Heck R, Birkhan OA, Spindler BM, Katz N, Colombo Bda S, Guerrieri PP, Renck LB, Grando E, Hocevar de Moura B, Dahmer FD, Rauber J, Prolla JC. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med* 2011; 171: 1929-1936 [PMID: 22123802 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.533]
- 30 McColl K, Murray L, El-Omar E, Dickson A, El-Nujumi A, Wirz A, Kelman A, Penny C, Knill-Jones R, Hilditch T. Symptomatic benefit from eradicating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. *N Engl J Med* 1998; 339: 1869-1874 [PMID: 9862941 DOI: 10.1056/NEJM199812243392601]
- 31 Blum AL, Talley NJ, O'Moráin C, van Zanten SV, Labenz J, Stolte M, Louw JA, Stubberöd A, Theodórs A, Sundin M, Bolling-Sternevald E, Jung-Oh O. Lack of effect of treating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. Omeprazole plus Clarithromycin and Amoxicillin Effect One Year after Treatment (OCAY) Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 1875-1881 [PMID: 9862942 DOI: 10.1056/NEJM199812243392602]
- 32 Laine L, Schoenfeld P, Fennerty MB. Therapy for *Helicobacter pylori* in patients with nonulcer dyspepsia. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2001; 134: 361-369 [PMID: 11242496]
- 33 Moayyedi P, Deeks J, Talley NJ, Delaney B, Forman D. An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2621-2626 [PMID: 14687807 DOI: 10.1016/j.amjgastroenterol.2003.07.003]
- 34 Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: new evidence for symptomatic benefit. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13 Suppl 2: S9-S11 [PMID: 11686231]
- 35 Holtmann G, Gapasin J. Failed therapy and directions for the future in dyspepsia. *Dig Dis* 2008; 26: 218-224 [PMID: 18463439 DOI: 10.1159/000121350]
- 36 Fock KM, Katelaris P, Sugano K, Ang TL, Hunt R, Talley NJ, Lam SK, Xiao SD, Tan HJ, Wu CY, Jung HC, Hoang BH, Kachintorn U, Goh KL, Chiba T, Rani AA. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1587-1600 [PMID: 19788600 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05982.x]
- 37 李尚勤, 孟丽秋. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的相关性研究. *医学综述* 2005; 11: 952-953
- 38 Lacy BE, Talley NJ, Camilleri M. Functional dyspepsia: time to change clinical trial design? *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2525-2529 [PMID: 21131922 DOI: 10.1038/ajg.2010.266]
- 39 McColl KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2010; 362: 1597-1604 [PMID: 20427808]
- 40 Moayyedi P. *Helicobacter pylori* eradication for functional dyspepsia: what are we treating? : comment on "*Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia". *Arch Intern Med* 2011; 171: 1936-1937 [PMID: 22123803 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.541]
- 41 Bercík P, De Giorgio R, Blennerhassett P, Verdú EF, Barbara G, Collins SM. Immune-mediated neural dysfunction in a murine model of chronic *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2002; 123: 1205-1215 [PMID: 12360482 DOI: 10.1053/gast.2002.36024]
- 42 Hu Y, He LH, Xiao D, Liu GD, Gu YX, Tao XX, Zhang JZ. Bacterial flora concurrent with *Helicobacter pylori* in the stomach of patients with upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1257-1261 [PMID: 22468090 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1257]
- 43 Anagnostopoulos GK, Yao K, Kaye P, Fogden E, Fortun P, Shonde A, Foley S, Sunil S, Atherton JJ, Hawkey C, Ragunath K. High-resolution magnification endoscopy can reliably identify normal gastric mucosa, *Helicobacter pylori*-associated gastritis, and gastric atrophy. *Endoscopy* 2007; 39: 202-207 [PMID: 17273960]
- 44 Osawa H, Nakazato M, Date Y, Kita H, Ohnishi H, Ueno H, Shiiya T, Satoh K, Ishino Y, Sugano K. Impaired production of gastric ghrelin in chronic gastritis associated with *Helicobacter pylori*. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 10-16 [PMID: 15483107 DOI: 10.1210/jc.2004-1330]
- 45 Iijima K, Ohara S, Sekine H, Koike T, Kato K, Asaki

- S, Shimosegawa T, Toyota T. Changes in gastric acid secretion assayed by endoscopic gastrin test before and after *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 2000; 46: 20-26 [PMID: 10601049 DOI: 10.1136/gut.46.1.20]
- 46 Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Hoshino H, Mutoh H, Ishino Y, Watanabe E, Satoh K, Sugano K. *Helicobacter pylori* eradication induces marked increase in H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-adenosine triphosphatase expression without altering parietal cell number in human gastric mucosa. *Gut* 2006; 55: 152-157 [PMID: 15872000 DOI: 10.1136/gut.2005.066464]
- 47 Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Nakazato M, Date Y, Bowlus CL, Ishino Y, Watanabe E, Shiiya T, Ueno H, Hoshino H, Satoh K, Sugano K. Changes in plasma ghrelin levels, gastric ghrelin production, and body weight after *Helicobacter pylori* cure. *J Gastroenterol* 2006; 41: 954-961 [PMID: 17096064 DOI: 10.1007/s00535-006-1880-4]
- 48 Sugano K. Should we still subcategorize *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia as functional disease? *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 366-371 [PMID: 22148105]
- 49 陈渝萍, 梁玉环, 龚飞跃, 孙达春. 功能性消化不良患者抗幽门螺杆菌治疗后肠道微生态变化及意义. *中华消化杂志* 2002; 22: 174

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

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



# NRP-1在大鼠肝纤维化组织中的表达及其与细胞外基质成分的相关性

魏海艳, 潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华

魏海艳, 江苏省阜宁县人民医院消化内科 江苏省盐城市 224400

潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001

魏海艳, 主治医师, 主要从事肝纤维化的研究。

**作者贡献分布:** 此课题由陆翠华与魏海艳设计; 研究过程由魏海艳完成; 免疫组织化学及RT-PCR部分由魏海艳在潘亮与黄华指导下完成; 数据处理由魏海艳与肖明兵完成; 论文写作由魏海艳与陆翠华完成。

**通讯作者:** 陆翠华, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科。  
lch670608@sina.com

收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-02-17

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

## Correlation between expression of neuropilin-1 and that of extracellular matrix components in liver fibrosis in rats

Hai-Yan Wei, Liang Pan, Hua Huang, Ming-Bing Xiao, Cui-Hua Lu

Hai-Yan Wei, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Funing City, Yancheng 224400, Jiangsu Province, China

Liang Pan, Hua Huang, Ming-Bing Xiao, Cui-Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Cui-Hua Lu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. lch670608@sina.com

Received: 2013-01-28 Revised: 2013-02-17

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of neuropilin-1 (NRP-1) in liver fibrosis in rats and to analyze its correlation with the expression of extracellular matrix components.

**METHODS:** Hepatic fibrosis was induced in rats using carbon tetrachloride. The mRNA and protein expression of NRP-1, collagen I, collagen III and  $\alpha$  smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in hepatic tissue of the rats was examined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-

PCR) and immunohistochemistry, respectively. Correlation between the expression of NRP-1 and that of collagen I, collagen III and  $\alpha$ -SMA was analyzed.

**RESULTS:** The expression of NRP-1,  $\alpha$ -SMA, collagen I, and collagen III proteins was low in the liver tissue of normal rats. In rats with experimental liver fibrosis, the expression of NRP-1,  $\alpha$ -SMA, collagen I, and collagen III proteins increased with the progression of hepatic fibrosis. At weeks 4 and 6, the expression of the above four proteins were significantly higher in liver fibrosis than in normal hepatic tissue (all  $P < 0.05$ ). NRP-1 mRNA expression in fibrotic liver tissue was significantly higher than that in normal hepatic tissue ( $P < 0.05$ ). Expression of  $\alpha$ -SMA, collagen I, and collagen III mRNAs was low in normal liver tissue but was significantly increased at weeks 2, 4, and 6 after injection of carbon tetrachloride. The expression of NRP-1,  $\alpha$ -SMA, collagen I, and collagen III mRNAs was gradually increased with the progression of hepatic fibrosis. NRP-1 expression had no apparent correlation with collagen I and collagen III expression at week 2, but showed a significant correlation at weeks 4 ( $r = 0.645, 0.530$ ) and 6 ( $r = 0.834, 0.613$ ). NRP-1 expression had a significant correlation with  $\alpha$ -SMA expression during the whole process of hepatic fibrosis ( $r = 0.621, 0.690, 0.820$ , all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** NRP-1 is overexpressed in hepatic fibrosis, which correlates with the expression of collagen I and collagen III.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatic fibrosis; Neuropilin-1; Hepatic stellate cell

Wei HY, Pan L, Huang H, Xiao MB, Lu CH. Correlation between expression of neuropilin-1 and that of extracellular matrix components in liver fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 685-689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.685>

## ■背景资料

肝纤维化是各种慢性肝损伤后组织修复过程中的代偿反应, 以细胞外基质(ECM)的大量沉积为主要病理特征, 是各种慢性肝病的共同病理过程。肝星状细胞(HSC)的活化与增殖在肝纤维化的发生发展中起主导作用,  $\alpha$ -平滑肌收缩蛋白( $\alpha$ -SMA)是HSC活化的标志。

## ■同行评议者

吴俊华, 副教授, 南京大学医学院; 钱林学, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院

## ■研究前沿

近年来随着细胞和分子生物学技术的发展,已经证实肝纤维化的发生发展是一个涉及多种细胞和细胞因子的复杂过程,HSC在肝纤维化形成中起关键作用。

## 摘要

**目的:** 研究神经纤毛蛋白1(neuropilin-1, NRP-1)在肝纤维化组织中的动态表达及其与细胞外基质成分的相关性。

**方法:** 将动物分为正常对照组和模型组,用CCl<sub>4</sub>复制肝纤维化模型,采用RT-PCR和免疫组织化学方法联合检测NRP-1、I、III型胶原和 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$  smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)在肝纤维化组织中的表达并进行统计学分析。

**结果:** 随着肝纤维化程度的加重,NRP-1、 $\alpha$ -SMA和I、III型胶原的表达均逐步增加。在2 wk时NRP-1与I、III型胶原的相关性不明显,但与 $\alpha$ -SMA呈显著相关,其相关系数为0.621;在4 wk时与I、III型胶原和 $\alpha$ -SMA的相关系数分别为0.645、0.530和0.690;在6 wk时与I、III型胶原和 $\alpha$ -SMA的相关系数分别为0.834、0.613和0.820。

**结论:** NRP-1在肝纤维化的发生发展中起重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 肝纤维化; 神经纤毛蛋白1; 肝星状细胞

魏海艳, 潘亮, 黄华, 肖明兵, 陆翠华. NRP-1在大鼠肝纤维化组织中的表达及其与细胞外基质成分的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 685-689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.685>

## 0 引言

肝纤维化是各种慢性肝损伤后组织修复过程中的代偿反应,以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的大量沉积为主要病理特征,是各种慢性肝病的共同病理过程<sup>[1]</sup>。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的活化与增殖在肝纤维化发生发展中起主导作用<sup>[2,3]</sup>, $\alpha$ -平滑肌收缩蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)是HSC活化的标志<sup>[4]</sup>。Cao首次发现在体外培养的人和大鼠活化的HSC中,神经纤毛蛋白(neuropilin-1, NRP-1)呈明显高表达。为了进一步研究NRP-1在肝纤维化发生中的作用,本研究在大鼠肝纤维化模型上,检测NRP-1与 $\alpha$ -SMA及I、III型胶原在肝纤维化组织中的动态表达,以进一步探讨NRP-1在肝纤维化发生发展中的作用及其与细胞外基质的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ SD大鼠40只,体质量150-180 g,由南通大学动物实验中心提供;兔抗大鼠 $\alpha$ -SMA、I、III型胶原均购自武汉博士得生物工程公司;兔抗大鼠NRP-1购自上海晶天生物工程公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 随机分成正常对照组(8只)和模型组(32只)。肝纤维化制备:用橄榄油配成60%CCl<sub>4</sub>溶液,每100 g体质量0.3 mL大鼠皮下注射,2次/wk,共6 wk。正常对照组用同样方法皮下注射橄榄油。模型组动物第5周和第6周末各死亡1只,其余无死亡。剩余大鼠在第2、4、6周末分批处死,动物处死时距离末次CCl<sub>4</sub>注射时间为72 h,动物被处死后取出肝组织,一部分采用液氮快速冻存,另一部分用40 g/L甲醛固定,用于免疫组织化学检测及纤维化组织病理学观察。

**1.2.2 免疫组织化学方法检测NRP-1、 $\alpha$ -SMA及I、III型胶原的表达:** 所需肝组织由40 g/L甲醛固定,脱水,石蜡切片,脱蜡至水,自动免疫组织化学染色仪染色,苏木素复染,0.1% HCl分化,自来水冲洗,蓝化,切片经梯度乙醇脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固。显微镜观察以出现明显棕黄色或褐色为阳性。在高倍镜下,每张切片随机观察5个高倍视野,每个视野计数至少200个细胞,结果判定标准:阴性(-):阳性细胞数<5%;弱阳性(+):阳性细胞数5%-25%;中等阳性(++):阳性细胞数25%-50%;强阳性(+++):阳性细胞数>50%。同时设PBS为阴性对照。

**1.2.3 RT-PCR检测NRP-1与 $\alpha$ -SMA、I、III型胶原基因的表达:** TRIzol法提取肝组织总RNA,每样本取RNA 5  $\mu$ g为逆转录模板,NRP-1、 $\alpha$ -SMA、I、III型胶原的引物各1对,其序列分别为:NRP-1:上游引物:5'-CCGCTCTGGCTGTCCCGTCC-3',下游引物:5'-AAGGCCCGCAGGGTCTCTGT-3',片段大小423 bp; $\alpha$ -SMA上游引物:5'-CAGCGATAAACCAACAACA-3',下游引物:5'-ATAGGGACCTCAGCACAAA-3',片段大小570 bp;I型胶原:上游引物:5'-GGCAAGACAGTCATCGAATACA-3',下游引物:5'-GATTGGGATGGAGGGAGTTTA-3',片段大小147 bp;III型胶原上游引物:5'-CCACCCTGAACCTCAAGAGC-3',下游引物:5'-TGAAGTGAAGCCACCATT-3',片段大小212 bp;内参GAPDH上游引物:5'-AACGACCCCTTCATTGAC-3',下游引物:5'-TCCACGACATACTCAGCAC-3',片段大小191 bp。按两步法RT-PCR试

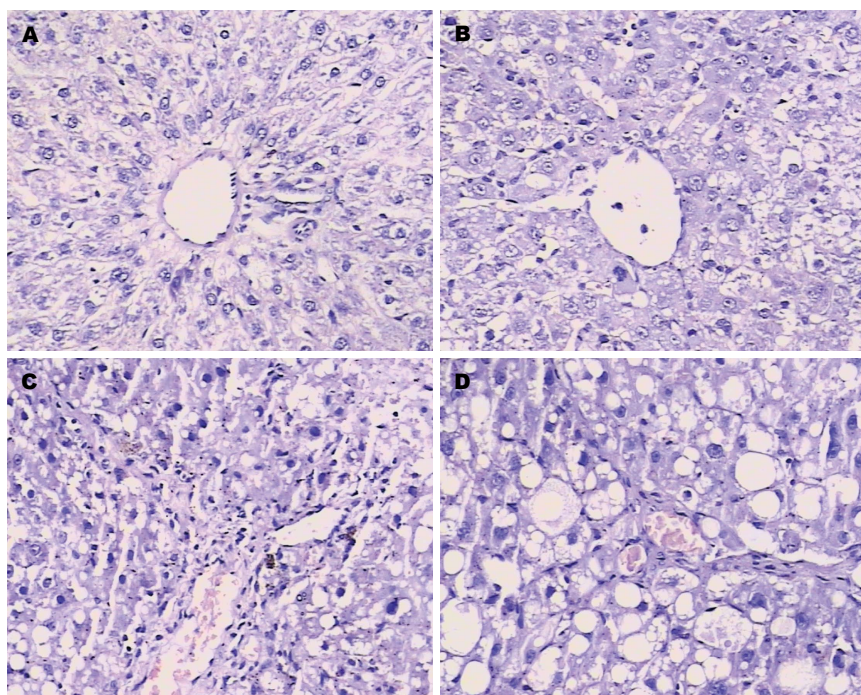


图1 肝脏病理HE染色( $\times 100$ ). A: 对照组; B: 2 wk组; C: 4 wk组; D: 6 wk组.

■应用要点  
NRP-1有望成为  
肝纤维化治疗的  
新靶点.

剂盒(美国GENMED公司产品)操作说明逆转录cDNA, 并进行PCR扩增, 反应条件:  $95^{\circ}\text{C}$  2 min;  $95^{\circ}\text{C}$  退火30 s,  $55^{\circ}\text{C}$  变性1 min,  $70^{\circ}\text{C}$  延伸30 s, 共35个循环;  $70^{\circ}\text{C}$  5 min. PCR产物经1.7%琼脂糖电泳采用灰度扫描经与内参照比较分析后计算NRP-1与 $\alpha$ -SMA、I、III型胶原mRNA的表达水平.

**统计学处理** 所有数据由SPSS13.0统计软件进行分析. 免疫组织化学资料采用秩和检验分析统计. 计量数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 $t$ 检验、方差分析进行统计学处理, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 光镜下HE染色形态学变化** 模型组随着 $\text{CCl}_4$ 注射时间的延长, HE染色显示大鼠肝细胞出现明显的脂肪变性坏死及炎细胞浸润, 逐渐出现汇管区扩大, 汇管区胶原纤维沉积, 结缔组织增生明显并自汇管区呈放射状扩展, 向小叶周围延伸(图1).

**2.2 免疫组织化学观察NRP-1、 $\alpha$ -SMA和I、III型胶原蛋白的表达** NRP-1与I、III型胶原在正常对照组均微量表达, 主要分布于门静脉、汇管区及中央静脉周围, 而 $\alpha$ -SMA表达阴性. 至2 wk末, 上述4种蛋白表达开始增加, 并随着 $\text{CCl}_4$ 注射时间的延长, 肝纤维化程度的加重, 其表达亦逐渐增加, 至第6周时, 表达达高峰.

**2.3 半定量RT-PCR检测NRP-1、 $\alpha$ -SMA及I、**

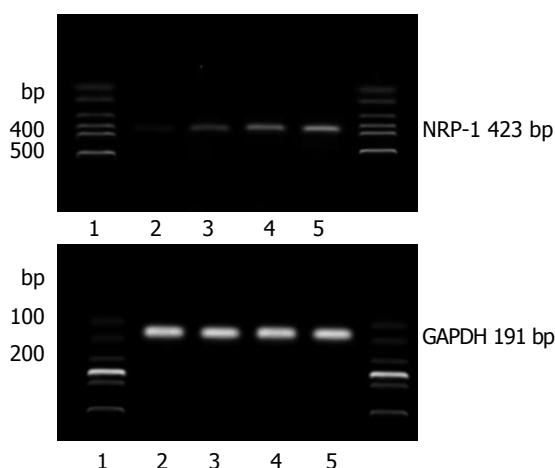


图2 NRP-1 mRNA在各组中的表达. 1: DNA Marker; 2: 正常对照组; 3: 2 wk模型组; 4: 4 wk模型组; 5: 6 wk模型组.

**III型胶原的表达** 在正常对照组和各肝纤维化模型组, 均扩增出NRP-1 mRNA片段, NRP-1 mRNA在第2、4、6周表达逐渐增强. 经灰度扫描和与内参照比较分析, NRP-1 mRNA在正常组、2 wk、4 wk和6 wk各组中的相对含量分别为 $0.199 \pm 0.38$ 、 $0.529 \pm 0.13$ 、 $1.045 \pm 0.13$ 和 $2.018 \pm 0.42$ , 模型第2、4、6周NRP-1 mRNA的表达与正常对照组相比较差异有显著性,  $P < 0.05$ . 模型组各组间的比较差异均有显著性,  $P < 0.05$ (图2).

**2.4 半定量RT-PCR检测 $\alpha$ -SMA、I、III型胶原mRNA的表达** 在正常组和各肝纤维化模型组, 均分别扩增出 $\alpha$ -SMA、I、III型胶原mRNA的条带, 其大小分别为570、147和212 bp, 内参照GAPDH扩增片段为191 bp. 上述3种mRNA在第



## ■同行评价

本文内容很好,具有一定指导意义。

2、4、6周表达逐渐增强。经灰度扫描和与内参照比较分析,其mRNA表达与正常对照组相比较均有显著差异,  $P < 0.05$ 。模型各组间的两两比较差异均有显著性,  $P < 0.05$ 。

2.5 半定量RT-PCR分析及相关性比较 随着CCL<sub>4</sub>注射时间的延长, NRP-1表达的增加,  $\alpha$ -SMA、I、III型胶原mRNA的表达逐渐增加,到第6周时上述4种mRNA的表达达高峰,第2周时NRP-1与I、III型胶原的相关性不明显,但与 $\alpha$ -SMA明显相关,其相关系数为0.621;第4周时其与I、III型胶原、 $\alpha$ -SMA的相关系数分别为0.645、0.530和0.690;第6周时其与I、III型胶原、 $\alpha$ -SMA的相关系数分别为0.834、0.613和0.820,上述相关均有显著性,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

近年来随着细胞和分子生物学技术的发展,已经证实肝纤维化的发生发展是一个涉及多种细胞和细胞因子的复杂过程<sup>[5]</sup>, HSC是肝纤维化形成中起关键作用的细胞。正常情况下HSC处于静止状态,  $\alpha$ -SMA表达阴性,在慢性损伤及炎症刺激下, HSC的表型发生转化,由一般状况时的静止状态激活并向纤维母细胞转化,  $\alpha$ -SMA开始表达<sup>[6-8]</sup>, 他的激活和增殖引起肝脏ECM合成增加、降解减少,还分泌层黏蛋白、蛋白多糖等其他ECM,构成肝纤维化发生、发展的基础,是整个肝纤维化发生发展的中心环节。在这一过程中转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)以及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )发挥着重要调控作用<sup>[9-12]</sup>。目前临床研究仍致力于抑制HSC的活性、控制其增殖和减少其胶原蛋白的分泌,达到抗肝纤维化的作用。

NRP-1是1995年Satoda等<sup>[13]</sup>首次报道的相对分子质量为 $1.3 \times 10^5$ 的一种跨膜糖蛋白,他最初被发现于形成中的神经纤维轴突上,是信号素3A(Sema3A)和血管内皮生长因子165(VEGF<sub>165</sub>)的受体,他主要表达于神经系统、心血管系统及骨骼系统,目前他与肿瘤的相关性研究很多,但国内外关于NRP-1与肝纤维化关系的研究尚少。

本实验中分别采用RT-PCR法和免疫组织化学法联合检测NRP-1、 $\alpha$ -SMA及I、III型胶原肝纤维化发展过程中的表达情况,结合统计学分析显示,随着肝纤维化程度的加重, NRP-1与

$\alpha$ -SMA在肝组织中的表达均同步增加,两者呈动态显著相关。提示NRP-1可能与HSC的活化有关。Cao等<sup>[14]</sup>的研究表明,在丙肝和脂肪肝引起的两种大鼠肝纤维化模型中, NRP-1高表达于肝纤维化组织中,且与TGF- $\beta$ 1的高表达相伴,结合本研究我们推测NRP-1可能通过上调TGF- $\beta$ 1而促进HSC的活化,促进肝纤维化的发生。本研究还发现,在2 wk时NRP-1与I、III型胶原的相关性不明显,表明在早期I、III型胶原尚存在着不同程度地降解,4、6 wk时 NRP-1与I、III型胶原的相关系数分别为0.645、0.530及0.834、0.613,进一步说明了NRP-1在肝纤维化发生发展中的作用。有研究表明, NRP-1可以通过选择性地作用于小GTP蛋白的Rac-1,促进PDGF受体 $\beta$ 亚单位与HSC的结合,促进PDGF在HSC内的信号转导,增强Rac-1通路下游PDGF受体 $\beta$ 亚单位的磷酸化作用,发挥刺激HSC增殖和迁移的作用<sup>[13]</sup>。因此我们推测, NRP-1一方面能增强TGF- $\beta$ 1的表达,促进HSC的活化,另外尚增强PDGF在HSC内的信号转导,增强了HSC增殖活性。因此, NRP-1有望为肝纤维化的治疗提供新的靶点。

### 4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parson CJ, Ripple RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Clin Acta* 2006; 364: 33-60 [DOI: 10.1016/j.cca.2005.06.014]
- 2 Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27 [PMID: 12466770]
- 3 Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: d69-d77 [PMID: 12456323 DOI: 10.2741/887]
- 4 李志刚, 杨晋翔, 张伟. 甘心宁对大鼠肝纤维化 $\alpha$ -SMA、MMP-13及TIMP-1蛋白表达的影响. *北京中医药* 2009; 28: 56-558
- 5 Liu Y, Wang Z, Wang J, Lam W, Kwong S, Li F, Friedman SL, Zhou S, Ren Q, Xu Z, Wang X, Ji L, Tang S, Zhang H, Lui EL, Ye T. A histone deacetylase inhibitor, largazole, decreases liver fibrosis and angiogenesis by inhibiting transforming growth factor- $\beta$  and vascular endothelial growth factor signalling. *Liver Int* 2012 Oct 30. [Epub ahead of print] [PMID: 23279742]
- 6 Qi Z, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A, Ueno H. Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2345-2349 [PMID: 10051644 DOI: 10.1073/pnas.96.5.2345]
- 7 武稀润, 吕敏和, 王绮, 师水生, 郭文栋.  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达及血浆转化生长因子 $\beta$ 1变化在肝纤维化发生发展中的作用. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 400-402
- 8 王欣欣, 郎振为, 孟忻, 孙琳, 王泰龄, 赵景民, 张世杰.  $\alpha$ -SMA在慢性乙型病毒性肝炎肝组织中的表达. *临床肝胆病杂志* 2005; 21: 76-78
- 9 Flisiak R, Maxwell P, Prokopowicz D, Timms PM,

- Panasiuk A. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and transforming growth factor beta 1--possible non-invasive biomarkers of hepatic fibrosis in patients with chronic B and C hepatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1369-1372 [PMID: 12239944]
- 10 Campbell JS, Hughes SD, Gilbertson DG, Palmer TE, Holdren MS, Haran AC, Odell MM, Bauer RL, Ren HP, Haugen HS, Yeh MM, Fausto N. Platelet-derived growth factor C induces liver fibrosis, steatosis, and hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3389-3394 [PMID: 15728360 DOI: 10.1073/pnas.0409722102]
- 11 Friedman SL, Arthur MJ. Activation of cultured rat hepatic lipocytes by Kupffer cell conditioned medium. Direct enhancement of matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J Clin Invest* 1989; 84: 1780-1785 [PMID: 2556445 DOI: 10.1172/JCI114362]
- 12 Wong L, Yamasaki G, Johnson RJ, Friedman SL. Induction of beta-platelet-derived growth factor receptor in rat hepatic lipocytes during cellular activation in vivo and in culture. *J Clin Invest* 1994; 94: 1563-1569 [PMID: 7929832 DOI: 10.1172/JCI117497]
- 13 Satoda M, Takagi S, Ohta K, Hirata T, Fujisawa H. Differential expression of two cell surface proteins, neuropilin and plexin, in *Xenopus* olfactory axon subclasses. *J Neurosci* 1995; 15: 942-955 [PMID: 7823191]
- 14 Cao S, Yaqoob U, Das A, Shergill U, Jagavelu K, Huebert RC, Routray C, Abdelmoneim S, Vasdev M, Leof E, Charlton M, Watts RJ, Mukhopadhyay D, Shah VH. Neuropilin-1 promotes cirrhosis of the rodent and human liver by enhancing PDGF/TGF-beta signaling in hepatic stellate cells. *J Clin Invest* 2010; 120: 2379-2394 [PMID: 20577048 DOI: 10.1172/JCI41203]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

### 1 修回稿信件

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

### 2 稿件修改

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

### 3 版权

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

## 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例

黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲

### ■背景资料

无痛胃镜是在胃镜检查过程中, 经静脉给予患者适当的麻醉镇静剂, 使受检者在安静、舒适、无痛苦的状态下完成胃镜诊治的一种新技术。因为常规胃镜不仅在身体上而且在精神上给患者特别是老年人带来痛苦, 无痛胃镜则克服了上述缺点, 促进了该技术在临床上的应用和推广。

黎永军, 齐翠花, 石河子大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

田江, 吴秀玲, 石河子大学第三附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

黎永军, 副主任医师, 主要从事消化内科及内窥镜医疗、教学及科研工作。

作者贡献分布: 本文研究设计由黎永军完成; 手术治疗中麻醉由吴秀玲完成; 齐翠花与田江共同参与本研究。

通讯作者: 黎永军, 副主任医师, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。

liyongjun012345@sina.com

收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-02-28

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

### Use of propofol versus propofol combined with fentanyl during painless gastroscopy in elderly patients

Yong-Jun Li, Cui-Hua Qi, Jiang Tian, Xiu-Ling Wu

Yong-Jun Li, Cui-Hua Qi, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jiang Tian, Xiu-Ling Wu, Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Yong-Jun Li, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. liyongjunandhua@163.com

Received: 2012-12-27 Revised: 2013-02-28

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

### Abstract

**AIM:** To assess the advantages and disadvantages of two intravenous anesthesia strategies used for painless gastroscopy in elderly patients.

**METHODS:** Sixty elderly patients who underwent gastroscopy at our hospital from May 2008 to February 2011 were included. The patients were randomly and equally divided into two groups (A and B) and underwent treatment with either intravenous propofol or propofol combined with fentanyl. The OAAS criteria were adopted, and a score < 2 was used as the critical value. Those who did not reach the critical value were additionally given propofol 10-30 mg. The time required for reaching the critical value, recovery time, and orientation recovery time were compared. Using

the time point at 20 min prior to anesthesia as the basic point, the heart rate (HR), blood pressure (BP), respiratory rate (RR), and SPO<sub>2</sub> at 5 min after anesthesia were compared.

**RESULTS:** All the 60 patients felt asleep and completed gastroscopy. 46 cases waked up 1-5 min after gastroscopy, and 14 cases became completely conscious in 15 min. Both the time of reaching the critical value and anaesthesia in group A were significantly lower than those in group B (19.5 min ± 2.6 min vs 14.9 min ± 3.1 min, 17.5 min ± 2.2 min vs 11.1 min ± 1.7 min, both  $P < 0.01$ ). The orientation recovery time did not significantly differed between the two groups ( $P > 0.05$ ). HR, BP, RR, and SPO<sub>2</sub> were all decreased to some extent in both groups in the first 5 min. The decreasing amplitude of HR in group A was significantly higher than that in group B (-9.9 time/min ± 5.1 time/min vs -13.2 time/min ± 4.7 time/min,  $P < 0.05$ ), but the decreasing amplitude of systolic pressure was significantly lower in group A than in group B ( $P < 0.01$ ). The decreasing amplitude of RR and SPO<sub>2</sub> showed no significant difference between the two groups (both  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Intravenous propofol combined with fentanyl is an effective and safe anesthesia method in painless endoscopy in elderly patients, with less stimulation of pharyngeal reflex and less effect on the circulatory and respiratory systems.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Gastroscopy; Aged; Fentanyl

Li YJ, Qi CH, Tian J, Wu XL. Use of propofol versus propofol combined with fentanyl during painless gastroscopy in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 690-693 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.690>

### 摘要

**目的:** 观察老年人应用异丙酚、芬太尼联合异丙酚两种不同静脉麻醉方法行无痛胃镜检查的优劣性。

**方法:** 选取2008-05/2011-02于我院就诊的行胃

### ■同行评议者

邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科; 王承党, 教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科



镜检查的老年患者60例为研究对象, 随机分为A、B两组, 各30例, 分别应用异丙酚、芬太尼联合异丙酚浅静脉麻醉, 采用警觉与镇静评分(OAA/S)标准评分 $\leq 2$ 分为无痛胃镜检查的界值, 未达到界值者酌情应用异丙酚10-30 mg追加使用。比较分析两组达到无痛检查界值的时间、苏醒时间及定向力恢复时间。以麻醉前20 min检查结果为基点, 比较分析两组患者检查中5 min时心率(heart rate, HR)、血压(blood pressure, BP)、呼吸(respiratory rate RR)、动脉血氧分压(partial pressure of oxygen in arterial blood, SPO<sub>2</sub>)波动情况。

**结果:** 本组60例均安静入睡, 完成胃镜诊疗, 其中于诊疗结束1-5 min内苏醒46例, 15 min内完全清醒14例; A组患者达到无痛检查界值时间 $19.5 \text{ min} \pm 2.6 \text{ min}$ 及苏醒时间 $17.5 \text{ min} \pm 2.2 \text{ min}$ 均显著低于B组患者 $14.9 \text{ min} \pm 3.1 \text{ min}$ 、 $11.1 \text{ min} \pm 1.7 \text{ min}$  ( $P < 0.01$ ), 两组患者定向力恢复时间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO<sub>2</sub>均有所下降, 其中A组HR下降幅度 $-9.9 \text{ 次/min} \pm 5.1 \text{ 次/min}$ 高于B组 $-13.2 \text{ 次/min} \pm 4.7 \text{ 次/min}$  ( $P < 0.05$ ), 但收缩压下降幅度显著低于B组 ( $P < 0.01$ ); 两组RR、SPO<sub>2</sub>、下降幅度差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**结论:** 芬太尼联合异丙酚静脉麻醉对老年人有减轻咽反射刺激的作用, 对呼吸、循环系统影响小, 是一种安全有效的麻醉方法。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 胃镜检查; 老年人; 芬太尼

黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲. 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 690-693  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.690>

## 0 引言

无痛胃镜是在胃镜检查过程中, 经静脉给予患者适当的麻醉镇静剂, 使受检者在安静、舒适、无痛苦的状态下完成胃镜诊治的一种新技术。因为常规胃镜不仅在身体上而且在精神上给患者特别是老年人带来痛苦, 无痛胃镜则克服了上述缺点, 促进了该技术在临床上的应用和推广。异丙酚具有起效快、复苏快等优点, 常应用于无痛胃镜麻醉, 但其镇痛作用弱, 所用剂量大, 常与其他药物联合使用。因此, 选择科学合理的药物配伍, 以提高麻醉效果, 保证麻醉安

全, 减少不良反应一直是无痛胃镜检查过程中所关注的课题。我院于2008-05/2011-02对60例老年患者采用异丙酚、芬太尼联合异丙酚浅静脉麻醉行无痛胃镜检查的效果进行研究, 现将研究结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2008-05/2011-02于我院就诊的行胃镜检查的老年患者60例为研究对象。入选标准: (1)老年患者, 年龄60-90岁; (2)具有上腹部疼痛及饱胀、反酸、纳差、烧心等消化不良病史; (3)无麻醉药物过敏史。检查前签署胃镜及经静脉药物麻醉知情同意书。所有入选患者随机分为两组: 异丙酚组(A组)、芬太尼联合异丙酚组(B组)。

### 1.2 方法

**1.2.1 检查前准备:** 检查前患者禁食6-8 h; 右前臂浅静脉建立静脉通道; 左侧卧位, 给予1.5-3.0 L/min持续吸氧, 心电监护, 包括心率(heart rate, HR)、血压(blood pressure, BP)、呼吸(respiratory rate, RR)、动脉血氧分压(partial pressure of oxygen in arterial blood, SPO<sub>2</sub>), 固定好牙垫。

**1.2.2 麻醉方法:** A组患者接受异丙酚1.5-2.0 mg/kg缓慢静脉注射; B组患者经麦菲试管先滴入芬太尼0.01-0.02 mg/kg, 然后静脉注射异丙酚(方法同A组)。在操作过程中, 未达到界值者酌情应用异丙酚10-30 mg追加使用。

**1.2.3 观察指标:** 观察患者意识, 睡眠状态、睫毛反射、肢体活动、呼吸情况; 采用警觉与镇静评分(OAA/S)标准进行评分, 设评分 $\leq 2$ 分为无痛胃镜检查的界值。比较两组达到无痛检查界值的时间、苏醒时间及定向力恢复时间。以麻醉前20 min检查结果为基点, 比较分析两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO<sub>2</sub>波动情况。

**统计学处理** 应用SPSS11.0软件处理数据, 采用 $\chi^2$ 检验, 有统计学差异。  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料** 本组60例均为我院门诊和住院患者, 男33例, 女27例, 年龄60-84岁, 平均 $64.7 \text{ 岁} \pm 8.1 \text{ 岁}$ , 其中合并高血压36例, 冠心病9例, 心电图示心肌缺血7例, 心房颤动2例, 右前分支传导阻滞2例, 糖尿病且血糖平稳4例, 慢性支气管炎、阻塞性肺气肿4例。其中, A组男16例, 女14例, 年龄62-83岁, 平均 $65.3 \text{ 岁} \pm 6.7 \text{ 岁}$ ; B组男17例, 女13例, 年龄60-84岁, 平均 $64.9 \text{ 岁} \pm 7.3 \text{ 岁}$ , 两

### ■ 研发前沿

异丙酚具有起效快、复苏快等优点, 常应用于无痛胃镜麻醉, 但其镇痛作用弱, 所用剂量大, 常与其他药物联合使用。

## ■应用要点

芬太尼联合异丙酚具有更好的安全性,尤其可减轻由于血压降低引起的代偿性心率加快,从而有效减少心肌耗氧量,减轻心脏负荷。

表 1 两组达到无痛阈值、苏醒、定向力恢复时间的比较 (mean  $\pm$  SD,  $n = 30$ , min)

分组	达到无痛检查阈值时间	苏醒时间	定向力恢复时间
A组	19.5 $\pm$ 2.6	17.5 $\pm$ 2.2	11.5 $\pm$ 2.8
B组	14.9 $\pm$ 3.1	11.1 $\pm$ 1.7	10.8 $\pm$ 1.8
<i>t</i> 值	6.227	12.608	1.153
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	>0.05

A组: 异丙酚组; B组: 芬太尼联合异丙酚组。

表 2 两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO<sub>2</sub>波动情况比较 ( $n = 30$ )

	HR(次/min)	BP(mmHg)		RR(次/min)	SPO <sub>2</sub> (%)
		收缩压	舒张压		
A组	-9.9 $\pm$ 5.1	-11.4 $\pm$ 3.7	-3.2 $\pm$ 1.4	-5.5 $\pm$ 1.8	-4.2 $\pm$ 1.3
B组	-13.2 $\pm$ 4.7	-8.7 $\pm$ 2.5	-2.9 $\pm$ 1.6	-5.1 $\pm$ 2.0	-4.5 $\pm$ 1.1
<i>t</i> 值	2.605	-3.312	-0.773	-0.814	0.965
<i>P</i> 值	<0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05

HR: 心率; BP: 血压; RR: 呼吸; SPO<sub>2</sub>: 动脉血氧分压。

组在性别、年龄、病情等差异均无统计学意义,  $P > 0.05$ 。

2.2 试验完成情况 60例患者均安静入睡, 完成胃镜检查。

2.3 无痛检查阈值时间及苏醒时间 B组患者达到无痛检查阈值时间及苏醒时间均显著低于A组患者( $P < 0.01$ ), 两组患者定向力恢复时间无显著性差异( $P > 0.05$ , 表1)。

2.4 生命征和SPO<sub>2</sub>变化 在检查过程中, 两组5 min时的HR、BP、RR、SPO<sub>2</sub>均有所下降, 其中B组HR下降幅度高于A组( $P < 0.05$ ), 但收缩压下降幅度显著低于A组( $P < 0.01$ ); 两组RR、SPO<sub>2</sub>下降幅度无显著性差异( $P > 0.05$ , 表2)。

2.5 不良反应 检查过程中共有3例(A组1例、B组2例)血压下降至70/50 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)以下, 静脉注射麻黄素10 mg好转; 3例(A组2例、B组1例)心率降至50次/min左右, 经阿托品0.5-1.0 mg静脉注射恢复正常。两组间差异均无统计学意义,  $P > 0.05$ 。

### 3 讨论

我国已进入老龄化时代, 老年消化系统疾病患者逐年增多, 胃镜检查患者中老年人所占比重越来越高<sup>[1-3]</sup>。作为诊断消化系统疾病最直观的方法之一, 传统的胃镜检查存在操作时间长、痛苦大、患者耐受性差等缺陷, 尤其老年患者对胃镜检查的恐惧及咽部刺激引起的应激性的心、

肺负荷增大, 可发生严重并发症<sup>[4,5]</sup>。随着麻醉技术的进步, 无痛胃镜检查技术得到兴起并逐步推广, 其具有操作时间短、安全性高、耐受性好等优势日益显现。目前国内常用的无痛胃镜检查药物种类较多, 使用方法也不尽相同<sup>[6]</sup>。

我们对异丙酚、芬太尼联合异丙酚浅静脉麻醉行无痛胃镜检查的效果进行研究, 结果显示: 本组60例均安静入睡, 完成胃镜检查, 其中于诊疗结束1-5 min内苏醒46例, 15 min内完全清醒14例。提示无痛胃镜检查具有较高的安全性。两组比较, B组患者达到无痛检查阈值时间及苏醒时间均显著低于A组患者( $P < 0.01$ ), 两组患者定向力恢复时间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 表明芬太尼联合异丙酚在无痛胃镜检查中具有起效快、效果稳定, 安全性高等特点。两组患者检查中5 min时HR、BP、RR、SPO<sub>2</sub>均有所下降, 是应用麻醉药物的正常反应。其中B组HR下降幅度高于A组( $P < 0.05$ ), 但收缩压下降幅度显著低于A组( $P < 0.01$ ); 表明芬太尼联合异丙酚具有更好的安全性, 尤其可减轻由于血压降低引起的代偿性心率加快, 从而有效减少心肌耗氧量, 减轻心脏负荷。

芬太尼为阿片受体激动剂, 属强效麻醉性镇痛药, 镇痛作用产生快, 但持续时间较短<sup>[7-10]</sup>; 异丙酚常用于全身麻醉的诱导和维持, 常与脊髓麻醉和硬脊膜外麻醉同时应用<sup>[11-15]</sup>。异丙酚和通常的麻醉前给药如神经肌肉阻滞药, 吸入麻醉

药以及镇痛药同用, 能抑制应激激素的分泌和心血管反应<sup>[7]</sup>. 研究发现, 芬太尼联合异丙酚在胃镜检查中具有协调作用<sup>[16-18]</sup>, 可通过扩张外周血管, 减少外周阻力, 降低心肌耗氧量, 使心肌整体对氧供/需保持相对平衡<sup>[19]</sup>.

临床实践发现, 在老年患者实施无痛胃镜检查过程中, 要注意以下几个方面: (1)推药速度不宜过快; (2)需要有经验的麻醉医师协作, 并预备好急救设备; (3)严密监测HR、BP、RR、SPO<sub>2</sub>等生命体征; (4)术后应有专人观察苏醒过程, 避免摔倒或坠床; (5)术后禁食禁水2 h, 防止术后出血、呛咳、误吸等情况<sup>[10]</sup>.

#### 4 参考文献

- 徐富星, 季大年. 无痛消化内镜技术临床应用现状. 中国实用内镜杂志 2005; 25: 221-222
- Clark J, Voss L, Barnard J, Sleight J. Implicit memory formation in sedated ICU patients after cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2003; 91: 810-814 [PMID: 14633750 DOI: 10.1093/bja/aeg274]
- 苗茜, 崔东风, 刘跃民. 不同静脉麻醉药复合异丙酚用于胃镜检查术的对比观察. 重庆医学 2009; 38: 965-967
- 徐灿霞, 姜希望, 唐五良, 肖定华. 异丙酚和咪唑安定在胃镜检查中的应用研究. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 327-330
- 李群, 吴新民, 蒋建渝. 靶控输注芬太尼对异丙酚的药动力学的影响. 中华麻醉学杂志 2003; 23: 737-739
- Tagle M, Siu H, Ramos M. [Propofol in combination with meperidine and midazolam in colonoscopy and upper endoscopy: first prospective study in private practice in Peru]. *Rev Gastroenterol Peru* 2007; 27: 367-373 [PMID: 18183278]
- 郭廷俊. 不同剂量芬太尼复合异丙酚麻醉用于胃镜检查术的效果比较. 重庆医学 2009; 38: 2733-2734
- 赵宏, 孙艺丹, 尹极峰. 丙泊酚用于无痛胃镜检查对认知功能的影响. 临床麻醉学杂志 2007; 23: 282-283
- Clarke AC, Chiragakis L, Hillman LC, Kaye GL. Sedation for endoscopy: the safe use of propofol by general practitioner sedationists. *Med J Aust* 2002; 176: 158-161 [PMID: 11913915]
- Beilin Y, Galea M, Zahn J, Bodian CA. Epidural ropivacaine for the initiation of labor epidural analgesia: a dose finding study. *Anesth Analg* 1999; 88: 1340-1345 [PMID: 10357342]
- Phillips MR, Zaheer S, Drugas GT. Gastric trichobezoar: case report and literature review. *Mayo Clin Proc* 1998; 73: 653-656 [PMID: 9663194 DOI: 10.1016/S0025-6196(11)64889-1]
- Hirai S, Ogawa T, Shigeta Y, Ando E, Hirabayashi R, Ikawa T, Kasama S, Fukushima S, Matsuka Y. Characteristics of mandibular movements in patients with square mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: e75-e81 [PMID: 19836717 DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.07.008]
- Ranjan Dohil, Eric Hassall, Marsha Kay. Gastritis, Gastropathy, and Ulcer Disease Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease. 4th Edition. Philadelphia: Elsevier, 2011: 277-292
- Hooks VH, Bowden TA, Mansberger AR. Focal vascular dysplasia in the cecum demonstrated by intraoperative endoscopic transillumination. *Gastrointest Endosc* 1979; 25: 69-71 [PMID: 314920 DOI: 10.1016/S0016-5107(79)73365-7]
- Pollard EJ, Roberts RK, Nye JA. Strangulated small intestinal obstruction following upper gastrointestinal panendoscopy. *Gastrointest Endosc* 1977; 23: 166-167 [PMID: 838253 DOI: 10.1016/S0016-5107(77)73632-6]
- Ranjan Dohil, Eric Hassall. Gastritis, gastropathy and ulcer disease. In: Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease. 3rd Edition. Philadelphia: Elsevier, 2006: 373-407 [DOI: 10.1016/B978-0-7216-3924-6.50029-9]
- Thompson NW, Ernst CB, Fry WJ. The spectrum of emetogenic injury to the esophagus and stomach. *Am J Surg* 1967; 113: 13-26 [PMID: 6016701 DOI: 10.1016/0002-9610(67)90251-6]
- Watts HD. Mallory-Weiss syndrome occurring as a complication of endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1976; 22: 171-172 [PMID: 1248717 DOI: 10.1016/S0016-5107(76)73737-4]
- Ben-Horin S, Bardan E, Barshack I, Zaks N, Livneh A. Cholesterol crystal embolization to the digestive system: characterization of a common, yet overlooked presentation of atheroembolism. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1471-1479 [PMID: 12873565 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07532.x]

#### ■同行评价

本文对基层医院的麻醉内镜开展具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)



# 酒精及代谢性因素对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的作用

阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平

## ■背景资料

肝硬化是消化系统常见疾病, 其中乙型肝炎所致的肝硬化在我国最为常见。近年来肝脂肪变性与慢性乙型病毒性肝炎在同一个体中合并存在的现象明显增多, 据估计慢性乙型肝炎人群中约12%-30%合并肝脂肪变性, 探讨代谢性因素在慢性乙型肝炎人群中是否促进肝脏纤维化发展也已是必然。

阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平, 新疆医科大学第一附属医院肝病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 831000

阎道博, 硕士, 主要从事肝脏疾病的临床及基础研究。

新疆维吾尔自治区科技计划基金资助项目, No. 2011141137  
国家自然科学基金资助项目, No. 30760220

作者贡献分布: 本文病例资料整理、分析与文章撰写由阎道博完成; 哈利达·夏尔甫哈孜、冯涓、桑伟及范晓棠提供病例资料; 何方平对文章进行审阅与修改。

通讯作者: 何方平, 教授, 831000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新市区鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院肝病科, hefp@sina.com

电话: 0991-4366305

收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-01-25

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Risk factors for hepatic fibrosis in CHB patients

Dao-Bo Yan, Halida-Xiaerfuhazi, Juan Feng, Wei Sang, Xiao-Tang Fan, Fang-Ping He

Dao-Bo Yan, Halida-Xiaerfuhazi, Juan Feng, Wei Sang, Xiao-Tang Fan, Fang-Ping He, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technology Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2011141137; National Natural Science Foundation of China, No. 30760220

Correspondence to: Fang-Ping He, Professor, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. hefp@sina.com

Received: 2013-01-06 Revised: 2013-01-25

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To compare the difference in clinical characteristics and hepatic pathological changes between patients with CHB and those with CHB and fatty degeneration, and to identify risk factors associated with the degree of hepatic fibrosis.

**METHODS:** The liver biopsy of 275 patients with newly diagnosed CHB was analyzed. On the basis of pathological results, the patients were divided into two groups: those with simple CHB and those with CHB and fatty degeneration. The age, waistline, uric acid, and blood fat were compared between the two groups. Multiple linear regression was used to analyze each risk factor for hepatic fibrosis.

**RESULTS:** Of 275 CHB patients, 104 had steatosis. Significant differences were noted in waistline ( $84.2 \text{ cm} \pm 9.9 \text{ cm}$  vs  $80.1 \text{ cm} \pm 7.8 \text{ cm}$ ,  $P = 0.03$ ), uric acid ( $325.05 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 98.32 \text{ } \mu\text{mol/L}$  vs  $275.57 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 74 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ,  $P = 0.001$ ), TG ( $1.68 \text{ mmol/L} \pm 1.03 \text{ mmol/L}$  vs  $1.13 \text{ mmol/L} \pm 0.65 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.001$ ), LDL ( $2.7 \text{ mmol/L} \pm 0.77 \text{ mmol/L}$  vs  $2.29 \text{ mmol/L} \pm 0.60 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.001$ ), TC ( $4.30 \text{ mmol/L} \pm 0.83 \text{ mmol/L}$  vs  $3.97 \text{ mmol/L} \pm 0.79 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.02$ ) between patients with simple CHB and those with CHB and fatty degeneration. Patients with CHB and fatty degeneration had a greater body mass index. A significant difference in the degree of fibrosis was also noted between the two groups ( $\chi^2 = 5.364$ ,  $P = 0.021$ ). Multiple regression analysis revealed that age, level of inflammation, drinking and HBeAg negativity were independent risk factors for fibrosis progression in patients with CHB (all  $P < 0.05$ ). Fat deposition was negatively correlated with hepatic fibrosis in patients with CHB ( $t = -2.689$ ,  $P = 0.008$ ).

**CONCLUSION:** Dyslipidemia, obesity and metabolic syndrome are primary causes of hepatic steatosis, which has no significant association with alcohol factors. Age, level of inflammation, e antigen negativity, and drinking are independent risk factors for the progression of liver fibrosis in CHB patients. The increase in the degree of fibrosis is associated with a decrease in the degree of hepatic steatosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatitis B; Hepatic steatosis; Hepatic pathology

Yan DB, Halida-Xiaerfuhazi, Feng J, Sang W, Fan XT, He FP. Risk factors for hepatic fibrosis in CHB patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 694-699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/694.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.694>

## 摘要

**目的:** 了解单纯慢性乙型肝炎患者与慢性乙型肝炎合并脂肪变性者的肝脏病变特点及临床改变的差异, 并寻找与肝纤维化程度改变相关的危险因素。

## ■同行评议者

白岚, 教授, 主任医师, 南方医院惠侨科

**方法:** 分析275例初治HBsAg阳性患者的肝组织病理情况, 依据肝脏病理检查结果将病例分为单纯乙型肝炎组和乙型肝炎合并脂肪变性组, 用 $t$ 检验比较两组患者在年龄、腰围、尿酸、血脂方面的差异, 利用多元线性回归法分析各危险因素对肝脏纤维化的影响。统计学处理采用SPSS Statistics 17.0统计软件,  $P < 0.05$ 有统计学意义。

**结果:** 275例乙型肝炎患者中有脂肪变性者104例。慢性乙型肝炎合并脂肪肝组相比单纯慢性乙型肝炎组在腰围( $84.2 \text{ cm} \pm 9.9 \text{ cm}$  vs  $80.1 \text{ cm} \pm 7.8 \text{ cm}$ ,  $P = 0.03$ ), 尿酸( $325.05 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 98.32 \text{ } \mu\text{mol/L}$  vs  $275.57 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 74.00 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ,  $P = 0.001$ ), 甘油三酯( $1.68 \text{ mmol/L} \pm 1.03 \text{ mmol/L}$  vs  $1.13 \text{ mmol/L} \pm 0.65 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.001$ ), 低密度脂蛋白( $2.70 \text{ mmol/L} \pm 0.77 \text{ mmol/L}$  vs  $2.29 \text{ mmol/L} \pm 0.60 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.001$ ), 胆固醇( $4.30 \text{ mmol/L} \pm 0.83 \text{ mmol/L}$  vs  $3.97 \text{ mmol/L} \pm 0.79 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.02$ )水平上存在统计学意义, 合并脂肪变性组相对于单纯慢性乙型肝炎组有着更大的体质指数。而且单纯慢性乙型肝炎组与脂肪变性组在纤维化水平上存在差异( $\chi^2 = 5.364$ ,  $P = 0.021$ )。通过多元回归分析发现: 年龄、炎症水平分级、饮酒以及HBeAg阴性状态是慢性乙型肝炎患者纤维化进展加重的独立危险因素(均 $P < 0.05$ ); 脂肪沉积对肝脏纤维化的影响为负相关, 即肝脏纤维化程度较重, 脂肪沉积越轻( $t = -2.689$ ,  $P = 0.008$ )。

**结论:** 肝组织病理及临床资料显示: 血脂紊乱, 肥胖等代谢综合征是肝细胞脂肪变性的主要原因, 而与酒精因素无关。年龄、炎症水平、e抗原阴性状态、饮酒是慢性乙型肝炎患者肝组织纤维化进展相关的独立危险因素, 但随着纤维化程度的加重, 肝细胞脂肪变程度反而减轻。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 慢性乙型肝炎; 脂肪变性; 肝脏病理

阎道博, 哈利达·夏尔甫哈孜, 冯涓, 桑伟, 范晓棠, 何方平. 酒精及代谢性因素对慢性乙型肝炎患者肝纤维化的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 694-699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/694.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.694>

## 0 引言

肝硬化是消化系常见疾病, 肝纤维化最常见的原因包括各种病毒性肝炎以及大量饮酒所致的

酒精性肝硬化, 其中乙型肝炎病毒感染所致肝硬化我国最为常见。随着近年来非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的增多, 约12%-22%的普通人群B超下可检出脂肪肝变<sup>[1]</sup>, 肝脂肪变性与慢性乙型肝炎(hepatitis B virus infection, CHB)在同一个体中合并存在现象也逐渐增多, 临床流行病学调查慢性乙型肝炎人群中约12%-30%合并肝脏脂肪变性<sup>[2]</sup>。NAFLD分为单纯脂肪变, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 以及脂肪性肝硬化。其中在NASH和肝硬化基础上可以出现肝细胞性肝癌, 目前已有文献报导当慢性乙型肝炎合并NAFLD时会大幅度增加HCC的风险<sup>[3,4]</sup>。提示当多种损伤因素作用于肝脏时, 患者可能出现特征性的疾病表现和临床转归, 研究表明NAFLD与慢性乙型肝炎合并时, 其脂肪变主要由患者合并的脂代谢紊乱, 胰岛素抵抗, 肥胖等代谢性因素引起, 而与乙型肝炎病毒自身感染无关, 这点与丙肝完全不同<sup>[5]</sup>。多种损伤因素混合存在, 各因素对肝组织纤维化影响的研究报导较少。目前多数研究已证实慢性乙型肝炎患者肝纤维化程度与年龄、病毒载量及血HBeAg表达存在相关性<sup>[6,7]</sup>, 但对CHB患者合并脂肪变性时的肝组织纤维化进展程度以及是否加重肝脏局部炎症方面目前仍存在争议, 并且相应研究文献也不多, 病理学研究显示当单纯脂肪性肝病向脂肪性肝炎进展时, 会启动肝细胞内脂质气球样变以及肝脏的纤维化, 而随着纤维化的启动及进展脂滴会由单纯大泡形转变成大小不一的脂滴, 甚至消失代之以纤维化组织, 当进展至肝硬化时, 脂肪完全消失, 因此隐匿性肝硬化少有脂肪沉积<sup>[8]</sup>。在新疆地区, 慢性乙型肝炎患者合并肥胖, 饮酒在现实患者中十分普遍。所以当乙型肝炎病毒、代谢性因素、酒精共同作用于同一个体, 3种损伤因素对于肝脏炎症和纤维化的影响程度目前报导极少。本文主要对现将2010-2012年本院收治住院的、经肝组织活检的275例慢性乙型肝炎患者, 按是否存在脂肪变性分为两组, 对其临床及病理特点进行归纳并对可能影响肝纤维化的相关因素进行分析, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选自2010-02/2012-03在新疆医科大学第一附属医院住院治疗的275例经临床诊断为慢性乙型肝炎的初治患者275例, 所有患者均接

## ■研究前沿

目前已有文献报导当慢性乙型肝炎合并NAFLD时会大幅度增加HCC的风险。还有大量研究表明NAFLD与慢性乙型肝炎合并时, 其脂肪变主要由患者代谢性因素引起。但对CHB患者合并脂肪变性时的肝组织纤维化进展程度以及是否加重肝脏局部炎症方面目前仍存在争议, 并且相应研究文献也不多。

## ■相关报道

对CHB患者合并脂肪变性时的肝组织纤维化进展程度以及是否加重肝脏局部炎症方面目前仍存在争议,并且相应研究文献也不多。

受肝组织学检查,慢性乙型肝炎诊断标准均符合2006年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[9]</sup>。其中男178例,女97例,年龄为15-67岁,平均38.37岁±9.78岁。所有患者均排除甲、丙、丁、戊型肝炎病毒感染及自身免疫性肝炎及先天遗传性肝病等。所有慢性HBV感染者肝脏组织病理学诊断标准参照2000年病毒性肝炎防治方案中的慢性肝炎病理分级、分期标准,将炎症活动度(G)划分为0-4级,纤维化程度(S)划分为0-4期。按照《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》2006版将肝细胞脂肪变性分为4度(F)<sup>[10]</sup>。病历中个人史记录“规律饮酒、少量饮酒”均列入酒精因素,具体饮酒量未能计算,但其中有大量酗酒者5人,从不饮酒者纳入无酒精因素。依据病理结果是否存在肝脂肪变性将所有患者分单纯慢性乙型肝炎组和慢性乙型肝炎合并脂肪变性组,并收集临床资料分析两组在相关指标上的差异。

## 1.2 方法

1.2.1 血清学指标: 每例患者于肝活检前后3 d内,空腹抽取静脉血检测乙型肝炎病毒标志物(HBeAg、抗-HBe)、HBV-DNA定量、甘油三酯、低密度脂蛋白、尿酸等。将BMI>24 kg/m<sup>2</sup>定义为超重,将病毒载量≥4log值者定为高病毒载量组,<4log值者定为低载量组,腰围以厘米计数,血糖异常的诊断标准确定为既往有糖尿病病史,或者入院后行糖耐量实验确诊为2型糖尿病以及糖耐量异常者均列入血糖异常组。

1.2.2 肝组织病理学检查: 肝组织活检应用巴德活检针B超引导下1 s快速穿刺活检术,组织长度>2.5 cm,内部结构至少包含6个完整的汇管区。病理标本用10%中性甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规制片,苏木素-伊红、Masson、网状纤维染色,光学显微镜多视野观察。肝组织病理学诊断标准参照2000年《病毒性肝炎防治方案》中的慢性肝炎病理分级、分期标准,按照《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》2006版将肝细胞脂肪变性分为4度(F),由病理学专业人员盲法阅片分级。

**统计学处理** 应用SPSS17.0统计软件进行统计学处理。计量资料采用mean±SD表示,2组均数比较采用t检验;计数资料用例数和百分比表示,率和构成比的比较采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。利用多元线性回归法,分析各危险因素对肝脏纤维化的影响。

## 2 结果

2.1 一般情况 275例感染者中男178例(64.7%),

表 1 患者基本情况

基本情况	
年龄(岁)	38.37±9.78
性别 n(%)	178(64.7)
男	
种族 n(%)	
汉族	247(89.81)
血糖异常 n(%)	16(5.8)
血脂异常 n(%)	64(23.3)
HBeAg+ n(%)	111(40.4)
HBV-DNA(低/高)	117/158
肝活检无脂肪变 n(%)	171(62.2)

女97例(35.3%);年龄38.37岁±9.78岁;汉族247例,其余少数民族28例;HBeAg阳性者111例(40.4%),阴性者164例(59.6%);其中纳入酒精因素的患者77例(28%),其中大量酗酒者5人;血糖异常者16例(5.8%)(表1)。

2.2 肝纤维化危险因素分析 慢性乙型肝炎合并脂肪变性组在腰围、尿酸、甘油三酯、低密度脂蛋白、胆固醇水平上均高于单纯的慢性乙型肝炎患者,且存在统计学差异(均 $P<0.05$ ),而两组之间在年龄上未见差异(表2)。性别方面,慢性乙型肝炎合并脂肪变的患者主要以男性为主,且存在统计学意义( $\chi^2 = 12.8, P = 0.01$ ),两组在纤维化水平上存在差异,其中合并脂肪变性组的纤维化程度较低( $\chi^2 = 5.364, P = 0.021$ ),两组在炎症程度,病毒载量及血糖和酒精因素方面未见差异(表3)。在肝纤维化程度与相关危险因素的多线性回归中,以纤维化分级为因变量,以性别、年龄、民族、炎症、脂肪沉积、糖尿病、饮酒、HbeAg阴性、尿酸、甘油三酯、低密度脂蛋白、胆固醇、病毒载量为自变量的多线性回归显示,回归方程的拟合优度R<sup>2</sup>为0.506,回归方程的显著性检验统计量F为20.044, $P<0.001$ ,提示所拟回归方程有统计学意义。如表4所示,年龄、炎症、酒精因素、HBeAg阴性状态是肝脏纤维化进展的独立危险因素( $P<0.05$ ),而脂肪沉积与纤维化呈现负相关,即肝脏纤维化程度较重,脂肪沉积越轻。而高脂血症及相关代谢性因素与纤维化水平均无关联,本组研究中病毒载量也未提示与肝纤维化的关系。

## 3 讨论

肝硬化是终末期肝病的一种,在我国绝大多数肝硬化由慢性乙型肝炎发展而来,肝纤维化是



表 2 单纯慢性乙型肝炎与慢性乙型肝炎合并脂肪变的患者在相关指标的差异

	<i>n</i>	男/女	年龄(岁)	腰围 (cm)	尿酸 (μmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	低密度脂蛋白 (mmol/L)	胆固醇 (mmol/L)
A组	172	98/74	37.79 ± 10.21	80.1 ± 7.8	275.57 ± 74.00	1.13 ± 0.65	2.29 ± 0.60	3.97 ± 0.79
B组	103	80/23	39.35 ± 8.89	84.2 ± 9.9	325.05 ± 98.32	1.68 ± 1.03	2.70 ± 0.77	4.30 ± 0.83
<i>P</i> 值			0.201	0.03	0.001	0.001	0.001	0.02

A组: 单纯慢性乙型肝炎组; B组: 慢性乙型肝炎合并脂肪变性组.

表 3 单纯慢性乙型肝炎与慢性乙型肝炎合并脂肪变的患者的肝脏病变特点及相关危险因素

	A组	B组	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	172	103		
男/女 <i>n</i> (%)	98/74	80/23	12.8	0.01
G0	4(2.3)	3(2.9)		
G1	95(55.2)	52(50.5)		
G2	52(30.2)	42(40.8)	0.102	0.749
G3	21(12.2)	6(5.8)		
S0	34(19.8)	27(26.2)		
S1	64(37.2)	46(44.7)		
S2	34(19.8)	16(15.5)	5.364	0.021
S3	28(16.3)	10(9.7)		
S4	12(7)	4(3.9)		
HBeAg(+/-)	69/103	42/61	0.012	0.914
病毒载量(低/高)	73/99	44/59	0.02	0.964
血糖异常 <i>n</i> (%)	8(4.7)	8(7.8)	2.562	0.119
超质量 <i>n</i> (%)	22(12.79)	28(27.18)	1.17	0.02
饮酒 <i>n</i> (%)	46(26.7)	31(30.1)	0.359	0.549

A组: 单纯慢性乙型肝炎组; B组: 慢性乙型肝炎合并脂肪变性组.

# 应用要点

对于慢性乙型肝炎合并脂肪变性的患者来说, 由于其脂肪变性程度会随着纤维化的加重而减轻, 所以当我们面对此类患者时, 若其脂肪变减轻, 我们需考虑纤维化进展的可能性, 并及早予以干预. 对于相关危险因素, 如饮酒, 需及时告知患者禁酒的重要意义.

慢性肝炎进展到肝硬化的必有阶段, 纤维化程度是肝硬化发生的独立预测危险因素, 因此探讨纤维化的危险因素有助于早起预测肝硬化风险. 且本组数据中, 合并脂肪变性的患者为103人, 所占的比例达到37.5%, 此结果与Altıparmak等<sup>[11]</sup>的结果相符合. 单纯慢性乙型肝炎与慢性乙型肝炎合并脂肪变组在相关代谢性指标, 包括体质指数、腰围、尿酸、甘油三酯、低密度脂蛋白、胆固醇指标上存在显著性提示肝脏脂肪沉积主要与患者代谢性因素有关, 而与乙型肝炎病毒本身无关. 两组初治患者在DNA水平高低, HBeAg表达, 血糖水平上并不存在显著性差异. 我们所有患者中有77例存在酒精因素, 其中只有5例达到酒精性肝病诊断标准, 酒精性肝病的概念是指连续饮酒5年以上, 男日均>20 g纯酒精; 女日均>10 g纯酒精, 在这种状况下可引起酒精性肝病. 通过 $\chi^2$ 检验我们发现合并饮酒的

人群中, 酒精并不改变肝脏脂肪沉积的量, 合并酒精因素也没有增加肝脏脂肪变性比例, 肝脏的脂肪变主要与慢性乙型肝炎患者合并的血脂异常, 肥胖, 胰岛素抵抗因素相关. 因此我们提出代谢紊乱是CHB患者肝细胞脂肪变发生的主要原因, 这也与施军平等的研究相符<sup>[12,13]</sup>. 我们这组数据中显示; 慢性乙型肝炎患者合并脂肪沉积时两组之间炎症水平没有改变, 脂肪沉积并没有改变炎症或者增加炎症程度. 而炎症时众所周知的存进肝纤维化进展的独立危险因素, 回归分析中我们发现: 年龄、e抗原阴性都是肝纤维化加重的危险因素, 这点我们考虑在临床上这两个因素往往代表着慢性乙型肝炎病程的长短, 乙型肝炎病程越长, 纤维化程度越重, 这与相关报道相一致<sup>[14]</sup>. 炎症水平是代表肝纤维化进展的重要因素, 在我们这组数据中炎症仍是肝脏纤维化进展的最主要的独立危险因素, 这

### ■同行评价

本文分析了275例肝穿病理结果,探讨了慢性乙型肝炎及脂肪变性等相关危险因素,具有一定的实用价值。

表 4 各危险因素对肝脏纤维化影响的回归分析 ( $n = 275$ )

变量	偏回归系数	标准误	标准偏回归系数	$t$ 值	$P$ 值
常数项	-0.531	0.388	-	-1.370	0.172
性别	0.086	0.137	0.036	0.623	0.534
年龄	0.019	0.005	0.165	3.512	0.001
民族	0.010	0.165	0.003	0.062	0.951
炎症	1.007	0.074	0.630	13.538	0.000
脂肪沉积	-0.304	0.113	-0.131	-2.689	0.008
糖尿病	0.158	0.225	0.032	0.705	0.482
饮酒	0.141	0.125	0.057	1.127	0.026
HbeAg(-)	0.175	0.124	0.076	1.413	0.049
尿酸	0.000	0.001	-0.023	-0.388	0.698
甘油三酯	0.060	0.074	0.046	0.809	0.419
低密度脂蛋白	-0.083	0.084	-0.051	-0.985	0.326
胆固醇	-0.056	0.063	-0.049	-0.896	0.371
病毒载量	0.064	0.122	0.028	0.522	0.602

同样和既往的研究相一致。我们前面介绍过合并酒精因素虽然没有增加肝脏脂肪变性,多元回归显示,酒精因素显著性加重了慢性乙型肝炎患者的纤维化程度,我们这组慢性乙型肝炎人群仅5人达到酒精性肝病的标准,这提示慢性乙型肝炎患者尽管是少量饮酒,同样也会促进肝纤维化进展<sup>[15]</sup>。其导致损害的量可能小于目前的公认标准,但确切剂量无报道,因此对于此类患者需坚决禁酒。在这里需要特别提出的是脂肪沉积水平和纤维化水平的负相关,也就是说,随着肝纤维化程度越重,脂肪沉积量越少,我们认为脂肪变不能被简单的理解为是肝脏纤维化的保护性因素,而因考虑到脂肪沉积会随着炎症进展而减少,这一因素的进一步研究是非常必要的。

综上所述,乙型肝炎、酒精、代谢性因素混杂的慢性乙型肝炎患者,其e抗原阴性、年龄、炎症程度和酒精都是这类患者肝脏纤维化进展的独立危险因素;即使酒精未达标,仍可加重患者的肝脏纤维化水平,但酒精因素并不参与肝脏内脂肪沉积量的改变。纤维化水平与脂肪沉积负相关,但不能认为脂肪变是肝纤维化的保护性因素,而是随着纤维化的进展导致脂滴消失。所以慢性乙型肝炎患者合并脂肪变时是否促进纤维化的发展有待于进一步的研究。我们这组基于病理学和临床资料的分析为临床慢性乙型肝炎、酒精、脂代谢紊乱相关的这类患者的疾病转归提供了有益的提示。

### 4 参考文献

- 1 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic

fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]

- 2 施军平, 范建高, 武瑞, 高晓倩, 张莉, 王浩. 慢性乙型肝炎患者肝细胞脂肪变的发生率及其危险因素分析. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 519-523
- 3 Torres DM, Harrison SA. Nonalcoholic steatohepatitis and noncirrhotic hepatocellular carcinoma: fertile soil. *Semin Liver Dis* 2012; 32: 30-38 [PMID: 22418886 DOI: 10.1055/s-0032-1306424]
- 4 Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Seko Y, Imai N, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuchi H, Kumada H. Large-scale long-term follow-up study of Japanese patients with non-alcoholic Fatty liver disease for the onset of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 253-261 [PMID: 22008893 DOI: 10.1038/ajg.2011.327]
- 5 Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, Kanda T, Kojima H, Saisho H. Prevalence of diabetes mellitus and insulin resistance in patients with chronic hepatitis C: comparison with hepatitis B virus-infected and hepatitis C virus-cleared patients. *Liver Int* 2008; 28: 355-362 [PMID: 18290778 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01630.x]
- 6 刘顺庆, 朱晓骏, 孙学华, 李曼, 高月求. ALT轻度升高的HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理学特点. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 348-352
- 7 杨创国, 于乐成, 陈金军, 孙剑, 郭亚兵, 骆抗先, 朱幼芙, 侯金林. 1686例慢性乙型肝炎中HBeAg阴性与阳性患者临床和病毒学特点比较分析. *中华内科杂志* 2005; 44: 648-651
- 8 厉有名. 非酒精性脂肪性肝病的流行病学和自然史特征. *内科理论与实践* 2008; 3: 8-12
- 9 中华医学会肝病学分会, 感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 881-891
- 10 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊断标准. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 161-163
- 11 Altıparmak E, Koklu S, Yalinkilic M, Yuksel O, Cicek B, Kayacetin E, Sahin T. Viral and host causes of fatty liver in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3056-3059 [PMID: 15918189]
- 12 施军平, 范建高, 武瑞, 张莉, 荀运浩, 姜国强. 102例慢性乙型肝炎肝细胞脂肪变患者肝纤维化进展的研究.

- 中华临床感染病杂志 2008; 1: 73-76
- 13 Vilacosta I, San Roman JA, Roca V. Eustachian valve endocarditis. *Br Heart J* 1990; 64: 340-341 [PMID: 2245118]
- 14 范慧敏, 张春兰, 应若素. 慢性乙型肝炎患者肝脏病理特点与血清HBeAg和HBV-DNA的关系. *中华实验和临床病毒学杂志* 2008; 22: 130-132
- 15 牛凤丽, 洪尚游, 万谟彬. 饮酒对慢性乙型病毒性肝炎患者肝脏炎症和纤维化的病理影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2610-2612

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

**第一步 作者提交稿件:** 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)



## 超声内镜引导细针穿刺诊断肝尾状叶肿瘤4例

许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王玮, 田爱霞, 张勤

### ■背景资料

超声内镜已迅速发展为一种消化系统、肝胆系统及其他结构的良恶性病变诊断和分期的重要手段。内镜超声引导下细针穿刺活检(EUS-FNA)已经成为胃肠道管壁及周围器官疾病诊治的必备手段。

许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王玮, 田爱霞, 襄阳市中心医院消化内科 湖北省襄阳市 441021

张勤, 襄阳市中心医院病理科 湖北省襄阳市 441021

许东强, 副主任医师, 主要从事消化内镜和消化系统疾病的临床研究。

襄阳市科技孵化与引导计划基金资助项目, No. 2009GG3C02  
作者贡献分布: 此课题由许东强与丁祥武设计; 超声内镜引导细针穿刺由丁祥武完成; 病理学检查由张勤完成; 资料收集与整理由许东强、王道蓉、高山、王玮及田爱霞完成; 论文写作由丁祥武与许东强完成。

通讯作者: 丁祥武, 副主任医师, 441021, 湖北省襄阳市襄城区荆州街39号, 襄阳市中心医院(湖北文理学院附属医院)消化内科。xwding@hotmail.com

电话: 0710-3524237

收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-01-18

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

### Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of hepatic caudate lobe malignancy: Report of 4 cases

Dong-Qiang Xu, Xiang-Wu Ding, Dao-Rong Wang, Shan Gao, Wei Wang, Ai-Xia Tian, Qin Zhang

Dong-Qiang Xu, Xiang-Wu Ding, Dao-Rong Wang, Shan Gao, Wei Wang, Ai-Xia Tian, Department of Gastroenterology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, Hubei Province, China

Qin Zhang, Department of Pathology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, Hubei Province, China

Supported by: the Incubation and Guidance Project of Xiangyang Science and Technology Commission, No. 2009GG3C02

Correspondence to: Xiang-Wu Ding, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiangyang Central Hospital (Affiliated Hospital of Hubei College of Arts and Sciences), Xiangyang 441021, Hubei Province, China. xwding@hotmail.com

Received: 2013-01-06 Revised: 2013-01-18

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the diagnostic value of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the detection of hepatic caudate lobe masses.

**METHODS:** Clinical data for four patients with hepatic malignancy (three males and one female, aged 50 to 69 years) were retrospectively analyzed. The diagnostic accuracy of EUS-FNA was assessed by cell smear and histological exami-

nation. All patients were closely monitored for complications after EUS-FNA.

**RESULTS:** Nine solid lesions were aspirated (4 in the caudate lobe, 1 in the left lobe, 2 in the pancreatic head, 1 in the hilar lymph node, and 1 in the retroperitoneal lymph node). All aspirates (9/9) were available for cell smear and 88.9% (8/9) for histological analysis. The diagnosis rates of cell smear and HE staining were 100% (9/9) and 100% (8/8), respectively. All 4 patients were diagnosed with hepatic malignancy (2 cases of primary liver cancer and 2 cases of liver metastasis from pancreatic cancer). No obvious complications were observed in all patients.

**CONCLUSION:** Given the relationship between hepatic caudate lobe and the cardia in topographic anatomy, EUS allows for easily scanning enlarged porta hepatis and retroperitoneal lymph nodes simultaneously and guiding FNA. EUS and EUS-FNA have important clinical value in the diagnosis of hepatic caudate lobe tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration; Hepatic caudate lobe; Malignancy

Xu DQ, Ding XW, Wang DR, Gao S, Wang W, Tian AX, Zhang Q. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of hepatic caudate lobe malignancy: Report of 4 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 700-704  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.700>

### 摘要

**目的:** 复习肝脏尾状叶肿瘤的病例资料, 评价内镜超声引导下细针穿刺(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)肝尾状叶对恶性肿瘤的诊断价值。

**方法:** 4例患者其他影像学检查发现肝脏占位, 并行相应的辅助检查。总结其主要临床特点。肝脏尾状叶占位和相关部位行EUS-FNA, 穿刺物行细胞学检查和组织学检查。内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧扫查到肝尾状叶,

### ■同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

穿刺肝尾状叶.

**结果:** 4例患者, 男3例, 女1例, 年龄50岁-69岁. 穿刺9个部位(肝尾状叶4, 肝左叶1, 胰腺2, 肝门淋巴结1, 腹膜后淋巴结1). 9个穿刺部位中, 肝门部淋巴结未获得足够的组织学标本, 仅作细胞学涂片诊断腺癌转移; 其他8个病灶均获得足够的组织学标本进行细胞学涂片和组织学检查, 均获得明确的病理学诊断和临床诊断. 所有患者均未出现并发症. 诊断胰头癌并肝转移2例, 胆管细胞癌并肝门淋巴结转移1例, 原发性肝癌并腹腔转移1例.

**结论:** 内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行EUS-FNA路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位, 安全性高, EUS-FNA肝尾状叶肿瘤有重要的临床价值.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 超声内镜引导下细针穿刺术; 肝尾状叶; 恶性肿瘤

许东强, 丁祥武, 王道蓉, 高山, 王伟, 田爱霞, 张勤. 超声内镜引导下细针穿刺诊断肝尾状叶肿瘤4例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 700-704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.700>

## 0 引言

肝癌是临床最常见的恶性肿瘤之一. 近年影像学 and 血清学标志物的进展迅速, 许多肝脏恶性肿瘤可获得临床诊断<sup>[1]</sup>, 但肝脏细针穿刺活检仍然是可疑肝脏肿瘤确诊的关键手段<sup>[2]</sup>. 比如对肝硬化患者的影像学监测发现小病灶, 然后作细针穿刺活检, 如能早期诊断肝细胞癌, 就能早期治疗; 再如, 对于疑诊肝癌尤其可能不能耐受手术的患者, 作肝脏细针穿刺进行鉴别诊断和准确分期, 有助于制定良好的治疗计划<sup>[3]</sup>. 获得肝脏病理学标本的方法中, 以CT或超声引导经皮细针穿刺最为常用, 效果好、花费少<sup>[3]</sup>, 但是经皮穿刺获得深部肝脏占位难度大、风险高. 内镜超声扫查深部肝脏有一定优势, 如肝尾状叶位置深在, 其膈面呈左前至右后走行、后依膈, 此面的左侧与食管腹段及胃底紧邻<sup>[4]</sup>, 内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位, 安全性大. 我院近期4例肝尾

状叶肿瘤进行超声内镜引导下细针穿刺, 现报道如下, 并复习相关文献.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 对2009-10/2012-05因肝脏尾状叶占位行EUS-FNA的患者进行复习. 患者其他影像学(CT、MRI或经腹部B超)检查发现肝脏占位, 并行相应的辅助检查. EUS-FNA前常规行血常规、凝血功能和乙型肝炎表面抗原检查以及相关评估, 确定无内镜检查和穿刺的禁忌证. 术者向患者详细介绍了穿刺术的目的、方法、过程、可能出现的并发症及处理措施等, 患者均签署知情同意书. Pentax EG 3830UT超声内镜、3500内镜主机和HITACHI 5500超声主机, 22 G穿刺针选用Olympus NA-200H-8022.

### 1.2 方法

**1.2.1 穿刺方法:** 术中内镜超声监控, 穿刺肝尾状叶时探头置于食管胃连接处, 肝门淋巴结和肝胃间占位部位在胃体近端, 胰头穿刺部位在十二指肠. 细针从活检孔道快速刺入病灶, 穿刺时注意拉直镜身. 各部位穿刺2-3次, 穿刺不用针芯, 10 mL负压, 每次在病灶内反复提插约50下, 以穿刺者认为标本量足够为准. 有两个病灶时, 先穿刺疑诊的转移病灶, 再穿刺原发灶.

**1.2.2 标本处理:** 每次的穿刺物立即用针芯或注射器推出后置于玻片上, 随后即刻在玻片上各涂片3张, 自然干燥, 送病理科细胞室, 行瑞-姬复合染色, 20 min后阅片. 条索样物用福尔马林固定, 送病理科, 石蜡包埋、切片, 行HE染色, 如切片量足够, 根据标本的来源和HE染色结果行相关免疫组织化学实验. 细胞学涂片和组织学各由2名病理医师阅片, 并达成共识. 细胞学涂片和组织学任一项有恶性的证据定义为病理学确诊为恶性.

**1.2.3 术后处理及随访:** 患者予静脉注射抗生素2 d, 术后第1、3和5天随访, 了解有无并发症. 随访过程中详细记录小并发症(咽痛、轻微腹痛)及大并发症(发热、消化系大出血、局部血肿、消化系穿孔、急性胰腺炎等)发生情况.

## 2 结果

本组病例中男3例, 女1例; 病理学均确诊, 其中原发性肝细胞癌1例, 胆管细胞癌1例, 胰腺癌肝转移2例. 均在丙泊酚静脉麻醉后行EUS-FNA, 穿刺9个部位(肝尾状叶4, 肝左叶1, 胰腺2, 肝门1, 肝胃间隙1). 4例患者均未发生并发症. 9个穿

## ■ 研究前沿

肝尾状叶位置深在, 局部解剖复杂, 经皮肝穿路径长, 风险巨大. 从毗邻解剖观察, 其膈面呈左前至右后走行, 后依膈, 此面的左份尚与食管腹段及胃底紧邻. 因此内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位.

## ■相关报道

最近发表的欧洲消化内镜学会临床指南指出EUS-FNA用于肝脏实性肿块穿刺是安全的,并推荐以下情况进行EUS-FNA:如果病理学结果证实为恶性可能影响治疗决策,并且经皮FNA比较困难或EUS检查时发现肝脏新病灶或此前已经皮FNA未能明确诊断。EUS-FNA是获得肝左叶、尾状叶和部分肝右叶等部位病灶组织学标本的最佳方法。

表 1 接受超声内镜引导下细针穿刺(EUS-FNA)患者的主要特点

序号	性别	年龄	主要病例特点	EUS-FNA和病理学结果	诊断
1	男	69	上腹疼痛3 mo. 体检无特殊异常. 辅检: ALP 472 U/L, TBil 8.4 $\mu$ mol/L, GGT 1 284 U/L, ALT 255 U/L, ASL 105 U/L, Glu 11.5 mmol/L, CA19-9>1 200 U/mL, AFP6.8 ng/mL. 上腹部MRI和CT: 胰头占位(直径约30 mm), 胰管和胆总管上段扩张, 肝内多发结节	(1)胰头细胞学腺癌, 组织学黏液腺癌; (2)肝尾状叶约13 mm中等回声: 细胞学和组织学: 转移性腺癌	胰头癌并肝转移
2	女	54	上腹部不适2 mo伴皮肤巩膜黄染. 辅检: ALP 672 U/L, TBil 185.3 $\mu$ mol/L, DBil 114.6 $\mu$ mol/L, GGT 2 140 U/L, ALT 276 U/L, AST 156 U/L, Glu 11.28 mmol/L, CEA 7.8 ng/mL, CA19-9 > 1 200.00 U/mL. 上腹部CT: 胰头占位(45 mm不规则低回声包绕肠系膜上静脉)合并胰管、上段胆总管扩张并胆汁淤积, 肝内多发结节	(1)胰头细胞学腺癌, 组织学黏液腺癌; (2)肝尾状叶16 mm细胞学和组织学: 转移性腺癌	胰头癌并肝转移
3	男	50	皮肤黄染半月伴皮肤瘙痒. 查体: 神清, 生命体征稳定, 全身皮肤巩膜黄染, 余无特殊异常. 辅检: AFP 5.9 ng/mL, ALP 531 U/L, TBil 204.8 $\mu$ mol/L, DBil 132.8 $\mu$ mol/L, GGT765 U/L, AFP8.9 ng/mL, ALT 97 U/L, AST 76 U/L, HbsAg(-). 超声内镜: 肝脏多发性占位; 肝门、胰头、左肾低回声占位	(1)肝尾状叶15 mm和肝左叶17 mm中等回声: 细胞学腺癌; 组织学胆管细胞癌; (2)肝门淋巴结细胞学: 腺癌	胆管细胞癌并肝门淋巴结转移, 胰头和左肾转移可能
4	男	55	乙型肝炎3年, 发现肝内占位3 d. 辅检: ALP 299 U/L, TBil 23.6 $\mu$ mol/L, DBil 10.6 $\mu$ mol/L, GGT 351 U/L, ALT 50 U/L, AST 71 U/L, AFP 697.39 ng/mL, CEA 6.65 ng/mL. CT: (1)肝硬化, 肝内多发性低密度灶; (2)肝脾间隙巨大软组织肿块; (3)双肺多发转移性病变	(1)肝尾状叶20 mm低回声细胞学和组织学: 原发性肝癌; (2)肝胃间占位细胞学和组织学: 腺癌	乙型肝炎, 肝硬化, 原发性肝癌并腹腔和肺转移

AKP: 碱性磷酸酶; TBil: 总胆红素; DBil: 直接胆红素; GGT: 谷氨酰转氨酶; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 天门冬氨酸转氨酶; Glu: 葡萄糖; CA19-9: 糖链抗原19-9; AFP: 甲胎蛋白。

刺部位中, 肝门部淋巴结未获得足够的组织学标本, 作细胞学涂片诊断腺癌转移; 其余8个病灶均获得满意的组织学标本, 标本为较多的线条样组织和少许血性物。4位患者的临床和病理学特点见表1。

### 3 讨论

近年来关于FNA诊断肝癌的价值有争论<sup>[2,5,6]</sup>。影像学检查(CT/MRI)的进展迅速, 诊断原发性肝癌的准确率、敏感性和特异性分别达到99.6%、100%和98.9%<sup>[7]</sup>, 无疑削减了常规的病理学确诊的需要。争论较多的问题是穿刺针道导致种植转移和血行转移的风险<sup>[8-10]</sup>, 可能使一个可手术切除的患者转变为有转移灶状态。另外对于分化良好的小病灶, 穿刺活检病理学的诊断也常常困难<sup>[11,12]</sup>。这些原因使得有些人为了规避FNA的缺点, 不推荐术前FNA, 而只作影像学检查。但影像学诊断一旦为假阳性, 患者就可能接受不必要的外科手术甚至无效的肝移植<sup>[7]</sup>。对于是否应选择

FNA, Schölmerich等<sup>[13]</sup>认为需要回答以下问题: (1)活检方法的优点以及是否为最佳的选择; (2)该方法的危险性以及是否可影响后续治疗; (3)活检是否能改变预后。CT或US引导经皮FNA是最常用的方法。也可在剖腹术或腹腔镜术中直视活检。经皮FNA病理诊断肝脏恶性肿瘤的敏感性约90%(67%-100%), 特异性为100%<sup>[5,14,15]</sup>。影响结果的因素有: 病灶的大小部位和影像学特点、穿刺方法、盲穿或引导下穿刺、穿刺次数、术者的技巧、细胞学涂片的质量、联合细胞学和组织学检查以及相关分子水平的辅助检测、病理科医生的经验等。一项大样本的研究中, 肝脏恶性肿瘤FNA的阳性预测值为100%, 阴性预测值为59.1%, 病理学确诊率为92.4%, 几乎无假阳性<sup>[5]</sup>。

EUS-FNA安全、准确、适用范围广, 但需要术者丰富的经验和技巧<sup>[16]</sup>。有多篇文献报道用EUS和FNA用于诊断原发性肝癌、肝门部胆管癌、肝左叶转移灶, 敏感性从82%-94%, 阳性预测值达到100%<sup>[17-24]</sup>, 并能使肝脏肿瘤的分期



更精确<sup>[25]</sup>. 对于CT/MRI未能发现的小且深在的肝左叶病灶或经皮穿刺路径很长而不能穿刺部位的病灶, EUS-FNA有肯定的优势<sup>[23]</sup>. 这些报道穿刺的病灶在肝脏左叶和部分右叶, 而对于肝尾状叶的穿刺未特别指出. 最近发表的欧洲消化内镜学会临床指南<sup>[16]</sup>指出EUS-FNA用于肝脏实性肿块穿刺是安全的, 并推荐以下情况进行EUS-FNA: 如果病理学结果证实为恶性可能影响治疗决策, 并且经皮FNA比较困难或EUS检查时发现肝脏新病灶或此前已经皮FNA未能明确诊断.

本文中4例患者内镜超声引导细针穿刺肝尾状叶肿瘤均获得了满意的诊断. 本文中EUS-FNA同时作胰腺和肝脏病灶穿刺, 一次操作同时确诊了胰腺原发灶和肝脏转移灶. 原发性肝癌主要通过血行转移, 淋巴结转移的病例有少见的报道<sup>[26]</sup>, 本文中有1例原发性肝癌肝门淋巴结转移. 需要注意的是, 如果对疑诊为恶性肿瘤的患者进行FNA, 如果有多个病灶, 为了避免针道转移, 穿刺的顺序应为怀疑转移的最远病灶开始到原发病灶.

本文所用的穿刺针为22 G. 有人常有疑问22 G穿刺针能否获得足够的标本作细胞学涂片和组织病理学检查. 本文9个病灶中, 有8个病灶获得满意的线条样组织学标本, 血性物少. EUS-FNA时, 所用负压、穿刺的次数、提插的速度和次数、标本的处理方法以及涂片的质量对诊断结果均有影响. 我们的经验是, 肝脏、胰腺或淋巴结FNA时, 用10 mL负压、每次穿刺时快速的提插约50下, 基本上能获得很好的组织条, 并且血性物少. 另外穿刺获得的血性物可能对组织量少的组织病理学诊断有影响, 标本处理前应用纱布沾去血性物, 留下的线样组织再作细胞学涂片和固定.

肝脏FNA的并发症少见. 并发症包括: 腹腔内出血、针道种植、所谓的穿刺过程导致的血行播散引起肿瘤复发、增加肝移植术后复发率以及少见的致命性并发症等<sup>[8-10]</sup>. 争论最多的并发症是罕见的针道种植, 检测到种植的证据和活检的间隔时间从数月<sup>[8-10]</sup>到3年<sup>[8-10]</sup>, 而这个时间往往长于肝癌患者的生存时间. 本文中4例患者近期均未出现并发症.

总之, 内镜超声在食管胃连接处探头指向右侧可非常容易扫查到肝尾状叶, 行内镜超声引导下细针穿刺路径短, 可精准穿刺到肝尾状叶的占位, 有重要的临床价值. 本文中例数较少, 穿刺手

法和标本处理的技巧需要在临床实践中不断总结, 有待更多病例的研究进一步深入探讨.

## 4 参考文献

- 1 Di Martino M, De Filippis G, De Santis A, Geiger D, Del Monte M, Lombardo CV, Rossi M, Corradini SG, Mennini G, Catalano C. Hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prospective comparison of US, CT and MR imaging. *Eur Radiol* 2012 Nov 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23179521]
- 2 Fassina A. 'The map is not the territory': FNA the map and liver the territory. *Cytopathology* 2011; 22: 285-286 [PMID: 21923726 DOI: 10.1111/j.1365-2303.2011.00928.x.]
- 3 Wee A. Fine needle aspiration biopsy of hepatocellular carcinoma and hepatocellular nodular lesions: role, controversies and approach to diagnosis. *Cytopathology* 2011; 22: 287-305 [PMID: 21762411 DOI: 10.1111/j.1365-2303.2011.00882.x.]
- 4 Abdalla EK, Vauthey JN, Couinaud C. The caudate lobe of the liver: implications of embryology and anatomy for surgery. *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11: 835-848 [PMID: 12607574 DOI: 10.1016/S1055-3207(02)00035-2]
- 5 Wang P, Meng ZQ, Chen Z, Lin JH, Ping B, Wang LF, Wang BH, Liu LM. Diagnostic value and complications of fine needle aspiration for primary liver cancer and its influence on the treatment outcome-a study based on 3011 patients in China. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 541-546 [PMID: 17764885 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.07.013]
- 6 Caturelli E, Solmi L, Anti M, Fusilli S, Roselli P, Andriulli A, Fornari F, Del Vecchio Blanco C, de Sio I. Ultrasound guided fine needle biopsy of early hepatocellular carcinoma complicating liver cirrhosis: a multicentre study. *Gut* 2004; 53: 1356-1362 [PMID: 15306600 DOI: 10.1136/gut.2003.032359]
- 7 Torzilli G, Minagawa M, Takayama T, Inoue K, Hui AM, Kubota K, Ohtomo K, Makuuchi M. Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine-needle biopsy. *Hepatology* 1999; 30: 889-893 [PMID: 10498639 DOI: 10.1002/hep.510300411]
- 8 Durand F, Regimbeau JM, Belghiti J, Sauvanet A, Vilgrain V, Terris B, Moutardier V, Farges O, Valla D. Assessment of the benefits and risks of percutaneous biopsy before surgical resection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2001; 35: 254-258 [PMID: 11580148 DOI: 10.1016/S0168-8278(01)00108-8]
- 9 Stigliano R, Marelli L, Yu D, Davies N, Patch D, Burroughs AK. Seeding following percutaneous diagnostic and therapeutic approaches for hepatocellular carcinoma. What is the risk and the outcome? Seeding risk for percutaneous approach of HCC. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 437-447 [PMID: 17512669 DOI: 10.1016/j.ctrv.2007.04.001]
- 10 Tung WC, Huang YJ, Leung SW, Kuo FY, Tung HD, Wang JH, Hung CH, Lee CM, Changchien CS, Yeh SA, Sun LM, Huang EY, Hsu HC, Wang CJ, Lu SN. Incidence of needle tract seeding and responses of soft tissue metastasis by hepatocellular carcinoma postradiotherapy. *Liver Int* 2007; 27: 192-200 [PMID: 17311613 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01399.x]
- 11 de Boer WB, Segal A, Frost FA, Sterrett GF. Cytopathology of well differentiated hepatocellular carcinoma: can indeterminate diagnoses be reduced? *Cancer* 1999; 87: 270-277 [PMID: 10536352 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19991025)87:5<270::AID-

## ■创新盘点

有多篇文献报道用EUS和FNA用于诊断原发性肝癌、肝门部胆管癌、肝左叶转移灶, 效果好, 并能使肝脏肿瘤的分期更精确. 对于CT/MRI未能发现的小且深在的肝左叶病灶或经皮穿刺路径很长而不能穿刺部位的病灶, EUS-FNA有肯定的优势. 这些报道穿刺的病灶在多为肝脏左叶和部分右叶, 而对于肝尾状叶的穿刺未特别指出.

## ■同行评价

本文可读性较好, 有一定的技术创新性, 为诊断肝脏尾状叶肿瘤尝试了一种新的方法, 对临床工作具有一定的指导意义。

- CNCR6>3.0.CO;2-L]
- 12 Wee A, Nilsson B. Highly well differentiated hepatocellular carcinoma and benign hepatocellular lesions. Can they be distinguished on fine needle aspiration biopsy? *Acta Cytol* 2003; 47: 16-26 [PMID: 12585026 DOI: 10.1159/000326470]
  - 13 Schölmerich J, Schacherer D. Diagnostic biopsy for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: useful, necessary, dangerous, or academic sport? *Gut* 2004; 53: 1224-1226 [PMID: 15306574 DOI: 10.1136/gut.2004.040816]
  - 14 Hertz G, Reddy VB, Green L, Spitz D, Massarani-Wafai R, Selvaggi SM, Kluskens L, Gattuso P. Fine-needle aspiration biopsy of the liver: a multicenter study of 602 radiologically guided FNA. *Diagn Cytopathol* 2000; 23: 326-328 [PMID: 11074627 DOI: 10.1002/1097-0339(200011)23:5<326::AID-DC8>3.0.CO;2-1]
  - 15 Kuo FY, Chen WJ, Lu SN, Wang JH, Eng HL. Fine needle aspiration cytodiagnosis of liver tumors. *Acta Cytol* 2004; 48: 142-148 [PMID: 15085744 DOI: 10.1159/000326307]
  - 16 Dumonceau JM, Polkowski M, Larghi A, Vilman P, Giovannini M, Frossard JL, Heresbach D, Pujol B, Fernández-Esparrach G, Vazquez-Sequeiros E, Ginès A. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. *Endoscopy* 2011; 43: 897-912 [PMID: 21842456 DOI: 10.1055/s-0030-1256754]
  - 17 Nguyen P, Feng JC, Chang KJ. Endoscopic ultrasound (EUS) and EUS-guided fine-needle aspiration (FNA) of liver lesions. *Gastrointest Endosc* 1999; 50: 357-361 [PMID: 10462656 DOI: 10.1053/ge.1999.v50.97208]
  - 18 Fritscher-Ravens A, Broering DC, Sriram PV, Topalidis T, Jaekle S, Thonke F, Soehendra N. EUS-guided fine-needle aspiration cytodiagnosis of hilar cholangiocarcinoma: a case series. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 534-540 [PMID: 11023576 DOI: 10.1067/mge.2000.109589]
  - 19 Awad SS, Fagan S, Abudayyeh S, Karim N, Berger DH, Ayub K. Preoperative evaluation of hepatic lesions for the staging of hepatocellular and metastatic liver carcinoma using endoscopic ultrasonography. *Am J Surg* 2002; 184: 601-604; discussion 604-605 [PMID: 12488184 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)01092-9]
  - 20 DeWitt J, LeBlanc J, McHenry L, Ciaccia D, Imperiale T, Chappo J, Cramer H, McGreevy K, Chriswell M, Sherman S. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration cytology of solid liver lesions: a large single-center experience. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1976-1981 [PMID: 14499774]
  - 21 Hollerbach S, Willert J, Topalidis T, Reiser M, Schmieg W. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of liver lesions: histological and cytological assessment. *Endoscopy* 2003; 35: 743-749 [PMID: 12929021 DOI: 10.1055/s-2003-41593]
  - 22 McGrath K, Brody D, Luketich J, Khalid A. Detection of unsuspected left hepatic lobe metastases during EUS staging of cancer of the esophagus and cardia. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1742-1746 [PMID: 16790035 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00665.x]
  - 23 Singh P, Erickson RA, Mukhopadhyay P, Gopal S, Kiss A, Khan A, Ulf Westblom T. EUS for detection of the hepatocellular carcinoma: results of a prospective study. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 265-273 [PMID: 17543307 DOI: 10.1016/j.gie.2006.10.053]
  - 24 Prachayakul V, Aswakul P, Kachintorn U. EUS guided fine needle aspiration cytology of liver nodules suspicious for malignancy: yields, complications and impact on management. *J Med Assoc Thai* 2012; 95 Suppl 2: S56-S60 [PMID: 22574530]
  - 25 Singh P, Mukhopadhyay P, Bhatt B, Patel T, Kiss A, Gupta R, Bhat S, Erickson RA. Endoscopic ultrasound versus CT scan for detection of the metastases to the liver: results of a prospective comparative study. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 367-373 [PMID: 18981929 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318167b8cc]
  - 26 Kimura H, Matsubayashi H, Fukutomi A, Asakura K, Sasaki K, Yamaguchi Y, Ono H. Lymph node metastasis diagnosed by EUS-FNA in four cases with hepatocellular carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 237-240 [PMID: 21349785 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.01.002]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 自身免疫性胰腺炎患者胰腺外器官受累时的超声表现

张云飞, 欧国成, 王学梅

张云飞, 欧国成, 王学梅, 中国医科大学附属第一医院超声科 辽宁省沈阳市 110001

张云飞, 博士, 副主任医师, 主要从事腹部超声诊断的研究工作。  
作者贡献分布: 本文由张云飞与王学梅设计; 病例收集及图像分析由张云飞、欧国成及王学梅共同完成; 病例整理及论文写作由张云飞完成; 王学梅进行修改。

通讯作者: 王学梅, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院超声科. wxmlmt@yahoo.com.cn  
电话: 024-83282098

收稿日期: 2012-12-11 修回日期: 2013-01-19

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-03-18

## Ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis

Yun-Fei Zhang, Guo-Cheng Ou, Xue-Mei Wang

Yun-Fei Zhang, Guo-Cheng Ou, Xue-Mei Wang, Department of Ultrasound, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
Correspondence to: Xue-Mei Wang, Professor, Department of Ultrasound, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning province, China. wxmlmt@yahoo.com.cn

Received: 2012-12-11 Revised: 2013-01-19

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To summarize ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis (AIP).

**METHODS:** Sixteen patients with AIP underwent ultrasound examination of the pancreatic duct, bile duct, gall bladder, peripancreatic lymph nodes, kidneys, parotid glands, submandibular glands, and lacrimal glands to observe whether the pancreatic duct and bile duct were dilated, the gall bladder wall was thickened, parapancreatic lymph nodes were enlarged, echoes of the kidneys were evenly distributed, and the parotid glands, submandibular glands and lacrimal glands mimicked symptoms associated with Sjogren's syndrome.

**RESULTS:** Of 16 patients, 6 had dilated pancreatic ducts, 8 had dilated bile ducts, 6 had thickening of the gall bladder wall, and 3 had enlarged

peripancreatic lymph nodes. Of 10 patients who underwent examination of the parotid glands, submandibular glands, and lacrimal glands, one had abnormalities in the parotid glands, 3 in the submandibular glands, and 7 in the lacrimal glands.

**CONCLUSION:** Lacrimal gland abnormalities occur more usually in AIP patients, which may be useful for the differentiation of AIP from pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Pancreatitis; Autoimmune diseases; Ultrasonography

Zhang YF, Ou GC, Wang XM. Ultrasonographic findings of extrapancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 705-708 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.705>

## 摘要

**目的:** 探讨自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)患者胰腺外器官受累时的超声表现。

**方法:** 回顾性分析16例AIP患者的胰外组织器官超声表现, 包括胰管、胆管、胆囊、胰腺周围淋巴结、肾脏、腮腺、颌下腺及泪腺, 对声像图特点进行分析。观察胰管及胆管有无扩张, 胰腺周围是否存在肿大淋巴结, 肾脏回声是否均匀, 腮腺、颌下腺及泪腺是否存在类似干燥综合征样超声改变。

**结果:** 16例AIP患者均进行了胰管、胆管、胆囊、胰腺周围淋巴结、肾脏的检查, 分别有6、8、6、3、0例出现了超声异常, 10例进行了腮腺、颌下腺、泪腺检查, 分别有1、3、7例出现了超声异常。

**结论:** AIP患者泪腺改变的发生率高, 有可能在AIP与胰腺癌的鉴别诊断中具有重要的意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

## ■背景资料

自身免疫性胰腺炎(AIP)是一种特殊类型的胰腺炎, 是一种少见的疾病, 其概念由Yoshida于1995年首次提出, 国外报道占慢性胰腺炎患者的5%-6%。在我国, AIP没有具体的流行病学调查报告, 仅有个案报道, 这意味着绝大多数AIP被误诊和误治。许多临床医生对该病的认识不足, 常误诊为胰腺癌而采取不必要的手术治疗。

## ■同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科



## ■研发前沿

自身免疫性胰腺炎的诊断需要多方面的资料支持,甚至单纯的穿刺活检都不能单独进行确诊,其与胰腺癌的鉴别诊断一直是研究的重点与热点。

## 关键词: 胰腺炎; 自身免疫疾病; 超声检查

张云飞, 欧国成, 王学梅. 自身免疫性胰腺炎患者胰腺外器官受累时的超声表现. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 705-708  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.705>

## 0 引言

自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)是一种自身免疫性疾病,其超声表现笔者已进行了总结<sup>[1]</sup>,单纯从胰腺的超声表现上很难与胰腺肿瘤进行鉴别.但作为一种系统疾病,其受累部位除胰腺外,还可累及胆管、胆囊、肾脏、腹后壁以及涎腺等.本文旨在通过对多器官组织的超声观察,探讨AIP与肿瘤可能的鉴别诊断方法.

## 1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2003-07/2011-01于我院就诊的AIP患者16例的胰外超声表现临床资料,其中女5例,年龄18-68岁,平均50.20岁±19.84岁,男11例,年龄33-85岁,平均59.27岁±18.12岁.

1.2 方法 AIP的诊断采用亚洲标准<sup>[2]</sup>,即: I 影像学(两条必备): (1)胰腺实质影像学: 腺体弥漫性/节段性/局灶性肿大,有时伴有包块和/或低密度带; (2)胰胆管影像学: 弥漫性/节段性/局灶性胰管狭窄,常伴有胆管狭窄. II 血清学(可仅具备1条): (1)血清高水平的IgG或IgG4; (2)自身抗体阳性. III 胰腺病变组织活检病理学: 淋巴浆细胞浸润伴纤维化,有大量IgG4阳性细胞浸润. 其中影像学两条为必备条件,血清学和组织学可仅具备其一; 当手术切除的胰腺标本组织学表现为淋巴浆细胞浸润伴纤维化时,也可作出AIP的诊断. IV 可选择标准: 对激素治疗的反应. 当患者仅满足条件 I, 且胰胆肿瘤检查指标均为阴性时,可在胰腺专家的指导下谨慎进行激素试验性治疗. 本次研究中13例经 I + II 确诊, 2例经 I + III 确诊, 1例经 I + IV 确诊.

16例患者的超声图片由超声工作站中导出,主要观察胰管及胆管是否有扩张,胆囊壁是否增厚,肾脏的形态结构及血流情况,腹后壁是否有肿大淋巴结,腮腺、颌下腺及泪腺是否肿大,回声是否均匀,是否存在网状回声. 所用彩色超声仪器包括Aloka α10, Philips IU22, Philips HDI5000, Toshiba aplio80, 均为中高档彩色超声诊断仪,图像质量各仪器间无明显差别. 腹部检查应用凸阵探头,频率3.5-5.0 MHz,浅表部位检

表 1 自身免疫性胰腺炎胰外器官组织受累 (n)

受累部位	受检患者	阳性患者
单纯胰管	16	3
单纯胆管	16	5
胰胆管	16	3
胆囊	16	6
胰周淋巴结	16	3
腮腺	10	1
颌下腺	10	3
泪腺	10	7

查应用线阵探头,频率7.5-13.0 MHz. 图像分析由2-3名副主任医师以上级别人员共同确认.

## 2 结果

由于为回顾性分析,早期对此疾病认识不足,部分病例并未进行所有器官组织检查,有6例未进行腮腺、颌下腺及泪腺的检查(表1).

当疾病累及胰管及胆管时表现为胰管、胆管的扩张,其既可表现为单纯的胰管或胆管扩张,也可表现为胰管与胆管同时扩张,胆管的胰头段及胰管的胰头段无扩张,间接反映了胰管和/或胆管狭窄的部位. 疾病累及胆囊时表现为胆囊壁增厚,增厚较均匀,同时伴有胆囊壁的回声减低.

16例患者的肾脏均无明显增大,被膜光滑,皮髓质界限清晰,无明显回声增强或减低区,彩色血流显示良好,二维及彩色多普勒超声均未发现异常改变.

当疾病累及胰腺周围时表现为胰周淋巴结肿大,肿大之淋巴结呈椭圆形,形态规则,由于为低频超声扫描,淋巴结内部结构显示不清晰. 当疾病累及腮腺、颌下腺和/或泪腺时表现为腺体肿大,回声减低不均匀,呈网格样改变,酷似干燥综合征超声表现(表1, 图1, 2),腺体均为双侧受累.

## 3 讨论

目前认为AIP不是局限于胰腺的病变,而是全身自身免疫性病变在胰腺的表现,20%-50%的AIP伴有其他自身免疫性疾病,如干燥综合征、类风湿关节炎、炎症性肠病等,还可累及胰周腹膜后、肝外胆道、胆囊、肝脏、胃黏膜、淋巴结、肾脏、肺等组织脏器<sup>[3]</sup>.

AIP患者自身免疫性疾病累及胆管者约占68%-88%<sup>[4-10]</sup>,肝内外胆管均可受累,胆总管下

## ■相关报道

自身免疫性胰腺炎的诊断标准有很多,其中主要有美国标准、日本标准、韩国标准、意大利标准以及亚洲标准,其中亚洲标准是在2008年最新完善制定的,也是本文所采用的标准.

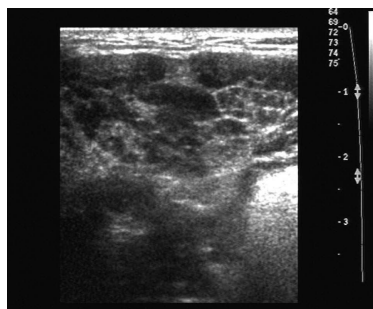


图1 自身免疫性胰腺炎颌下腺超声表现. 腺体回声不均匀, 呈网格样改变.

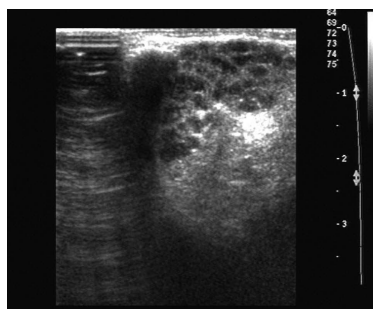


图2 自身免疫性胰腺炎泪腺超声表现. 腺体回声不均匀, 呈网格样改变.

段为好发部位, CT表现为肝内胆管多发性狭窄, 胆总管上段狭窄或胆管壁增厚、增强, 类似于原发性硬化性胆管炎表现, 胆囊壁可增厚. 本组16例患者中11例出现胰管和/或胆管扩张, 占68.75%, 6例出现胆囊壁增厚, 占37.50%, 超声并不能对狭窄做出直接的诊断, 而只能通过胆管的扩张间接判断狭窄的存在.

AIP患者自身免疫性疾病累及肾脏约占35%<sup>[11]</sup>, 实质占30%, 肾窦或肾盂壁占10%. 双侧多发, 主要累及肾皮质. CT表现分为4种类型: 圆形病灶、局限楔形病灶、小的外周皮质结节和弥漫斑片状受累. 本组16例患者均未发现肾脏结构有所改变, 这可能与二维及彩色超声的局限性有关, CT多在增强后发现这些病灶, 因而常规超声的诊断意义不大, 超声造影则有望在AIP患者自身免疫性疾病累及肾脏时有所帮助.

AIP被误诊为胰腺肿瘤的患者手术时约一半会出现腹腔淋巴结肿大<sup>[9]</sup>, 但本组只有3例发现胰周淋巴结肿大. 这与淋巴结的大小, 超声的分辨率、穿透力以及腹腔气体的干扰有关, 大部分存在淋巴结肿大的患者可能都出现了漏诊.

AIP患者自身免疫性疾病累及涎腺约占12%-16%<sup>[12]</sup>, 会出现类似于干燥综合征的表现. 本组受检的10例患者中仅1例腮腺出现此表现, 占10%, 3例颌下腺出现了此种表现, 占30%. 受检的10例患者中7例泪腺内出现了干燥综合征样超声表现, 占70%, 发生率较高, 这在既往的文献中少有提及, 可能对AIP与胰腺癌的鉴别诊断具有重要意义.

自身免疫性胰腺炎与胰腺肿瘤的鉴别有一定的难度<sup>[13-16]</sup>, 通过对多个器官系统的观察, 笔者认为AIP患者泪腺的改变的发生率高, 有可能在AIP与胰腺癌的鉴别诊断中具有重要的意义. 胆管的改变虽发生率高, 但胰腺肿瘤时也可出现, 对于AIP的鉴别诊断帮助不大. 此外, AIP作为一种全身系统疾病的胰腺局部表现, 还可累及到肺、胃肠道、关节等多个器官系统, 由于为回顾性研究, 又受到超声局限性的影响, 此次研究中未能对上述部位进行系统观察, 以后的工作还需与多个科室合作完成.

#### 4 参考文献

- 张云飞, 欧国成, 王学梅, 吴刚. 自身免疫性胰腺炎的临床超声表现. 中国超声医学杂志 2011; 27: 1102-1104
- Otsuki M, Chung JB, Okazaki K, Kim MH, Kamisawa T, Kawa S, Park SW, Shimosegawa T, Lee K, Ito T, Nishimori I, Notohara K, Naruse S, Ko SB, Kihara Y. Asian diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: consensus of the Japan-Korea Symposium on Autoimmune Pancreatitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 403-408 [PMID: 18600383 DOI: 10.1007/s00535-008-2205-6]
- Bodily KD, Takahashi N, Fletcher JG, Fidler JL, Hough DM, Kawashima A, Chari ST. Autoimmune pancreatitis: pancreatic and extrapancreatic imaging findings. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 431-437 [PMID: 19155406 DOI: 10.2214/AJR.07.2956]
- Sahani DV, Kalva SP, Farrell J, Maher MM, Saini S, Mueller PR, Lauwers GY, Fernandez CD, Warshaw AL, Simeone JF. Autoimmune pancreatitis: imaging features. *Radiology* 2004; 233: 345-352 [PMID: 15459324 DOI: 10.1148/radiol.2332031436]
- Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y, Eishi Y, Koike M, Tsuruta K, Okamoto A, Egawa N, Nakajima H. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol* 2003; 38: 982-984 [PMID: 14614606 DOI: 10.1007/s00535-003-1175-y]
- Eerens I, Vanbeckevoort D, Vansteenberghe W, Van Hoe L. Autoimmune pancreatitis associated with primary sclerosing cholangitis: MR imaging findings. *Eur Radiol* 2001; 11: 1401-1404 [PMID: 11519549 DOI: 10.1007/s003300000742]
- Ichimura T, Kondo S, Ambo Y, Hirano S, Ohmi M, Okushiba S, Morikawa T, Shimizu M, Katoh H. Primary sclerosing cholangitis associated with autoimmune pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1221-1224 [PMID: 12239909]
- Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Morphological changes after steroid therapy in autoimmune pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 1154-1158 [PMID: 15545176 DOI: 10.1080/00365520410008033]
- Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Extrapaneatic lesions in autoimmune pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 904-907 [PMID: 16208116 DOI: 10.1097/01.mcg.0000180629.77066.6c]
- Nishino T, Toki F, Oyama H, Oi I, Kobayashi M, Takasaki K, Shiratori K. Biliary tract involvement in autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 76-82 [PMID: 15632703]

#### ■名词解释

干燥综合征: 英文名为 Sjögren's Syndrome (SS), 以此纪念首先报道此病的 Henrik Sjögren's 瑞典医生. 此病是一种以侵犯涎腺(包括腮腺、颌下腺、舌下腺)、泪腺等外分泌腺为主的慢性自身免疫性疾病, 其主要表现为口干、眼干.

## ■同行评价

本文对于自身免疫性胰腺炎的胰腺外器官组织受累情况的超声表现进行了回顾性分析,得出了一些初步结论,出发点值得肯定。

- 11 Takahashi N, Kawashima A, Fletcher JG, Chari ST. Renal involvement in patients with autoimmune pancreatitis: CT and MR imaging findings. *Radiology* 2007; 242: 791-801 [PMID: 17229877 DOI: 10.1148/radiol.2423060003]
- 12 Kamisawa T, Tu Y, Egawa N, Sakaki N, Inokuma S, Kamata N. Salivary gland involvement in chronic pancreatitis of various etiologies. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 323-326 [PMID: 12591049 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07230.x]
- 13 王靖, 阴敏宏, 张淑文, 王宝恩. 自身免疫性胰腺炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1051-1054
- 14 宋建功, 黄如川, 李红燕, 李雪玲. 慢性自身免疫性胰腺炎误诊1例. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2980-2982
- 15 刘昊, 梁廷波. 自身免疫性胰腺炎诊治进展. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 832-835
- 16 吴刚, 李雪丹, 石蕊, 刘屹, 李柏峰, 刘永锋. 自身免疫性胰腺炎14例临床分析. *中华外科杂志* 2010; 48: 484-487

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)



# 上消化道息肉临床特征分析2 376例

刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪

刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪, 广东省人民医院(广东省医学科学院)消化科 广东省广州市 510080  
国家自然科学基金资助项目, No. 81001112  
广州市科技局珠江科技新星基金资助项目, No. 2012J2200019  
作者贡献分布: 马娟与刘婉薇为共同第一作者; 本文由刘婉薇、马娟、余莲英、沙卫红及王启仪共同完成。  
通讯作者: 马娟, 副主任医师, 510080, 广东省广州市中山二路106号, 广东省人民医院(广东省医学科学院)消化科。  
mjqlh@163.com  
收稿日期: 2012-12-31 修回日期: 2013-01-24  
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Clinical characteristics of upper gastrointestinal tract polyps: An analysis of 2 376 cases

Wan-Wei Liu, Juan Ma, Lian-Ying Yu, Wei-Hong Sha, Qi-Yi Wang

Wan-Wei Liu, Juan Ma, Lian-Ying Yu, Wei-Hong Sha, Qi-Yi Wang, Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong General Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Guangzhou 510080, Guangdong Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81001112; and the Zhujiang Technology New Star Foundation of Guangzhou Science and Technology Bureau, No. 2012J2200019  
Correspondence to: Juan Ma, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong General Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), 106 Zhongshan Er Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. mjqlh@163.com  
Received: 2012-12-31 Revised: 2013-01-24  
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinical characteristics of esophagus-gastro-duodenal polyps.

**METHODS:** Clinical data for patients with esophagus-gastro-duodenal polyps who were treated at our hospital over the past decade were retrospectively analyzed. The sites and histological types of polyps were identified to investigate the association of the polyps with factors including *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection, gender, age, and epigastric symptoms.

**RESULTS:** A total of 2 376 patients with polyps were enrolled, including 691 (29.08%) males and 1 685 (70.92%) females. 68.01% (1 616/2 376)

of patients were more than 40 years old. Main symptoms included epigastric upset (41.96%, 997/2 376) and epigastric pain (39.26%, 932/2 376). The polyps were mainly located in the corpus and body (64.39%), duodenum (12%), antrum (11.57%), cardiac (8.88%) and other sites (14.09%). Patients with antral polyps or cardiac polyps had a higher frequency of *H. pylori* infection (41.44% and 33.07%).

**CONCLUSION:** Upper gastrointestinal tract polyps are usually benign and tend to occur in patients more than 40 years old and females. Main symptom is epigastric upset and main pathological type is fundic gland polyps. *H. pylori* infection might be associated with the development of antral polyps and cardiac polyps.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Upper gastrointestinal tract; Polyps; Pathological type; *Helicobacter pylori*

Liu WW, Ma J, Yu LY, Sha WH, Wang QY. Clinical characteristics of upper gastrointestinal tract polyps: An analysis of 2 376 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 709-713 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.709>

## 摘要

**目的:** 回顾性分析我院胃十二指肠息肉的临床学特征, 以期指导临床诊疗。

**方法:** 收集近十年来我院胃镜确诊上消化道息肉的患者, 记录一般临床资料, 分析上消化道息肉部位、病理类型、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、性别、年龄、伴随症状等临床特征。

**结果:** 共收集2 376例上消化道息肉患者, 男691例(29.08%)和女1 685例(70.92%); 68.01% (1 616/2 376)的年龄>40岁者发生上消化道息肉; 41.96%(997/2 376)的患者主要症状为上腹部不适, 39.26%(932/2 376)的患者反复上腹痛; 所有上消化道息肉发生部位为食管35例(1.47%)、贲门211例(8.88%)、胃底体1 530例(64.39%)、胃窦275例(11.57%)、十二指肠290

## ■背景资料

上消化道息肉是临床常见的疾病, 其早期诊断和治疗是临床医生必须面对的难题。由于胃镜的广泛应用以及人们健康意识的增强, 早期胃息肉的诊断水平有较大提高, 胃镜不仅能清楚显示息肉形态, 且能进行组织活检, 对患者创伤较小, 对于上消化道息肉的早期诊断和治疗具有重要意义。

## ■同行评议者

甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

## ■相关报道

杜文礼等认为 *H. pylori* 感染与小肠上皮增生型息肉的发生有关, 由于该型息肉常伴有明显的活动性炎症以及黏膜萎缩和肠上皮化生的变化, 因此可能与胃癌的发生有潜在的相关性。

例(12.21%)、残胃35例(1.47%)。发生于胃窦和贲门的息肉伴随较高的 *H. pylori* 阳性率, 分别为41.44%和33.07% ( $P < 0.05$ )。

**结论:** 上消化道息肉多为良性病变, 好发于40岁以上患者, 女性多见, 伴随症状多为上腹不适, 息肉病理类型与息肉发生部位有一定关系。胃底体息肉以胃底腺息肉为主, 食管、胃窦、十二指肠和残胃的息肉以黏膜萎缩的息肉样改变为主要病理表现。 *H. pylori* 感染者上消化道息肉容易发生在贲门和胃窦。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 上消化道; 息肉; 病理类型; 幽门螺杆菌

刘婉薇, 马娟, 余莲英, 沙卫红, 王启仪. 上消化道息肉临床特征分析2 376例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 709-713 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.709>

## 0 引言

上消化道息肉是指食管、胃、十二指肠腔的黏膜上皮增生导致的局限性隆起病变, 可看做癌前病变甚至恶变, 须进行及时有效治疗。上消化道息肉是临床常见的疾病, 其早期诊断和治疗是临床医生必须面对的难题。由于胃镜的广泛应用以及人们健康意识的增强, 早期胃息肉的诊断水平有较大提高, 胃镜不仅能清楚显示息肉形态, 且能进行组织活检, 对患者创伤较小, 对于上消化道息肉早期诊断和治疗具有重要意义<sup>[1]</sup>。故本研究回顾性分析了本院近10年来胃十二指肠息肉的内镜学及病理学特征。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2001-01/2010-12广东省人民医院伟伦内镜室接受胃镜检查者59 400例, 发现胃十二指肠息肉的患者2 376例, 1 943例进行幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)检测, 1 501例进行病理组织学检查, 对其进行回顾性分析, 总结胃息肉的特点, 以探讨近10年来胃息肉的临床特征、内镜下特点、病理类型、与 *H. pylori* 感染关系。

### 1.2 方法

**1.2.1 息肉诊断与治疗:** 所有患者经GIF-240型胃镜(Olympus公司)检查发现胃十二指肠息肉, 即镜下观察息肉的数目、部位、大小以及形态。如果患者能耐受并同意治疗, 内镜医生根据患者息肉具体情况实行包括活检钳除、高频电凝

表 1 2 376例患者一般资料  $n(\%)$

变量	
性别	男:女=1:2.44
男	691(29.08)
女	1 685(70.92)
年龄(岁)	53.6 ± 14.6
≥40	1 616(68.01)
<40	760(31.99)
临床表现	
上腹部不适	997(41.96)
上腹痛	932(39.26)
黑便	270(11.36)
明显贫血	33(1.39)
体检	144(6.06)

电切、氩气烧灼、黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)等息肉摘除术, 尽可能除去胃息肉。

**1.2.2 *H. pylori* 检测:** 前2 wk内均未使用抗生素及其他对检测有影响的药物。在胃镜下于胃窦距幽门2-5 cm取1、2块黏膜做快速尿素酶试验或病理HP检测, 同时患者行<sup>13</sup>C-呼气试验, 二者之一阳性即为 *H. pylori* 感染。

**1.2.3 组织病理学检查:** 将通过钳夹或息肉切除所取得的组织标本固定于40 g/L的甲醛, 常规石蜡包埋, 3 μm切片。由广东省人民医院病理科医生阅片并参考《诊断病理学》对胃息肉进行组织学评价与分类。

**统计学处理** 计数资料以mean ± SD表示, 组间比较使用 *t* 检验或方差分析; 计量资料以率表示, 组间比较用  $\chi^2$  检验。数据采用SPSS软件分析。  $P < 0.05$  认为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料** 共59 400例患者接受胃镜检查, 2 376(4.00%)例的患者存在上消化道息肉, 其中男691(29.08%)例, 女1 685(70.92%)例, 男:女=1:2.44。平均年龄53.6岁 ± 14.6岁。41.96%(997/2 376)患者伴有上腹部不适、39.26%(932/2 376)患者伴有上腹痛、11.36%(270/2 376)患者伴有黑便、1.39%(33/2 376)患者存在明显贫血, 6.06%(144/2 376)患者则是例行体检中发现有上消化道息肉(表1)。

### 2.2 2001-2010年内镜检查及病理结果

**2.2.1 内镜检查一般情况:** 2 376例息肉发生部位如下食管35例(1.47%)、贲门211例

表 2 上消化道息肉部位与病理组织学类型  $n(\%)$ 

部位	萎缩	肠化	不典型增生	炎性息肉	增生性息肉	胃底腺息肉	腺瘤	肿瘤
食管	8(32)	4(16)	4(16)	3(12)	0(0)	1(4)	1(4)	4(16)
贲门	27(20.61)	31(23.66)	12(9.16)	32(24.43)	16(12.21)	5(3.82)	1(0.76)	7(5.34)
胃底体	189(19.25)	202(20.57)	67(6.82)	107(10.90)	84(8.55)	310(31.57)	12(1.22)	11(1.12)
胃窦	46(25)	33(17.93)	17(9.24)	37(20.11)	34(18.48)	9(4.89)	4(2.17)	4(2.17)
十二指肠	35(23.65)	30(20.27)	20(13.51)	30(20.27)	15(10.13)	4(2.70)	6(4.05)	8(5.41)
残胃	9(29.03)	3(9.68)	5(16.13)	6(19.35)	3(9.68)	2(6.45)	0(0)	3(9.68)
总计	314(20.92)	303(20.19)	125(8.33)	215(14.32)	152(10.13)	331(22.05)	24(1.60)	37(2.47)

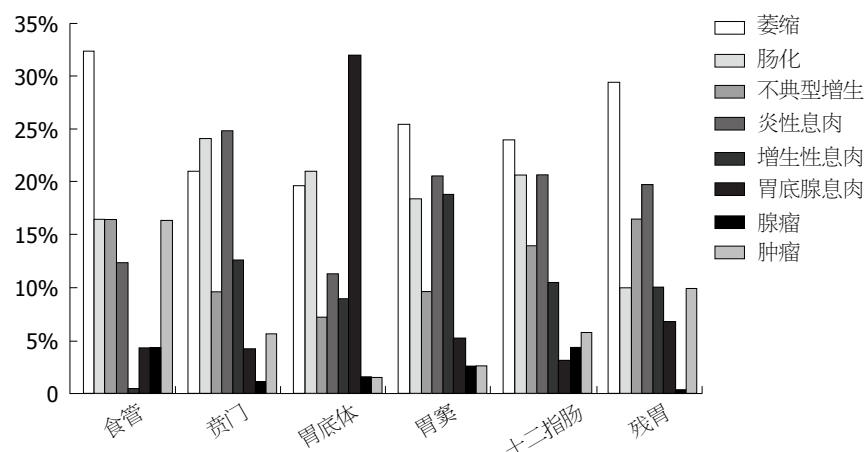


图 1 上消化道息肉部位与病理组织学类型。

(8.88%)、胃底体1 530例(64.39%)、胃窦275例(11.57%)、十二指肠290例(12.21%)、残胃35例(1.47%)。内镜下共发现息肉3 598个,其中单发2 224(93.60%)例,多发152(6.40%)例;37.91%(1 376/3 598)的息肉直径<0.5 cm,43.14%(1 552/3 598)的息肉直径为0.5-1.0 cm,17.34%(624/3 598)的息肉直径为1.0-2.0 cm,1.61%(58/3 598)的息肉直径>2.0 cm。直径<0.5 cm的息肉多给予活检钳钳除、氩气烧灼,直径0.5-1.0 cm给予高频电凝电切,直径>1.0 cm给予黏膜切除术,所有患者治疗后均未见创面出血、穿孔等并发症。

2.2.2 上消化息肉病理组织学类型: 1 501例接受病理组织学检查,结果如表2所示,病理组织学检查结果:根据10年病理组织检查分析病理改变特点为:萎缩、肠化、不典型增生、炎性息肉、增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉、肿瘤的比例分别为20.92%(314/1 501)、20.19%(303/1 501)、8.33%(125/1 501)、14.32%(215/1 501)、10.13%(152/1 501)、22.05%(331/1 501)、1.60%(24/1 501)、2.47%(37/1 501),表明胃底腺息肉是主要的病理改变,其次是黏膜萎缩、肠化等炎症改变。进一

步分析,如图1所示,发生在胃底体的息肉以胃底腺息肉为主;发生在食管、胃窦、十二指肠和残胃的息肉以黏膜萎缩为主要病理表现;贲门息肉以炎性息肉为多见。

2.2.3 上消化道息肉与 *H. pylori* 感染的关系: 2 376例患者,共1 943例进行 *H. pylori* 检测,18.27%(355/1 943)上消化道息肉患者伴有 *H. pylori* 感染。息肉发生部位与 *H. pylori* 感染有一定关系。如表3所示,食管、贲门、胃底体、胃窦、十二指肠、残胃的 *H. pylori* 感染率分别为25.93%、33.07%、13.09%、41.44%、16.39%、17.39%,组间比较有显著性差异( $\chi^2 = 106.927$ ,  $df = 5$ ,  $P < 0.001$ );进一步分析得出,与其他各组比较,贲门息肉组( $\chi^2 = 17.177$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0.001$ )、胃窦息肉组( $\chi^2 = 74.787$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0.001$ ) *H. pylori* 感染均显著升高。食管息肉组 *H. pylori* 感染亦较高,但与其他组比较,差异无统计学意义( $P = 0.322$ )。

### 3 讨论

为了解胃息肉发生率及其内镜学和病理学特征,本研究收集了我院近十年来的上消化道息肉患者,进行了相关分析。研究结果显示上消

### ■同行评价

本文纳入病例量大,时间跨度长,对临床有一定指导意义。



表 3 上消化道息肉部位与 *H. pylori* 感染的相关性  $n(\%)$ 

部位	<i>H. pylori</i> 阴性	<i>H. pylori</i> 阳性
食管	20(74.07)	7(25.93)
贲门 <sup>2</sup>	85(66.93)	42(33.07)
胃底体	1 135(86.91)	171(13.09)
胃窦 <sup>1</sup>	130(58.56)	92(41.44)
十二指肠	199(83.61)	39(16.39)
残胃	19(82.61)	4(17.39)
合计	1 588(81.73)	355(18.27)
Likelihood Ratio	$\chi^2 = 106.927$ , df = 5	$P < 0.001$

<sup>1</sup>胃窦息肉组 vs 非胃窦息肉组,  $\chi^2 = 74.787$ , df = 1,  $P < 0.001$ ; <sup>2</sup>贲门息肉组 vs 非贲门息肉组,  $\chi^2 = 17.177$ , df = 1,  $P < 0.001$ .

化息肉发生率为4.0%, 女性多见, 男:女为1:2.44, 年龄>40岁者息肉发生率为<40岁者的2.13倍. 81.22%的患者伴有上腹部不适或上腹痛. 内镜所见单发息肉多见, 好发于胃底体部, 常见病理类型为胃底腺息肉, 其次好发部位为胃窦、贲门、十二指肠、残胃, 常见病理类型主要伴有活动性炎症相关病理变化, 包括萎缩、肠上皮化生、炎性息肉等. *H. pylori*感染与胃窦、十二指肠、贲门、食管息肉有关, 尤其黏膜萎缩、肠化、炎性息肉. 以往研究结果显示胃息肉检出率稍有差异. 朱鸣等<sup>[1]</sup>研究主要针对老年人群, 胃息肉检出率为4.77%, 高于本研究. 炎性增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉分别占63.33%、25.00%、7.50%. 老年人有较高的胃息肉检出率, 病理上炎性增生性息肉及胃底腺息肉较常见. 胃息肉单发多见, 多位于胃窦、胃底、胃体部. 与朱鸣研究<sup>[1]</sup>结果相似, 与炎症相关的息肉比例占约73.89%, 腺瘤性息肉低于该研究, 这与研究人群有关, 我们的研究针对所有人群, 该研究则主要针对老年人. 王化冰等<sup>[2]</sup>报道胃息肉检出率3.3%, 好发于胃底体, 其次胃窦, 胃底腺息肉是常见病理类型, 其中>60岁的老年患者胃息肉检出率为3.9%, 低于60岁的中青年患者胃息肉检出率为2.9%. 我们研究结果显示息肉好发于胃底体部, 胃底腺息肉是常见病理类型. 韩国学者García-Alonso等<sup>[3]</sup>的研究报道4.2%的胃息肉发生率, 50.9%为增生性息肉, 7.4%为胃底腺息肉, 3.0%腺瘤, 1.9%腺癌.

本研究显示81.22%的上消化道息肉患者伴有消化不良症状, 其中41.96%患者存在上腹部不适, 39.26%患者存在上腹痛, 1 501例(63.17%)患者进行了息肉病理组织学检查, 其中腺瘤24

例(1.60%), 肿瘤37例(2.47%). 尽管无直接证据表明上消化道息肉与消化不良症状的相关性, 大多数消化不良症状的患者胃镜检查未发现明显异常, 但仍然有1.5%-2.5%的患者存在恶性疾病的风险, 故尤其伴有报警症状的消化不良患者, 需要进行至少一次的上消化道内镜的筛查.

胃息肉常常被视为癌前病变. 尤其家族性腺瘤息肉病的患者, 胃底腺息肉、胃癌、十二指肠腺瘤、十二指肠癌较易发生, 更应该定期胃镜检查<sup>[4]</sup>. 本研究结果显示20.92%、20.19%、8.33%的息肉伴有萎缩、肠上皮化生和不典型增生, 这些病变都是活动性炎症到癌变的不同阶段, 需得引起临床上的重视. 此外腺瘤性息肉和肿瘤的发现率分别为1.60%和2.47%, 尽管恶性疾病发生率不高, 但仍需定期随访.

我们的研究结果显示20.92%(314/1 501)的息肉伴有萎缩、20.19%(303/1 501)的息肉伴有肠上皮化生、8.33%(125/1 501)的息肉伴有不典型增生. 胃底体息肉以胃底腺息肉为主, *H. pylori*感染率较低, 约13.09%; 胃窦、食管息肉病理变化以黏膜萎缩为主, *H. pylori*感染率较高, 分别为41.44%、25.93%; 贲门息肉以炎性息肉为主, *H. pylori*感染也高达33.07%. 这提示胃息肉经常伴有活动性炎症, 而*H. pylori*感染可能是诱因, *H. pylori*感染与胃息肉发生部位和病理类型有关, *H. pylori*感染患者胃窦、食管、贲门较易发生黏膜炎症和萎缩, 而胃底体的胃底腺息肉发生风险相对较低, 这与以往研究有一定的不一致性<sup>[5]</sup>; Hongo等<sup>[5]</sup>研究认为但最近又有学者研究发现接受长期PPI维持治疗的反流性食管炎患者, *H. pylori*感染和高胃泌素血症促进增生性息肉的发生, 无*H. pylori*感染者可能增加胃底腺息肉的发生风险. 杜文礼等<sup>[6]</sup>认为*H. pylori*感染与小凹上皮增生型息肉的发生有关, 由于该型息肉常伴有明显的活动性炎症以及黏膜萎缩和肠上皮化生的变化. 因此可能与胃癌的发生有潜在的相关性. 针对与*H. pylori*感染相关的胃增生性息肉, 根除*H. pylori*治疗可以有效控制黏膜炎症, 甚至部分胃息肉可以消失. 季峰等<sup>[7]</sup>研究者认为大多数增生性胃息肉在根除*H. pylori*后可以消失, 对于伴有*H. pylori*感染的增生性胃息肉患者, 可先尝试进行*H. pylori*根除治疗后再行内镜下息肉摘除术.

*H. pylori*感染后, 可以引起一系列胃十二指肠黏膜炎症, 甚至溃疡、恶性肿瘤. 本研究发现18.27%的息肉患者伴有*H. pylori*感染, 发生

在胃窦、贲门和食管的息肉 *H. pylori* 感染高达 41.44%、33.07%、25.93%，这些部位息肉的病理改变以萎缩、肠化和炎性息肉为主，均与炎症相关，提示 *H. pylori* 可能经过引起上消化道一系列的炎症反应促进息肉的发生。值得注意的是，*H. pylori* 主要在胃窦定植，但仍然与贲门食管息肉有关，分析可能与 *H. pylori* 感染导致胃腔内胃酸分泌过多引起胃食管反流有关。朱元民等<sup>[8]</sup> 研究发现胃息肉患者胃镜下往往伴有贲门口松弛、胃窦条状黏膜充血及幽门口黏膜脱垂，提示与胃肠反流有关，我们的研究进一步支持了这个观点。近来尚有研究表明长期 PPI 维持治疗的反流性食管炎患者，*H. pylori* 感染和高胃酸血症促进了增生性息肉的发生，而缺乏 *H. pylori* 感染则导致胃底腺息肉的发生。这也提示胃食管反流病、*H. pylori* 感染、PPI 治疗、胃息肉有着一定的关联<sup>[5]</sup>。这给我们提示了今后研究方向。

#### 4 参考文献

- 1 朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平. 老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18: 179-183
- 2 王化冰, 许乐. 老年人胃息肉的临床特点分析. 中华老年医学杂志 2010; 29: 390-393
- 3 García-Alonso FJ, Martín-Mateos RM, González Martín JA, Foruny JR, Vázquez-Sequeiros E, Boixeda de Miquel D. Gastric polyps: analysis of endoscopic and histological features in our center. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103: 416-420 [PMID: 21867351 DOI: 10.4321/S1130-01082011000800005]
- 4 Park SY, Ryu JK, Park JH, Yoon H, Kim JY, Yoon YB, Park JG, Lee SH, Kang SB, Park JW, Oh JH. Prevalence of gastric and duodenal polyps and risk factors for duodenal neoplasm in Korean patients with familial adenomatous polyposis. *Gut Liver* 2011; 5: 46-51 [PMID: 21461071 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.1.46]
- 5 Hongo M, Fujimoto K. Incidence and risk factor of fundic gland polyp and hyperplastic polyp in long-term proton pump inhibitor therapy: a prospective study in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 618-624 [PMID: 20177714 DOI: 10.1007/s00535-010-0207-7]
- 6 杜文礼, 张亚历, 赖卓胜. 胃息肉与 HP 感染、黏膜炎症及黏膜萎缩相关性的研究. 现代消化及介入诊疗 2000; 5: 8-11
- 7 季峰, 宁建文, 陈岳亮, 陈建永, 厉有名. 根除幽门螺杆菌对胃增生性息肉的作用. 中华消化杂志 2005; 25: 3-5
- 8 朱元民, 李菁, 刘玉兰. 胃息肉发病机制相关因素研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 522-524

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果 2012-12-07 由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011 年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次 6 979 次, 影响因子 0.873, 综合评价总分 88.5 分, 分别位居内科学类 52 种期刊的第 1 位、第 3 位、第 1 位, 分别位居 1998 种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第 11 位、第 156 位、第 18 位; 其他指标: 即年指标 0.219, 他引率 0.89, 引用刊数 619 种, 扩散因子 8.84, 权威因子 2 144.57, 被引半衰期 4.7, 来源文献量 758, 文献选出率 0.94, 地区分布数 26, 机构分布数 1, 基金论文比 0.45, 海外论文比 0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据 2011 年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获 2011 年“百种中国杰出学术期刊”称号。

## 老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例

罗显克, 唐雪媛, 谭建荣

### ■背景资料

随着我国步入老龄化社会, 肠癌发病率逐渐增多, 本研究对我院5年来肠镜检查发现肠道息肉的老年人与同期肠镜发现有息肉的青年人进行比较、分析, 从大肠息肉的分布与癌变、大肠息肉的大小与癌变、大肠息肉的形态与癌变及病理类型与癌变等多个方面进行分析, 较全面的分析了老年人大肠息肉癌变的影响因素, 在国内相关报道不多, 对老年人大肠息肉的随诊及治疗有较好的指导作用。

罗显克, 唐雪媛, 谭建荣, 广西壮族自治区民族医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530001

罗显克, 主治医师, 主要从事消化内科的研究工作。

作者贡献分布: 此课题由罗显克与唐雪媛设计; 研究过程由罗显克、唐雪媛及谭建荣操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由罗显克提供; 数据分析由唐雪媛完成; 本文写作由罗显克、唐雪媛及谭建荣完成。

通讯作者: 罗显克, 主治医师, 530001, 广西壮族自治区南宁市明秀东路232号, 广西壮族自治区民族医院消化内科。luxike0142@163.com

电话: 0771-3110091

收稿日期: 2012-12-22 修回日期: 2013-01-18

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

### Clinical, endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps in elderly patients: An analysis of 248 cases

Xian-Ke Luo, Xue-Yuan Tang, Jian-Rong Tan

Xian-Ke Luo, Xue-Yuan Tang, Jian-Rong Tan, Department of Gastroenterology, Minzu Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, Guangxi Autonomous Region, China

Correspondence to: Xian-Ke Luo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Minzu Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, Guangxi Autonomous Region, China. luxike0142@163.com

Received: 2012-12-22 Revised: 2013-01-18

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

### Abstract

**AIM:** To summarize the characteristics of colonic polyps in elderly patients and to analyze the relationship between colorectal polyps and dysplasia.

**METHODS:** Clinical data for elderly patients with colorectal polyps confirmed by colonoscopy who were treated at our hospital from January 2007 to January 2012 were retrospectively analyzed and compared with those for patients < 60 years in terms of type, size, position, shape and histological type of colorectal polyps.

**RESULTS:** The rate of malignant transformation of colonic polyps in elderly patients was 14.1%, significantly higher than that in young and middle-aged patients (3.8%,  $P < 0.01$ ). Clinical symp-

toms of colorectal polyps in elderly patients were not typical, and the most frequent symptom was hematochezia (45.2%). Colonic polyps in the elderly usually occur in the rectum (33.6% vs 32.4%) and sigmoid colon (40.6% vs 26.4%). There was no significant difference in the anatomic distribution of colorectal polyps between the two groups ( $P > 0.05$ ), but malignant polyps were more commonly distributed in the ascending colon (39.1%) than in the left hemi colon ( $P < 0.05$ ). Polyps in the rectum, descending colon, transverse colon and ascending colon more easily developed malignant transformation in elderly patients than in young and middle-aged patients ( $P < 0.05$ ). The ratios of colorectal polyps with lat-basement, sublobe, multiple numbers or a diameter > 1.0 cm were increased in the aged group (all  $P < 0.05$ ). Larger size, broader fundus, more numbers and sublobes were associated with a higher frequency of malignancy (all  $P < 0.05$ ). Colonic polyps in the aged group were predominantly adenomatous polyps (61.5%), especially tubular adenoma (38.8%). All the 35 cases with malignant transformation were adenomatous. The frequency of malignant villous adenoma was significantly higher than those of other adenomas.

**CONCLUSION:** Compared with patients < 60 years, colorectal polyps in elderly patients show some unique characteristics. Risk factors leading to the malignant transformation of colorectal polyps in elderly patients include age > 60 years, polyps size larger than 2.0 cm, multiple polyps, occurrence in the ascending colon, presence of sublobes, cauliflower like polyps, and adenoma, especially villous type adenoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Polyps of the large intestine; Elderly; Risk factors

Luo XK, Tang XY, Tan JR. Clinical, endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps in elderly patients: An analysis of 248 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 714-718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.714>

### ■同行评议者

何松, 教授 重庆医科大学第二医院消化内科



## 摘要

**目的:** 探讨老年人( $\geq 60$ 岁)大肠息肉的临床、内镜与病理特点及其与癌变的关系。

**方法:** 分析2007-01/2012-01我科老年大肠息肉患者248例的就诊原因、息肉内镜特点及病理特征, 并与同期237例中、青年(16-59岁)大肠息肉患者相比较。

**结果:** 老年人大肠息肉癌变率(14.1%)显著高于中青年患者(3.8%,  $P < 0.01$ ), 其临床症状并不典型, 以便血(45.2%)多见; 息肉好发于直肠(33.6% vs 32.4%)、乙状结肠(40.6% vs 26.4%), 两组大肠息肉分布比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 但老年组升结肠的癌变率(39.1%)明显高于左半结肠( $P < 0.05$ ), 且直肠、降结肠、横结肠及升结肠的癌变率也高于中青年的同一部位( $P < 0.05$ ); 老年组直径 $> 1$  cm、多发、广基、分叶状息肉的构成比显著高于中青年组( $P < 0.05$ ); 息肉体积大( $> 2$  cm)、基底宽、数量多、表面呈分叶状, 癌变率高( $P < 0.05$ ); 病理类型以腺瘤性息肉(62.5%)为主, 尤其是管状腺瘤(38.8%); 35例癌变息肉均为腺瘤性息肉, 其中绒毛状腺瘤的癌变率(55.3%)最高。

**结论:** 老年人大肠息肉的发生与中青年人有差异; 年龄 $\geq 60$ 岁、分布于升结肠、直径 $> 2.0$  cm、多发、无蒂、分叶状、腺瘤性息肉尤其是绒毛状腺瘤是老年人大肠息肉癌变的高危因素。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 大肠息肉; 老年人; 危险因素

罗显克, 唐雪媛, 谭建荣. 老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 714-718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.714>

## 0 引言

大肠息肉是一种起源于大肠黏膜上皮的局限性隆起的赘生物, 目前认为是大肠癌重要的癌前疾病. 2007-01/2012-01, 我科发现老年人大肠息肉305例, 其中临床、内镜及病理资料保存完整的248例, 并与同期中、青年大肠息肉237例比较, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2007-01/2012-01在我科经电子

结肠镜检查发现大肠息肉的老年患者248例作为老年组, 共325枚息肉, 癌变35例(14.1%), 其中男142例(57.3%), 癌变18例(12.7%), 女106例(42.7%), 癌变17例(16.0%), 男女比例1.3:1, 年龄60-88岁, 中位年龄67.5岁; 同期发现大肠息肉的中、青年患者237例作为中青年组, 共269枚息肉, 癌变9例(3.8%), 其中男129例(54.4%), 癌变5例(3.9%), 女108例(45.6%), 癌变4例(3.7%), 男女比例1.2:1, 年龄18-59岁, 中位年龄47岁. 行结肠镜检查的主要原因有便血、便秘、腹泻、腹痛等. 上述症状老年组分别为112例(45.2%)、92例(37.1%)、79例(31.9%)、88例(35.5%); 中青年组分别为70例(29.5%)、45例(19.0%)、126例(53.2%)、78例(32.9%), 部分患者合并多个原因。

**1.2 方法** 检查前行清洁肠道等常规准备, 采用Olympus-Q260、Fujinon-490型电子结肠镜, 德国ERBR ICC200高频电发生器, 所有病例均插镜至回盲部, 行全结肠镜检查, 对发现的息肉明确解剖位置和数目, 估计大小(镜下以活检钳完全张开估计为0.5cm), 观察息肉形态和基底特点, 对可疑癌变的息肉取活检送病理诊断, 其余息肉均行“全瘤”活检<sup>[1]</sup>. 按Morson等<sup>[2]</sup>的组织学分类法分类。

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件, 计数资料以例数(%)或枚数(%)表现, 两组间比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 肠镜检查结果** 按大肠息肉的分布, 老年组325枚息肉中, 分布于直肠109枚(33.6%), 癌变12枚(11.0%), 乙状结肠132枚(40.6%), 癌变4枚(7.4%), 降结肠40枚(12.3%), 癌变6枚(15.0%), 横结肠19枚(5.8%), 癌变4枚(21.1%), 升结肠23枚(7.1%), 癌变9枚(39.1%), 回盲部2枚(0.6%), 无癌变; 中青年组269枚息肉中, 分布于直肠87枚(32.4%), 癌变3枚(3.4%), 乙状结肠71枚(26.4%), 癌变3枚(4.2%), 降结肠46枚(17.1%), 癌变1枚(2.2%), 横结肠35枚(13.0%), 癌变1枚(2.9%), 升结肠27枚(10.0%), 癌变1枚(3.7%), 回盲部3枚(1.1%), 无癌变. 两组比较, 息肉在大肠各段的分布均以直肠、乙状结肠为主, 无显著差异性( $P > 0.05$ ); 老年组升结肠的息肉癌变率显著高于左半结肠( $P < 0.05$ ), 直肠、降结肠、横结肠和升结肠的癌变率也高于中青年组的同一部位( $P < 0.05$ , 表1)。

## ■ 相关报道

有文献认为大肠息肉高发于直肠和乙状结肠的原因可能是结肠内容物高度集中在直肠与远端结肠, 而近端、远端结肠肠上皮的胚胎起源和遗传机制不同, 使得其对外源性物质的易感性也不同。

## ■应用要点

老年与中青年大肠息肉是有差异的,但影响息肉发生癌变或不典型增生的因素均是相同的,这提示老年与中青年的大肠息肉的发生与生长机制上可能存在差异,但在其发生癌变或不典型增生的机制上可能是相同的。

表 1 两组息肉在大肠各段的分布及癌变情况  $n(\%)$ 

分组	分布	息肉数	癌变数
老年组( $n = 325$ )	直肠	109(33.6)	12(11.0) <sup>a</sup>
	乙状结肠	132(40.6)	4(7.4)
	降结肠	40(12.3)	6(15.0) <sup>a</sup>
	横结肠	19(5.8)	4(21.1) <sup>a</sup>
	升结肠	23(7.1)	9(39.1) <sup>bc</sup>
	回盲部	2(0.6)	0(0.0)
中青年组( $n = 269$ )	直肠	87(32.4)	3(3.4)
	乙状结肠	71(26.4)	3(4.2)
	降结肠	46(17.1)	1(2.2)
	横结肠	35(13.0)	1(2.9)
	升结肠	27(10.0)	1(3.7)
	回盲部	3(1.1)	0(0.0)

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 中青年组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 直肠、乙状结肠、降结肠。

表 2 两组息肉大小比较及癌变情况  $n(\%)$ 

分组	直径(cm)	息肉数	癌变数
老年组( $n = 325$ )	<1.0	130(40.0) <sup>b</sup>	2(1.5)
	1.0–2.0	105(32.3)	5(4.8)
	>2.0	90(27.7)	28(31.1) <sup>ac</sup>
中青年组( $n = 269$ )	<1.0	167(62.1)	0(0.0)
	1.0–2.0	60(22.3)	3(5.0)
	>2.0	42(15.6)	6(14.3)

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 中青年组; <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs 直径<2.0 cm。

按大肠息肉的数目和大小,老年组248例息肉患者中,单发173例(69.8%),癌变11例(6.4%),多发75例(30.2%),癌变24例(32.0%),325枚息肉中,直径<1.0 cm的130枚(40.0%),癌变2枚(1.5%),1.0–2.0 cm的105枚(32.3%),癌变5枚(4.8%),>2.0 cm的90枚(27.7%),癌变28枚(31.1%);中青年组237例息肉患者中,单发216例(91.1%),癌变7例(3.2%),多发21例(8.9%),癌变2例(9.5%),269枚息肉中,直径<1.0 cm的167枚(62.1%),无癌变,1.0–2.0 cm的60枚(22.3%),癌变3枚(5.0%),>2.0 cm的42枚(15.6%),癌变6枚(14.3%)。两组比较,老年组多发、直径>2.0 cm的息肉构成比及癌变率显著高于中青年组( $P < 0.05$ );多发、直径>2.0 cm的息肉癌变率显著高于单发、直径<2.0 cm者( $P < 0.01$ ,表2)。

按大肠息肉的形态,老年组325枚息肉中,有蒂64枚(19.7%),无癌变,广基261枚(80.3%),癌变35枚(13.4%),表面光滑223枚(68.6%),癌变3枚(1.9%),分叶状102枚(31.4%),癌变32

枚(31.4%);中青年组269枚息肉中,有蒂99枚(36.8%),无癌变,广基170枚(63.2%),癌变9枚(5.3%),表面光滑219枚(81.4%),癌变1枚(0.4%),分叶状50枚(18.6%),癌变8枚(16.0%)。两组相比,老年组广基、分叶状息肉构成比及癌变率显著高于中青年组( $P < 0.01$ );广基、分叶状息肉癌变率显著高于有蒂、表面光滑者( $P < 0.01$ ,表3)。

2.2 大肠息肉的病理类型 老年组325枚息肉中,炎症性息肉82枚(25.2%),无癌变,增生性息肉43枚(13.2%),无癌变,腺瘤性息肉200枚(61.5%),癌变35枚(17.5%),其中管状腺瘤126枚(38.8%),癌变6枚(4.8%),绒毛状腺瘤47枚(14.5%),癌变26枚(55.3%),混合性腺瘤27枚(8.3%),癌变3枚(11.1%);中青年组269枚息肉中,炎症性息肉163枚(60.6%),无癌变,增生性息肉28枚(10.4%),无癌变,腺瘤性息肉78枚(29.0%),癌变9枚(11.5%),其中管状腺瘤40枚(14.9%),癌变1枚(2.5%),绒毛状腺瘤24枚(8.9%),癌变7枚(46.5%),混合性腺瘤14枚(5.2%),癌变1枚(7.1%)。两组比较,中青

表 3 两组息肉形态比较及癌变情况  $n(\%)$ 

分组	息肉形态	息肉数	癌变数
老年组( $n = 325$ )	有蒂	64(19.7)	0(0.0)
	广基	261(80.3) <sup>b</sup>	35(13.4) <sup>bd</sup>
	表面光滑	223(68.6)	3(1.9)
	分叶状	102(31.4) <sup>b</sup>	32(31.4) <sup>af</sup>
中青年组( $n = 269$ )	有蒂	99(36.8)	0(0.0)
	广基	170(63.2)	9(5.3)
	表面光滑	219(81.4)	1(0.4)
	分叶状	50(18.6)	8(16.0)

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 中青年组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 有蒂息肉; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 表面光滑息肉。

表 4 两组息肉的病理类型比较及癌变情况  $n(\%)$ 

分组	病理类型	息肉数	癌变数
老年组( $n = 325$ )	炎症性息肉	82(25.2) <sup>b</sup>	0(0.0)
	增生性息肉	43(13.2)	0(0.0)
	管状腺瘤	126(38.8)	6(4.8)
	绒毛状腺瘤	47(14.5) <sup>c</sup>	26(55.3) <sup>d</sup>
	混合性腺瘤	27(8.3)	3(11.1)
中青年组( $n = 269$ )	炎症性息肉	163(60.6)	0(0.0)
	增生性息肉	28(10.4)	0(0.0)
	管状腺瘤	40(14.9)	1(2.5)
	绒毛状腺瘤	24(8.9)	7(46.5)
	混合性腺瘤	14(5.2)	1(7.1)

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 中青年组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 管状腺瘤。

年组大肠息肉以炎症性为主( $P < 0.01$ ), 老年组以腺瘤性为主, 尤以管状腺瘤多见( $P < 0.01$ ), 绒毛状腺瘤癌变率显著高于管状腺瘤( $P < 0.01$ , 表4)。

### 3 讨论

本资料老年组大肠息肉癌变率(14.1%)显著高于中青年组(3.8%,  $P < 0.01$ ), 这可能与老年人机体免疫机能随年龄增加而逐渐减退有关, 提示 $\geq 60$ 岁是大肠息肉发生癌变的高危因素之一, 故应放宽老年人结肠镜检查的指征, 使老年大肠息肉患者得到早期诊断和治疗, 并定期随访以防癌变。两组大肠息肉的性别构成比无统计学差异( $P > 0.05$ ), 同一组中不同性别其息肉癌变率亦无统计学差异( $P > 0.05$ ), 提示大肠息肉与性别无关<sup>[3]</sup>。

大肠息肉的临床表现并不典型<sup>[4]</sup>, 本资料中绝大多数患者均出现了轻重不同的消化系症状。中青年组运动量大, 结肠蠕动快, 其临床症状以腹泻(53.2%)为主, 便秘较少。老年人临床症状

主要以便血(45.2%)为主, 其次为便秘(37.1%)、腹泻(31.9%)、腹痛(35.5%)等, 本资料中便秘与腹泻交替是老年息肉患者的一个特点。35例癌变患者中有27例出现了便血, 提示癌变息肉的临床症状以便血为主, 在排除肛周病变后, 便血可作为电子结肠镜检查发现息肉的首选指征之一<sup>[5]</sup>, 对于反复发生黏液血便、腹痛、腹泻、消瘦、贫血等的患者应尽早行电子结肠镜检查。

老年组分布于直肠、乙状结肠及降结肠的息肉分别为33.6%、40.6%及12.3%, 中青年组分布于直肠、乙状结肠及降结肠的息肉分别为32.4%、26.4%及17.1%, 两个不同年龄组大肠息肉的分布均以直肠、乙状结肠为主<sup>[6]</sup>, 文献<sup>[7]</sup>认为其原因可能是结肠内容物高度集中在直肠与远端结肠, 而近端、远端结肠肠上皮的胚胎起源和遗传机制不同, 使得其对外源性物质的易感性也不同。老年组升结肠的癌变率(39.1%)显著高于左半结肠( $P < 0.05$ ), 直肠(11.0%)、降结肠(15.0%)、横结肠(21.1%)、升结肠的癌变率

### 同行评价

本文探讨老年人大肠息肉的临床、内镜与病理特点及其与癌变的关系, 资料翔实, 对临床工作有一定指导意义, 有较高的学术价值。



也高于中青年组的同一个部位( $P<0.05$ ), 这可能与老年人运动量少, 肠蠕动功能减弱, 容易便秘, 结肠内容物长期在升结肠及远端结肠滞留, 其中的致癌物长时间刺激结肠黏膜上皮有关. 两组中各肠段均检出息肉, 且除回盲部外的其余肠段均有息肉发生癌变, 提示息肉及其癌变呈全结、直肠分布, 老年近端结肠癌变率高. 因此, 在行结肠镜检查时, 应尽可能插镜至回盲部, 检查全结肠, 避免漏诊, 发现息肉时应做常规活检. 当不能继续进镜时, 应该考虑行钡灌肠等了解其余肠段的情况, 同时做肿瘤标志物检查<sup>[8]</sup>. 老年人体质较弱、合并症多增加了电子结肠镜检查与治疗的风险, 目前临床上逐渐开展的无痛电子结肠镜提高了老年人肠镜操作的耐受性与依从性, 在严密监测下行无痛肠镜检查的安全性及可行性亦得到了证实<sup>[9]</sup>, 镇静与麻醉情况下的内镜检查有助于减轻机体应激反应, 不仅使原来视为内镜检查禁忌的一些心血管疾病患者也可接受检查, 而且可减少或避免心脑血管意外事件的发生.

老年组息肉直径 $<1.0$  cm, 癌变发生率为1.5%;  $1.0-2.0$  cm, 癌变发生率为4.8%;  $>2.0$  cm, 癌变发生率为31.1%, 与郑恩典等<sup>[3]</sup>报道相符. 两组比较, 老年组 $>1$  cm(60.0%)、多发(30.2%)、广基(80.3%)、分叶状(31.4%)息肉的构成比显著高于中青年组( $P<0.01$ ), 且息肉的体积越大( $>2.0$  cm)、数量越多、形态呈广基、分叶状者癌变率越高, 说明息肉的体积、数目、基底与表面形态是癌变的重要相关因素, 支持 $>2.0$  cm、多发性、广基、分叶状息肉容易发生癌变的观点<sup>[3,10]</sup>. 35枚癌变息肉均为广基, 多呈分叶状, 提示当息肉表面呈分叶状或绒毛状, 伴糜烂出现, 外观污浊、扁平, 尤其伴有溃疡时, 应考虑恶变的可能. 值得注意的是, 随着扁平腺瘤、锯齿状腺瘤等病变的出现, 提示我们对于小的息肉也不能忽视, 而这些病变早期在普通内镜下容易漏诊, 因此, 应用更先进的肠镜检查技术如染色放大内镜可以提高息肉的检出率<sup>[11]</sup>.

大肠息肉癌变与其病理类型密切相关. 一般认为炎症性、增生性息肉不会发生癌变<sup>[12]</sup>, 两组中均未见癌变者. 中青年组息肉以炎症性(60.6%)为主, 老年组以腺瘤性息肉(61.5%)为

主, 其中管状腺瘤(38.8%)最多见. 35枚癌变息肉均发生在腺瘤性息肉中, 提示腺瘤性息肉容易发生癌变<sup>[13]</sup>, 其中绒毛状腺瘤的癌变率最高(55.3%), 混合性腺瘤次之(11.1%), 管状腺瘤最低(4.8%). 绒毛状腺瘤癌变率显著高于管状腺瘤( $P<0.01$ ), 可见随绒毛成分增加, 腺瘤癌变的几率也增加, 可能是绒毛状结构大大增加了息肉的表面积, 腺瘤越大, 癌变率越高. 近年有文献报道非腺瘤性息肉也有发生癌变的可能<sup>[14]</sup>, 因此, 息肉无论性质, 均应干预治疗.

通过两个不同年龄组对比分析发现, 老年与中青年大肠息肉是有差异的, 但影响息肉发生癌变或不典型增生的因素均是相同的, 这提示我们老年与中青年的大肠息肉的发生与生长机制上可能存在差异, 但在其发生癌变或不典型增生的机制上可能是相同的.

#### 4 参考文献

- Repici A, Triccerri R. Endoscopic polypectomy: techniques, complications and follow-up. *Tech Coloproctol* 2004; 8 Suppl 2: s283-s290 [PMID: 15666108 DOI: 10.1007/s10151-004-0178-x]
- Morson BC. Genesis of colorectal cancer. *Clin Gastroenterol* 1976; 5: 505-525 [PMID: 1022372 DOI: 10.1007/s10350-004-6553-x]
- 郑恩典, 郑亮, 倪双双, 翁雪健, 柯建莉. 老年人大肠息肉的临床特点. *中国老年学杂志* 2008; 28: 1123-1124
- 陈仕武, 朱娟. 1233例大肠息肉的临床与内镜分析. *临床荟萃* 2007; 22: 728-729
- 路亮, 许建明, 韦俊超. 大肠息肉癌变因素的初步研究. *安徽医学* 2008; 29: 29-36
- 常艳, 于晓红, 路聪哲. 大肠息肉90例临床及病理分析. *实用医学杂志* 2009; 25: 2045-2046
- 鲁劲, 何剪太, 廖春秀. 结肠镜下诊治老年性大肠息肉的临床价值. *中国内镜杂志* 2004; 10: 51-62
- 王志津, 黄平. 老年人大肠息肉的临床表现及镜下治疗. *临床荟萃* 2007; 22: 780-782
- 厉挺, 周金萍. 老年人无痛肠镜下治疗结肠息肉的临床观察. *中国医师杂志* 2009; 11: 517-518
- Bertario L, Russo A, Sala P, Pizzetti P, Ballardini G, Andreola S, Spinelli P. Predictors of metachronous colorectal neoplasms in sporadic adenoma patients. *Int J Cancer* 2003; 105: 82-87 [PMID: 12672034]
- 沈奕, 钟捷, 范嵘, 俞丽芬, 许斌. 色素放大内镜与普通电子内镜诊断结肠黏膜病变的价值比较. *中国临床医学* 2009; 16: 387-389
- 李晓燕, 季雪梅, 蒋海燕, 张磊. 1196例结肠息肉的临床诊治经验. *云南医药* 2009; 30: 523-526
- Jass JR. Colorectal cancer: a multipathway disease. *Crit Rev Oncog* 2006; 12: 273-287 [PMID: 17425506]
- Hyman NH, Anderson P, Blasyk H. Hyperplastic polyposis and the risk of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 2101-2104 [PMID: 15657661]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



# USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及临床意义

贾莹莹, 王进, 杨丽敏

贾莹莹, 王进, 杨丽敏, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

贾莹莹, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究.

作者贡献分布: 此课题由贾莹莹与王进设计; 研究过程由所有作者共同完成; 论文写作由贾莹莹与杨丽敏完成.

通讯作者: 王进, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科.

wangjin3@medmail.com.cn

电话: 0371-66862072

收稿日期: 2012-12-26 修回日期: 2013-01-11

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-18

## Clinical significance of expression of USP22 and Nanog in colon cancer

Ying-Ying Jia, Jin Wang, Li-Min Yang

Ying-Ying Jia, Jin Wang, Li-Min Yang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China  
Correspondence to: Jin Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. wangjin3@medmail.com.cn

Received: 2012-12-26 Revised: 2013-01-11

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression of USP22 and Nanog in colon cancer and to explore their relationship with clinicopathological factors of this malignancy.

**METHODS:** The expression of USP22 and Nanog was detected by immunohistochemistry in 80 cases of colonic adenocarcinoma, 35 cases of colonic adenoma and 40 cases of normal colonic tissue.

**RESULTS:** The positive rate of USP22 expression in colonic adenocarcinoma was significantly higher than those in colonic adenoma and normal tissues (both  $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between colonic adenoma and adenocarcinoma ( $P > 0.05$ ). The positive rate of Nanog expression differed significantly in normal colonic tissue, colonic adenoma and colonic adenocarcinoma (all  $P < 0.05$ ). The expression of USP22 and Nanog was correlated with Duke's stage, histopathological grade, lymph

node metastasis and depth of invasion (all  $P < 0.05$ ). There was a positive correlation between the expressions of USP22 and that of Nanog in colonic adenocarcinoma ( $r = 0.509$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** The expression of USP22 and Nanog is closely related to the occurrence and development of colonic adenocarcinoma, and they have synergistic effect on infiltration, invasion and metastasis of colonic adenocarcinoma. USP22 and Nanog may be used as early diagnostic markers and therapeutic targets for colorectal adenocarcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** USP22; Nanog; Cancer stem cells; Colon cancer; Immunohistochemistry

Jia YY, Wang J, Yang LM. Clinical significance of expression of USP22 and Nanog in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 719-723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/719.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.719>

### 摘要

**目的:** 研究USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及其与临床病理因素的关系.

**方法:** 采用免疫组织化学法检测USP22和Nanog在80例结肠癌组织, 35例结肠腺瘤组织及40例癌旁正常结肠组织中的表达.

**结果:** USP22在结肠癌中的阳性表达率明显高于结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织( $P < 0.05$ ), 但结肠腺瘤和癌旁正常组织的阳性表达率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), Nanog在癌旁正常组织, 结肠腺瘤和结肠腺癌中的阳性表达率差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ). USP22和Nanog的表达与Dukes分期, 组织学分级, 淋巴结转移以及浸润深度均有关( $P < 0.05$ ); USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达呈正相关( $r = 0.509$ ,  $P < 0.01$ ).

**结论:** USP22和Nanog的表达与结肠癌的发生发展有关, 二者在结肠癌的细胞增殖、浸润和

### ■背景资料

肿瘤干细胞是肿瘤中一小部分具有干细胞性质的细胞群, 具有自我更新能力, 是肿瘤发生发展的源泉. 由于肿瘤干细胞理论打破了以往的肿瘤研究模式, 近年来越来越受到重视. 而通过对肿瘤干细胞标志物的研究, 可以为肿瘤的早期诊断提供依据, 并且为靶向治疗寻求新的靶点.

### ■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

## ■研发前沿

肿瘤干细胞标志物的研究不仅有助于阐明肿瘤的发生机制,而且还可以针对肿瘤干细胞的特异性抗原制备相应的抗体,研制出特定的靶向药物,为抗肿瘤药物的研究开辟一个全新的领域。

转移中有协同作用,他们有望成为结肠癌的早期诊断指标和治疗靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** USP22; Nanog; 肿瘤干细胞; 结肠癌; 免疫组织化学

贾莹莹, 王进, 杨丽敏. USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 719-723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/719.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.719>

## 0 引言

结肠癌为临床常见恶性肿瘤之一,他的发生遵循“正常黏膜-腺瘤-腺癌”的组织发生顺序,被称为大肠腺瘤-癌序列.在我国常见的恶性肿瘤中,结肠癌的发病率位于第5位<sup>[1]</sup>,并有逐年增高的趋势.近年来提出的肿瘤干细胞理论认为肿瘤干细胞具有自我更新、无限增殖以及多向分化的潜能,是肿瘤的启动细胞,可能是恶性肿瘤的种子和源泉,只有针对肿瘤干细胞的靶向治疗才能最终治愈肿瘤<sup>[2]</sup>.这个理论为肿瘤的预防和治疗提供了新的方向.去泛素酶基因(USP22)是肿瘤干细胞标志家族中一个新鉴定的成员,目前已经发现USP22在DNA转录、细胞恶变以及细胞周期进程中发挥了重要作用,已成为干细胞领域研究的一个热点. Nanog是近些年在胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)中发现的最重要的转录因子,对于维持胚胎干细胞自我更新和多向分化潜能起着关键作用,并且发现在多种肿瘤中高表达.目前,国内对USP22、Nanog在结肠癌方面的联合报道甚少.本研究通过联合检测二者在结肠腺瘤和腺癌组织中的表达,探讨二者在结肠癌发生发展过程中的作用,为临床的诊断治疗及判断预后提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取郑州大学第一附属医院2010-11/2011-12外科手术或内镜下切除后的存档石蜡标本155例,所有标本均经病理明确诊断.其中结肠腺癌80例,男46例,女34例,年龄32-84岁,中位年龄55.4岁.按Duke分期分为A期19例、B期29例、C期26例、D期6例.按分化程度分为高分化26例、中分化32例、低分化22例.有淋巴转移者31例,无淋巴转移49例.浸润深度侵及浆膜者57例,未侵及浆膜者23例.结肠腺瘤伴不典型增生35例.癌旁正常组织40例(取自上述40

例结肠癌患者癌旁>5 cm组织).所有患者术前均未接受过放射、化学和免疫治疗.兔抗人USP22多克隆抗体购自美国Abgent公司(Cat.AP2148b);兔抗人多克隆抗体Nanog购自河北博海生物技术有限公司(Cat.yp-0829R);即用型S-P试剂盒及DAB显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.2 方法** 所有标本均经10%甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm厚连续切片,常规脱蜡,高温高压修复,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行. USP22一抗工作浓度为1:50, Nanog一抗工作浓度为1:100.用PBS代替一抗作空白对照,用已知阳性切片作阳性对照。

USP22为胞浆与胞核着色,以胞核着色判断为阳性,随即选择5个高倍镜视野,每个视野取200个细胞观察其中阳性细胞的个数,将结果分为强阳性(+++),阳性细胞≥76%;阳性(++)51%-75%;弱阳性(+)11%-50%;阴性(-)<10%. Nanog蛋白阳性反应为位于细胞核或胞浆内的棕黄色均匀细颗粒. Nanog蛋白阳性为高倍光学显微镜下观察, #每张切片随机选取5个视野,每个视野计数100个细胞,阳性细胞数<5%为(-)、5%-25%为(+),26%-75%为(++), ≥76%为(+++).免疫组织化学染色由两位高年资病理科医师在双盲条件下进行评定。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件包进行分析处理.计数资料采用 $\chi^2$ 检验,两等级变量的相关分析采用Spearman等级相关分析.以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。

## 2 结果

USP22和Nanog蛋白在癌旁正常、结肠腺瘤及腺癌组织中的表达见图1, 2和表1. USP22和Nanog蛋白表达与结肠癌临床病理因素的关系见表2.结肠癌组织中, USP22和Nanog表达均为阳性的有44例,均为阴性的有14例.两者表达呈显著正相关( $r = 0.509, P < 0.01$ ).

## 3 讨论

近年来,肿瘤干细胞的研究已经成为热点.几年前,可以预测具有耐药性和侵袭性肿瘤的11号基因簇被发现,他有利于肿瘤患者的诊断和病情级别的划分.11号基因组肿瘤干细胞标志家族是编码正常干细胞和肿瘤干细胞的关键调节因子的,而USP22则是家族中一个新鉴定的成员,他在DNA转录、Myc介导的细胞恶变以及细胞周

## ■相关报道

Glinsky等利用mRNA微集阵列技术,发现USP22在多数恶性肿瘤细胞中表达普遍升高,并且其表达程度与实体肿瘤转移潜能、耐药性及患者预后密切相关,因此, USP22与BMI-1、cyclin B1等一同被归纳为肿瘤干细胞的标志基因。



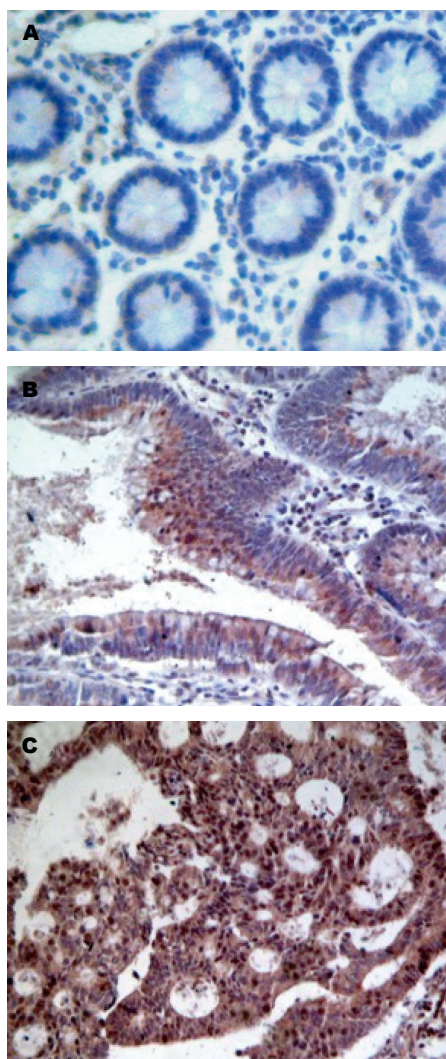


图 1 USP22在各组织的表达(SP×200). A: 正常组织中的阴性表达; B: 结肠腺瘤中的阳性表达; C: 结肠癌中的阳性表达.

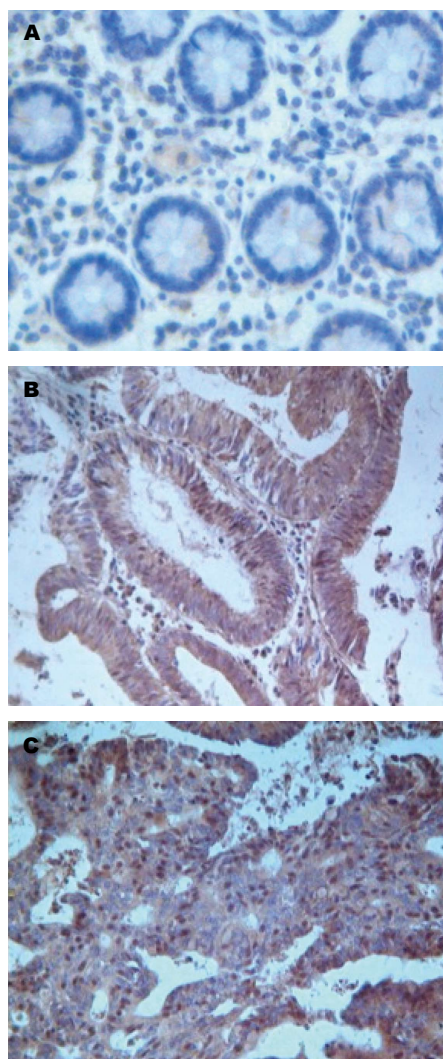


图 2 Nanog在各组织的表达(SP×200). A: 正常组织中的阴性表达; B: 结肠腺瘤中的阳性表达; C: 结肠癌中的阳性表达.

**■应用要点**  
USP22和Nanog有望成为结肠癌的早期诊断指标和抗肿瘤药物的新靶点.

期进程中发挥着重要作用. 现已证实, USP22是激活子驱动的转录所必需的. 他与人转录辅助因子复合体(hSAGA)相互作用可以调节多种关键基因的转录<sup>[3]</sup>, 比如USP22调控Myc靶基因的转录激活是Myc介导的细胞恶变所必需的. 因此认为USP22是通过调控多种基因的转录而影响基因的功能, 从而发挥生物学功能的. 目前已经发现USP22在胃癌<sup>[4]</sup>、乳腺癌<sup>[5]</sup>等多种肿瘤细胞中呈现高表达, 并且其表达程度与肿瘤转移潜能、耐药性及患者预后密切相关, 所以, USP22被认为是肿瘤干细胞的标志基因, 其异常表达是细胞恶性转化、浸润的重要环节<sup>[6,7]</sup>. 目前多数学者认为约80%的结直肠癌来自于腺瘤<sup>[8]</sup>. 已有研究表明, USP22对直肠癌的发生、发展起重要作用<sup>[9]</sup>. 本研究通过检测发现USP22蛋白在正常组织和结肠腺瘤以及腺瘤和腺癌中的阳性表达率差异具有统计学意义, USP22在结肠癌中

的表达随着Dukes分期的进展, 分化程度的降低, 淋巴结的转移以及浸润深度的加深逐渐增高. 由此可以看出USP22可能在结肠腺瘤癌变过程, 腺癌的浸润转移中起着重要作用, 很可能成为诊断早期结肠癌的新指标. 但是目前USP22许多作用机制尚不完全清楚, 比如是否存在转录因子相关的其他作用底物等, 因此仍需要更进一步的研究.

Nanog是维持ESCs自我更新和多向分化潜能的核心转录因子之一, 可诱导多能干细胞, 是全能性或多能性干细胞标志物<sup>[10,11]</sup>. 多个研究报道已证明, Nanog在胃癌<sup>[12]</sup>、结肠癌<sup>[13]</sup>、乳腺癌和前列腺癌<sup>[14]</sup>等多种肿瘤细胞中表达, 并且他的表达与结肠癌的复发转移相关<sup>[15]</sup>. Nanog作为干细胞标志物在肿瘤中的表达不仅为肿瘤干细胞理论提供了依据, 而且很多人认为Nanog可作为肿瘤的一个特异性、敏感性的标志物和治疗靶

## ■名词解释

人转录辅助因子复合体(hSAGA):是由多个亚单位组成的复合物,通过乙酰化染色体上的组蛋白,调节多种关键基因的转录。

表 1 USP22、Nanog蛋白在正常组织、腺瘤、结肠癌中的表达

组织类型	n	USP22阳性 n(%)	$\chi^2$ 值	P值	Nanog阳性 n(%)	$\chi^2$ 值	P值
正常黏膜	40	9(22.5)	11.422	0.001 <sup>a</sup>	7(17.5)	47.287	0.000 <sup>a</sup>
腺瘤	35	11(31.4)	0.761	0.383	19(54.3)	11.153	0.001
腺癌	80	44(55.0)	5.421	0.020 <sup>c</sup>	66(82.5)	10.052	0.002 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs 腺癌; <sup>c</sup>P<0.05 vs 腺瘤。

表 2 结肠癌组织中USP22和Nanog蛋白阳性表达与临床病理参数的关系

临床病理因素	n	USP阳性 n(%)	$\chi^2$ 值	P值	Nanog阳性 n(%)	$\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)			0.425	0.514		0.011	0.918
≤55	39	20(51.3)			32(82.1)		
>55	41	24(58.5)			34(82.9)		
性别			0.101	0.750		1.489	0.222
男	46	26(56.5)			40(87.0)		
女	34	18(52.9)			26(76.5)		
Dukes分期			6.136	0.013		4.675	0.031
A + B	48	21(43.8)			36(75.0)		
C + D	32	23(71.9)			30(93.8)		
分化程度			4.257	0.039		9.670	0.002
高	26	10(38.5)			16(61.5)		
中低	54	34(63.0)			50(92.6)		
淋巴结转移			5.214	0.022		4.279	0.039
无	49	22(44.9)			37(75.5)		
有	31	22(71.0)			29(93.5)		
浸润深度			7.871	0.005		23.617	0.000
未及浆膜	23	7(30.4)			11(47.8)		
侵及浆膜	57	37(64.9)			55(96.5)		

点. 在本研究中发现, Nanog在正常黏膜、腺瘤到腺癌中阳性表达率依次增高, 且各组比较差异均有统计学意义, 并且Nanog在结肠癌中的表达随着临床分期的进展, 分化程度的降低, 浸润深度的加深以及淋巴结的转移逐渐增高. 这些结果提示, Nanog可能在结肠癌的增殖、转移、浸润中扮演着重要角色.

作为hSAGA亚单位和ESCs转录因子, USP22和Nanog在转录过程中都发挥着重要作用, 因此, 我们推断他们在结肠癌的发生、发展、浸润和转移过程中可能具有协同作用. 而我们的研究实验得出USP22和Nanog在结肠癌组织中的表达呈正相关, 恰好也证明了上述推论. 作为肿瘤干细胞标志物, USP22和Nanog在结肠癌中的高表达也进一步验证了肿瘤干细胞理论.

今后希望通过对USP22和Nanog更进一步的研究, 使他们有望成为诊断结肠癌的早期指标.

并且USP22编码的是一种酶, 极易受到药物影响, 因此USP22有可能成为抗肿瘤药物的一个新靶点. 找到针对肿瘤干细胞的药物新靶点, 肿瘤才有治愈的可能. 目前, 对于USP22和Nanog的生物学功能及其作用机制还尚未完全了解, 因此, 我们还需要更为深入的研究, 以便于更多地了解干细胞和肿瘤细胞的生物学特性以及肿瘤发生、发展、浸润和转移的分子机制, 进而为肿瘤的早期诊断和基因治疗提供新的切入点.

## 4 参考文献

- 1 Zhao P, Dai M, Chen W, Li N. Cancer trends in China. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 281-285 [PMID: 20085904 DOI: 10.1093/jjco/hyp187]
- 2 陆士新. 肿瘤干细胞及其对肿瘤治疗理念的影响. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 81-83
- 3 Zhang XY, Varthi M, Sykes SM, Phillips C, Warzecha C, Zhu W, Wyce A, Thorne AW, Berger SL, McMahon SB. The putative cancer stem cell marker USP22 is a subunit of the human SAGA complex required for activated transcription and cell-cycle

- progression. *Mol Cell* 2008; 29: 102-111 [PMID: 18206973 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.12.015]
- 4 Yang DD, Cui BB, Sun LY, Zheng HQ, Huang Q, Tong JX, Zhang QF. The co-expression of USP22 and BMI-1 may promote cancer progression and predict therapy failure in gastric carcinoma. *Cell Biochem Biophys* 2011; 61: 703-710 [PMID: 21735131 DOI: 10.1007/s12013-011-9229-x]
- 5 Zhang Y, Yao L, Zhang X, Ji H, Wang L, Sun S, Pang D. Elevated expression of USP22 in correlation with poor prognosis in patients with invasive breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1245-1253 [PMID: 21691749 DOI: 10.1007/s00432-011-0998-9]
- 6 Glinsky GV. Death-from-cancer signatures and stem cell contribution to metastatic cancer. *Cell Cycle* 2005; 4: 1171-1175 [PMID: 16082216 DOI: 10.4161/cc.4.9.2001]
- 7 Glinsky GV. Genomic models of metastatic cancer: functional analysis of death-from-cancer signature genes reveals aneuploid, anoikis-resistant, metastasis-enabling phenotype with altered cell cycle control and activated Polycomb Group (PcG) protein chromatin silencing pathway. *Cell Cycle* 2006; 5: 1208-1216 [PMID: 16760651 DOI: 10.4161/cc.5.11.2796]
- 8 房静远. 关注结直肠腺瘤的诊治研究. 中华消化杂志 2010; 30: 433-435
- 9 周飞宇, 宁晓婷. 直肠癌组织中usp22的表达及其临床意义. 实用医学杂志 2011; 27: 3282-3283
- 10 刘培良, 王怀林, 侯晓军. 干细胞治疗基础与临床-国内外最新动态. 中国实用内科杂志 2011; 31: 747-749
- 11 Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, Segawa K, Murakami M, Takahashi K, Maruyama M, Maeda M, Yamanaka S. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 2003; 113: 631-642 [PMID: 12787504 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00393-3]
- 12 陈忠, 许文荣, 钱晖, 朱伟, 王胜, 步雪峰, 毛飞, 曹慧玲, 徐学静. 干细胞标志物Nanog的检测在胃癌诊断中的意义. 临床检验杂志 2009; 27: 6-9
- 13 王海玲, 杨丽敏, 王进. Piwil2、Nanog在结肠癌中异常表达的临床意义. 中华消化杂志 2011; 31: 627-630
- 14 Gu G, Yuan J, Wills M, Kasper S. Prostate cancer cells with stem cell characteristics reconstitute the original human tumor in vivo. *Cancer Res* 2007; 67: 4807-4815 [PMID: 17510410 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4608]
- 15 李宁, 邓文英, 马懿辉, 陈小兵, 韩黎丽, 吕慧芳, 陈贝贝, 罗素霞. 干细胞标志物Nanog\_Oct\_4\_SOX\_2表达与结肠癌术后复发转移关系. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2644-2648

#### ■同行评价

本文选题有较高的科学性以及新颖性, 实验结果可靠, 其结果对于进一步理解结肠癌及结肠癌干细胞的生物学特性和判断预后有一定的价值。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。



# MDA-MSP技术检测粪便miR34b/c甲基化及其在结直肠癌早期诊断中的意义

张丰云, 管静芝, 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华

## ■背景资料

结直肠癌的发病率呈现出逐年上升的趋势, 其发病率已上升至第3位; 早期结直肠癌治愈率较高, 但晚期预后差。因此, 寻找结肠癌的早期诊断方法对提高结直肠癌的治愈率极为关键。研究发现miR34b/c在结直肠癌中存在高频甲基化异常, 因此检测结直肠癌组织和粪便中的miR34b/c有助于早期诊断或筛查结直肠癌。

张丰云, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肿瘤科 陕西省西安市 710032

管静芝, 中国人民解放军第309医院肿瘤科 北京市 100091

赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕好, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科 北京市 100048

张丰云, 主要从事肿瘤学的相关研究。

解放军总医院苗圃基金资助项目, No. 09KMM30

作者贡献分布: 本实验由肖文华、管静芝及张丰云设计; 研究过程和标本收集由张丰云、管静芝、赵慧霞、李秋文、董伟伟、段昕好、朱建华、王如良、郝怡鑫及叶明完成; 研究所用试剂和分析工具由肖文华提供; 数据分析由张丰云、管静芝及肖文华完成; 本论文写作由张丰云、管静芝及肖文华完成。

通讯作者: 管静芝, 副主任医师, 硕士生导师, 100091, 北京市海淀区黑山扈甲17号, 中国人民解放军第309医院肿瘤科。jzjz1970@hotmail.com

收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-02-21

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

## Clinical significance of detection of stool miR34b/c methylation by MDA-MSP in patients with colorectal cancer

Feng-Yun Zhang, Jing-Zhi Guan, Hui-Xia Zhao, Qui-Wen Li, Wei-Wei Dong, Xin-Yu Duan, Jian-Hua Zhu, Ru-Liang Wang, Yi-Xing Hao, Ming Ye, Wen-Hua Xiao

Feng-Yun Zhang, Department of Oncology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Jing-Zhi Guan, Department of Oncology, the 309th Hospital, Beijing 100091, China

Hui-Xia Zhao, Qui-Wen Li, Wei-Wei Dong, Xin-Yu Duan, Jian-Hua Zhu, Ru-Liang Wang, Yi-Xing Hao, Ming Ye, Wen-Hua Xiao, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Supported by: the People's Liberation Army General Hospital Nursery Foundation, No. 09KMM30

Correspondence to: Jing-Zhi Guan, Associate Chief Physician, Department of Oncology, the 309th Hospital, 17 Heishanhuajia, Haidian District, Beijing 100091, China. jzjz1970@hotmail.com

Received: 2012-12-04 Revised: 2013-02-21

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the value of detection of stool miR34b/c methylation in the diagnosis of colorectal cancer.

**METHODS:** Multiple displacement amplifica-

tion (MDA) was used to amplify bisulfite modified genomic DNA, and methylation-specific PCR (MSP) was used to analyze methylation of miR34b/c in colorectal cancer tissue and stool DNA from 126 patients with colorectal cancer and stool DNA in 64 patients with benign diseases.

**RESULTS:** In 126 cancer specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens, 95.2% (120/126) and 11.9% (15/126) showed methylation of miR34b/c, and there is a significant difference in the rate of methylation between them ( $P < 0.01$ ). There was no significant correlation between methylation of miR34b/c and clinicopathologic parameters (all  $P > 0.05$ ). The rate of methylation of miR34b/c in stool DNA was significantly higher in cancer patients than in patients with benign disease (90.2% vs 7.8%,  $P < 0.01$ ). The sensitivity and specificity of detection of miR34b/c methylation in diagnosis of colorectal cancer were 90.2% and 92.2%, respectively.

**CONCLUSION:** The hypermethylation of miR34b/c is frequent in colorectal cancer and may be used as a novel diagnostic biomarker for colorectal cancer. MDA and MSP techniques provide ideal tools for analysis of methylation in trace DNA samples.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** MiR34b/c gene; Multiple displacement amplification; Methylation-specific PCR; Stools

Zhang FY, Guan JZ, Zhao HX, Li QW, Dong WW, Duan XY, Zhu JH, Wang RL, Hao YX, Ye M, Xiao WH. Clinical significance of detection of stool miR34b/c methylation by MDA-MSP in patients with colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 724-728 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.724>

## 摘要

**目的:** 探讨粪便miR34b/c甲基化状态的检测在结直肠癌早期诊断中的意义。

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

**方法:** 从126例结直肠癌患者癌组织、癌旁组织、粪便和64例正常对照者的粪便中分别提取DNA, 采用多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)技术对经过亚硫酸氢盐修饰样本进行全基因组扩增, 结合甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)检测组织和粪便中miR34b/c基因甲基化状态。

**结果:** 结直肠癌癌组织miR34b/c基因的甲基化阳性率为95.2%(120/126), 对应的癌旁正常组织为11.9%(15/126), 两者比较有显著差异( $P<0.01$ ); miR34b/c甲基化状态与各临床病理参数无显著相关( $P>0.05$ )。结直肠癌粪便miR34b/c甲基化阳性率为90.2%(111/123), 显著高于正常对照7.8%(5/64), 差异有统计学意义( $P<0.01$ )。粪便DNA miR34b/c用于结直肠癌早期诊断的敏感性为91.2%, 特异性为92.2%。

**结论:** miR34b/c甲基化是结直肠癌的重要分子特征, 检测粪便miR34b/c甲基化有望成为结直肠癌早期诊断的一个全新的肿瘤标志物。MDA结合MSP为miRNA的甲基化分析提供了一种较理想的研究手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** miR34b/c; 甲基化特异性PCR; 多重置换扩增; 粪便

张丰云, 管静芝, 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 段昕婷, 朱建华, 王如良, 郝怡鑫, 叶明, 肖文华. MDA-MSP技术检测粪便miR34b/c甲基化及其在结直肠癌早期诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 724-728 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.724>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率呈上升趋势, 且晚期患者预后很差, 5年总体生存率较低。因此, 早期诊断是提高临床治愈率的关键。然而, 到目前为止尚无理想的早期筛查或诊断结直肠癌的非侵入性手段<sup>[1]</sup>。近年来研究认为miRNAs通过对多种基因的调节广泛参与恶性肿瘤的发生和发展, 还发现大约50%的miRNAs基因组富含CpG序列, 是表观遗传沉默的重要靶点<sup>[2-4]</sup>。前期研究表明: 在结直肠癌中, miR34b/c存在高频率的甲基化异常, 是结直肠癌的一重要分子特征<sup>[5,6]</sup>。结直肠癌脱落的癌细胞或分泌的游离DNA通过粪便排出体外, 粪便DNA中也存在较高比例的肿瘤

DNA。因此, 检测粪便miR34b/c基因甲基化有可能成为新的结直肠癌早期诊断或筛查的生物标志物。本文采用多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)技术联合巢式甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)技术分析了126例结直肠癌患者粪便miR34b/c基因甲基化状态, 以探讨其在结直肠癌早期诊断中的应用价值。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本收集: 肿瘤组织标本均来自我院普外科和肝胆外科2011-06/2012-08住院结直肠癌患者, 男67例, 女59例, 年龄为38-82岁, 中位年龄52岁。所有组织标本均经病理学检查证实。术前取肿瘤患者粪便, 半小时之内送实验室提取DNA, -20℃保存; 并同期选择年龄相匹配的64例正常对照者(37例腹股沟疝患者, 27例下肢静脉曲张患者)作为粪便检测的对照。大肠癌患者术后立即取癌组织、癌旁组织标本, 分装并-80℃保存。所有患者在术前均未接受过化疗或放疗, 所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。组织DNA提取试剂盒: 天根组织基因组DNA提取试剂盒; 全血DNA提取试剂盒: 天根全血基因组DNA提取试剂盒; 亚硫酸盐处理试剂: Wizard DNA Clean-up system(Promega公司)、EZ DNA Methylation™-Direct Kit; X-SssI内切酶(英国NEB公司); 对亚硫酸氢盐转化的DNA进行全基因组扩增试剂盒: EpiTect Whole Bisulfiteome Kit(德国Qiagen); PCR扩增试剂: HotstarTaq DNA polymerase(德国Qiagen)。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取: (1)组织DNA的提取: 组织应先打碎处理为细胞悬液, 蛋白酶K消化, 然后参照说明书提取DNA; (2)粪便DNA的提取: 取100-200 mg粪便, 用stool DNA Extraction Kit提取DNA, 操作按说明进行, 最后用紫外分光光度仪检测纯度及含量; (3)全血DNA的提取: 用天根生化的全血基因组DNA提取试剂盒提取正常人外周血样本中基因组DNA, 操作步骤按说明书进行。提取DNA后用Sss I处理的正常人淋巴细胞基因组作为阳性对照, 未经处理的淋巴细胞基因组作为阴性对照。

1.2.2 基因组DNA的亚硫酸氢盐修饰: 组织基因组DNA参照“Wizard DNA Clean-up system”试剂盒进行修饰; 全血和粪便基因组DNA的亚

## ■研究前沿

利用粪便中miRNA作为筛查或诊断结直肠癌的标志物, 已成为目前研究热点, 如何提高粪便中靶DNA高检出率是关键。

## ■ 相关报道

Kalimutho等在82例结直肠癌中, 97.5%的病例显示miR34b/c甲基化, 并发现75%的血浆DNA miR34b/c甲基化。75%的阳性率对于结直肠癌早期具有重要的诊断价值。

表 1 miR34b/c基因的甲基化特异性PCR引物序列

基因	引物序列	退火温度(°C)	片段大小(bp)
miR34b/c-UF	5'-TGGTTTGTGGGGTTTAAAGG-3'	59	147
miR34b/c-UR	5'-TCCCAACCCCAACCTA-3'		
miR34b/c-MF	5'-ATTCGTTTCGTTTCGCGTTTCGTTTC-3'	59	128
miR34b/c-MR	5'-CTAAACTAACTCTCTCGACCCCG-3'		

硫酸氢钠修饰: 参照“EZ DNA Methylation™-Direct Kit”试剂盒说明书进行。

1.2.3 MDA对亚硫酸氢盐转化的DNA进行全基因组扩增: 使用EpiTect Whole Bisulfite Kit扩增试剂盒进行全基因组扩增, 即取5 μL亚硫酸氢钠修饰的DNA, 加入5 μL灭菌水, 再加入在冰上配制的1 μL REPLI-g Midi DNA polymerase和29 μL EpiTect WBA Reaction Buffer反应混合液, 振荡混匀, 在28 °C等温全基因组扩增反应8 h, 然后95 °C 5 min终止反应, 4 °C保存。

1.2.4 甲基化特异性PCR和电泳分析: miR34b/c甲基化及非甲基化引物参照参考文献[7], 引物序列、退火温度和扩增产物长度(表1); PCR引物由上海生工生物工程有限公司合成。取2 μL经过MDA扩增的基因组DNA为模板, PCR反应体系为25 μL: 10×Buffer 2.5 μL, Mg<sup>2+</sup> 0.5 μL, TaqDNA聚合酶0.2 μL, dNTP 2 μL, 甲基化和未甲基化上、下游引物各1 μL, 经过MDA扩增的基因组DNA 2 μL为模板, 灭菌用水15.8 μL。同时设立阳性对照、阴性对照和空白对照。PCR循环参数: 95 °C 10 min, 95 °C 30 s, 59 °C 30 s, 72 °C 30 s, 以上步骤共40个循环, 72 °C延伸7 min。经上述PCR扩增后, 将5 μL PCR产物在2%琼脂糖凝胶上进行电泳, 用凝胶成像系统观察结果并拍照。

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行数据分析; 各标本miR34b/c甲基化检出率之间的比较, 采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 认为统计学具有显著性差异;  $P>0.05$ 则认为统计学上无显著性差异。诊断的敏感性和特异性的计算采用相应公式计算。

## 2 结果

2.1 结直肠癌组织miR34b/c基因甲基化的检出率在126例结直肠癌组织中, 95.2%(120/126)检测出miR34b/c基因甲基化, 在对应的癌旁正常组织只有11.9%(15/126)检出甲基化, 二者比较有极显著性差异( $P<0.01$ , 图1)。

2.2 粪便miR34b/c基因甲基化检出率 在126例

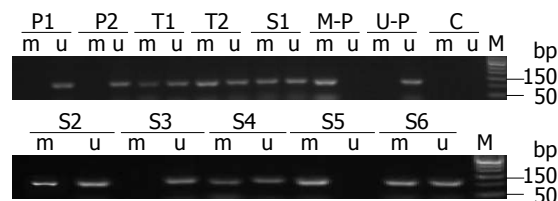


图 1 MDA-MSP技术检测结直肠癌组织和粪便miR34b/c基因的甲基化。P: 癌旁正常组织; T: 肿瘤组织; S: 粪便DNA; u: 未甲基化; m: 甲基化; M-P: 甲基化阳性对照; U-P: 未甲基化阳性对照; C: 空白对照; M: 标准分子量。

结直肠癌患者粪便标本中, 有3例未能有效扩增; 在剩余123例标本中, 90.2%(111/123)检测出miR34b/c基因甲基化, 而对照粪便miR34b/c甲基化检出率为7.8%(5/64)。与肿瘤组织标本miR34b/c甲基化检出情况相比, 在所有120例miR34b/c甲基化阳性的癌组织标本中, 只有111例粪便标本为阳性; 癌组织为阴性的标本, 对应的粪便标本也均为阴性, 提示粪便标本miR34b/c甲基化检出率的敏感性稍有下降, 但特异性无改变。粪便miR34b/c基因甲基化诊断结直肠癌的敏感性为91.2%, 特异性为90.2%。

2.3 miR34b/c甲基化与结直肠癌临床病理参数的关系 本实验对所有120例结直肠癌组织和111例结直肠癌患者粪便miR34b/c基因甲基化与患者性别、年龄、肿瘤位置、临床分期和病理分级的相关性进行了检验分析, 未发现他们之间的相关性( $P>0.05$ , 表2)。

## 3 讨论

miRNA是一类19-25 bp的保守非编码、单链RNA, 具有高效率的调节基因表达的作用。一个miRNA可与多个, 甚至上百个靶基因mRNA 3'端特异性结合, 导致mRNA的降解或蛋白质翻译的抑制, 在转录后水平调节基因的表达, 参与调控细胞增殖和凋亡等重要的细胞生命活动, 提示miRNA在肿瘤形成过程中可能扮演着重要的角色<sup>[8,9]</sup>。许多研究发现部分miRNA在结直肠癌组织中是低表达或不表达, 进一步研究发现这些miRNA是由于高甲基化而失去表达的<sup>[10,11]</sup>。



表 2 miR34b/c基因甲基化与临床病理参数的关系 (n)

观察项目	组织标本				粪便标本			
	n	甲基化	未甲基化	P值	n	甲基化	未甲基化	P值
性别				0.795				0.789
男	67	63	4		66	60	6	
女	59	57	2		57	51	6	
年龄(岁)				0.523				0.212
>65	47	46	1		46	44	2	
≤65	79	74	5		77	66	10	
肿瘤位置				0.747				0.132
近端	39	38	1		39	38	1	
远端	87	82	5		84	73	11	
临床分期				0.555				0.766
I	12	11	1		11	9	2	
II	52	50	2		52	47	5	
III	48	46	2		47	43	4	
IV	14	13	1		13	12	1	
病理分级				0.342				0.645
I	38	37	1		36	34	2	
II	52	49	3		51	45	6	
III	36	34	2		36	32	4	

## ■创新盘点

目前尚无报道粪便中miR34b/c甲基化用于结直肠癌早期诊断。本文利用检测粪便miR34b/c甲基化,同时采用MDA-MSP技术,大大提高了miR34b/c甲基化的检出率。

2008年Toyota等<sup>[5]</sup>发现miR34b/c在结直肠癌中存在高频率的高甲基化,100%(9/9)的结肠癌细胞系被甲基化,90%(101/111)的结肠癌组织被甲基化,采用DNA甲基转移酶抑制剂5-脱氧杂氮胞苷可通过去甲基化作用诱导结肠癌细胞株miR34b/c的表达,证实了miR34b/c甲基化和其低表达的因果关系。2011年Kalimutho等<sup>[7]</sup>进一步证实了Toyota的发现,在82例结直肠癌中,97.5%的病例显示miR34b/c甲基化,并发现75%的粪便DNA miR34b/c甲基化。该研究表明:尽管粪便DNA miR34b/c的甲基化的检出率明显低于组织的甲基化检出率,但75%的阳性率仍可作为结直肠癌早期筛查分子标志物。粪便DNA甲基化检出率较低的原因主要是模板DNA含量较低,尤其是经亚硫酸氢盐处理后,模板DNA含量更低和粪便中存在的PCR反应抑制因子。因此,如何进一步提高粪便靶DNA含量和减少粪便中的抑制因子是提高肿瘤基因的检出率的关键。近几年发展起来的MDA技术是专门用于低含量DNA的扩增,他是基于环状滚动扩增(strand displacement amplification, SDA)方法创建的链置换扩增技术。该技术利用phi29DNA聚合酶和6聚体随机引物在30℃恒温下对基因组进行大量扩增,是一种扩增效率高,保真性能好的新兴的全基因组扩增技术,在单基因遗传病研究领域发挥了重要作用<sup>[12-14]</sup>。近几年也用于亚硫酸氢盐处理的DNA

全基因组扩增,取得了非常理想的效果<sup>[7]</sup>。此外,粪便要新鲜,放置不能过长,采用粪便DNA提取专用试剂盒也有利于高质量粪便DNA的提取。本文采用敏感的MDA技术联合MSP技术发现95.2%的结肠癌组织存在miR34b/c基因甲基化,与Kalimutho等<sup>[7]</sup>报道结果一致。但粪便的阳性率(90.2%)却明显高于Kalimutho报道的75%的阳性率。分析其原因可能是本实验除了采用增加模板DNA的MDA技术外,更重要的是在本实验中新鲜粪便标本的取材到DNA的提取时间短,DNA破坏少,可获得更多的粪便DNA。此外,在本研究中,远端结肠癌,尤其是直肠癌病例较多,是否会影响miR34b/c检出结果,尚需进一步研究。尽管我们采用了高敏感的MDA技术,但特异性并没有受到影响。尽管有文献报道:老年人正常细胞的甲基化水平较高,尤其是右半结肠低分化黏液癌的发生与微卫星不稳定和甲基化异常有关。但是,在本实验中,我们未发现miR34b/c甲基化与年龄、性别、临床分期、病理分级和癌位置有相关性。总之,优化甲基化检测的各个环节,将显著提高miR34b/c甲基化的检出率。粪便miR34b/c甲基化将成为新的结直肠癌早期诊断的生物标志物。

## 4 参考文献

- 1 He J, Efron JE. Screening for colorectal cancer. *Adv*

## ■同行评价

本文选题较好, 创意新颖, 内容丰富, 具有一定的可读性。

- 2 Yan H, Choi AJ, Lee BH, Ting AH. Identification and functional analysis of epigenetically silenced microRNAs in colorectal cancer cells. *PLoS One* 2011; 6: e20628 [PMID: 21698188 DOI: 10.1371/journal.pone.0020628]
- 3 Suzuki H, Takatsuka S, Akashi H, Yamamoto E, Nojima M, Maruyama R, Kai M, Yamano HO, Sasaki Y, Tokino T, Shinomura Y, Imai K, Toyota M. Genome-wide profiling of chromatin signatures reveals epigenetic regulation of MicroRNA genes in colorectal cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 5646-5658 [PMID: 21734013 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1076]
- 4 Baylin SB. DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005; 2 Suppl 1: S4-11 [PMID: 16341240 DOI: 10.1038/ncponc0354]
- 5 Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, Maruyama R, Imai K, Shinomura Y, Tokino T. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4123-4132 [PMID: 18519671 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0325]
- 6 Bandres E, Agirre X, Bitarte N, Ramirez N, Zarate R, Roman-Gomez J, Prosper F, Garcia-Foncillas J. Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2009; 125: 2737-2743 [PMID: 19521961 DOI: 10.1002/ijc.24638]
- 7 Kalimutho M, Di Cecilia S, Del Vecchio Blanco G, Roviello F, Sileri P, Cretella M, Formosa A, Corso G, Marrelli D, Pallone F, Federici G, Bernardini S. Epigenetically silenced miR-34b/c as a novel faecal-based screening marker for colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 104: 1770-1778 [PMID: 21610744]
- 8 Lovat F, Valeri N, Croce CM. MicroRNAs in the pathogenesis of cancer. *Semin Oncol* 2011; 38: 724-733 [PMID: 22082758 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2011.08.006]
- 9 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945]
- 10 Schetter AJ, Harris CC. Alterations of microRNAs contribute to colon carcinogenesis. *Semin Oncol* 2011; 38: 734-742 [PMID: 22082759 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2011.08.009]
- 11 Motoyama K, Inoue H, Takatsuno Y, Tanaka F, Mimori K, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Over- and under-expressed microRNAs in human colorectal cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 1069-1075 [PMID: 19287964]
- 12 Hughes S, Jones JL. The use of multiple displacement amplified DNA as a control for methylation specific PCR, pyrosequencing, bisulfite sequencing and methylation-sensitive restriction enzyme PCR. *BMC Mol Biol* 2007; 8: 91 [PMID: 17939862 DOI: 10.1186/1471-2199-8-91]
- 13 Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9821-9826 [PMID: 8790415 DOI: 10.1073/pnas.93.18.9821]
- 14 Ronaghi M, Pettersson B, Uhlén M, Nyren P. PCR-introduced loop structure as primer in DNA sequencing. *Biotechniques* 1998; 25: 876-878, 880-882, 884 [PMID: 9821590]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

## II / III 期直肠癌术后奥沙利铂联合5-FU同步放化疗的疗效

李永恒, 李小凡, 李金鑫, 朱向高, 徐博, 蔡勇

李永恒, 李小凡, 徐博, 蔡勇, 北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所放疗科 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室 北京市 100142

李金鑫, 福建省肿瘤医院放疗科 福建省福州市 350014

朱向高, 北京大学人民医院放疗科 北京市 100044

李永恒, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤精确放疗的研究。

作者贡献分布: 此课题由蔡勇设计; 试验过程由李永恒、李小凡、李金鑫、朱向高及蔡勇完成; 试验结果判定由李永恒与蔡勇完成; 数据统计分析由李永恒完成; 本论文写作由李永恒与李小凡完成; 文章修改及审阅由徐博与蔡勇完成。

通讯作者: 蔡勇, 教授, 100142, 北京市海淀区阜成路62号, 北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所放疗科, 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室。cai Yong109@sohu.com

收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-03-01

接受日期: 2013-03-02 在线出版日期: 2013-03-18

### Therapeutic effect of postoperative radiotherapy in combination with oxaliplatin and 5-Fu in patients with stage II / III rectal cancer

Yong-Heng Li, Xiao-Fan Li, Jin-Luan Li, Xiang-Gao Zhu, Bo Xu, Yong Cai

Yong-Heng Li, Xiao-Fan Li, Bo Xu, Yong Cai, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Radiation Oncology, Peking University Cancer Hospital and Institute, Beijing 100142, China

Jin-Luan Li, Department of Radiation Oncology, Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian Province, China

Xiang-Gao Zhu, Department of Radiation Oncology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Correspondence to: Yong Cai, Professor, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Radiation Oncology, Peking University Cancer Hospital and Institute, 52 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. caiyong109@sohu.com

Received: 2013-01-31 Revised: 2013-03-01

Accepted: 2013-03-02 Published online: 2013-03-18

### Abstract

**AIM:** To evaluate the dose limited toxicity (DLT), maximal tolerated dose (MTD) and recommended dose (RD) of oxaliplatin weekly administered with 5FU/leucovorin in combination with concurrent postoperative radiotherapy in patients with stage II / III rectal cancer.

**METHODS:** Patients with stage II / III rectal cancer after radical excision were enrolled. A modified 3+3 dose-escalation design was used

for evaluating 3 dose levels (40 mg/m<sup>2</sup>, 50 mg/m<sup>2</sup> and 60 mg/m<sup>2</sup>) of oxaliplatin and fixed-dose 5-FU/leucovorin given once weekly, with 50 Gy XRT delivered in 25 fractions of 2 Gy, five times per week over 5 weeks. Patients received oxaliplatin at the assigned dose level, and 5-FU and leucovorin doses were fixed at 600 mg/m<sup>2</sup> and 200 mg/m<sup>2</sup> for all cohorts, respectively. Dose-limiting toxicity (DLT) was defined as any grade 4 hematologic toxicity (including grade 3 thrombocytopenia) or grade 3 non-hematologic toxicity (except for alopecia).

**RESULTS:** Nine evaluable patients were enrolled, including 3 treated at 40 mg/m<sup>2</sup>, 3 at 50 mg/m<sup>2</sup> and 3 at 60 mg/m<sup>2</sup>. At dose level 3, 2 of 3 patients experienced dose-limiting diarrhea and hypodynamia. Another 14 patients received the dose of 50 mg/m<sup>2</sup> in a phase 2 study. Main toxicities were hematologic, primarily affecting neutrophils and platelets. The most common non-hematologic toxicities were gastrointestinal. None experienced grade 3 or 4 acute toxicities. The 3- and 5-year overall survival (OS) rates were 86.1% and 63.3%, respectively. The rates of 5-year progression-free survival, local failure and metastasis were 56.9%, 8.5% and 22.3%, respectively.

**CONCLUSION:** The MTD and RD of oxaliplatin are 60 mg/m<sup>2</sup> and 50 mg/m<sup>2</sup>, respectively. The DLT includes diarrhea and hypodynamia. The combination of oxaliplatin and 5-Fu weekly with postoperative radiotherapy was well tolerated and demonstrated encouraging efficacy in patients with stage II / III rectal cancer after radical excision.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Rectal cancer; Oxaliplatin; Chemoradiotherapy

Li YH, Li XF, Li JL, Zhu XG, Xu B, Cai Y. Therapeutic effect of postoperative radiotherapy in combination with oxaliplatin and 5-Fu in patients with stage II / III rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 729-733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/729.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.729>

### ■背景资料

II / III 期直肠癌根治术后同步放化疗效果优于术后单纯放疗和单纯化疗, 奥沙利铂联合5-FU化疗疗效确切, 术后奥沙利铂联合5-FU化疗同步放疗有较好的临床应用前景, 探索奥沙利铂的耐受剂量和同期放化疗的不良反应有迫切的现实意义。

### ■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科; 官泳松, 教授, 四川大学华西医院放射科



## ■研发前沿

Ⅱ/Ⅲ期直肠癌根治术后同步放化疗研究热点为探索奥沙利铂及希罗达的耐受剂量、同步放化疗的不良反应和临床疗效,目前亟待研究的问题是同步放化疗方案中化疗方案的选择及耐受性。

## 摘要

**目的:**探讨Ⅱ/Ⅲ期直肠癌患者根治术后同步放化疗,奥沙利铂联合5-FU每周方案中奥沙利铂剂量的限制性不良反应(dose-limiting toxicity, DLT)、最大耐受剂量(maximal tolerance dose, MTD)。

**方法:**2005-02/2010-01选年龄为18-70岁、KPS评分 $\geq 70$ 分、根治性手术后病理证实为Ⅱ/Ⅲ期的直肠癌患者入组。进行盆腔三维适形或调强放疗5 wk, 50 Gy, 共25次。每周放射治疗的第1天开始给予奥沙利铂联合5-FU(氟尿嘧啶)方案化疗, 5-FU和LV(亚叶酸钙)的剂量固定分别为600 mg/m<sup>2</sup>和200 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注, 奥沙利铂从40 mg/m<sup>2</sup>开始递增, 1次/wk, 共化疗5 wk。奥沙利铂DLT(剂量限制性不良反应)的定义为4级血液学毒性(除血小板减少为3级)或 $\geq 3$ 级非血液学毒性(除外脱发)。

**结果:**9例患者分别入奥沙利铂每周40 mg/m<sup>2</sup>组(3例)、50 mg/m<sup>2</sup>组(3例)、60 mg/m<sup>2</sup>组(3例); 40 mg/m<sup>2</sup>组、50 mg/m<sup>2</sup>组未出现Ⅱ度以上不良反应, 60 mg/m<sup>2</sup>组相继出现2例DLT(3度乏力和3度腹泻各1例), I期研究终止, 继续14例患者入奥沙利铂50 mg/m<sup>2</sup>组, 所有患者均如期完成放化疗; 50 mg/m<sup>2</sup>组患者Ⅱ度骨髓抑制16.7%(3/18), I度骨髓抑制22.2%(4/18); Ⅱ度腹泻16.7%(3/18), I度腹泻50%(9/18), I度恶心33.3%(6/18), I度乏力16.7%(3/18); 未出现Ⅱ度以上的不良反应; 3年和5年生存率(OS)分别为86.1%和63.3%。5年无进展生存率(progression free survival, PFS)、局部复发率和远处转移率分别为56.9%、8.5%和22.3%。

**结论:**Ⅱ/Ⅲ期直肠癌根治术后奥沙利铂联合5-FU每周方案同步放化疗是安全、可行的; 奥沙利铂的最大耐受剂量为60 mg/m<sup>2</sup>/wk, 推荐剂量为50 mg/m<sup>2</sup>/wk。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:**直肠癌; 奥沙利铂; 同步放化疗

李永恒, 李小凡, 李金磊, 朱向高, 徐博, 蔡勇. Ⅱ/Ⅲ期直肠癌术后奥沙利铂联合5-FU同步放化疗的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 729-733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/729.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i8.729>

## 0 引言

局部复发是直肠癌最常见的治疗失败原因, 而且随疾病分期的增加局部失败明显增加。目前

术前放化疗已成为Ⅱ/Ⅲ期(T3-4/N1-2M0)可手术切除直肠癌的标准治疗模式, 但Ⅱ/Ⅲ期直肠癌根治术后患者如果未行术前放疗, 需要进行术后放化疗以提高局控率。Ⅱ/Ⅲ期直肠癌术后同步放化疗效果优于术后单纯放疗和单纯化疗, 显著提高了肿瘤的局部控制率和5年的总生存率<sup>[1]</sup>。奥沙利铂联合5-FU化疗疗效较好, 为明确术后同步放化疗中奥沙利铂的剂量限制性毒性(dose limited toxicity, DLT)、最大耐受剂量(maximal tolerated dose, MTD)和推荐剂量(recommended dose, RD), 我们设计了该临床研究, 报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2005-02/2010-01, 共入组患者23例, 本组患者中位年龄57岁(26-72岁), 男性患者18例, 女性患者5例, 入组前2 wk对患者进行详细的病史询问、体格检查和相关辅助检查, 包括血常规、肝肾功能、消化系肿瘤标志物(CEA、CA199、CA723和CA242)、颈部B超、胸部正侧位片、腹部CT或B超、术后盆腔MRI或CT。23例患者均签署知情同意书。每周进行体格检查并复查血常规和肝肾功能, 评估各种不良反应; 如有特殊情况, 随时复查及时处理。

### 1.2 方法

**1.2.1 入组标准:**年龄为18-70岁; KPS评分 $\geq 70$ 分; 行根治性手术, 术后病理证实为Ⅱ/Ⅲ期的直肠腺癌(T3-4/N1-2M0), 根据AJCC第6版分期标准进行分期<sup>[2]</sup>; 未接受过盆腔放疗和含有5-FU的化疗; 无氟尿嘧啶类药物过敏史; 白细胞(white blood cell, WBC) $\geq 4.0 \times 10^9/L$ , 血红蛋白(hemoglobin, HGB) $\geq 100 g/L$ , 血小板 $\geq 100 \times 10^9/L$ ; 肌酐 $\leq 1.0 \times$ 正常值上限, 总胆红素 $\leq 1.0 \times$ 正常值上限, 谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)和丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) $\leq 2.5 \times$ 正常值上限。排除标准: 不符合入组标准; 妊娠或哺乳女性。

**1.2.2 放疗:**采用加速器10MV-X线三维适形(3-dimensional conformal radiation therapy, 3D-CRT)或调强放疗(intensity-modulated radiation therapy, IMRT)技术, CTV剂量50 Gy/25次, 2 Gy/次, 5次/wk。根据ICRU 62号(3DRT)报告<sup>[3]</sup>和83号报告(IMRT)<sup>[4]</sup>: CTV定义为原发灶高危区和区域淋巴引流区, 包括瘤床、吻合口、骶前软组织、髂内血管周围淋巴引流区和会阴手术瘢痕。CTV上界为腰5椎体下缘水平或腰5椎体1/2

## ■相关报道

Aschele等对T3-4的直肠癌进行了奥沙利铂联合5-FU每周方案新辅助放化疗的Ⅰ/Ⅱ期临床研究, 初步探索了奥沙利铂和5-FU的最大耐受剂量和推荐剂量, 这是国外较早开展的剂量爬坡研究, 为后续的相关研究提供参考经验和依据。

处, 下界为闭孔上缘, 包括整个盆底(上段直肠癌). 危及器官包括小肠、膀胱、双侧股骨头. 所有靶区和危及器官的勾画均由同一位医生完成.

1.2.3 化疗: 1次/wk的化疗方案为: (1)固定5-FU和LV的剂量; (2)奥沙利铂剂量递增的治疗方案. 每周放射治疗的第1天开始给予奥沙利铂联合5-FU方案化疗. 5-FU固定在恒定的剂量 $600\text{ mg/m}^2$ , LV固定剂量是 $200\text{ mg/m}^2$ , 静脉滴注, 奥沙利铂初始化疗剂量选定为每周 $40\text{ mg/m}^2$ , 静脉滴注. 从初始剂量开始, 每剂量组最少入组3例, 如果3例均未发生DLT, 按 $10\text{ mg/m}^2$ 进行剂量递增, 在同一受试者不重复试验. 如果3例患者中有2例出现DLT则达到MTD, 试验终止, 如果3例患者中1例出现DLT则再以同样剂量治疗3例, 追加的3例中未再出现DLT, 则继续剂量递增, 如追加的3例中再有1例患者DLT则达到MTD, 试验终止.

1.2.4 评价标准: 急性不良反应采用NCI-CTC毒性分级评定标准3.0版进行评价. 放疗晚期毒性评价参照RTOG/EORTC晚期放射损伤分级方案<sup>[5]</sup>.

1.2.5 DLT和MTD定义: DLT定义为: 粒细胞缺乏性发热超过4 wk; 4级血液学毒性(血小板减少3级即为DLT);  $\geq 3$ 级非血液学毒性(除外脱发); 放疗相关不良反应: 单次放疗中断 $\geq 10\text{ d}$ , 2次及以上放疗中断总和 $\geq 14\text{ d}$ , 以及治疗相关死亡. 出现上述两种DLT剂量水平时达到MTD, 其低一级剂量定为奥沙利铂的推荐剂量(recommended dose, RD), 亦为II期临床研究的推荐剂量.

1.2.6 随访: 所有患者术后放化疗后定期随访, 2年以内每3 mo复查一次, 2年到5年期间每半年复查1次, 以后每年复查1次, 随访内容包括: 病史询问、体格检查、血常规、肝肾功能、消化系统肿瘤标志物(CEA、CA199、CA723和CA242)、颈部B超、胸部正侧位片、腹部CT或B超、盆腔MRI或CT.

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件包进行统计学处理. 计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 生存率的计算采用Kaplan-Meier法.

2 结果

23例患者均接受了根治性手术, 我院手术患者5例, 外院手术患者18例, 其中直肠癌低位前切除术18例, 腹会阴联合切除术5例, 术后病理证实23例均II、III期的直肠腺癌(T3-4/N+), II期6例, III期17例. 本组患者中, 16例采用三维适形放疗, 7例采用调强放疗, 所有患者放疗5 wk, 25次, 总治疗剂量为50 Gy, 临床资料见表1.

表 1 23例直肠癌患者的临床资料

项目	n	%
n	23	100
性别		
男	18	78.3
女	5	21.7
T分期		
T2	2	8.7
T3	16	69.6
T4	5	21.7
N分期		
N0	6	26.1
N1	11	47.8
N2	6	26.1
临床分期		
II	6	26.1
III	17	73.9
手术医院		
本院	5	21.7
外院	18	78.3
手术方式		
LAR	18	78.3
APR	5	21.7

LAR: 直肠癌低位前切除术; APR: 腹会阴联合切除术.

2.1 奥沙利铂剂量递增试验结果 9例患者完成了3个剂量的爬坡试验, 剂量分别为 $40\text{ mg/m}^2$ 组(3例)、 $50\text{ mg/m}^2$ 组(3例)、 $60\text{ mg/m}^2$ 组(3例). 其中 $40\text{ mg/m}^2$ 组、 $50\text{ mg/m}^2$ 组未出现DLT,  $60\text{ mg/m}^2$ 组3例患者有2例DLT(III度乏力和III度腹泻各1例), I期研究终止,  $60\text{ mg/m}^2$ 为MTD,  $50\text{ mg/m}^2$ 为推荐剂量. 继续14例患者进行奥沙利铂II期临床研究, 入组推荐剂量 $50\text{ mg/m}^2$ 组, 所有患者均如期完成放化疗, 未出现II度以上的不良反应.

2.2 不良反应结果 3例奥沙利铂 $60\text{ mg/m}^2$ 组的患者中, 1例因III度腹泻中断放疗3 d, 化疗推迟7 d. 1例III度乏力的患者未中断放疗, 只推迟化疗3 d. 入组的17例 $50\text{ mg/m}^2$ 组患者(I期研究3例+II期研究15例)中, 22.2%(4/18)患者出现I度骨髓抑制, 16.7%(3/18)患者出现II度骨髓抑制, 腹泻的发生率为: I度50%(9/18), II度腹泻16.7%(3/18). 33.3%(6/18)患者出现I度恶心, 16.7%(3/18)患者出现I度乏力; 未出现II度以上的不良反应. 随访中患者未出现放疗晚期不良反应. 本组患者不良反应见表2.

2.3 远期疗效 23例患者中位随访时间56 mo(11-89 mo). 3年和5年生存率(overall survival, OS)分别为86.1%和63.3%. 5年无进展生存率(pro-

■创新盘点

本研究放疗采用的是三维适形或调强放疗等放疗新技术, 而不是三野普通放疗, 放疗不良反应较普通放疗减轻, 患者的治疗耐受性明显提高.

■应用要点

本研究初步探索了奥沙利铂的最大耐受剂量和推荐剂量, 初步证实了II/III期直肠癌根治术后奥沙利铂联合5-FU每周方案同步放化疗的安全性及可行性, 进一步研究有待更多样本的观察.

## ■名词解释

适形调强放疗: 当前国际放疗领域内最先进的放疗技术之一, 是指放射野的形状和照射剂量在三维立体空间方向上与靶区(肿瘤)的实际形状相一致. 适形调强放疗最大限度地提高了肿瘤的照射剂量, 最大限度地减少了周围正常组织、器官的照射体积和剂量.

表 2 23例患者的不良反应情况

不良反应	0度		I度		II度		III度		IV度	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
白细胞下降	12	52.2	8	34.8	2	8.7	0	0	0	0
贫血	17	73.9	6	26.1	0	0	0	0	0	0
血小板下降	20	87.0	3	13.0	0	0	0	0	0	0
转氨酶升高	20	87.0	3	13.0	3	13.4	0	0	0	0
胆红素升高	21	91.3	2	8.7	0	0	0	0	0	0
恶心	17	73.9	6	26.1	0	0	0	0	0	0
呕吐	22	95.7	1	4.35	0	0	0	0	0	0
腹泻	2	8.7	16	69.6	4	17.4	1	4.35	0	0
乏力	17	73.9	5	21.7	0	0	1	4.35	0	0
皮肤反应	16	69.6	4	17.4	3	13.4	0	0	0	0

gression free survival, PFS)、局部复发率和远处转移率分别为56.9%、8.5%和22.3%. 14例患者未出现复发转移, 2例患者出现盆腔复发, 7例患者出现远处转移, 其中腹腔淋巴结转移4例, 肝转移2例, 脑转移1例. 4例患者死亡, 均死于肿瘤进展.

## 3 讨论

局部复发是直肠癌治疗失败的主要原因. 直肠癌根治术后T和N分期越高, 局部复发率越高, T3-4N0的复发率为16%-53%, N+的复发率为34%-65%, T3-4N1-2复发率可达45%-65%. 目前局部进展期直肠癌(II/III期: T3-4/N1-2M0)标准治疗是术前放化疗+TME手术<sup>[6-9]</sup>, 但仍有部分患者未行术前放化疗, 或临床分期为早期直肠癌, 术后发现为pT3-4/N1-2M0, 为降低复发提高局控率, 推荐此类患者行术后放化疗. 另外, 由于我院对II/III期直肠癌患者均行标准的术前放化疗, 入组本研究的基本是在外院行根治术后的患者, 或者术后发现分期为II/III期的患者, 故入组较慢, 耗时较长.

奥沙利铂是继顺铂之后的第3代铂类抗癌药, 与5-FU合用有明显的协同作用, 有效率约50%<sup>[10,11]</sup>, 且III-IV度消化系反应少见, 骨髓抑制相对较轻. 多个临床试验已经证明了奥沙利铂联合5-FU、奥沙利铂联合卡培他滨等同步放化疗的耐受性和疗效<sup>[12-14]</sup>. 奥沙利铂在同步放化疗中的用法, 多数是1次/wk的方案<sup>[11,12]</sup>. Aschele等<sup>[13]</sup>对T3-4期直肠癌进行了奥沙利铂联合5-FU每周方案新辅助放化疗的I/II期临床研究, 化疗期间盆腔放疗50.4 Gy/28次, 1.8 Gy/次, 结果表明, 奥沙利铂和5-FU的推荐剂量分别为

60 mg/m<sup>2</sup>和225 mg/m<sup>2</sup>, DLT是III度腹泻, II期研究中, 腹泻发生率是16%, 腹泻在3-5 d内结束, 没有影响放疗进行. 中性粒细胞降低发生率为12%, 未超过II度, 无IV度不良反应发生. 孙国瑞等<sup>[15]</sup>报道, II、III期直肠癌术后放疗同步联合奥沙利铂、5-FU和LV每周方案化疗, 5-FU和LV剂量固定, 奥沙利铂起始剂量为45 mg/m<sup>2</sup>, 剂量爬坡到85 mg/m<sup>2</sup>时出现DLT, 表现为III-IV度腹泻, 1例患者因IV度腹泻停止同步化疗.

本研究采用放疗同步奥沙利铂+5FU+LV每周方案化疗对根治术后II、III期直肠癌患者进行术后辅助治疗, 探讨奥沙利铂+5FU与放疗同步治疗的安全性和可行性. 与孙国瑞等<sup>[15]</sup>研究不同的是, 本研究放疗采用的是三维适形或调强放疗, 而不是三野普放, 奥沙利铂的起始剂量为40 mg/m<sup>2</sup>, 剂量递增至60 mg/m<sup>2</sup>时出现DLT, 为III度腹泻和乏力, 没有出现IV度不良反应, 且所有患者均完成了治疗计划. 本研究中5-FU采用静脉滴注给药, 而没有持续泵入给药, 主要原因是患者多在门诊治疗, 泵入给药不方便. 本研究结果表明全组奥沙利铂同步放化疗最常见不良反应为腹泻(66.7%)和骨髓抑制(37.5%), 骨髓抑制主要为I-II度中性粒细胞降低, 其中全组III级不良反应发生率为8.3%, 主要为腹泻和乏力, 未见IV级反应. 此外, 不良反应还有恶心、呕吐和放射性皮炎. 另外, 随访过程中23例患者均未出现放疗晚期不良反应, 说明盆腔三维适形或调强放疗放疗同步奥沙利铂+5FU+LV每周方案化疗是可以耐受且安全的. 23例患者中, 治疗失败的有12例, 只有2例出现盆腔的局部复发, 7例患者出现远处转移, 其中1例既有局部复发又有远处转移, 5年复发



率8.4%, 提示II/III期直肠癌术后放化疗降低了复发率, 方案可行, 疗效可, 进一步的疗效评价需要入组更多患者。

总之, II/III期直肠癌根治术后奥沙利铂联合5-FU每周方案同步放化疗是安全、可行的, 奥沙利铂的推荐剂量为50 mg/m<sup>2</sup>/wk, 进一步研究有待更多样本的观察。

#### 4 参考文献

- 1 Wolmark N, Wieand HS, Hyams DM, Colangelo L, Dimitrov NV, Romond EH, Wexler M, Prager D, Cruz AB, Gordon PH, Petrelli NJ, Deutsch M, Mamounas E, Wickerham DL, Fisher ER, Rockette H, Fisher B. Randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy with or without radiotherapy for carcinoma of the rectum: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol R-02. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 388-396 [PMID: 10699069 DOI: 10.1093/jnci/92.5.388]
- 2 Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz A, Balch CM, Haller DG, Morrow M. AJCC cancer staging manual. 6th edition. Berlin: Springer-Verlag, 2002: 345-346
- 3 Chavaudra J, Bridier A. [Definition of volumes in external radiotherapy: ICRU reports 50 and 62]. *Cancer Radiother* 2001; 5: 472-478 [PMID: 11715299 DOI: 10.1016/S1278-3218(01)00117-2]
- 4 Hodapp N. [The ICRU Report 83: prescribing, recording and reporting photon-beam intensity-modulated radiation therapy (IMRT)]. *Strahlenther Onkol* 2012; 188: 97-99 [PMID: 22234506 DOI: 10.1007/s00066-011-0015-x]
- 5 殷蔚伯, 余子豪, 徐国镇, 胡逸民. 肿瘤放射治疗学. 第4版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 1350-1372
- 6 Cammà C, Giunta M, Fiorica F, Pagliaro L, Craxi A, Cottone M. Preoperative radiotherapy for resectable rectal cancer: A meta-analysis. *JAMA* 2000; 284: 1008-1015 [PMID: 10944647 DOI: 10.1001/jama.284.8.1008]
- 7 Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Putter H, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, Pahlman L, Glimelius B, van Krieken JH, Leer JW, van de Velde CJ. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 638-646 [PMID: 11547717 DOI: 10.1056/NEJMoa010580]
- 8 Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 1731-1740 [PMID: 15496622 DOI: 10.1056/NEJMoa040694]
- 9 Koukourakis GV, Georgios V Koukourakis. Role of radiation therapy in neoadjuvant era in patients with locally advanced rectal cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2012; 4: 230-237 [PMID: 23443049 DOI: 10.4251/wjgo.v4.i12.230]
- 10 Raymond E, Chaney SG, Taamma A, Cvitkovic E. Oxaliplatin: a review of preclinical and clinical studies. *Ann Oncol* 1998; 9: 1053-1071 [PMID: 9834817 DOI: 10.1023/A:1008213732429]
- 11 孙殿水, 黎莉, 衣翠华, 李明, 孙丽美. 奥沙利铂联合亚叶酸钙和5-氟尿嘧啶一线治疗晚期胃肠道肿瘤的研究. *中国现代普通外科进展* 2005; 8: 115-117
- 12 Valentini V, Coco C, Minsky BD, Gambacorta MA, Cosimelli M, Bellavita R, Morganti AG, La Torre G, Trodella L, Genovesi D, Portaluri M, Maurizi-Enrici R, Barbera F, Maranzano E, Lupattelli M. Randomized, multicenter, phase IIb study of preoperative chemoradiotherapy in T3 mid-distal rectal cancer: raltitrexed + oxaliplatin + radiotherapy versus cisplatin + 5-fluorouracil + radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 70: 403-412 [PMID: 17919844 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2007.06.025]
- 13 Aschele C, Friso ML, Pucciarelli S, Lonardi S, Sartor L, Fabris G, Urso ED, Del Bianco P, Sotti G, Lise M, Monfardini S. A phase I-II study of weekly oxaliplatin, 5-fluorouracil continuous infusion and preoperative radiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Ann Oncol* 2005; 16: 1140-1146 [PMID: 15894548 DOI: 10.1093/annonc/mdi212]
- 14 Loi S, Ngan SY, Hicks RJ, Mukesh B, Mitchell P, Michael M, Zalberg J, Leong T, Lim-Joon D, Mackay J, Rischin D. Oxaliplatin combined with infusional 5-fluorouracil and concomitant radiotherapy in inoperable and metastatic rectal cancer: a phase I trial. *Br J Cancer* 2005; 92: 655-661 [PMID: 15700033 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602413]
- 15 孙国瑞, 张建东, 邵震宇, 戴勇. 直肠癌术后应用奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙进行同步放疗的剂量研究. *中华普通外科杂志* 2008; 23: 683-685

#### ■同行评价

本文研究内容紧贴临床, 学术意义较好, 具有一定临床实用性和指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# C-Met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系

侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛

## ■背景资料

*c-met* 基因是国外学者 Cooper 于 1984 年发现的由原癌基因 *c-met* 编码的具有酪氨酸激酶活性的跨膜分子, 具有调节细胞生长、分化的功能。 *c-met* 广泛存在于肿瘤细胞和血管内皮细胞, 但不存在于间质细胞。

侯雷, 承德医学院附属医院肿瘤外科一病区 河北省承德市 067000

赵明明, 承德医学院附属医院手术部 河北省承德市 067000

孙宝明, 承德隆化县唐三营医院普外科 河北省承德市 068150

田艳涛, 中国医学科学院肿瘤医院腹部肿瘤外科三病区 北京市 100021

侯雷, 主要从事消化肿瘤外科的研究工作。

作者贡献分布: 本文写作由侯雷完成; 田艳涛、赵明明及孙宝明参与试验。

通讯作者: 田艳涛, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院肿瘤医院腹部肿瘤外科三病区. tyt67@163.com

收稿日期: 2012-12-18 修回日期: 2013-01-02

接受日期: 2013-03-01 在线出版日期: 2013-03-18

## Correlation between c-Met expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer

Lei Hou, Ming-Ming Zhao, Bao-Ming Sun, Yan-Tao Tian

Lei Hou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Ming-Ming Zhao, Department of Operation, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Bao-Ming Sun, Department of General Surgery, Tangsanying Hospital of Longhua County, Chengde 068150, Hebei Province, China

Yan-Tao Tian, Cance Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

Correspondence to: Yan-Tao Tian, Cance Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China. tyt67@163.com

Received: 2012-12-18 Revised: 2013-01-02

Accepted: 2013-03-01 Published online: 2013-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the correlation between expression of c-Met protein and microvessel density (MVD) in colorectal carcinoma and to assess their clinical significance.

**METHODS:** Immunohistochemical SP method was used to detect the expression of c-Met protein and CD34 (for assessment of MVD) in 40 cases of colorectal carcinoma, 40 cases of tumor-adjacent neoplastic tissue and 40 cases of normal colorectal tissue.

**RESULTS:** The positive rate of c-Met expression in colorectal carcinoma was significantly higher than that in adenoma and normal tissue ( $\chi^2 = 29.39$ ,  $P < 0.01$ ). The MVD in colorectal carcinoma was also significantly higher than that in adenoma and normal tissue ( $H = 90.468$ ,  $P < 0.01$ ). C-Met expression and MVD had no correlation with tumor site and histological stage, but were closely related to Dukes stage, depth of invasion, lymph node metastasis and distant metastasis (all  $P < 0.05$ ). The MVD in c-Met-positive rectal cancer was higher than that in c-Met-negative rectal cancer ( $t = 3.126$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** C-Met possibly plays an important role in the invasion and metastasis of colorectal carcinoma. Combined detection of c-Met expression and MVD may be helpful for judging prognosis in colorectal carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Colonal cancer; C-Met; Microvessel density; Immunohistochemistry; Western blot

Hou L, Zhao MM, Sun BM, Tian YT. Correlation between c-Met expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(8): 734-738  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/734.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.734>

## 摘要

**目的:** 检测结直肠癌组织中c-Met蛋白表达情况并计数其微血管密度(microvessel density, MVD)值, 探讨两者之间的相互关系, 评价其与结直肠癌临床病理特征的关系。

**方法:** 对我院病理科2009-2010年经手术切除经病理证实的结直肠癌、癌旁组织及正常组织标本各40例, 采用Western blot和SP法分别检测3种组织中c-Met蛋白表达和CD34标记的MVD。

**结果:** c-Met蛋白在结直肠癌组织中阳性表达率明显高于结直肠癌旁组织与正常黏膜

## ■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科

组织( $\chi^2 = 29.39, P \leq 0.01$ ). 结直肠癌组织中MVD明显高于结直肠癌旁组织和正常黏膜组织( $H = 90.468, P \leq 0.01$ ). 结直肠癌组织c-Met蛋白表达和MVD与浸润深度( $P < 0.05$ )、Dukes分期( $P < 0.05$ )、淋巴结转移及远处转移( $P < 0.05$ )密切相关, c-Met阳性表达的结直肠癌组织中MVD显著高于c-Met阴性者( $t = 3.126, P < 0.01$ ).

**结论:** 结直肠癌患者的c-Met及MVD值高于癌旁组织及正常黏膜组织, 且随着结直肠癌的不断进展, 两者在结直肠癌的侵袭和转移中发挥着重要作用, 联合检测c-Met的表达及MVD可能有助于结直肠癌临床评价和预后判断.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 结直肠癌; C-Met; 微血管密度; 免疫组织化学; Western blot

侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛. C-Met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(8): 734-738 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/734.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i8.734>

## 0 引言

近年来, 我国结直肠癌发病率呈快速上升趋势, 严重威胁着人们的身体健康. 目前虽然治疗手段多样, 但效果及预后欠佳. 因此确定合理的治疗靶点, 制定更为完善的治疗策略成为目前研究的热点问题. 近年来, 对肿瘤组织微血管密度(microvessel density, MVD)的定量研究表明, MVD与肿瘤的生长、转移和复发有着显著相关性<sup>[1]</sup>. 原癌基因(*c-met*)编码的蛋白产物c-Met是肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的一个酪氨酸激酶受体, HGF/met信号系统有多种功能, 能促进肿瘤组织的微血管形成和肿瘤细胞的增殖与分裂, c-Met蛋白的异常表达与肿瘤的发生、发展有着密切关系<sup>[2]</sup>. 结直肠癌组织中MVD与c-Met蛋白表达的相关性及其与临床病理特征关系的研究文献较少, 本实验探讨了结直肠癌组织中MVD值与c-Met蛋白表达的相关性及与结直肠癌临床病理特征的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机选取2009-09/2010-10在承德医学院附属医院手术切除的结直肠癌标本40例, 其中男22例, 女18例, 年龄38-82岁, 中位年龄62岁. 病理分期按Dukes分期A期11例, B期7例, C期12

例, D期10例. 按分化程度分为3组, 高分化腺癌10例, 中分化腺癌14例, 低分化腺癌12例; 根据浸润深度分为两组, 无周围软组织浸润17例, 有周围软组织浸润23例; 根据有无淋巴结转移分为两组, 无淋巴结转移19例, 有淋巴结转移21例. 所有病例均经病理证实, 均无其他严重内科疾病或伴发其他恶性肿瘤, 术前均未接受放疗或化疗. 标本离体30 min内, 经40 g/L甲醛固定后, 常规脱水, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m厚连续切片备用. 鼠抗人CD34单克隆抗体, 浓缩型、SP免疫组织化学试剂盒及多聚赖氨酸防脱片剂均购自北京中山生物技术有限公司. c-Met一抗购自美国Santa Cruz公司, 使用时按1:100稀释.

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学检测:** 按SP试剂盒说明书进行免疫组织化学染色, 4  $\mu$ m连续切片, 常规脱蜡至水化, 3% $H_2O_2$ 室温孵育20 min, PBS浸泡5 min, 枸橼酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH6.4)孵化(100  $^{\circ}$ C)20 min暴露抗原决定簇, 血清封闭, 滴加一抗, 4  $^{\circ}$ C过夜, 加二抗、三抗, DAB染色, 苏木素复染, 脱水, 封片. 检测c-Met和CD34在各标本中的表达情况, 以上实验同时设阴性和阳性对照, 阴性对照采用PBS代替一抗.

**1.2.2 免疫组织化学结果判断:** c-Met呈棕黄色, 主要定位于细胞胞浆. 高倍镜下(400倍)至少选择5个视野, 计数阳性细胞, 并计算阳性细胞百分率. 阳性细胞数<25%为0分, 26%-50%为1分, 51%-75%为2分, >75%为3分. 染色程度根据多数细胞的呈色反应为准, 不着色为0分, 浅棕黄色为1分, 棕黄色为2分, 黄褐色为3分. 根据c-Met染色程度与阳性细胞数评分之和综合判断: 0分为阴性(-), 1-2分为弱阳性(+), 3-4分为阳性(6), 5-6分为强阳性(7).

CD34: CD34的阳性表达位于血管内皮细胞, 呈棕褐色, 深染, 形状不规则. 参照Weidner标准<sup>[3]</sup>计数MVD. 以同一张切片3个选定区域(200倍光镜视野)视野内微血管数的平均值表示所要测量的微血管密度.

**1.2.3 Western blot检测:** 提取组织中的总蛋白, BCA法检测蛋白含量. SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜, 5%脱脂奶粉封闭, TBST洗膜后一抗孵育, 4  $^{\circ}$ C过夜, TBST洗膜后二抗室温孵育2 h, DAB显色试剂盒进行显色, 拍照记录实验结果. 用Gel Pro-Analyzer 3.1软件进行分析, 计算目的蛋白与 $\beta$ -actin的光密度比值.

**统计学处理** 所有数据采用SPSS11.5统计学

### ■研究前沿

研究表明, 在许多恶性肿瘤中c-Met的表达量上升, 包括非小细胞肺癌、胃癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌、乳腺癌、头颈部癌、结肠癌和肾癌等.



## ■创新盘点

结直肠癌组织中MVD与c-Met蛋白表达的相关性及其与临床病理特征关系的研究较少, 本实验探讨了结直肠癌组织中MVD值与c-Met蛋白表达的相关性及与结直肠癌临床病理特征的关系。

表 1 c-Met在不同组织中表达 (mean  $\pm$  SD,  $n = 40$ )

	c-Met	$P$ 值
正常黏膜	$0.82 \pm 0.21$	$<0.01$
癌旁组织	$2.53 \pm 0.47$	
癌组织	$4.12 \pm 0.87$	

表 2 MVD在不同组织中表达 (mean  $\pm$  SD,  $n = 40$ )

	微血管密度	$P$ 值
正常黏膜	$12.80 \pm 4.09$	$<0.01$
癌旁组织	$30.00 \pm 7.81$	
癌组织	$33.85 \pm 8.68$	

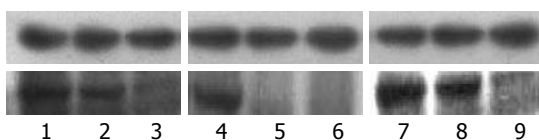


图 1 用Western blot检测不同组织中c-met的表达情况. 1, 4, 7: 为肿瘤组织; 2, 5, 8: 癌旁组织; 3, 6, 9: 正常组织.

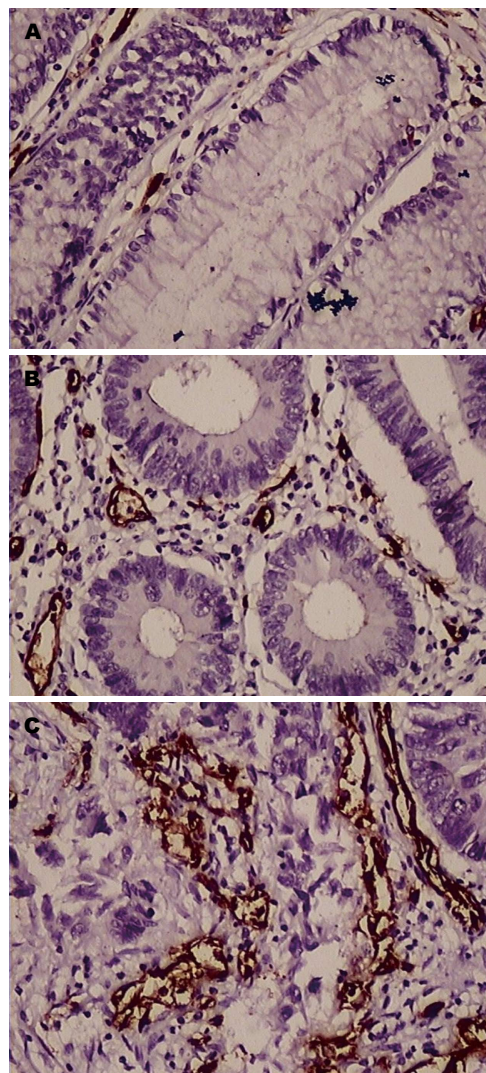
软件进行统计分析, 实验结果以mean  $\pm$  SD表示, 两个独立样本组间均数比较用 $t$ 检验, 多组的组间比较用方差分析,  $P < 0.05$ 表示差异有显著性,  $P > 0.05$ 为差异无显著性.

## 2 结果

**2.1 c-Met蛋白表达** c-Met主要表达在结直肠癌细胞的细胞浆中, 呈棕黄色. 在结直肠癌、结直肠癌旁组织和正常黏膜组织中, c-Met的阳性表达水平分别为 $0.82 \pm 0.21$ 、 $2.53 \pm 0.47$ 和 $4.12 \pm 0.87$ . c-Met蛋白在结直肠癌组织中表达最高, 在结直肠癌旁组织及正常黏膜组织中表达量依次降低, 三者之间c-Met蛋白的表达情况差异有显著性( $P < 0.01$ , 表1, 图1).

**2.2 MVD检测** CD34标记的微血管呈棕褐色. 结直肠癌、结直肠癌旁组织以及正常黏膜组织MVD分别为 $33.85 \pm 8.68$ 、 $30.00 \pm 7.81$ 、 $12.80 \pm 4.09$ , 差异有统计学意义( $H = 90.468$ ,  $P \leq 0.01$ , 表2, 图2).

**2.3 结直肠癌组织c-Met蛋白表达与MVD的相关性** 我们对结直肠癌组织中c-Met蛋白的表达情况与微血管密度值进行相关性研究, 经统计学处理, 发现结直肠癌中c-Met蛋白的表达水平与癌组织中微血管密度值有正相关性( $R = 0.618$ ,  $P < 0.01$ ). 提示在结直肠癌组织中, 随着c-Met蛋白表达水平的升高, 微血管密度值也相应升高

图 2 CD34标记的MVD在不同组织中表达( $\times 200$ 倍). A: 正常黏膜组织; B: 结直肠癌旁组织; C: 结直肠癌.

(图3).

**2.4 c-Met和MVD与结直肠癌患者临床病理参数的关系** 结直肠癌组织中c-Met蛋白表达及MVD的水平与肿瘤位置、分化程度、大小及患者的性别、年龄无关, 但与肿瘤浸润深度、Dukes分期、淋巴结转移及远处转移有关(表3).

## 3 讨论

c-met基因是国外学者Cooper于1984年发现的由原癌基因c-met编码的具有酪氨酸激酶活性的跨膜分子<sup>[4]</sup>, 具有调节细胞生长、分化功能. c-met广泛存在于肿瘤细胞和血管内皮细胞, 但不存在于间质细胞<sup>[5]</sup>. 在国内外关于肿瘤中c-met基因表达的研究发现, 许多恶性肿瘤c-met表达增多, 包括非小细胞肺癌、胃癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌、乳腺癌、头颈部癌、结肠癌和肾癌等<sup>[6]</sup>. 本次研究结果显示: 随着结直肠癌分

表 3 c-Met和MVD与结直肠癌患者临床病理参数的关系 (mean  $\pm$  SD)

临床病理特征	n	c-Met	P值	微血管密度	P值
年龄(岁)			> 0.05		> 0.05
≥60	17	4.08 $\pm$ 0.69		34.88 $\pm$ 8.45	
< 60	23	4.17 $\pm$ 1.10		33.8 $\pm$ 8.95	
性别			> 0.05		> 0.05
男	22	4.13 $\pm$ 0.81		33.09 $\pm$ 7.45	
女	18	4.12 $\pm$ 0.97		34.44 $\pm$ 10.46	
肿瘤部位			> 0.05		> 0.05
直肠	18	4.35 $\pm$ 0.81		30.83 $\pm$ 8.25	
结肠	22	3.82 $\pm$ 0.90		35.86 $\pm$ 8.52	
病理分级			< 0.05		> 0.05
高分化	10	3.03 $\pm$ 0.87		35.10 $\pm$ 9.68	
中分化	14	3.73 $\pm$ 0.78		26.45 $\pm$ 9.14	
低分化	12	4.48 $\pm$ 0.99		35.31 $\pm$ 13.17	
浸及深度			< 0.05		< 0.05
未及浆膜	17	3.28 $\pm$ 0.87		28.41 $\pm$ 7.00	
浆膜以外	23	4.37 $\pm$ 0.81		37.86 $\pm$ 7.62	
Dukes分级			< 0.01		< 0.01
A+B	18	3.44 $\pm$ 0.54		26.44 $\pm$ 3.58	
C+D	22	4.69 $\pm$ 0.68		40.36 $\pm$ 5.44	
淋巴结转移			< 0.01		< 0.01
无	19	3.41 $\pm$ 0.55		25.88 $\pm$ 3.77	
有	21	4.68 $\pm$ 0.66		40.36 $\pm$ 5.44	

## ■同行评价

本文数据可靠, 结果可信, 具有一定指导意义。

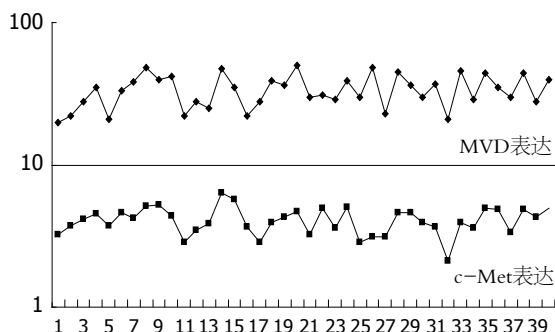


图 3 结直肠癌组织c-Met蛋白表达与MVD之间的相关性。

化程度的降低、浸润层次的深入、淋巴转移的发生和临床分期的进展, c-Met蛋白表达水平不断升高, 提示了c-Met蛋白的高表达与结直肠癌的发展、浸润、转移有关, 这可能是c-Met蛋白高表达促使肿瘤细胞增殖、分化, 运动能力增强, 增加了肿瘤组织的侵袭性。国外学者Fazekas等<sup>[7]</sup>研究也证实, 约50%的结肠癌c-Met蛋白表达增加了5-10倍, 仅10%的结肠癌原发灶有c-met基因扩增, 而转移灶则88%发生了基因扩增。国内学者吴子刚等<sup>[8]</sup>研究表明, c-met高表达组淋巴转移多, 说明浸润转移机会大, 与本研究结果与国内外学者研究结果一致。所以, 监测c-Met蛋白的表达水平有可能为评价结直肠癌生物学行为提

供较有价值的评价指标。

近些年来关于有关研究发现肿瘤血管生成是一个多步骤、多因素共同作用的复杂过程, 涉及一系列生理病理及生物化学的改变。促血管生成因子与血管生成抑制因子之间的共同作用, 决定着肿瘤血管生成表型。肿瘤组织中的微血管有两种来源: (1)肿瘤细胞产生的血管内皮细胞生长因子, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 诱导瘤体生成微血管; (2)残存于瘤体内的宿主血管逐渐变为肿瘤血管, 即宿主血管的肿瘤化<sup>[9]</sup>。肿瘤微血管生成反映恶性肿瘤生物学行为的重要参数, 与多种肿瘤的预后相关<sup>[10]</sup>, 常用特异性高的CD31、CD34<sup>[11]</sup>荧光标记血管内皮细胞, 来反映MVD的数值。CD34抗体对肿瘤内毛细血管、小血管内皮细胞稳定性及敏感性都较强, 是一种相对分子质量为115  $\times$  10<sup>3</sup>的糖基化跨膜糖蛋白。CD34抗体是目前检验微血管构筑的较好方法, 可重复性强。本研究显示, MVD在结直肠癌组织中较腺瘤组织和正常黏膜显著增加, 与肿瘤的Dukes分期、浸润深度、淋巴结转移及远处转移密切相关, Takebayashi等<sup>[12]</sup>研究结果同样也显示, 结直肠癌的MVD与Dukes分期、浸润深度以

及淋巴结转移均有明显相关性. 与本组研究相似. 但Bossi与White等<sup>[13]</sup>研究却认为结直肠癌的MVD与肿瘤临床分期、淋巴结转移之间无显著性相关. 考虑是否与所选取的实验对象的分期与病理类型差异有关. 因此, 结直肠癌的MVD与其浸润、转移的关系尚需进一步研究.

因此我们认为肿瘤的微血管数量是肿瘤患者的危险因素, 数量越多预后越差, 越容易发生转移. 本实验通过联合检测c-Met、MVD, 结果c-Met蛋白在癌组织中明显高于癌旁组织和正常组织, 表明HGF/c-Met信号传导系统很可能参与了结直肠癌的发生发展过程, 并与结直肠癌微血管的生成有一定关系, 且对结直肠癌的浸润、转移可能存在影响. 由于在HGF/c-Met信号传导系统中参与的因子众多, 因此相互之间的关系复杂, 仍然存在着很多问题, 有待于今后的研究. 进一步的研究应对术后的患者进行长期的随访以及复查, 评价c-Met蛋白的表达水平及MVD值与预后生存率、生存时间等远期指标的相关性, 以便更深入的认识结直肠癌的发生发展机制, 为判断患者的预后引进新的指标, 也为肿瘤的药物治疗提供新靶点和新思路.

#### 4 参考文献

- 1 Sundov Z, Tomic S, Alfirevic S, Sundov A, Capkun V, Nincevic Z, Nincevic J, Kunac N, Kontic M, Poljak N, Druzijanic N. Prognostic Value of MVD, LVD and Vascular Invasion in Lymph Node-Negative Colon Cancer. *Hepatogastroenterology* 2013 Jan 16. [Epub ahead of print] [PMID: 23321007 DOI: 10.5754/hge12826]
- 2 Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET Pathway in Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2013 Feb 6. [Epub ahead of print] [PMID: 23388504]
- 3 Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, Meli S, Gasparini G. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1875-1887 [PMID: 1281237]
- 4 Mahtouk K, Tjin EP, Spaargaren M, Pals ST. The HGF/MET pathway as target for the treatment of multiple myeloma and B-cell lymphomas. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1806: 208-219 [PMID: 20655987 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.07.006]
- 5 Liu CM, Lin MH, Ying MZ, Lin MH, Wang J, Mao M. The significance of proto-oncogene HGF/SF receptor c-met mRNA expression in nasopharyngeal carcinoma. *Chiese-German J Clin Oncol* 2007; 6: 278-280
- 6 Sierra JR, Tsao MS. c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2011; 3: S21-S35 [PMID: 22128285 DOI: 10.1177/1758834011422557]
- 7 Fazekas K, Csuka O, Köves I, Rásó E, Tímár J. Experimental and clinicopathologic studies on the function of the HGF receptor in human colon cancer metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2000; 18: 639-649 [PMID: 11827067]
- 8 吴子刚, 贾文婷, 陈东燕, 杨丽莉, 何敏, 邹兵, 王俊懿, 高锦. C-met基因表达与大肠腺瘤演化与癌变过程相关性的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2008; 15: 1780-1782
- 9 丁洪基. 肿瘤微血管密度检测及其临床病理意义. *诊断病理学杂志* 2008; 15: 241-243
- 10 Matsuda Y, Hagio M, Ishiwata T. Nestin: a novel angiogenesis marker and possible target for tumor angiogenesis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 42-48 [PMID: 23326161 DOI: 10.3748/wjg.v19.i1.42]
- 11 Bădescu A, Georgescu CV, Vere CC, Crăițoiu S, Grigore D. Correlations between Her2 oncoprotein, VEGF expression, MVD and clinicopathological parameters in gastric cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2012; 53: 997-1005 [PMID: 23303024]
- 12 Takebayashi Y, Aklyama S, Yamada K, Akiba S, Aikou T. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. *Cancer* 1996; 78: 226-231 [PMID: 8673996]
- 13 White JD, Hewett PW, Kosuge D, McCulloch T, Enholm BC, Carmichael J, Murray JC. Vascular endothelial growth factor-D expression is an independent prognostic marker for survival in colorectal carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 1669-1675 [PMID: 11912138]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$ , *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com



《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学学术论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈敬贤 教授  
安徽医科大学微生物教研室

程树群 副教授  
上海东方肝胆外科医院肝胆外科

崔云甫 教授  
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

顾国利 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭永红 副主任医师  
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

郝立强 副教授  
上海长海医院普外二科

何敏 教授  
广西医科大学医学科学实验中心

何松 教授  
重庆医科大学附属第二医院

江学良 教授  
济南军区总医院消化内科

姜波健 教授  
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李革 副教授  
延边大学附属医院

李永翔 教授  
安徽医科大学第一附属医院普外科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授  
南昌大学附属第一医院胃肠外科

刘宝林 教授  
中国医科大学附属盛京医院

刘炳亚 研究员  
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘丽江 教授  
江汉大学医学院

刘颖斌 主任医师  
上海交通大学医学院附属新华医院

刘占举 教授  
同济大学附属上海市第十人民医院

禄韶英 副教授  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

彭宗根 副研究员  
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

汤华 研究员  
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

肖恩华 教授  
中南大学湘雅二医院放射教研室

许剑民 教授  
复旦大学附属中山医院普外科

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张国 主任医师  
广西壮族自治区人民医院消化内科

张明辉 副主任医师  
河北医科大学第一医院肝病中心

赵青川 主任医师  
西京医院消化外科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>





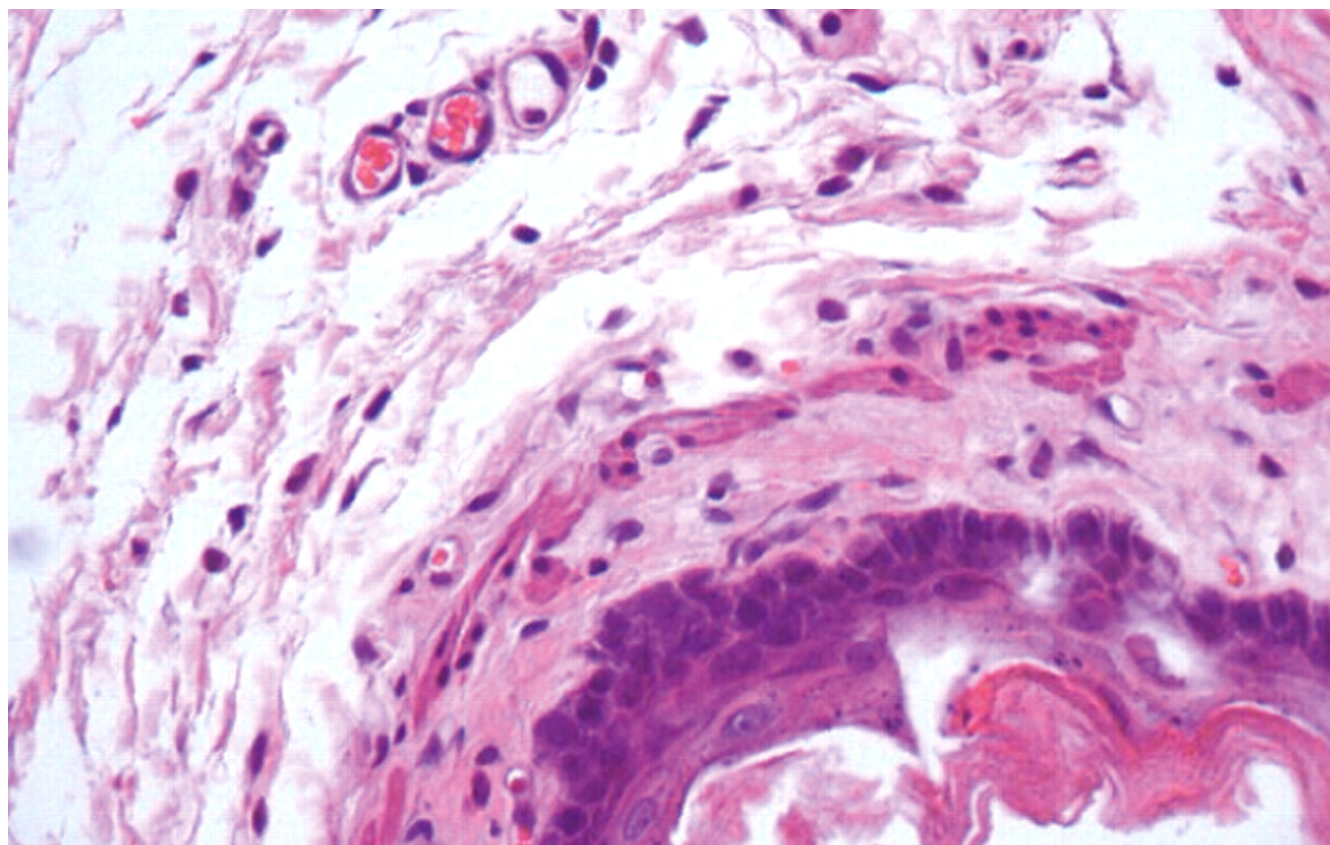
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2013 年 3 月 28 日      第 21 卷      第 9 期      (Volume 21 Number 9)**



**9/2013**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授



田晓峰教授  
汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰璜教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泱副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李苏宜教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄国教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授

汤静主管药师  
滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年3月28日 第21卷 第9期 (总第413期)

## 基础研究

- 739 Nrf2在肝纤维化小鼠肝细胞中的核转移  
吴硕, 马兴彬, 周成军, 赵敬杰, 郭建强, 许伟华
- 745 健脾清热活血方介导Wnt/ $\beta$ -catenin通路对人结肠SW480细胞的影响  
张保静, 张涛, 陈远能, 王小平, 潘怀耿
- 754 下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响  
郑建伟, 尹洪芳, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 朱静

## 临床研究

- 761 启动子区甲基化对肝细胞癌锌指蛋白331表达的调控  
杨志华, 郭明洲, 李鑫, 毛高平

## 文献综述

- 766 维生素D与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展  
朴熙绪, 韩红梅
- 773 PDGF及其受体与肝纤维化的相关性  
黄雯, 朱莹
- 779 肠道菌群参与结直肠癌发生的模式  
贾盛佼, 王莉莉, 于新娟, 董开蕊, 田宇彬, 董全江
- 785 功能性消化不良的发病机制  
全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅

## 研究快报

- 791 管腔内局部照射诱发急性放射性食管损伤动物模型的构建及其应用  
全甲钊, 曲波, 王耀明, 金世柱, 崔亚利, 辛然, 王蓓蓓, 姜海燕
- 798 厄贝沙坦对糖尿病胃轻瘫大鼠ET-1和AT1R表达的影响  
何莉莉, 朱雅娜, 任荣, 张玉, 王飞, 李媛, 张艺凡, 孙玉凤
- 804  $\alpha$ -亚麻酸对转化生长因子 $\beta$ 1诱导的肝星状细胞的影响  
王莉娟, 吴金明, 方红龙, 刘扬, 黄智铭
- 809 SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用  
霍明东, 丁曙晴, 丁义江, 江滨, 张波

## 临床经验

- 814 重组腺相关病毒介导的RNA干扰对乙型肝炎病毒复制和表达的影响  
付冰峰, 李绍祥, 宁守斌
- 820 以肝病症状为首表现的肝豆状核变性93例  
林连捷, 王东旭, 郑长青, 曹男, 丁楠楠
- 824 自身免疫性胰腺炎7例  
杨旸, 姜沫含, 孙明军
- 829 KAP-1在胰腺癌中的表达及临床意义  
江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊
- 835 EphA3在结肠癌组织中的表达及临床意义  
于泳, 窦科峰, 王家林, 李霄, 王建锋, 韩炜, 张卓超, 阮柏, 王德盛
- 840 地衣芽孢杆菌联合PPI三联疗法根除幽门螺杆菌的临床疗效  
蒋永爱, 欧希龙, 王建宁

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	744 《世界华人消化杂志》正文要求 753 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 784 2012年度《世界华人消化杂志》发文情况 797 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 808 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 813 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 819 《世界华人消化杂志》栏目设置 823 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 828 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 834 《世界华人消化杂志》参考文献要求 844 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	全甲钊, 曲波, 王耀明, 金世柱, 崔亚利, 辛然, 王蓓蓓, 姜海燕. 管腔内局部照射诱发急性放射性食管损伤动物模型的构建及其应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 791-797 URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/791.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/791.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.791">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.791</a>
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范 审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-03-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

# World Chinese Journal of Digestology

## March 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 9

<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>739 Nuclear translocation of Nrf2 in hepatocytes of mice with hepatic fibrosis <i>Wu S, Ma XB, Zhou CJ, Zhao JJ, Guo JQ, Xu WH</i></p> <p>745 Treatment with Jian-pi-qing-re-huo-xue detection regulates SW480 cell apoptosis by altering Wnt/<math>\beta</math>-catenin expression <i>Zhang BJ, Zhang T, Chen YN, Wang XP, Pan HG</i></p> <p>754 SiRNA-mediated silencing of paxillin down-regulates ERK1/2 signaling and alters cell ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480 <i>Zheng JW, Yin HF, Wang X, Liu YC, Wan YL, Zhu J</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>761 Zinc-finger protein 331 expression is regulated by promoter region hypermethylation in hepatocellular carcinoma <i>Yang ZH, Guo MZ, Li X, Mao GP</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>766 Relationship between vitamin D and nonalcoholic fatty liver disease <i>Piao XX, Han HM</i></p> <p>773 Correlation between PDGFs and their receptor and liver fibrosis <i>Huang W, Zhu X</i></p> <p>779 Mechanisms underlying the role of intestinal microbiota in pathogenesis of colorectal cancer <i>Jia SJ, Wang LL, Yu XJ, Dong KX, Tian ZB, Dong QJ</i></p> <p>785 Pathogenesis of functional dyspepsia <i>Tong JZ, Qu B, Wang BB, Bai M</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>791 Development of a rat model of intraluminal local radiation-induced acute radioactive esophageal injury <i>Tong JZ, Qu B, Wang YM, Jin SZ, Cui YL, Xin R, Wang BB, Jiang HY</i></p> <p>798 Effect of irbesartan on expression of ET-1 and AT1R in gastric tissues of diabetic rats with gastroparesis <i>He LL, Zhu YN, Ren R, Zhang Y, Wang F, Li Y, Zhang YF, Sun YF</i></p> <p>804 Effect of LNA treatment on cell proliferation, secretion of types I and III collagen, and <math>\alpha</math>-SMA expression in rat hepatic satellite cells treated with transforming growth factor <math>\beta</math>1 <i>Wang LJ, Wu JM, Fang HL, Liu Y, Huang ZM</i></p> <p>809 Role of SCF/c-Kit signaling pathway in the pathogenesis of cathartic colon <i>Huo MD, Ding SQ, Ding YJ, Jiang B, Zhang B</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>814 Effect of recombinant adenovirus-associated virus-mediated RNA interference on HBV replication and expression <i>Fu BF, Li SX, Ning SB</i></p> <p>820 Wilson's disease with hepatic manifestations as the first presentation: An analysis of 93 cases <i>Lin LJ, Wang DX, Zheng CQ, Cao N, Ding NN</i></p> <p>824 Clinical characteristics of autoimmune pancreatitis: An analysis of 7 cases <i>Yang Y, Jiang MH, Sun MJ</i></p> <p>829 Clinical significance of expression of KAP-1 in pancreatic carcinoma <i>Jiang JX, Zhan L, Huang Y, He YZ, Sun CY</i></p> <p>835 Clinical significance of expression of EphA3 in colon cancer <i>Yu Y, Dou KF, Wang JL, Li X, Wang JF, Han W, Zhang ZC, Ruan B, Wang DS</i></p> <p>840 Efficacy of <i>Bacillus licheniformis</i> combined with PPI triple therapy in eradication of <i>Helicobacter pylori</i> <i>Jiang YA, Ou XL, Wang JN</i></p>



<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Tong JZ, Qu B, Wang YM, Jin SZ, Cui YL, Xin R, Wang BB, Jiang HY. Development of a rat model of intraluminal local radiation-induced acute radioactive esophageal injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(9): 791-797</i> URL: <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/791.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/791.asp</a> DOI: <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.791">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.791</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** March 28, 2013

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# Nrf2在肝纤维化小鼠肝细胞中的核转移

吴硕, 马兴彬, 周成军, 赵敬杰, 郭建强, 许伟华

吴硕, 马兴彬, 郭建强, 许伟华, 山东大学第二医院消化内科  
山东省济南市 250033

周成军, 山东大学第二医院病理科 山东省济南市 250033

赵敬杰, 山东大学第二医院临床分子生物学实验室 山东省  
济南市 250033

吴硕, 在读研究生, 主要从事肝纤维化的研究。

百肝纤维化基础研究基金资助项目, No. 2010-008

作者贡献分布: 此课题由许伟华设计; 动物模型制作由吴硕与马  
兴彬完成; 蛋白检测分析由吴硕、郭建强及赵敬杰操作完成; 病理  
分析由吴硕与周成军完成; 论文写作由吴硕完成。

通讯作者: 许伟华, 主任医师, 250033, 山东省济南市天桥区247  
号, 山东大学第二医院消化内科. xu30002001@yahoo.com.cn

电话: 0531-85875454

收稿日期: 2013-02-03 修回日期: 2013-03-05

接受日期: 2013-03-06 在线出版日期: 2013-03-28

## Nuclear translocation of Nrf2 in hepatocytes of mice with hepatic fibrosis

Shuo Wu, Xing-Bin Ma, Cheng-Jun Zhou,  
Jing-Jie Zhao, Jian-Qiang Guo, Wei-Hua Xu

Shuo Wu, Xing-Bin Ma, Jian-Qiang Guo, Wei-Hua Xu,  
Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Shan-  
dong University, Jinan 250033, Shandong Province, China

Cheng-Jun Zhou, Department of Pathology, the Second  
Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong  
Province, China

Jing-Jie Zhao, Laboratory of Clinical Molecular Biology,  
the Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033,  
Shandong Province, China

Supported by: the Liver Fibrosis Basic Research Founda-  
tion of Pearl Ocean Pharmaceutical Holdings Limited, No.  
2010-008

Correspondence to: Wei-Hua Xu, Chief Physician,  
Department of Gastroenterology, the Second Hospital of  
Shandong University, 247 Tianqiao District, Jinan 250033,  
Shandong Province, China. xu30002001@yahoo.com.cn

Received: 2013-02-03 Revised: 2013-03-05

Accepted: 2013-03-06 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the nuclear translocation of  
NF-E2-related factor 2 (Nrf2) in hepatocytes of  
mice with hepatic fibrosis.

**METHODS:** Mice were randomly divided into  
two groups: normal control group and model  
group. For the model group, carbon tetrachlo-  
ride (CCl<sub>4</sub>) dissolved in mineral oil was injected  
intraperitoneally for 10 wk, while the normal  
control group was injected with the same

volume of mineral oil. At the end of the 10th  
week, specimens were collected to assess the  
degrees of hepatic fibrosis and inflammation by  
haematoxylin-eosin staining and Masson stain-  
ing. Western blot was used to detect the protein  
expression of Nrf2 and NAD(P)H quinine oxido-  
reductase 1 (Nqo1) and nuclear translocation of  
Nrf2.

**RESULTS:** Compared to the normal control  
group, the degrees of hepatic inflammation and  
fibrosis in the model group were significantly  
increased. Western blot analysis showed that,  
compared to the normal control group ( $0.490 \pm$   
 $0.088$ ,  $0.430 \pm 0.057$ ,  $0.370 \pm 0.022$ ), the expres-  
sion levels of Nrf2 and Nqo1 proteins, as well  
as nuclear translocation of Nrf2 were increased  
significantly in the model group ( $0.490 \pm 0.088$  vs  
 $0.790 \pm 0.045$ ,  $0.430 \pm 0.057$  vs  $0.720 \pm 0.040$ ,  $0.370$   
 $\pm 0.022$  vs  $0.670 \pm 0.044$ ;  $F = 2.027$ ,  $0.772$ ,  $1.552$ , all  
 $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** In mice with hepatic fibrosis,  
the nuclear translocation of Nrf2 in hepatocytes  
is increased to up-regulate its target protein  
Nqo1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** NF-E2-related factor 2; NAD(P)H qui-  
nine oxidoreductase 1; Liver fibrosis

Wu S, Ma XB, Zhou CJ, Zhao JJ, Guo JQ, Xu WH. Nuclear  
translocation of Nrf2 in hepatocytes of mice with hepatic  
fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 739-744  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/739.asp> DOI:  
<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.739>

## 摘要

**目的:** 研究肝纤维化小鼠肝细胞中核因子相  
关因子-2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)核转移  
情况。

**方法:** 实验小鼠随机分为正常对照组(normal  
control, NC组)、模型组, 每组8只。模型组腹  
腔注射四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)石蜡油溶液建造肝纤  
维化模型, NC组给予同体积矿物油腹腔注射,

## ■背景资料

慢性肝损伤, 如乙  
型和/或丙型肝炎、非酒精  
性脂肪肝、自身  
免疫性肝病等在  
全球的发病率逐  
年升高, 其引起  
的肝纤维化病变是  
向终末期肝硬化  
病变发展的病理  
基础。CCl<sub>4</sub>注射是  
建立肝纤维化模  
型的经典方法, 其  
代谢产物具有肝  
毒性, 能够引起线  
粒体损伤、肝细  
胞坏死等加剧氧  
化应激损伤, 释放  
大量炎症及纤维  
化细胞因子而导  
致肝纤维化发生。

## ■同行评议者

鲁玉辉, 副教授,  
福建中医药大学  
中医学院; 党双锁,  
教授, 西安交通大  
学医学院第二附  
属医院感染科

## ■研究前沿

Keap1-Nrf2-ARE通路等多种药物对肝脏治疗的作用密切相关,适当的药物干预可以通过促进Keap1-Nrf2-ARE通路激活因子表达从而提高药物的肝脏保护作用。

共10 wk. 收集肝脏标本HE染色及Masson染色观察肝脏炎症和纤维化程度; Western blot检测细胞内Nrf2、醌氧化还原酶1(quinone oxidoreductase, Nqo1)总蛋白及Nrf2核蛋白表达情况。

**结果:** 随CCl<sub>4</sub>肝损伤时间延长, 组织病理学结果显示模型组明显炎症反应及纤维间隔形成; Western blot结果显示, 与NC组Nrf2、Nqo1总蛋白及Nrf2核蛋白表达量分别为 $0.490 \pm 0.088$ 、 $0.430 \pm 0.057$ 、 $0.370 \pm 0.022$ 比较, 模型组为 $0.790 \pm 0.045$ 、 $0.720 \pm 0.040$ 、 $0.670 \pm 0.044$ 显著增高, 差异具有统计学意义( $F = 2.027$ 、 $0.772$ 、 $1.552$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 肝纤维化小鼠肝细胞中Nrf2核转移增多并上调细胞保护性蛋白Nqo1表达。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 核因子相关因子-2; 醌氧化还原酶1; 肝纤维化

吴硕, 马兴彬, 周成军, 赵敬杰, 郭建强, 许伟华. Nrf2在肝纤维化小鼠肝细胞中的核转移. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 739-744 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/739.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.739>

## 0 引言

慢性肝病损伤致肝脏自身组织免疫系统激活, 进行连续性修复反应过程是肝纤维化的共同通路. 肝纤维化演变过程中受损的肝细胞、炎症细胞和Kupffer细胞释放活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)及多种细胞因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素6(interleukin-6, IL-6), 通过旁分泌方式促进肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)活化增殖<sup>[1]</sup>, 而HSCs活化并释放ROS形成持续恶化的病理微环境. 核因子相关因子2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)属于CNC(Cap 'n' Collar)家族, 具有高度保守的碱性亮氨酸拉链bZIP结构. 生理状态下, 细胞浆内Nrf2与Kelch样ECH相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)结合, 在氧化应激和亲电子物质刺激下, Nrf2与Keap1解耦联并转入胞核内, 与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合并转录一系列目标基因, 如醌氧化还原酶1(quinone oxidoreductase, Nqo1)表达, 发挥其抗氧化损伤、解毒、抑制化学致癌等作用. 本实验拟在观察肝纤维化时Nrf2

表达及核转移情况, 为探讨肝脏疾病预防及治疗提供方向。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 清洁级健康♀昆明小鼠16只, 6周龄, 体重 $26 \pm 5$  g, 由山东大学实验动物中心提供. CCl<sub>4</sub>(分析纯品)和矿物油购自中国医药集团济南凯琪生物技术有限公司. Nrf2抗体(ab31163)、Nqo1抗体(ab34173m)购自英国Abcam公司; 碱性磷酸酶标记的二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 总蛋白提取试剂盒、胞核蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物科技公司; ECL发光试剂盒购自美国Millipore公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组与模型制备:** 实验小鼠16只, 适应性饲养1 wk, 随机分为正常对照组(normal control, NC组)( $n = 8$ )、模型组( $n = 8$ ). NC组给予同体积矿物油腹腔注射, 模型组腹腔注射石蜡油稀释的CCl<sub>4</sub>溶液(体积比1:10)0.25 mg/g, 1次/3 d, 共10 wk. 禁食不禁水12 h后称体质量, 水合氯醛0.3 mL/100 g麻醉, 摘取部分肝脏固定于10%甲醛, 剩余肝组织液氮冰冻后存于-80 °C。

**1.2.2 肝组织病理学检测:** 肝组织标本经10%甲醛固定, 石蜡包埋, 切片机(RM2235型, 德国莱卡)4  $\mu$ m厚连续切片, 二甲苯透明、梯度酒精水化后, 分别行HE染色、Masson染色, 显微镜(DM520型, 德国莱卡)下观察肝炎症状及纤维化病变。

**1.2.3 Western blot检测细胞内Nrf2的蛋白表达量、核转移情况及Nqo1蛋白表达水平:** 按照说明书操作分别提取总蛋白及核蛋白后, BCA法蛋白定量. 取等量蛋白质样品体积1:6加入适量Loading buffer, 于100 °C水浴变性5 min, 通过10%SDS-PAGE电泳分离蛋白质后电转移法转移蛋白至NC膜上, 5%脱脂奶粉封闭1.5 h, 加入一抗(Nrf2、Nqo1、 $\beta$ -actin、GAPDH, 浓度为1:1 000)4 °C过夜; 次日碱性磷酸酶标记的二抗(浓度为1:5 000)孵育2 h, ECL显影液曝光显影. Quantity One图像分析系统测定每条带的灰度值进行分析, 用 $\beta$ -actin、GAPDH作为内参, 以相对灰度值进行统计学分析。

**统计学处理** 实验数据以mean $\pm$ SD表示, 组间比较采用 $t$ 检验, 所有数据采用SPSS13.0软件包分析,  $P < 0.05$ 为差异统计学意义有显著性差异。



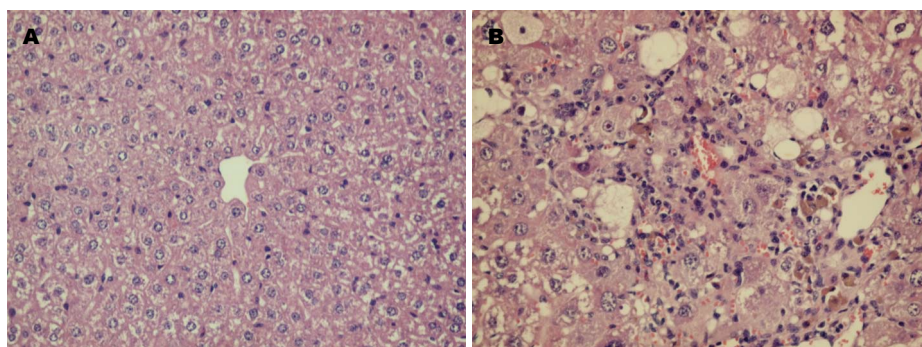


图1 各组肝组织形态学改变(HE × 200). A: NC组; B: 模型组.

#### ■ 相关报道

Vasiliou等从肝硬化小鼠肝脏中分离出HSCs, 检测出HSCs中Nqo1的表达量明显增多, 而Nqo1主要受控于Nrf2的调节, 因此Nrf2通过Nqo1发挥其抗肝纤维化作用.

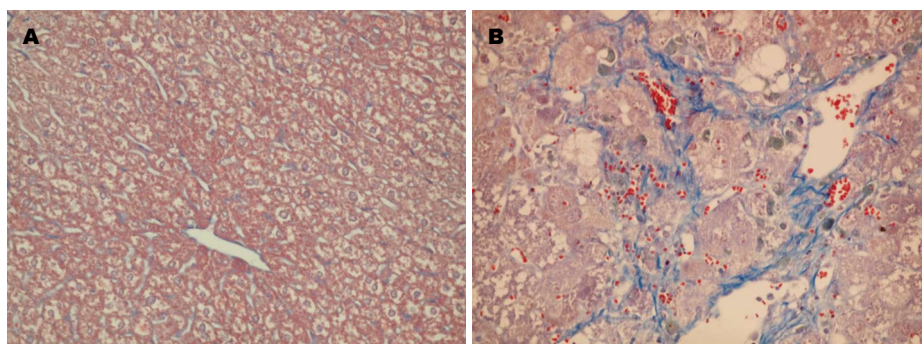


图2 各组肝组织形态学改变(Masson染色 × 100). A: NC组; B: 模型组.

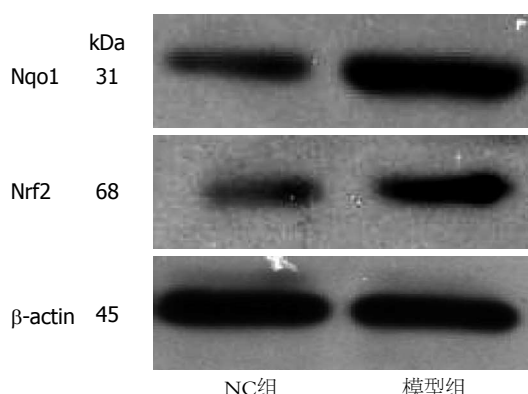


图3 各组肝组织中Nrf2、Nqo1总蛋白表达量的变化. Nrf2: 核因子相关因子; Nqo1: 醌氧化还原酶1.

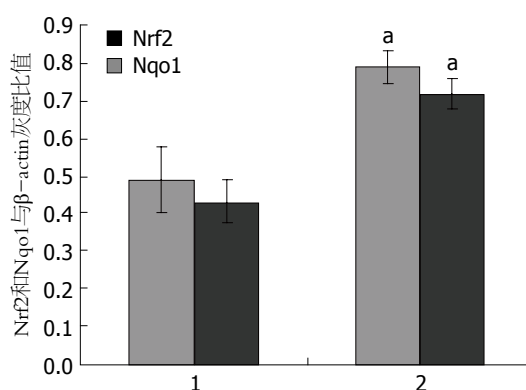


图4 各组肝组织中Nrf2、Nqo1总蛋白与β-actin灰度比值. 1: NC组; 2: 模型组. <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs NC组. Nrf2: 核因子相关因子; Nqo1: 醌氧化还原酶1.

## 2 结果

**2.1 一般情况的观察** NC组小鼠体质量逐渐增加, 性情温和, 毛发顺滑; 模型组小鼠毛发干枯, 易激惹, 活动减少, 食量降低, 体质量较前减轻. 实验过程中, 模型组小鼠死亡2只, 死亡原因为CCl<sub>4</sub>毒性导致肝脏大面积坏死致肝功能衰竭, 其余小鼠均进入结果分析.

**2.2 肝脏组织炎症及纤维化程度比较** NC组肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列, 小叶结构清晰, 未见明显炎性细胞浸润及胶原纤维沉积; 模型组弥漫的炎性细胞及脂肪变肝细胞浸润, 小叶结构严重破坏, 肝板破坏及中央静脉坍塌, 视野内广泛致密蓝染纤维间隔形成(图1, 2).

**2.3 肝脏组织Nrf2、Nqo1总蛋白及Nrf2核蛋白**

**表达情况** 模型组Nrf2总蛋白表达量( $0.790 \pm 0.045$ )较NC组( $0.490 \pm 0.088$ )显著增多, 差异具有统计学意义( $F = 2.027$ ,  $t = 6.101$ ,  $P < 0.05$ ). 模型组Nqo1总蛋白表达量( $0.720 \pm 0.040$ )与NC组( $0.430 \pm 0.057$ )相比明显增多, 具有统计学差异( $F = 0.772$ ,  $t = 8.067$ ,  $P < 0.05$ ). 模型组Nrf2核蛋白表达量( $0.670 \pm 0.044$ )较NC组( $0.370 \pm 0.022$ )明显增多, 差异具有统计学意义( $F = 1.552$ ,  $t = 11.871$ ,  $P < 0.05$ , 图3-6).

## 3 讨论

随着世界范围发病率逐渐增加的慢性肝损伤, 如乙型和/或丙型病毒性肝炎、非酒精性脂肪肝、自身免疫性肝病等引起的肝纤维化病变是

## ■应用要点

本实验结果显示, 与NC组对比, 随着CCl<sub>4</sub>肝损伤时间延长小鼠一般情况渐差, 模型组通过持续10 wk腹腔注射矿物油稀释CCl<sub>4</sub>成功建立小鼠肝纤维化模型。

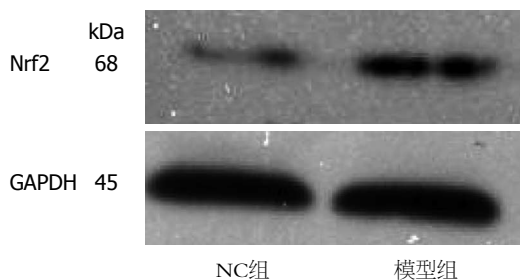


图5 各组肝组织中Nrf2核蛋白表达量变化。Nrf2: 核因子相关因子。

向终末期肝硬化病变发展的病理基础。CCl<sub>4</sub>注射是建立肝纤维化模型的经典方法, 其代谢产物也具有肝毒性, 引起线粒体损伤、肝细胞坏死等加剧氧化应激损伤, 释放大炎症及纤维化细胞因子而导致肝纤维化发生<sup>[2]</sup>。肝脏细胞是产生ROS的重要场所, 尤其当CCl<sub>4</sub>在内质网微粒体内生物转化过程产生大量ROS, 引起氧化应激、脂质过氧化损伤直接或间接加重肝细胞凋亡、炎症坏死、纤维化病变<sup>[3]</sup>。本实验结果显示, 与NC组对比, 随着CCl<sub>4</sub>肝损伤时间延长小鼠一般情况渐差, 模型组通过持续10 wk腹腔注射矿物油稀释CCl<sub>4</sub>成功建立小鼠肝纤维化模型。

Nrf2转录因子通过清除机体细胞内外环境的氧化物质及亲电子物质, 抵抗氧化应激损害, 维持机体细胞的氧化还原稳态<sup>[4]</sup>, 他几乎存在于各种细胞中<sup>[5]</sup>, 属于具有高度保守的碱性亮氨酸拉链bZIP结构的CNC家族, 对机体细胞生存进行多向调节<sup>[6]</sup>。静息状态下, Nrf2与胞浆蛋白伴侣分子Keap1蛋白结合<sup>[7]</sup>, 存在于细胞浆内, 处于活性相对抑制状态, 维持在低水平表达。当细胞内ROS增多或氧化应激发生时, Keap1的半胱氨酸功能亚基被修饰后与Nrf2解耦联<sup>[8]</sup>, Nrf2胞核内转移增多, 其稳定性增高<sup>[9]</sup>, 形成Maf-Nrf2二聚体与ARE结合后转录性调节其下游靶基因<sup>[10]</sup>, 即促进肝内细胞II相解毒酶和抗氧化酶基因的表达, 如Nqo1、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽S转移酶等发挥抗氧化应激、减轻肝脏炎症、抗肝细胞凋亡、降低胰岛素抵抗<sup>[11-13]</sup>等作用。Nrf2-ARE通路的激活也可抑制Keap1蛋白介导的Nrf2泛素化降解<sup>[14]</sup>, 解除对Nrf2表达的抑制作用, 进一步促进ARE启动子下游保护性基因的表达<sup>[15]</sup>。Keap1对Nrf2的细胞核内转移及转出均有调节作用, 其调节Nrf2的细胞核转移依赖输入蛋白α7与Keap1羧基端Kelch结构域的相互作用; 同时Keap1还具有强大的Nrf2核转出信号,

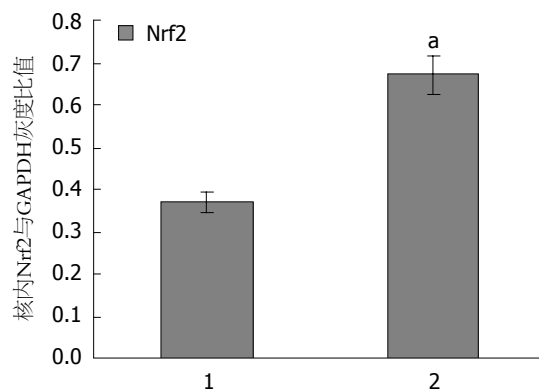


图6 各组肝组织中Nrf2核蛋白与GAPDH灰度比值。1: NC组; 2: 模型组。\* $P < 0.05$  vs NC组。Nrf2: 核因子相关因子。

促进Nrf2-Keap1复合体输出胞核, 从而保持Nrf2活性剂ARE依赖性基因的有序表达<sup>[16]</sup>。Keap1介导的Nrf2降解对维持细胞的正常生理功能具有重要作用, 实验研究发现Keap1基因敲除小鼠Nrf2靶基因高水平表达, 却因角化过度于围产期死亡, 而Keap1、Nrf2基因均缺失的基因突变情况下上述现象被抑制<sup>[17]</sup>。另外, 转录因子Nrf2也可通过与自身基因的ARE区域结合调节其自身活性<sup>[18]</sup>。研究发现Nrf2基因敲除小鼠对CCl<sub>4</sub>所致肝损伤的修复明显延迟, Nrf2敲除小鼠肝纤维化及炎症明显加重, 这是由于肝细胞目标基因Nrf2及其编码酶的减少, 导致肝细胞对CCl<sub>4</sub>和其代谢产物的解毒作用减弱<sup>[19]</sup>, 其对药物及金属毒性引起的肝损害更敏感<sup>[4]</sup>。本实验Western blot证实模型组较NC组Nrf2总蛋白表达及核转移显著增多, 说明发生Nrf2在肝脏纤维化病变条件下不仅上调自身蛋白表达, 还促进其核内转移显著增加从而发挥生物学功能。

Nrf2肝保护机制之一通过促进Nqo1表达实现, Nqo1是细胞基质内的黄素蛋白, 主要发挥氧化还原、解毒代谢作用, 如催化双电子物质还原反应, 通过清除醌类及其衍生物等有害物质, 抵抗自由基、ROS及氧化应激等损伤所致的细胞损害<sup>[20]</sup>。Itoh等<sup>[21]</sup>研究发现Nrf2基因敲除小鼠Nqo1表达显著降低, 说明Nqo1主要受控于Nrf2的调节, Nrf2通过结合于Nqo1基因的ARE序列, 上调Nqo1蛋白的表达, Vasiliou等<sup>[22]</sup>从肝硬化的小鼠肝脏中分离HSCs, 检测出HSCs中Nqo1表达明显增多, 而Nqo1主要受控于Nrf2的调节, 因此Nrf2通过Nqo1来发挥其抗肝纤维作用。本实验结果显示模型组Nqo1蛋白水平明显高于NC组, 提示肝纤维化条件下Nrf2增加自身表达及核内转移, 从而通过Nrf2-ARE通路上调保护性基因



Nqo1表达, 进一步发挥抵抗肝损伤功能。

Keap1-Nrf2-ARE通路与多种药物对肝脏治疗作用都有着密切联系, 适当的药物干预可以通过促进Keap1-Nrf2-ARE通路激活因子表达从而提高药物的肝脏保护作用<sup>[23-26]</sup>。本实验研究证实随着小鼠肝脏经腹腔注射CCl<sub>4</sub>时间延长, 肝脏纤维化病变持续进展, 肝细胞通过促进Nrf2核内转移, 上调细胞保护性基因Nqo1表达, 从而抵抗慢性肝损伤病理微环境中自由基、ROS及氧化应激等损伤所致的细胞损伤, 起到肝脏保护作用。因此, 通过药物激活Nrf2并促进其核转移是治疗肝脏纤维化的新方向, 而同时Keap1严格调控Nrf2胞核内表达, 从而避免药物促进作用下Nrf2过量表达及核内转移导致细胞损伤的相关机制仍需进一步研究。

#### 4 参考文献

- Calvaruso V, Maimone S, Gatt A, Tuddenham E, Thursz M, Pinzani M, Burroughs AK. Coagulation and fibrosis in chronic liver disease. *Gut* 2008; 57: 1722-1727 [PMID: 19022928 DOI: 10.1136/gut.2008.150748]
- Williams AT, Burk RF. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radical-mediated injury. *Semin Liver Dis* 1990; 10: 279-284 [PMID: 2281335 DOI: 10.1055/s-2008-1040483]
- Bedossa P, Houghlum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen alpha 1(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a link to tissue fibrosis? *Hepatology* 1994; 19: 1262-1271 [PMID: 8175151]
- Ma Q. Xenobiotic-activated receptors: from transcription to drug metabolism to disease. *Chem Res Toxicol* 2008; 21: 1651-1671 [PMID: 18707139 DOI: 10.1021/tx800156s]
- Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 9926-9930 [PMID: 7937919 DOI: 10.1073/pnas.91.21.9926]
- Owuor ED, Kong AN. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 765-770 [PMID: 12213568 DOI: 10.1016/S0006-2952(02)01137-1]
- Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev* 1999; 13: 76-86 [PMID: 9887101 DOI: 10.1101/gad.13.1.76]
- Itoh K, Mimura J, Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview. *Antioxid Redox Signal* 2010; 13: 1665-1678 [PMID: 20446768 DOI: 10.1089/ars.2010.3222]
- Motohashi H, Katsuoka F, Engel JD, Yamamoto M. Small Maf proteins serve as transcriptional cofactors for keratinocyte differentiation in the Keap1-Nrf2 regulatory pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 6379-6384 [PMID: 15087497 DOI: 10.1073/pnas.0305902101]
- Rushmore TH, Morton MR, Pickett CB. The antioxidant responsive element. Activation by oxidative stress and identification of the DNA consensus sequence required for functional activity. *J Biol Chem* 1991; 266: 11632-11639 [PMID: 1646813]
- Tanito M, Agbaga MP, Anderson RE. Upregulation of thioredoxin system via Nrf2-antioxidant responsive element pathway in adaptive-retinal neuroprotection in vivo and in vitro. *Free Radic Biol Med* 2007; 42: 1838-1850 [PMID: 17512463 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.018]
- Beyer TA, Werner S. The cytoprotective Nrf2 transcription factor controls insulin receptor signaling in the regenerating liver. *Cell Cycle* 2008; 7: 874-878 [PMID: 18414027 DOI: 10.4161/cc.7.7.5617]
- Stewart D, Killeen E, Naquin R, Alam S, Alam J. Degradation of transcription factor Nrf2 via the ubiquitin-proteasome pathway and stabilization by cadmium. *J Biol Chem* 2003; 278: 2396-2402 [PMID: 12441344 DOI: 10.1074/jbc.M209195200]
- Nguyen T, Sherratt PJ, Huang HC, Yang CS, Pickett CB. Increased protein stability as a mechanism that enhances Nrf2-mediated transcriptional activation of the antioxidant response element. Degradation of Nrf2 by the 26 S proteasome. *J Biol Chem* 2003; 278: 4536-4541 [PMID: 12446695 DOI: 10.1074/jbc.M207293200]
- Nguyen T, Yang CS, Pickett CB. The pathways and molecular mechanisms regulating Nrf2 activation in response to chemical stress. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 433-441 [PMID: 15256215 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.033]
- Sun Z, Wu T, Zhao F, Lau A, Birch CM, Zhang DD. KPNA6 (Importin {alpha}7)-mediated nuclear import of Keap1 represses the Nrf2-dependent antioxidant response. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 1800-1811 [PMID: 21383067 DOI: 10.1128/MCB.05036-11]
- Wakabayashi N, Itoh K, Wakabayashi J, Motohashi H, Noda S, Takahashi S, Imakado S, Kotsuji T, Otsuka F, Roop DR, Harada T, Engel JD, Yamamoto M. Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. *Nat Genet* 2003; 35: 238-245 [PMID: 14517554 DOI: 10.1038/ng1248]
- Xu W, Hellerbrand C, Köhler UA, Bugnon P, Kan YW, Werner S, Beyer TA. The Nrf2 transcription factor protects from toxin-induced liver injury and fibrosis. *Lab Invest* 2008; 88: 1068-1078 [PMID: 18679376 DOI: 10.1038/labinvest.2008.75]
- Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007; 47: 89-116 [PMID: 16968214 DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046]
- Aleksunes LM, Goedken M, Manautou JE. Upregulation of NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 during human liver injury. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1937-1940 [PMID: 16610002]
- Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake T, Hayashi N, Satoh K, Hatayama I, Yamamoto M, Nabeshima Y. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 313-322 [PMID: 9240432 DOI: 10.1006/bbrc.1997.6943]

#### ■同行评价

本文设计合理, 内容具有一定意义。



- 22 Vasiliou V, Qamar L, Pappa A, Sophos NA, Petersen DR. Involvement of the electrophile responsive element and p53 in the activation of hepatic stellate cells as a response to electrophile menadione. *Arch Biochem Biophys* 2003; 413: 164-171 [PMID: 12729613 DOI: 10.1016/S0003-9861(03)00095-X]
- 23 Zhao HD, Zhang F, Shen G, Li YB, Li YH, Jing HR, Ma LF, Yao JH, Tian XF. Sulforaphane protects liver injury induced by intestinal ischemia reperfusion through Nrf2-ARE pathway. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3002-3010 [PMID: 20572303 DOI: 10.3748/wjg.v16.i24.3002]
- 24 Choi HK, Pokharel YR, Lim SC, Han HK, Ryu CS, Kim SK, Kwak MK, Kang KW. Inhibition of liver fibrosis by solubilized coenzyme Q10: Role of Nrf2 activation in inhibiting transforming growth factor-beta1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 240: 377-384 [PMID: 19647758 DOI: 10.1016/j.taap.2009.07.030]
- 25 Lee HS, Li L, Kim HK, Bilehal D, Li W, Lee DS, Kim YH. The protective effects of Curcuma longa Linn. extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats via upregulation of Nrf2. *J Microbiol Biotechnol* 2010; 20: 1331-1338 [PMID: 20890099 DOI: 10.4014/jmb.1002.03010]
- 26 Yates MS, Kwak MK, Egner PA, Groopman JD, Boddreddigari S, Sutter TR, Baumgartner KJ, Roebuck BD, Liby KT, Yore MM, Honda T, Gribble GW, Sporn MB, Kensler TW. Potent protection against aflatoxin-induced tumorigenesis through induction of Nrf2-regulated pathways by the triterpenoid 1-[2-cyano-3-,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oyl]imidazole. *Cancer Res* 2006; 66: 2488-2494 [PMID: 16489057 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3823]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注)。如同一表中另有一套  $P$  值, 则 <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为 <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ 。  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如  $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

# 健脾清热活血方介导Wnt/ $\beta$ -catenin通路对人结肠SW480细胞的影响

张保静, 张涛, 陈远能, 王小平, 潘怀耿

张保静, 张涛, 陈远能, 广西中医药大学附属瑞康医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530011

王小平, 江西中医药高等专科学校 江西省抚州市 344700

潘怀耿, 广州中医药大学 广东省广州市 510405

张保静, 在读硕士, 主要从事消化系疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81001507; No. 81260536

广西卫生厅重点基金资助项目, No. 2011041

作者贡献分布: 张保静与张涛对此文所做贡献均等; 张涛为课题总负责人; 本课题由张涛、陈远能、王小平及张保静设计; 文献检索、实验过程及数据分析由张保静与潘怀耿完成; 研究所用试剂与工具由张涛与陈远能提供; 论文撰写由张保静完成。

通讯作者: 张涛, 副教授, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号, 广西中医药大学附属瑞康医院消化内科。

zhangxuan271@yahoo.com

收稿日期: 2013-01-04 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-18 在线出版日期: 2013-03-28

## Treatment with Jian-pi-qing-re-huo-xue detection regulates SW480 cell apoptosis by altering Wnt/ $\beta$ -catenin expression

Bao-Jing Zhang, Tao Zhang, Yuan-Neng Chen, Xiao-Ping Wang, Huai-Geng Pan

Bao-Jing Zhang, Tao Zhang, Yuan-Neng Chen, Department of the Gastroenterology, the Ruikang Hospital Affiliated Guangxi University of TCM, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xiao-Ping Wang, the Jiangxi TCM College, Fuzhou 344700, Jiangxi Province, China

Huai-Geng Pan, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Fund, No. 81001507; No. 81260536; Key Project of Health Department of Guangxi, No. 2011041

Correspondence to: Tao Zhang, Associate Professor, Department of the Gastroenterology, the Ruikang Hospital Affiliated Guangxi University of TCM, 10 Huadong Road, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangxuan271@yahoo.com.

Received: 2013-01-04 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-18 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of treatment with Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction on SW480 cell proliferation and apoptosis and the expression of  $\beta$ -catenin, TCF-4, c-myc and cyclin D1.

**METHODS:** SW480 cells were divided into a blank group, an intervention group and a control group, which were incubated with fetal calf serum, different concentrations of serum containing Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction, or serum containing mesalamine for 24 h, respectively. The proliferation and apoptosis of SW480 cells were detected by MMT assay and flow cytometry, respectively. The mRNA and protein expression of  $\beta$ -catenin, TCF-4, c-myc, and cyclin D1 was assayed by real-time PCR and Western blot.

**RESULTS:** Compared to the blank group, the survival of SW480 cells was reduced in the intervention group ( $P < 0.05$ ). When the dilution concentration of Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction was 5%, 10%, 15%, 20% and 30%, the reduced rate of cell growth was 28%, 44.58%, 65.86%, 57.86% and 49.89%, respectively. However, this inhibitory effect was not concentration-dependent ( $P > 0.05$ ). Intervention with Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction significantly increased the percentage of cells at S phase and decreased that of cells at G<sub>1</sub> in a concentration-dependent manner compared to the control group (both  $P < 0.05$ ).  $\beta$ -catenin was more abundantly expressed in the nucleus in the blank group. In the intervention group, the ectopic expression of  $\beta$ -catenin in the cytoplasm and nucleus declined, and membrane expression increased ( $P < 0.05$ ). Treatment with Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction induced cell apoptosis and down-regulated the expression of  $\beta$ -catenin, TCF-4, c-myc, and cyclin D1 compared to the blank group ( $P < 0.01$ ), and the effect was more significant when middle concentration of serum containing the decoction was used.

**CONCLUSION:** Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction exerts a distinct preventive and therapeutic effect on colon cancer possibly by altering the expression of Wnt/ $\beta$ -catenin, affecting G<sub>1</sub> cell cycle progression and inducing cell apoptosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

## ■背景资料

溃疡性结肠炎与结肠癌之间存在因果关系已得到消化界公认, Wnt通路调控 $\beta$ -catenin磷酸化(P- $\beta$ -catenin)、 $\beta$ -catenin核内异常转录在介导溃疡性结肠炎相关癌变的(UCAC)发生发展中具有重要的作用。健脾清热活血类方药在促进结肠上皮细胞修复及杯状细胞分泌保护因子, 加快肠道黏膜重建, 促进溃疡修复和抑制NF- $\kappa$ B活性及调节机体免疫方面显示了较好的效果, 但其对Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的影响尚未报道。

## ■同行评议者

牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所

## ■ 研发前沿

本研究采用血清药理学方法,运用MTT法、流式细胞仪、实时荧光定量PCR、免疫印迹法、免疫印光染色法,从基因转录和蛋白水平分析健脾清热活血方药对人结肠癌SW480细胞Wnt/ $\beta$ -catenin-TCF-4通路的影响,阐明复方中药的作用机制。

**Key Words:** Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction;  $\beta$ -catenin; TCF-4; C-myc; CyclinD1; Wnt/ $\beta$ -catenin; Apoptosis

Zhang BJ, Zhang T, Chen YN, Wang XP, Pan HG. Treatment with Jian-pi-qing-re-huo-xue decoction regulates SW480 cell apoptosis by altering Wnt/ $\beta$ -catenin expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 745-753 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/745.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.745>

## 摘要

**目的:** 观察人结肠癌细胞SW480增殖、凋亡及 $\beta$ -catenin、T细胞因子4(T cell factor 4, TCF-4)、C-myc、CyclinD1表达变化,探讨健脾清热活血方防治结肠癌的可能机制。

**方法:** 将SW480细胞分为空白组、治疗组、对照组;采用血清药理学方法,空白组给予胎牛血清;治疗组分别给予等比稀释不同浓度含药血清;对照组给予美沙拉嗪含药血清干预体外培养的结肠癌细胞SW480(24 h),应用MTT法检测细胞增殖,流式细胞仪分析细胞凋亡率、细胞周期,免疫荧光染色分析细胞 $\beta$ -catenin蛋白表达,Western blot及荧光定量PCR检测 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白及mRNA表达。

**结果:** 与空白组比较,治疗组SW480细胞存活率明显下降( $P<0.05$ ),稀释浓度为5%、10%、15%、20%、30%的不同剂量组细胞生长抑制率分别为28.00%、44.58%、65.86%、57.86%、49.89%,但与药物浓度没有剂量依赖性( $P>0.05$ );与对照组比较,治疗组S期细胞增多、G<sub>1</sub>期细胞减少,且与药物浓度有剂量依赖性( $P<0.05$ );空白组 $\beta$ -catenin表达以核内表达为主,治疗组 $\beta$ -catenin胞质/核异位表达下降( $P<0.05$ ),以胞膜表达为主;与空白组比较,治疗组可明显下调 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白及mRNA表达并促进细胞凋亡( $P<0.01$ ),以中剂量更为明显。

**结论:** 健脾清热活血方可能通过介导Wnt/ $\beta$ -catenin通路,干预SW480细胞G<sub>1</sub>期,诱导细胞凋亡,发挥防治结肠癌的效应。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 健脾清热活血中药;  $\beta$ -catenin; T细胞因子4; C-myc; CyclinD1; Wnt/ $\beta$ -catenin; 凋亡

张保静, 张涛, 陈远能, 王小平, 潘怀耿. 健脾清热活血方介导Wnt/ $\beta$ -catenin通路对人结肠SW480细胞的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(9): 745-753 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/745.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.745>

[wjgnet.com/1009-3079/21/745.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/745.asp) DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.745>

## 0 引言

结肠癌与炎症密切相关,80%结肠癌缺乏基因易感的依据,2008年分别发表在《Nature》

《Carcinogenesis》等杂志的研究文章也清楚表明:炎症已成为致癌的第7大致癌因素<sup>[1,2]</sup>。溃疡性结肠炎与结肠癌之间存在因果关系已得到消化界公认,溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者结肠组织上皮异性增生(高级别或低级别)发生在进展期大肠癌之前,内镜检查可见单发或多发腺瘤样假性息肉改变,这些病理改变被看作是癌前状态<sup>[3]</sup>。溃疡性结肠炎相关癌变(ulcerative colitis associated carcinogenesis, UCAC)是涉及多基因、多信号的复杂过程,Wnt通路调控 $\beta$ -catenin磷酸化(P- $\beta$ -catenin)、 $\beta$ -catenin核内异常转录介导UCAC发生发展中具有重要地位<sup>[4]</sup>。我们前期在体试验研究结论,初步证实健脾清热活血类方药具有不良反应低,提高溃疡性结肠炎溃疡愈合质量,缓解溃疡性结肠炎临床疗效<sup>[5]</sup>。为进一步揭示其防治结肠癌的可能机制,课题组采用血清药理学方法,以公认有效的美沙拉嗪为对照组,观察其对SW480细胞增殖、凋亡及其关键通路Wnt/ $\beta$ -catenin的影响,探讨健脾清热活血类方药防治人结肠癌的生物学机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结肠癌细胞株SW480购自上海细胞库;SPF级 $\delta$ 大鼠,200 g $\pm$ 20 g,购自广西医科大学动物实验中心,动物许可证号:SCXK桂2009-0002,动物合格证号:0001869;健脾清热活血方购自广西中医学院第一附属医院仁爱分院;美沙拉嗪肠溶颗粒剂(商品名:艾迪莎)(批号:H20070727)购自广西中医学院附属瑞康医院;DMEM培养液、南美洲胎牛血清FBS(Hyclone);总RNA提取试剂盒(离心柱型,DP419,北京天根);MTT噻唑(Amresco)、二甲基亚砜(DMSO)(OACS Grade)(广西天地扬);逆转录试剂盒(RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit)(Ferments)(#K1621 #K1622)、引物(上海生工);Alexa Fluor 488 annexinV/Dead Cell Apoptosis Kit with Alexa Fluor 488 annexin V and PI for Flow Cytometry(invitrogen)、凯基细胞DNA含量检测试剂盒(细胞周期)(广西阳光实



验); FS Universal SYBR Green Mas(广州聚研); 蛋白提取液(碧云天)、十二羟硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)(广州威佳); 二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)(Sigma); 甘油(glycerol)(国产); 丙烯酰胺(Acrylamide)(Sigma); N,N'-亚甲基丙烯酰胺(Bis-Acrylamide)(Sigma); 四甲基乙二胺(tetramethylethylenediamine, TEMED)(上海生工); 过硫酸铵(ammomium persulfate, AP)(国产广州化学试剂厂); 甘氨酸(Glycine)(鼎国); Tris碱(Trisbase)(Sigma); 甲醇(methanol)(广州化学试剂厂); 吐温-20(Tween-20)(Sigma); 脱脂奶粉(伊利); PVDF膜(BIO RAD); 荧光一抗c-fos(sc-16743-R-FITC, santa-cruz, 美国); PBS(北京中杉金桥); Tween 20(Amresco 9005-64-5); 染核试剂DAPI(sigma, D9564, 美国); 倒置相差显微镜(Axiovert200, 德国Zeiss); 全自动酶标仪(BIO-RAD); 7500荧光PCR仪; CO<sub>2</sub>培养箱(HEPA FILTER); 多通道PCR扩增仪(PTC-220, 美国MJ); SZ-93自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣); BIO-RAD电泳仪(Power/Pac300, 美国BIO-RAD); 凝胶成像分析系统(Bio-Rad Gel doc2000, 美国); 低速大容量离心机(LXJ-II B, 上海安亭); 高速低温离心机(5810R Eppendorf Centrifuge, 德国); 细胞流式分析仪(FACSCalibur)及统计软件(FACSCalibur); 超声细胞破碎仪(上海天呈); 垂直电泳仪及转移系统(BIO RAD); 射线摄影暗匣(5×7英寸、富士X光片、发光暗盒, 广州艺佳); 脱色摇床(Rotomix公司); PVDF膜(BIO RAD)、内参抗体(广州艺佳); HRP标记二抗(武汉博士德); 蔡司激光共聚焦显微镜LSM 700.

## 1.2 方法

1.2.1 实验药物制备: 健脾清热活血方药组方为救必应15 g、白术10 g、白芍15 g、水蛭10 g、三七10 g、炙甘草6 g. 用蒸馏水煎成健脾清热活血方药液, 浓缩配制成1 g原生药/1 mL的药液, 过滤分装4℃保存备用. 美沙拉嗪肠溶颗粒剂用蒸馏水配制药液, 过滤分装4℃保存备用.

1.2.2 含药血清制备: 将20只SD大鼠, 按体质量随机分为对照组和治疗组, 每组10只. 给药剂量参照“人和动物按体表面积折算的等效剂量比率表”计算<sup>[6]</sup>. 参考公式: 给药剂量 = 临床常用量×动物等效剂量系数(按体表面积)×培养液内稀释度. 给药方式: 治疗组给予健脾清热活血中药, 对照组给予美沙拉嗪, 空白组给予等量的生理盐水, 以灌胃形式给予处理, 1次/d, 连续7 d. 采血时相: 末次给药2 h后, 用10%的水合氯醛以

体重0.03 mL/100 g的比例行麻醉处理, 于腹主动脉取血, 室温下静置2 h, 于4℃、3 000 r/min、离心15 min后取得血清, 同种条件下血清混匀, 56℃、30 min灭活处理, 0.22 μm滤膜过滤除菌, 置于-20℃保存备用.

1.2.3 MTT法检测人结肠癌SW480细胞增殖: 将人结肠癌细胞SW480接种于含10%胎牛血清的DMEM培养液中, 置于含5%CO<sub>2</sub>、37℃的培养箱中培养. 取处于对数生长期的细胞, 用0.25%的胰酶消化下来, 用DMEM培养液制成细胞悬液, 200 μL/孔, 以4×10<sup>3</sup>个/孔的密度接种于96孔板中, 继续培养24 h, 用微量移液器移去培养液, 血清添加方式参考文献[7], 略作修改, 治疗组分别加入不含胎牛血清的DMEM培养基200 μL、稀释浓度分别为5%、10%、15%、20%、30%的含药血清, 对照组加入不含胎牛血清的DMEM培养基2 mL、稀释浓度为0.5 mmol/L的美沙拉嗪含药血清, 空白组是含10%胎牛血清的DMEM培养液, 每组设5个复孔, 继续培养24、48、72 h后, 每孔加入20 μL的MTT溶液(5 mg/mL), 37℃孵育4 h后, 用1 mL注射器小心吸取每孔中的培养液, 再分别加入200 μL的DMSO, 于微型振荡器上振荡10 min后, 用全自动酶标仪测定各孔(570 nm)吸光度(A)值.

计算公式: 肿瘤细胞生长抑制率(%) = (对照孔平均A值-加药组平均A值)/对照孔的平均A值乘以100%.

1.2.4 流式细胞仪检测人结肠癌SW480细胞周期及凋亡: 取处于对数生长期的细胞, 用DMEM培养液制成细胞悬液, 2 mL/孔, 以3×10<sup>5</sup>个/孔的密度接种于6孔板中, 培养24 h后给药. 移去培养液, 血清添加方式参考文献[7], 略作修改, 治疗组分别加入不含胎牛血清的DMEM培养基、稀释浓度分别为5%、15%、25%的含药血清, 对照组加入不含胎牛血清的DMEM培养基2 mL、稀释浓度为0.5 mmol/L的美沙拉嗪含药血清, 空白组加入含10%胎牛血清的DMEM培养液, 继续培养24 h后, 分别用0.25%的不含EDTA的胰酶消化, 收集细胞, 采用凯基细胞DNA含量检测试剂盒(细胞周期)和Invitrogen凋亡试剂盒, 严格按照说明书操作步骤操作. 用美国BD公司生产的FACSCalibur流式细胞仪检测, 以cell quest pro统计软件分析PI荧光直方图上细胞周期和凋亡细胞百分率.

1.2.5 免疫印光染色技术检测人结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin蛋白表达: 将与流式细胞仪检测方法

## ■ 相关报道

曹俊等研究发现胃泌素与其受体作用后可使结肠癌细胞中 $\beta$ -catenin分布发生转移并激活 $\beta$ -catenin/Tcf-4通路来降低结肠癌细胞的黏附, 增加肿瘤细胞的侵袭和转移, 但上述研究主要集中在中药单体抗肿瘤作用与Wnt/ $\beta$ -catenin信号转导的关系, 本研究从中药复方调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路干预UCAC入手, 研究结果将有助于探讨中药复方干预溃疡性结肠炎癌变的靶点机制.

## ■创新盘点

临床研究发现,美沙拉嗪、阿司匹林等药物可通过抑制Wnt信号通路,提高结肠癌细胞内 $\beta$ -catenin的磷酸化水平,稳定其转录失活状态,阻滞Wnt/ $\beta$ -catenin-TCF/LEF对下游靶基因的转录活性调节而发挥抗癌效应。但由于不良反应过大、患者耐受差,往往限制其临床使用。中医药因其天然、疗效明确且具有不良反应低、价格低廉等优势日益受到青睐,健脾清热活血方具有多环节、多靶点缓解溃疡性结肠炎的作用,结合现代医学,从分子水平深入探讨其防治溃疡性结肠炎癌变的作用机制,具有重要的理论与应用价值。

表1  $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1引物序列

基因名称	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	扩增长度(bp)
$\beta$ -catenin	GGTGAATGCTTGGTTCACC	CGCACTGCCATTTTAGCTCC	112
TCF-4	CCACAGCTATGCCTGGTGGT	AAGGCCGGTTCATACCCCT	127
C-myc	AGGCGAACACACAACGCTTG	GGGCCTTTTCATTGTTTCCA	116
CyclinD1	ACCTGAGGAGCCCCAACAAAC	GCTTCGATCTGCTCCTGGC	132
$\beta$ -actin	GCATGGGTCTCAGAGGATTCT	TCGTCCAGTTGGTGACGAT	106

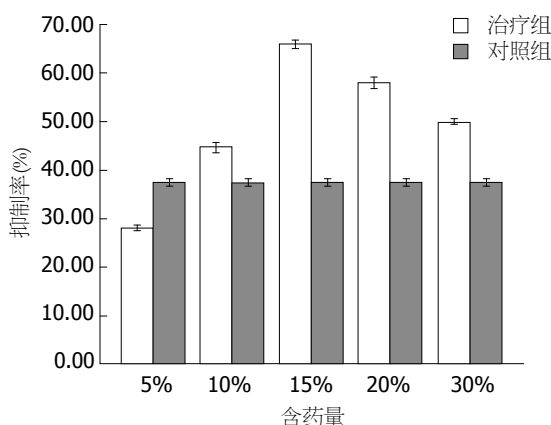


图1 各组结肠癌SW480细胞增殖率比较。

条件下处理过的细胞,应用免疫印光染色技术检测 $\beta$ -catenin蛋白表达,具体步骤严格按照试剂说明书进行操作,以AlphaImager2200分析系统对蛋白条带进行含量分析。

1.2.6 Western blot技术检测人结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白表达:将与流式细胞仪检测方法条件下处理过的细胞,应用Western blot技术检测 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白表达,具体步骤严格按照试剂说明书进行操作。同时以 $\beta$ -actin作为内参,用光密度扫描仪对蛋白含量进行密度分析,以目的蛋白与 $\beta$ -actin的密度比值作为目的蛋白的相对含量。

1.2.7 荧光定量PCR检测人结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1 mRNA表达:将与流式细胞仪检测方法条件下处理过的细胞,应用实时荧光定量PCR法(Real-time PCR),以 $\beta$ -actin为内参,检测 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1的mRNA表达,具体步骤严格按照试剂说明书进行操作,各样品的荧光信号值由荧光定量PCR仪的支持软件ABI Prism7000SDS software实时产生并自动计算定量数值,以目的基因与 $\beta$ -actin的mRNA表达比值作为目的基因的相对表达量。 $\beta$ -catenin、

TCF-4、C-myc、CyclinD1引物序列见表1。

**统计学处理** 实验数据以mean $\pm$ SD表示,用SPSS11.5 for Windows软件进行数据处理与分析。Oneway Analysis Of Variance(One-way ANOVA)进行各组间方差分析,方差齐同时用LSD法,方差不齐时用Tambane'S T2法,  $P < 0.05$ 为有统计学意义。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。实验重复3遍以上。

## 2 结果

2.1 健脾清热活血中药对人结肠癌SW480细胞增殖的影响 治疗组与SW480细胞共同孵育24、48、72 h后,10%的含药血清浓度24 h时出现明显的抑制作用( $P < 0.05$ ),其抑制率是57.86%,半数抑制率的含药血清浓度是13.70%,但48、72 h后没有明显的抑制的作用,可能与含药血清本身的药理动力学有关,故后续的实验都只取24 h这个时间段来检测各个指标(图1)。

2.2 健脾清热活血中药对人结肠癌SW480细胞周期影响 应用FCM定量分析,治疗组SW480细胞的S期细胞增多、G<sub>1</sub>期细胞减少,且与药物浓度有剂量依赖性( $P < 0.05$ ),与对照组比较有统计学差异( $P < 0.05$ ,图2)。

2.3 健脾清热活血中药对人结肠癌SW480细胞凋亡影响 应用流式细胞仪检测,治疗组干预SW480细胞作用24 h后,治疗组细胞凋亡率较空白组增高( $P < 0.05$ ),但与剂量无依赖性。这说明,健脾清热活血中药可诱导细胞凋亡(表2,图3)。

2.4 健脾清热活血中药对人结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白表达 免疫荧光染色分析显示,空白组 $\beta$ -catenin阳性表达以核内高表达为特点,各治疗组 $\beta$ -catenin阳性表达呈下降趋势且以膜表达为主,不存在膜缺失现象,与空白组比较,均有统计学差异( $P < 0.05$ )。Western blot分析显示,治疗组 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白表达均呈下降趋势,与空白组比较有统计学意义( $P < 0.01$ ),其中低、中剂量调节作用更

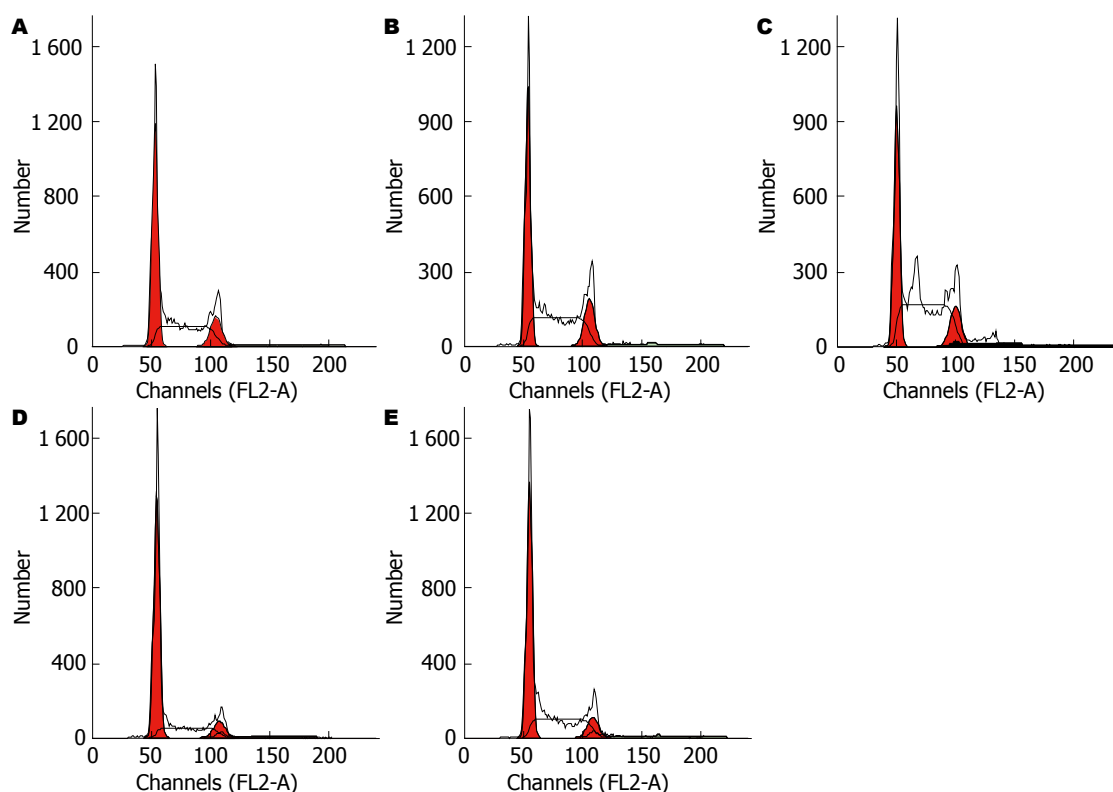


图 2 FCM检测各组人结肠癌SW480细胞周期变化. A, B, C: 分别为治疗组低、中、高剂量组; D: 对照组; E: 空白组.

#### 应用要点

本研究从体外细胞着手, 用含药血清干预人结肠癌细胞, 以不同浓度健脾清热活血方含药血清及公认治疗UCAC有效的西药美沙拉嗪作对照, 观察SW480细胞增殖、凋亡及其对Wnt/ $\beta$ -catenin-TCF-4通路的影响, 为阐明该复方中药治疗作用靶点提供理论依据.

表 2 各组人结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1 mRNA表达 ( $n=5$ , mean  $\pm$  SD)

分组	细胞凋亡率(%)	$\beta$ -catenin mRNA	TCF-4 mRNA	C-myc mRNA	CyclinD1 mRNA
空白组	10.74 $\pm$ 0.93	2.23 $\pm$ 0.13	2.77 $\pm$ 0.47	2.54 $\pm$ 0.19	2.61 $\pm$ 0.13
对照组	22.71 $\pm$ 1.90 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.62 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	1.52 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
低剂量组	13.50 $\pm$ 1.31 <sup>bc</sup>	1.62 $\pm$ 0.22 <sup>bc</sup>	1.83 $\pm$ 0.24 <sup>bc</sup>	1.71 $\pm$ 0.13 <sup>bc</sup>	1.71 $\pm$ 0.23 <sup>bc</sup>
中剂量组	15.80 $\pm$ 1.11 <sup>bc</sup>	1.53 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup>	1.74 $\pm$ 0.19 <sup>bc</sup>	1.63 $\pm$ 0.27 <sup>bc</sup>	1.55 $\pm$ 0.13 <sup>bc</sup>
高剂量组	14.47 $\pm$ 1.27 <sup>bc</sup>	1.85 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>	2.04 $\pm$ 0.12 <sup>bc</sup>	1.84 $\pm$ 0.31 <sup>bc</sup>	1.89 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 对照组.

表 3 各组人结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白表达 ( $n=5$ , mean  $\pm$  SD)

分组	细胞凋亡率(%)	$\beta$ -catenin蛋白	TCF-4蛋白	C-myc 蛋白	CyclinD1蛋白
空白组	10.74 $\pm$ 0.93	2.02 $\pm$ 0.03	2.16 $\pm$ 0.33	2.15 $\pm$ 0.35	2.02 $\pm$ 0.15
对照组	22.71 $\pm$ 1.91 <sup>a</sup>	1.33 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.59 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	1.36 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
低剂量组	13.50 $\pm$ 1.31 <sup>bc</sup>	1.57 $\pm$ 0.15 <sup>bc</sup>	1.75 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>	1.65 $\pm$ 0.17 <sup>bc</sup>	1.69 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>
中剂量组	15.80 $\pm$ 1.11 <sup>bc</sup>	1.46 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup>	1.66 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>	1.44 $\pm$ 0.13 <sup>bc</sup>	1.52 $\pm$ 0.23 <sup>bc</sup>
高剂量组	14.47 $\pm$ 1.27 <sup>bc</sup>	1.73 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>	1.89 $\pm$ 0.14 <sup>bc</sup>	1.72 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup>	1.73 $\pm$ 0.25 <sup>bc</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 对照组.

佳( $P<0.01$ ).  $\beta$ -catenin核内积聚, 下游靶基因TCF-4、C-myc、CyclinD1高表达可能是结肠癌变的关键所在, 健脾清热活血方药具有干预 $\beta$ -catenin核内积聚以及TCF-4、C-myc、Cy-

clinD1表达的作用. 这说明, 健脾清热活血方药可干预 $\beta$ -catenin核内积聚以及调节下游靶基因TCF-4、C-myc、CyclinD1表达的作用(图4, 5, 表3).



### ■名词解释

根据世界卫生组织1980年专家会议将“癌前病变的组织学定义”分为癌前状态和癌前病变两个范畴,溃疡性结肠炎相关癌变包括两个方面:一是溃疡性结肠炎为结肠癌前状态;二是结肠上皮内瘤变(表现为内镜下单发或多发的腺瘤样假性息肉改变)为结肠癌前病变。

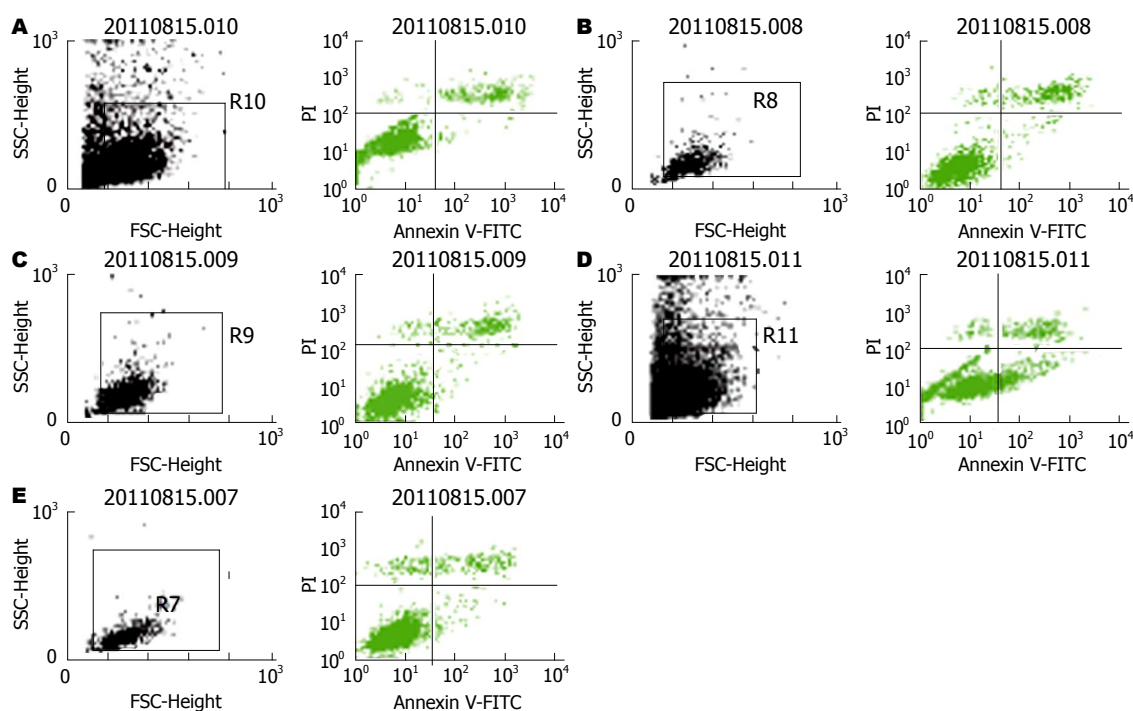


图3 FCM检测各组人结肠癌SW480细胞凋亡率。A, B, C: 分别为治疗组低、中、高剂量组; D: 对照组; E: 空白组。

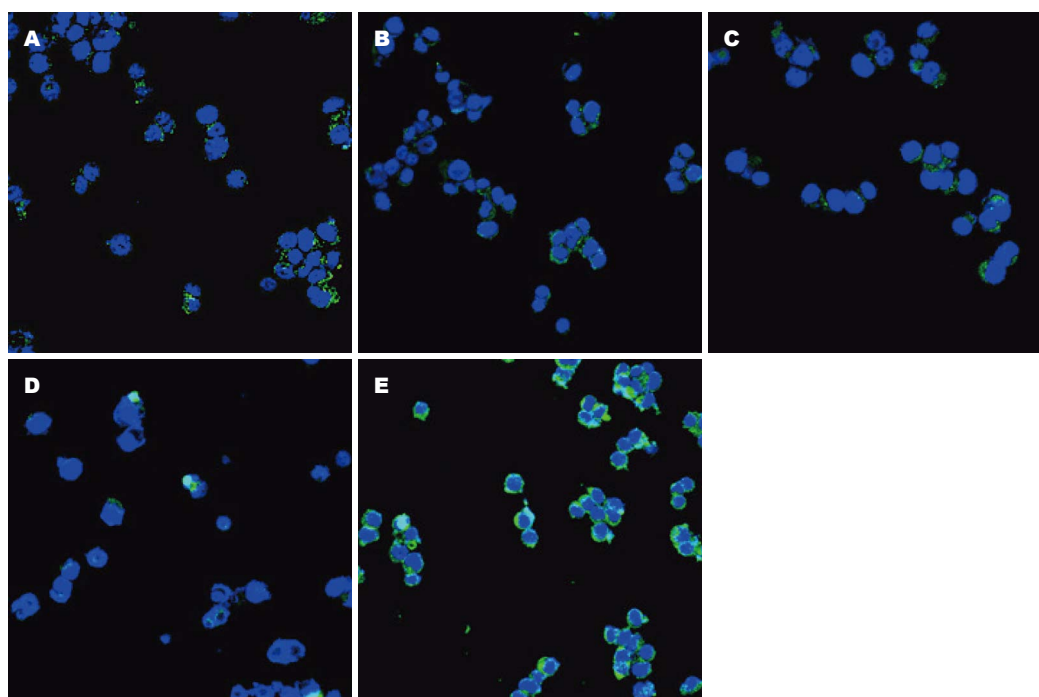


图4 各组结肠癌SW480细胞β-catenin蛋白的免疫荧光染色。A, B, C: 分别为治疗组低、中、高剂量组; D: 对照组; E: 空白组。

2.5 健脾清热活血中药对人结肠癌SW480细胞β-catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1 mRNA表达 各治疗组β-catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1 mRNA表达呈下降趋势,与空白组比较均有统计学差异( $P < 0.01$ )。这说明,结肠癌变存在β-catenin mRNA高表达,导致下游靶基因

β-catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1过度转录的特点,健脾清热活血方药可能干预上述靶点,发挥治疗效应(表2)。

### 3 讨论

健脾清热活血方是全国名老中医、广州中医药

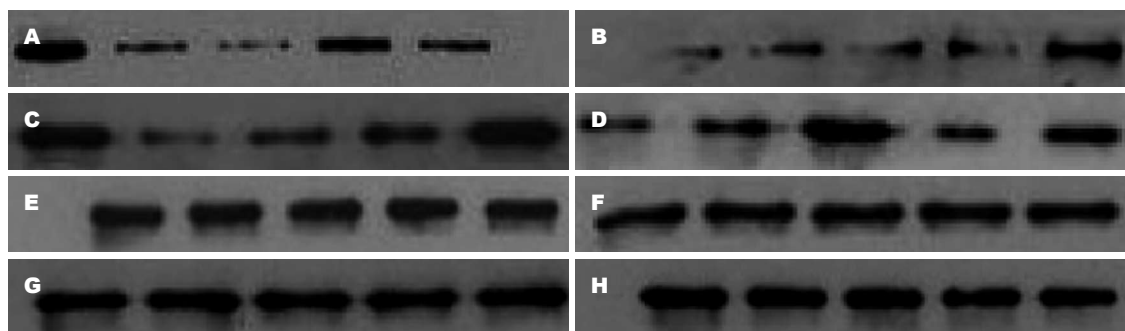


图5 各组结肠癌SW480细胞 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1蛋白表达。A-D: 基因 $\beta$ -catenin、TCF-4、C-myc、CyclinD1目的基因蛋白的表达; E-H: 相应内参基因蛋白的表达。其中蛋白图中从左至右分别为空白组、对照组、治疗组低、中、高剂量组。

#### 同行评价

本文目标明确, 设计合理, 研究方法较先进, 实验数据可靠, 创新性较好, 有一定的科学意义。

大学终身教授劳绍贤在总结多年治疗溃疡性结肠炎经验基础上, 精心筛制而成, 临床疗效确切<sup>[8,9]</sup>。该方由白术、炙甘草、救必应、白芍、水蛭、三七等药物组成, 诸药合用共奏健脾利湿、清热解毒、活血定痛之效。我们前期临床研究结果提示健脾清热活血方可能通过促进结肠上皮细胞修复及杯状细胞分泌保护因子, 加快肠道黏膜重建, 促进溃疡修复过程; 下调过量表达的IKK- $\alpha$ 蛋白水平, 从而抑制NF- $\kappa$ B活性, 调节机体免疫, 因而发挥干预溃疡性结肠炎相关癌变的治疗效应<sup>[10-13]</sup>。为进一步阐明健脾清热活血方防治溃疡性结肠炎相关癌变的作用机制, 课题组采用血清药理学方法, 以公认有效的美沙拉嗪为对照组, 观察了不同浓度含药血清防治结肠癌的可能机制及其效应, 细胞增殖、周期及凋亡率均证实健脾清热活血方可以抑制SW480细胞增殖, 干预细胞G<sub>1</sub>期, 诱导细胞凋亡, 提示健脾清热活血方可有效防治结肠癌。

多项研究均已证实, UC长期患者发生癌变的危险性升高, 在确诊8-10年后, 癌变风险有逐年增长0.5%-1.0%之趋势, 一项荟萃分析显示, 10、20及30年UC患者癌变发生率分别为2%、8%、18%<sup>[14]</sup>, 而因此所导致的死亡人数占总体患者的15%<sup>[15]</sup>。尽管UC癌变机制目前尚未明确, 但是现代研究已证实Wnt信号通路与UC癌变的发生有着密切的关系, 其中 $\beta$ -catenin核内异常转位及其下游靶基因过度转录被认为是UC癌变的关键事件之一。 $\beta$ -catenin是Wnt信号通路中最关键的转导子<sup>[16,17]</sup>, 是一种多功能胞质蛋白, 在细胞内存在于细胞膜、细胞质及细胞核中, 含有781个氨基酸, 分子量在92-95 kDa, 其氨基末端含数个GSK-3 $\beta$ 的磷酸化位点, 羧基末端有活化相应靶基因转录的功能, 中间区域形成 $\alpha$ -螺旋和连接环结构, 含有Cadherin、APC蛋白及TCF结合的位

点, 这些分子的结构特点决定了 $\beta$ -catenin在Wnt信号传导中起枢纽作用<sup>[18]</sup>。结直肠癌与 $\beta$ -Catenin/T细胞因子(T cell factor, TCF)介导的特异转录有关, TCF和 $\beta$ -catenin形成复合物是靶基因激活的先决条件,  $\beta$ -Catenin缺少DNA结合活性, 却有转录活性区, 而Tcf兼有 $\beta$ -catenin结合域和结合DNA活性, 无转录活性, 两者结合形成具有转录功能的复合体, 在核内共同调控下游靶基因包括30多种调节细胞增殖和侵袭转移原癌基因如c-myc、cyclinD1等转录活性上调, 诱导细胞恶变, 从而完成Wnt信号的最终效应<sup>[19]</sup>。临床研究也证实<sup>[20]</sup>大肠正常黏膜-腺瘤-腺癌中 $\beta$ -catenin阳性表达分别以细胞膜、细胞浆、胞浆/核为主, 同时也证明了 $\beta$ -catenin首先在细胞浆内累积, 后转移到细胞核与转录因子TCF结合, 激活相关靶基因的理论。TCF-4作为结肠黏膜主要表达细胞因子和Wnt信号通路中的分子开关, 在调控细胞癌变过程中具有促进细胞增殖分化和抑制细胞过度生长、防止肿瘤发生的双重效应, 其突变可致肿瘤发生<sup>[21]</sup>, 更重要的是TCF-4- $\beta$ -Catenin复合体及下游靶基因的转录激活是结直肠癌细胞恶性转化的一个标志, 且这些基因的构成性激活对维持恶性表现型来说是必需的<sup>[22]</sup>。经研究证实的 $\beta$ -catenin/TCF最为重要的下游靶基因C-myc, 具有与染色体DNA结合特性, 可使细胞无限增殖和促进细胞分裂, 在调节细胞生长、分化及恶性转化中发挥作用<sup>[23]</sup>, 并有着和其他癌基因协同的作用, 共同参与肿瘤的发生、发展。研究表明细胞浆内 $\beta$ -catenin的聚集及c-myc的高表达与结肠癌的形成有关<sup>[24]</sup>, 而且 $\beta$ -catenin的表达与c-myc呈正相关, 这可能与Wnt通路活化后细胞浆中 $\beta$ -catenin的增加从而调控c-myc的表达有关<sup>[25]</sup>。因此, 逆转 $\beta$ -catenin核内聚集及抑制 $\beta$ -catenin、c-myc表达可达到抑制肿瘤发生目的。肿瘤作为一种细

胞周期性疾病, CyclinD1是细胞周期重要的正调控因子且在肿瘤的发生发展过程起着重要的作用<sup>[26-28]</sup>, 其含量及活化程度在细胞增殖周期卡点G<sub>1</sub>/S期转换过程中起限速作用. 相关文献报道<sup>[29]</sup>, CyclinD1于结肠癌细胞株中表达下调, 能抑制结肠癌细胞的增殖, 从而反证了CyclinD1过度表达能促进结肠癌细胞增殖的结论. 因此CyclinD1可能通过促进细胞周期而促进细胞增殖来参与结肠癌的发生, 通过抑制其基因表达, 可以达到抑制肿瘤生长目的. 综上可知, 这一复杂的Wnt/ $\beta$ -catenin-TCF/LEF信号通路, 其关键点在于多种因素对细胞内 $\beta$ -catenin水平的影响,  $\beta$ -catenin的高低最终决定靶基因的转录水平, 因此调控细胞内 $\beta$ -catenin水平, 介导 $\beta$ -catenin降解是干预Wnt信号通路防治溃疡性结肠炎癌变的关键事件之一. 临床研究表明<sup>[30,31]</sup>, 既往未被用于治疗癌症的某些药物, 具有明确的化学预防结肠癌的效应, 可以抑制Wnt信号通路, 比如非甾体类抗炎药物舒林酸阿司匹林、异布洛芬上述药物可以提高结肠癌细胞内 $\beta$ -catenin的磷酸化水平, 稳定其转录失活状态, 阻滞Wnt/ $\beta$ -catenin-TCF/LEF对下游靶基因的转录活性调节, 发挥抗癌效应. 但由于上述药物副作用过大、患者耐受差, 往往限制临床使用. 本研究结果发现, 空白组 $\beta$ -catenin表达以核内表达为主, 各治疗组 $\beta$ -catenin以膜内表达为主, 不存在膜表达缺失现象, 而且各治疗组的 $\beta$ -catenin、C-myc、CyclinD1、TCF-4 mRNA和蛋白较空白组相比, 均呈现下降趋势, 其中以低、中剂量疗效最为明显. 上述变化与细胞增殖、周期与凋亡变化呈正相关. 因此, 我们可以相信, 健脾清热活血中药可以调控 $\beta$ -catenin、C-myc、CyclinD1、TCF-4基因表达, 发挥抑制结肠癌的效应.

综上所述, 课题组推测健脾清热活血中药复方具有明确防治结肠癌变效应, 其机制可能为通过介导Wnt/ $\beta$ -catenin通路, 干预SW480细胞G<sub>1</sub>期, 诱导细胞凋亡, 从而发挥防治结肠癌的效应. 同时本研究结果也弥补了现代抗癌药物的不足, 对防治溃疡性结肠炎相关癌变发生具有深远意义.

#### 4 参考文献

- Mantovani A, Romero P, Palucka AK, Marincola FM. Tumour immunity: effector response to tumour and role of the microenvironment. *Lancet* 2008; 371: 771-783 [PMID: 18275997 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60241-X]
- Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh

hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1073-1081 [PMID: 19468060 DOI: 10.1093/carcin/bgp127]

- Goldacre MJ, Wotton CJ, Yeates D, Seagroatt V, Jewell D. Cancer in patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and coeliac disease: record linkage study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 297-304 [PMID: 18334873 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f2a5e2]
- Risques RA, Lai LA, Brentnall TA, Li L, Feng Z, Gallaher J, Mandelson MT, Potter JD, Bronner MP, Rabinovitch PS. Ulcerative colitis is a disease of accelerated colon aging: evidence from telomere attrition and DNA damage. *Gastroenterology* 2008; 135: 410-418 [PMID: 18519043 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.008]
- 李华燕, 张涛, 张颖芹. 健脾清热活血方与美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的对比研究. *中国中西医结合消化杂志* 2011; 19: 227-230
- 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 562
- 吴健宇, 穆静, 李仪奎. 血清药理学方法体外实验系统的血清添加量问题. *上海中医药杂志* 2001; 9: 8-11
- 常东, 劳绍贤, 樊亚巍, 陶永胜, 朱圣鹰, 张东坡. 溃结灵颗粒配合柳氮磺胺吡啶治疗大肠湿热型溃疡性结肠炎30例. *辽宁中医杂志* 2007; 34: 1566-1568
- 黄志新, 劳绍贤, 崔琦珍, 王汝俊, 胡旭光. 溃结灵颗粒治疗活动期溃疡性结肠炎的临床与实验研究. *中国中西医结合消化杂志* 2003; 11: 141-143
- 杜群, 李红, 王建华, 王汝俊. 溃结灵对溃疡性结肠炎大鼠结肠粘膜NF- $\kappa$ B p65蛋白及血清TNF- $\alpha$ 含量的影响. *广州中医药大学学报* 2007; 24: 396-399
- 杜群, 李红, 王汝俊, 李燕舞, 巫燕莉, 王建华. 溃结灵对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜IKK- $\alpha$ 蛋白表达的作用. *中药材* 2008; 31: 1016-1018
- 常东, 刘子志, 李健, 冯春霞, 李辉, 何方. 大肠湿热型溃疡性结肠炎患者防御素、白细胞介素-8表达及溃结灵的干预作用. *中国中医药信息杂志* 2010; 17: 13-19
- 王喜周, 张涛, 陈远能, 黄适, 潘怀耿. 健脾清热活血类方药介导 $\beta$ -catenin、C-myc表达干预溃疡性结肠炎相关癌变研究. *中成药* 2012; 34: 226-229
- Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 2001; 48: 526-535 [PMID: 11247898 DOI: 10.1136/gut.48.4.526]
- Munkholm P. Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18 Suppl 2: 1-5 [PMID: 12950413 DOI: 10.1111/apt.12211]
- Schneikert J, Behrens J. The canonical Wnt signaling pathway and its APC partner in colon cancer development. *Gut* 2007; 56: 417-425 [PMID: 16840506 DOI: 10.1136/gut.2006.093310]
- Gregorieff A, Pinto D, Begthel H, Destree O, Kielman M, Clevers H. Expression pattern of Wnt signaling components in the adult intestine. *Gastroenterology* 2005; 129: 626-638 [PMID: 16083717]
- Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005; 434: 843-850 [PMID: 15829953 DOI: 10.1038]
- Battle E, Bacani J, Begthel H, Jonkheer S, Gregorieff A, van de Born M, Malats N, Sancho E, Boon E, Pawson T, Gallinger S, Pals S, Clevers H. EphB receptor activity suppresses colorectal cancer progression. *Nature* 2005; 435: 1126-1130 [PMID: 15973414]
- 张丽娟, 李梅, 陈云, 杨承纲. B-catenin、c-myc在结直肠癌中的表达及其意义. *结直肠肛门外科* 2007; 13:



- 275-278
- 21 Batlle E, Henderson JT, Beghtel H, van den Born MM, Sancho E, Huls G, Meeldijk J, Robertson J, van de Wetering M, Pawson T, Clevers H. Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by Controlling the expression of EphB/ephrB. *Cell* 2002; 111:251-263 [PMID: 1240886]
- 22 Fasolini M, Wu X, Flocco M, Trosset JY, Oppermann U, Knapp S. Hot spots in Tcf4 for the interaction with beta-catenin. *J Biol Chem* 2003; 278: 21092-21098 [PMID: 12657632 DOI: 10.1515/hsz-2011-0241]
- 23 Gregorieff A, Clevers H. Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes Dev* 2005; 19: 877-890 [PMID: 15833914 DOI: 10.1101/gad.1295405]
- 24 Valentini AM, Pirrelli M, Renna L, Armentano R, Caruso ML. P53 and beta-catenin in colorectal cancer progression. *Current Pharmaceutical Design* 2003; 9: 1932-1936 [PMID: 12871177 DOI: 10.2174/138161212800672750]
- 25 徐晓, 陈卫昌, 林茂松, 张宝峰, 方静, 周琼, 胡莺, 邵恒骏.  $\beta$ -catenin/c-myc在结肠癌组织中的表达及其临床意义. *中国现代医药杂志* 2007; 9: 1-4
- 26 Zhou JX, Niehans GA, Shar A, Rubins JB, Frizelle SP, Kratzke RA. Mechanisms of G1 checkpoint loss in resected early stage non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001; 32: 27-38 [PMID: 11282426 DOI: 10.1016]
- 27 Moghaddam SJ, Haghighi EN, Samiee S, Shahid N, Keramati AR, Dadgar S, Zali MR. Immunohistochemical analysis of p53, cyclinD1, RB1, c-fos and N-ras gene expression in hepatocellular carcinoma in Iran. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 588-593 [PMID: 17278226 DOI: 10.3748/wjg.v19.i1.144]
- 28 Rose SL, Buller RE. The role of p53 mutation in BRCA1-associated ovarian cancer. *Minerva Ginecol* 2002; 54: 201-209 [PMID: 12063435]
- 29 Morisaki T, Uchiyama A, Yuzuki D, Essner R, Morton DL, Hoon DS. Interleukin 4 regulates G1 cell cycle progression in gastric carcinoma cells. *Cancer Res* 1994; 54: 1113-1118 [PMID: 8313369 DOI: 10.1158/1541-7786]
- 30 Arber N, Levin B. Chemoprevention of colorectal neoplasia: the potential for personalized medicine. *Gastroenterology* 2008; 134: 1224-1237 [PMID: 18395100]
- 31 Terdiman JP, Johnson LK, Kim YS, Sleisenger MH, Gum JR, Hayes A, Weinberg VK, McQuaid KR. Chemoprevention of colonic polyps with balsalazide: an exploratory, double-blind, placebo-controlled study. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2488-2496 [PMID: 19757048 DOI: 10.1007/s10620-009-0966-2]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# 下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响

郑建伟, 尹洪芳, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 朱静

## ■背景资料

桩蛋白paxillin, 主要分布于黏着斑, 他是整合素信号通路中的关键分子, 是一种多结构域的LIM家族蛋白, 能为多种调节结构蛋白及信号转导蛋白提供结合位点, 在调节细胞信号传导、细胞的黏附与运动、组织结构形态及生长发育等方面发挥重要作用。近期研究表明paxillin表达量增高与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关。

郑建伟, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 北京大学第一医院普外科 北京市 100034

尹洪芳, 北京大学第一医院病理科 北京市 100034

朱静, 北京大学第一医院外科实验室 北京市 100034

郑建伟, 博士, 主要从事胃肠肿瘤发生发展分子生物学机制的研究。

作者贡献分布: 本课题由郑建伟完成; 研究过程由郑建伟、尹洪芳及朱静操作完成; 数据分析由郑建伟与尹洪芳完成; 论文写作由郑建伟完成; 汪欣指导课题的设计; 刘玉村与万远廉指导课题的开展。

通讯作者: 汪欣, 副教授, 主任医师, 100034, 北京市西城区西什库大街8号, 北京大学第一医院普外科。wangxin\_guo@hotmail.com  
电话: 010-83572430

收稿日期: 2013-02-03 修回日期: 2013-03-05

接受日期: 2013-03-08 在线出版日期: 2013-03-28

## SiRNA-mediated silencing of paxillin down-regulates ERK1/2 signaling and alters cell ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480

Jian-Wei Zheng, Hong-Fang Yin, Xin Wang,  
Yu-Cun Liu, Yuan-Lian Wan, Jing Zhu

Jian-Wei Zheng, Xin Wang, Yu-Cun Liu, Yuan-Lian Wan, Department of General Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Hong-Fang Yin, Department of Pathology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Jing Zhu, Surgical Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Correspondence to: Xin Wang, Associate Professor, Department of General Surgery, Peking University First Hospital, 8 Xishiku Avenue, Xicheng District, Beijing 100034, China. wangxin\_guo@hotmail.com

Received: 2013-02-03 Revised: 2013-03-05

Accepted: 2013-03-08 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To study the effect of silencing of paxillin overexpression on cell signaling and ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480.

**METHODS:** Using empty plasmid as a negative control, two siRNA fragments were transfected into a colorectal carcinoma cell line SW480 which overexpresses paxillin. Stably transfected cells were screened and three new cell lines NC, SW545 and SW782 were obtained, which car-

ried the negative control, the siRNA targeting the site 545-565, and the siRNA targeting the site 782-802, respectively. The expression and site-specific phosphorylation of paxillin, FAK, ERK1/2 and AKT1/2/3 were examined in the four cell lines by Western blot. Specimens were prepared with cultured carcinoma cells to observe cell ultrastructure by transmission electron microscopy.

**RESULTS:** Paxillin overexpression in SW545 cells was not silenced at all, whereas silenced paxillin overexpression and remarkably reduced phosphorylation of paxillin (Tyr118) were observed in SW782 cells. Expression of AKT1/2/3 and FAK as well as their site-specific phosphorylation were substantially the same in the four cell lines. Although expression of ERK1/2 was substantially the same in the four cell lines, significantly reduced phosphorylation of ERK1/2 (Thr202/Tyr204) was observed in SW782 cells. There was no distinct ultrastructural difference between NC cells and SW480 cells, whereas dramatic ultrastructural changes were observed in SW782 cells, such as much more microvilli, microfilament and microtubule bundles, lysosomes and much less mitochondria.

**CONCLUSION:** Paxillin overexpression may play an important role in the malignant transformation of colorectal carcinoma cells, which is characterized by dramatic ultrastructural changes that can be reversed by silencing paxillin overexpression. Activation of ERK1/2 signaling downstream of paxillin is indispensable for the malignant transformation of colorectal carcinoma cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Paxillin; siRNA; SW480 cells; Cell signal transduction; Cell ultrastructure

Zheng JW, Yin HF, Wang X, Liu YC, Wan YL, Zhu J. SiRNA-mediated silencing of paxillin down-regulates ERK1/2 signaling and alters cell ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 754-760 <http://www.wjgnet.com>

## ■同行评议者

樊祥山, 副主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院病理科; 莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

wjgnet.com/1009-3079/21/754.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.754>

## 摘要

**目的:** 探讨下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响。

**方法:** 设计两种siRNA片段并用其转染高表达paxillin的结直肠癌细胞SW480细胞系, 以空质粒作为阴性对照, 构建稳定转染细胞系。NC组为转染空质粒的细胞系, SW545组是稳定转染针对paxillin545-565靶基因位点的siRNA片段的细胞系, SW782组是稳定转染针对paxillin782-802靶基因位点的siRNA片段的细胞系。Western blot检测SW480、NC、SW545及SW782 4组细胞系中paxillin、FAK、ERK1/2及AKT1/2/3的表达及特异位点磷酸化水平。利用培养细胞制备切片, 透射电镜下观察几组细胞系的超微结构。

**结果:** SW545细胞paxillin的高表达无明显改变, SW782细胞paxillin的高表达被显著下调, SW782细胞paxillin(Tyr118)磷酸化水平也显著降低。SW782细胞ERK1/2的表达水平无明显变化, 但是ERK1/2(Thr202/Tyr204)磷酸化水平显著降低。SW782细胞AKT1/2/3及FAK的表达及特异位点磷酸化水平均无明显变化。与SW480细胞相比, NC组细胞无明显超微结构改变, 但是SW782细胞却发生了显著的超微结构变化, 具有明显增多的微绒毛、微丝微管束与溶酶体以及明显减少的线粒体。

**结论:** 下调paxillin高表达能够逆转SW480细胞典型的恶性转化细胞的超微结构特征, paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 桩蛋白; siRNA; SW480细胞系; 细胞信号转导; 超微结构

郑建伟, 尹洪芳, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 朱静. 下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 754-760 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/754.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.754>

## 0 引言

近期研究表明桩蛋白paxillin表达增高与结直肠癌的发生发展密切相关, 在转移性肾癌<sup>[1]</sup>、高转

移潜能骨肉瘤<sup>[2]</sup>及前列腺癌<sup>[3]</sup>等多种恶性肿瘤也存在paxillin的高表达及磷酸化水平增高。在前期研究中, 我们发现结直肠癌中存在paxillin高表达, 而且paxillin的表达水平与结直肠癌淋巴结转移与侵袭性正相关。桩蛋白paxillin是整合素信号通路中的关键分子, 主要分布于粘着斑, 是一种多结构域的LIM家族蛋白, 能为多种调节结构蛋白及信号转导蛋白提供结合位点, 在调节细胞信号传导、细胞的黏附与运动、组织结构形态及生长发育等方面发挥着重要作用<sup>[4]</sup>。FAK(focal adhesion kinase)<sup>[5]</sup>、AKT1/2/3(protein kinase B)以及ERK1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2)是与paxillin有着密切的结构和功能联系的几种信号转导通路的关键蛋白(图1), 他们在多种肿瘤的发生发展的作用已经被广泛研究。整合素分子的聚合能引起FAK最主要的活化位点397位酪氨酸残基的自主磷酸化, 从而使FAK的Src家族激酶结合位点暴露出来<sup>[6]</sup>, 形成相互激活的FAK/Src复合物, 继而激活若干下游信号转导通路<sup>[7]</sup>。Paxillin的关键活化位点118位酪氨酸残基能被FAK/Src复合物磷酸化<sup>[8,9]</sup>, 激活的paxillin能与ERK1/2结合并将其募集到粘着斑。在粘着斑, 活化的paxillin与Raf和MEK1/2结合, 引起ERK1/2的202位苏氨酸残基和204位酪氨酸残基的双磷酸化<sup>[10]</sup>。充分活化的ERK1/2通过激活分布于胞浆、细胞核以及线粒体<sup>[11]</sup>、溶酶体<sup>[12]</sup>、高尔基体<sup>[13]</sup>等细胞器的一系列下游底物而发挥其生物学效应, 负责调控胚胎发生以及细胞增殖、分化与凋亡等生理过程, 然而过度激活的ERK1/2信号转导通路与恶性肿瘤的进展和转移癌细胞的增殖有关<sup>[14,15]</sup>。Paxillin也能通过与ERK1/2<sup>[16]</sup>、ABI<sup>[17]</sup>、poly-A结合蛋白<sup>[18]</sup>和类固醇受体<sup>[19]</sup>的相互作用在基因表达调控中发挥重要作用。397位酪氨酸残基的磷酸化使得FAK能与PI3K(phosphoinositide 3-kinases)结合, 通过PDK1(3-phosphoinositide dependent protein kinase-1)磷酸化AKT1/2/3的308位苏氨酸残基从而激活PI3K/AKT信号转导通路<sup>[20]</sup>。然而PI3K/AKT信号转导通路的充分激活还需要AKT1/2/3的473位丝氨酸自主磷酸化或依赖PDK2的磷酸化<sup>[21,22]</sup>。活化的AKT1/2/3进而磷酸化胞浆、细胞核内的多种底物, 从而调控细胞的代谢、蛋白合成、增殖、DNA修复和凋亡<sup>[23]</sup>, 也能刺激血管生成和上皮间变<sup>[24,25]</sup>。恶性肿瘤细胞的超微结构改变已被深入研究, 已经发现恶性肿瘤的一些超微结构改变与其恶性生物学行为密切相关。结直

## ■研究前沿

paxillin的表达异常与结直肠癌细胞SW480细胞超微结构的变化密切相关。尽管其详细机制尚未明了, 这些有意义的发现揭示了paxillin高表达以及ERK1/2等信号转导通路在结直肠癌发生发展中的重要作用。



## ■ 相关报道

恶性肿瘤细胞的超微结构改变已被深入研究,已经发现恶性肿瘤的一些超微结构改变与其恶性生物学行为密切相关。本课题组同时观察了稳定转染下调SW480细胞paxillin高表达前后结直肠癌细胞超微结构,结果发现高表达paxillin的SW480细胞中细胞骨架的解体以及线粒体增多、畸形肿胀和溶酶体的减少等超微结构改变符合典型恶性转化细胞的特征,而通过下调SW480细胞paxillin高表达能够逆转这些恶性转化超微结构改变。

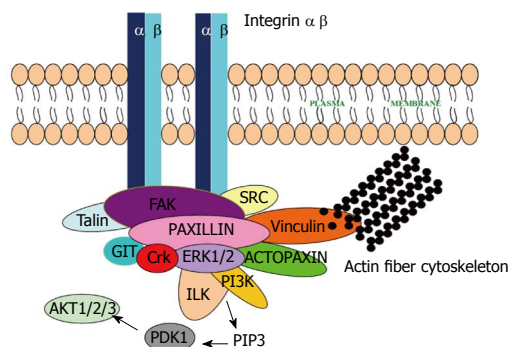


图1 FAK、AKT1/2/3及ERK1/2与paxillin的关系。

肠癌细胞系SW480高表达paxillin, 本课题通过研究下调paxillin高表达对SW480细胞多种信号转导通路及超微结构的影响, 以揭示paxillin高表达在结直肠癌发生发展中的作用及机制, 为临床分子靶向治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 结直肠癌细胞系由北京大学第一医院外科实验室提供。DMEM培养基及胎牛血清购自美国Gibco公司。paxillin siRNA购自上海吉玛公司, 其中paxillin siRNA 1针对paxillin 545-565靶基因位点(GGGCAGCAACCTTTCTGAAGT), paxillin siRNA 2针对paxillin 782-802靶基因位点(GGAGAGTCTCTTGATGAAGT)。Western blot检测所用的抗体见表1。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及转染:** SW480细胞培养于含100 mL/L胎牛血清, 100 kU/L青霉素和100 mg/L链霉素的DMEM培养基中, 定期检测以防微生物污染。将SW480细胞置于37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>的培养箱中传代培养, 实验细胞均处于对数生长期。当SW480细胞生长至80%-90%融合时, 按Lipofectamine 2000转染试剂说明书将空质粒(阴性对照)、paxillin siRNA 1和paxillin siRNA 2分别转染SW480细胞, 转染48 h后收集细胞, 利用G418抗性筛选稳定转染细胞, 得到3组稳定转染细胞系, 依次命名为: NC组、SW545组和SW782组。

**1.2.2 Western blot:** 依次收集SW480组、NC组、SW545组和SW782组4组细胞, 加入裂解缓冲液及蛋白酶、磷酸酶抑制剂, 充分裂解细胞15 min, 提取细胞总蛋白, Bradford分光光度法测定其蛋白质含量以确定上样量。以10%SDS-PAGE凝胶恒压电泳分离各组样品中的蛋白质, 利用恒电流电转将凝胶中的蛋白质转移至硝酸纤维素膜上, 置入含5%脱脂奶粉的TBST溶液室温封闭

2 h, 加入以含5%脱脂奶粉的TBST溶液稀释的一抗4 °C孵育过夜。第2天以TBST洗膜10 min×3次, 置于二抗TBST稀释液中室温孵育1 h, 洗膜10 min×3次, 加入Amersham ECL prime发光液, 曝光、洗片、分析。

**1.2.3 超微结构观察:** 以0.25%胰酶消化贴壁细胞得到各组细胞的细胞悬液, 以0.1 mol/L PBS清洗细胞悬液, 1 000 r/min离心5 min, 弃去上清, 再次以0.1 mol/L PBS清洗, 1 500 r/min离心10 min, 小心弃去上清, 切勿扰动细胞团块, 在细胞团块中加入2 mL 0.1 mol/L的戊二醛, 置于4 °C 1 h以上。将几组样本送至电镜室制备切片, 透射电镜下观察。

## 2 结果

**2.1 paxillin及相关信号转导蛋白的表达和特异位点磷酸化水平** 各组细胞paxillin及相关信号转导蛋白的表达和特异位点磷酸化水平Western blot检测结果如图2所示。SW545细胞的paxillin高表达无明显变化, SW782细胞的paxillin高表达被显著下调, 同时SW782细胞paxillin(Tyr118)磷酸化水平也显著降低。SW782细胞ERK1/2的表达水平无明显变化, 但是ERK1/2(Thr202/Tyr204)磷酸化水平显著降低。SW782细胞AKT1/2/3及FAK的表达及特异位点磷酸化水平均无明显变化。结果提示SW782细胞paxillin高表达的下调伴随着paxillin磷酸化水平的下调及其下游ERK1/2信号转导通路活性的下调。

**2.2 超微结构观察** 由于paxillin的高表达无明显下调, SW545细胞未被用于超微结构观察。SW480组、NC组和SW782组细胞有相似的细胞异型性。与SW480细胞相比, NC组细胞无明显超微结构改变, 但是SW782细胞却发生了显著的超微结构变化。SW480细胞表面只有稀疏的微绒毛(图3A); SW782细胞表面具有大量的微绒毛(图3B)。SW480细胞内有大量的线粒体, 溶酶体少见(图3C); SW782细胞内线粒体少见, 有多量成簇聚集的溶酶体(图3D)。SW480细胞内难以看到微丝微管束; SW782细胞内有多量微丝微管束(图3E)。SW480细胞内畸形肿胀的线粒体多见(图3C, 3F)。

## 3 讨论

与SW480细胞相比, NC组细胞无明显超微结构改变, 但是SW782细胞却发生了显著的超微结构变化, 具有明显增多的微绒毛、微丝微管束

表 1 Western blot 检测所用抗体

目的蛋白	一抗			二抗	
	稀释比	种属、克隆	货号	稀释比	货号
Paxillin	1 : 3 000	鼠单抗	ab3127	1 : 15 000	ZB2305 ZSGB
FAK	1 : 500	鼠单抗	sc-1688	1 : 3 000	ZB2305 ZSGB
AKT1/2/3	1 : 1 000	兔单抗	CST4685	1 : 1 000	ZB2301 ZSGB
ERK1/2	1 : 3 000	兔单抗	CST4695	1 : 3 000	ZB2301 ZSGB
p-Paxillin(Tyr118)	1 : 1 000	兔多抗	sc-101774	1 : 1 000	ZB2301 ZSGB
p-FAK (Tyr397)	1 : 500	兔多抗	ab4803	1 : 500	ZB2301 ZSGB
p-AKT1/2/3(Thr308)	1 : 500	兔多抗	sc-16646-R	1 : 500	ZB2301 ZSGB
p-AKT1/2/3(Ser473)	1 : 3 000	兔单抗	CST4060	1 : 3 000	ZB2301 ZSGB
p-ERK1/2(Thr202/Tyr204)	1 : 3 000	兔单抗	CST4370	1 : 10 000	ZB2301 ZSGB
β-actin	1 : 5 000	鼠单抗	TA-09 ZSGB	1 : 15 000	ZB2305 ZSGB

β-actin为Western blot检测内参. Western blot检测所使用的二抗均为山羊单抗.

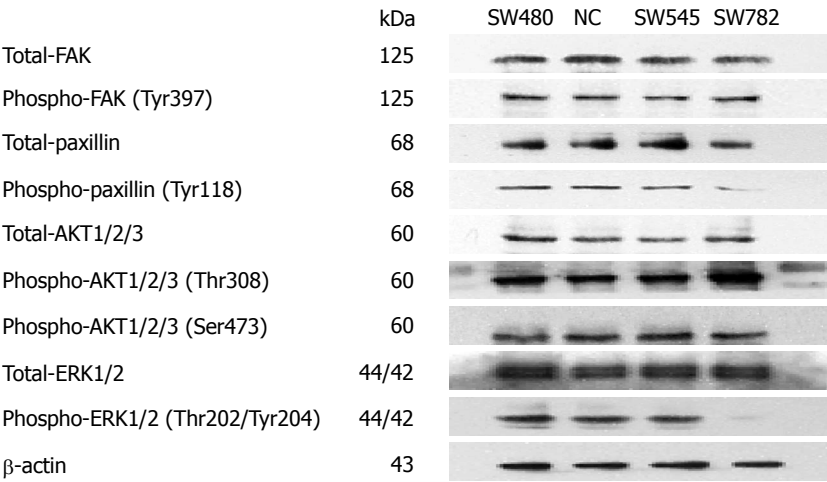


图 2 各组细胞paxillin及相关信号转导蛋白的表达和特异位点磷酸化水平Western blot检测结果.

与溶酶体以及明显减少的线粒体. 微绒毛、微丝微管束均是细胞骨架的重要组成部分, 细胞骨架能维持正常细胞的形态结构, 通过参与细胞信号转导和基因表达调控还能调节正常细胞的迁移、极性、侵袭、增殖和存活. 细胞骨架的这些调控作用在肿瘤细胞中往往出现紊乱, 从而导致肿瘤细胞增殖、变形、迁移和侵袭能力的变化<sup>[26-28]</sup>. SW480细胞中微丝微管束的减少, 也可以称之为细胞骨架的解体, 早已被作为肿瘤细胞恶性转化的明确标志<sup>[29]</sup>. 据报道, 肿瘤细胞不规则微绒毛的增多与肿瘤细胞的增殖和转移能力相关<sup>[30]</sup>, 这似乎与我们的实验结果相矛盾, 然而考虑到正常结直肠黏膜上皮细胞具有丰富的微绒毛, SW480细胞微绒毛的减少可能是结直肠黏膜上皮细胞恶性转化的表现之一, 或许能够解释这些看似矛盾的实验结果. 肿瘤生

物学界一个新兴主题就是肿瘤细胞能量代谢调节与肿瘤进展密切相关<sup>[31,32]</sup>. SW480细胞中大量而且往往是畸形肿胀的线粒体, 标志着SW480细胞能量代谢状态的转化和线粒体膜电势能的显著改变. 线粒体在肿瘤发生进展中发挥着重要作用, 肿瘤生物学界一个新兴主题就是肿瘤细胞能量代谢调节与肿瘤进展密切相关<sup>[31,32]</sup>. 值得注意的是, 线粒体和溶酶体均是与细胞凋亡调控有关的重要细胞器. 能够逃逸细胞凋亡是恶性肿瘤细胞的重要标志, 而正常细胞凋亡途径的抑制是肿瘤发生的必要机制<sup>[33]</sup>. 涉及线粒体的内源性凋亡途径为防止癌变提供了重要保障, 而内源性凋亡途径的缺陷在肿瘤转移和化疗耐药中发挥重要的作用<sup>[34,35]</sup>. 此外, 细胞凋亡也可以通过细胞表面的肿瘤坏死因子家族的死亡受体激活触发的, 称为外源性细胞凋亡途径. 不像

**■创新盘点**  
本研究首先利用siRNA稳定转染高表达paxillin的结直肠癌细胞系SW480, 然后Western blot检测稳定转染细胞中paxillin、FAK、AKT1/2/3以及ERK1/2的表达及主要特异磷酸化位点的磷酸化水平, 结果发现在下调paxillin高表达的结直肠癌细胞中paxillin及ERK1/2的磷酸化水平也被显著下调, 提示paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用.



### ■同行评价

本文通过siRNA技术下调大肠癌细胞SW480中paxillin的表达水平,从而观察癌细胞的超微结构特征以及可能的分子机制,具有一定的创新性和临床价值。

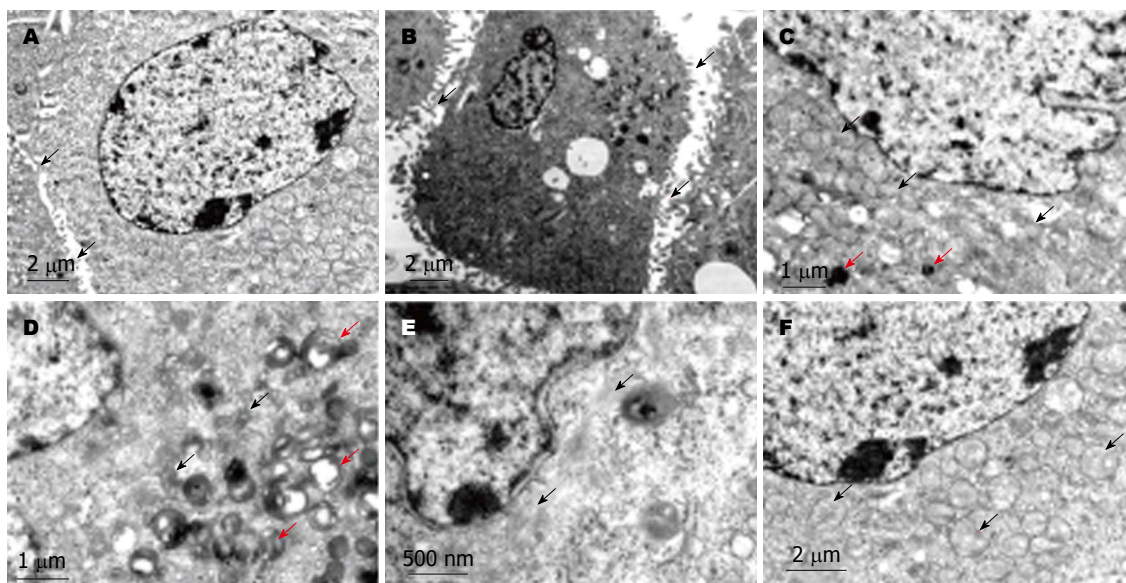


图3 SW782细胞的超微结构变化. A: SW480细胞表面只有稀疏的微绒毛(箭头). B: SW782细胞表面具有大量的微绒毛(箭头). C: SW480细胞内有大量的线粒体(箭头),溶酶体少见(红箭头). D: SW782细胞内线粒体少见(箭头),有多量成簇聚集的溶酶体(红箭头). E: SW782细胞内有多量微丝微管束(箭头). F: SW480细胞内畸形肿胀的线粒体多见(箭头).

前述两种典型的凋亡途径需要有半胱天冬酶的激活<sup>[36,37]</sup>,溶酶体细胞死亡途径是以溶酶体的高通透性及蛋白酶继而易位进入细胞质激活凋亡为特征的,他可以在肿瘤细胞的经典凋亡途径均存在各种缺陷时发挥替代作用<sup>[38]</sup>.因此线粒体及溶酶体数目与形态的变化,提示SW480细胞存在线粒体及溶酶体的功能异常,可能借助上述机制逃逸细胞凋亡.综上所述,paxillin高表达的SW480细胞中细胞骨架的解体以及线粒体增多、畸形肿胀和溶酶体的减少等超微结构改变符合恶性转化细胞的特征,通过下调SW480细胞的paxillin高表达能够逆转这种恶性转化超微结构特征.

Western blot检测结果提示SW782细胞paxillin高表达的下调伴随着paxillin磷酸化水平的下调及其下游ERK1/2信号转导通路活性的下调.这一发现提示paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用. Rho家族小GTP酶蛋白负责细胞微丝骨架的调节,而paxillin对这一调节过程中的时空协调发挥着核心作用.通过抑制Rho信号转导,ERK1/2信号转导途径的激活可导致恶性转化细胞的微丝骨架解体,进而通过肌动蛋白动力学的改变和细胞黏附能力的下降导致细胞迁移能力的增强<sup>[39]</sup>. Paxillin能通过其LD结构域与微管骨架相结合,可能有助于微管组织中心的重新定位<sup>[40]</sup>,而ERK1/2的激

活可导致微管的去稳定<sup>[41]</sup>.激活的ERK1/2可以与微管结合并直接调节其动力学<sup>[42]</sup>或通过影响微管相关蛋白的磷酸化<sup>[43]</sup>来调节微管的动力学.因此,paxillin和下游ERK1/2信号通路的激活或许能够解释SW480细胞微丝、微管细胞骨架解体.线粒体的数量调控需要染色体DNA与线粒体DNA的协调转录和高能量利用区域的产生及线粒体的定向转运<sup>[10]</sup>.在细胞核内,激活ERK1/2可以调节基因的表达,影响多种线粒体蛋白的表达,进而影响线粒体的诸多功能<sup>[44]</sup>.深入研究证实线粒体内存在激活的ERK1/2,提示激活的ERK1/2可能影响许多线粒体本身的功能,例如线粒体依赖的细胞生存/凋亡调控<sup>[45]</sup>、调节线粒体膜电势能和ATP的生成<sup>[46]</sup>以及调节线粒体基因的表达<sup>[11]</sup>.而且,依赖paxillin和ERK1/2调控的细胞骨架系统还负责线粒体等细胞器和囊泡的细胞内转运<sup>[47]</sup>.尽管目前对于paxillin的表达和活化与线粒体的变化之间的关系所知甚少,paxillin和ERK1/2信号转导通路的激活或许也能够解释SW480细胞线粒体超微结构的变化.如同线粒体等细胞器,溶酶体的运动也依赖于细胞微丝和微管骨架<sup>[47,48]</sup>.微丝还参与内涵体和溶酶体的稳态分布的维护以及这两种细胞器之间的膜转运<sup>[49,50]</sup>.由于paxillin和ERK1/2信号转导通路负责细胞骨架系统的调控,paxillin和ERK1/2信号转导通路必然能够影响溶酶体的功能.如上所述,激活的ERK1/2也可能通过激活胞浆中



和包括溶酶体在内的各种细胞器中的多种底物, 影响溶酶体的生成和功能, paxillin也能通过与ERK1/2相互作用在基因表达调节中发挥着重要作用. 因此paxillin和ERK1/2信号转导通路的激活会影响溶酶体的数目和功能, 这也能够解释SW480细胞溶酶体超微结构改变.

总之, 通过阻断paxillin高表达能够逆转结直肠癌细胞系SW480的典型恶性转化细胞的超微结构特征; paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用. 尽管详细机制尚未明了, 这些有意义的发现揭示了paxillin高表达以及ERK1/2等信号转导通路在结直肠癌发生发展中的重要作用, 提供了进一步深入研究的方向, 将来或许能够为结直肠癌临床治疗找到新的治疗靶点.

#### 4 参考文献

- Jenq W, Cooper DR, Ramirez G. Integrin expression on cell adhesion function and up-regulation of P125FAK and paxillin in metastatic renal carcinoma cells. *Connect Tissue Res* 1996; 34: 161-174 [PMID: 9023046 DOI: 10.3109/03008209609000696]
- Azuma K, Tanaka M, Uekita T, Inoue S, Yokota J, Ouchi Y, Sakai R. Tyrosine phosphorylation of paxillin affects the metastatic potential of human osteosarcoma. *Oncogene* 2005; 24: 4754-4764 [PMID: 15870699 DOI: 10.1038/sj.onc.1208654]
- Tremblay L, Hauck W, Aprikian AG, Begin LR, Chapdelaine A, Chevalier S. Focal adhesion kinase (pp125FAK) expression, activation and association with paxillin and p50CSK in human metastatic prostate carcinoma. *Int J Cancer* 1996; 68: 164-171 [PMID: 8900422 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19961009)68:2<169::AID-IJC4>3.0.CO;2-W]
- Deakin NO, Turner CE. Paxillin comes of age. *J Cell Sci* 2008; 121: 2435-2444 [PMID: 18650496 DOI: 10.1242/jcs.018044]
- Scheswohl DM, Harrell JR, Rajfur Z, Gao G, Campbell SL, Schaller MD. Multiple paxillin binding sites regulate FAK function. *J Mol Signal* 2008; 3: 1 [PMID: 18171471 DOI: 10.1186/1750-2187-3-1]
- Bolós V, Gasent JM, López-Tarruella S, Grande E. The dual kinase complex FAK-Src as a promising therapeutic target in cancer. *Onco Targets Ther* 2010; 3: 83-97 [PMID: 20616959 DOI: 10.2147/OTT.S6909]
- Zhao J, Guan JL. Signal transduction by focal adhesion kinase in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28: 35-49 [PMID: 19169797 DOI: 10.1007/s10555-008-9165-4]
- Bellis SL, Miller JT, Turner CE. Characterization of tyrosine phosphorylation of paxillin in vitro by focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 1995; 270: 17437-17441 [PMID: 7615549 DOI: 10.1074/jbc.270.29.17437]
- Schaller MD, Parsons JT. pp125FAK-dependent tyrosine phosphorylation of paxillin creates a high-affinity binding site for Crk. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2635-2645 [PMID: 7537852]
- Wortzel I, Seger R. The ERK Cascade: Distinct Functions within Various Subcellular Organelles. *Genes Cancer* 2011; 2: 195-209 [PMID: 21779493 DOI: 10.1177/1947601911407328]
- Galli S, Jahn O, Hitt R, Hesse D, Opitz L, Plessmann U, Urlaub H, Poderoso JJ, Jares-Erijman EA, Jovin TM. A new paradigm for MAPK: structural interactions of hERK1 with mitochondria in HeLa cells. *PLoS One* 2009; 4: e7541 [PMID: 19847302 DOI: 10.1371/journal.pone.0007541]
- Teis D, Taub N, Kurzbauer R, Hilber D, de Araujo ME, Erlacher M, Offterdinger M, Villunger A, Geley S, Bohn G, Klein C, Hess MW, Huber LA. p14-MP1-MEK1 signaling regulates endosomal traffic and cellular proliferation during tissue homeostasis. *J Cell Biol* 2006; 175: 861-868 [PMID: 17178906 DOI: 10.1083/jcb.200607025]
- Torii S, Kusakabe M, Yamamoto T, Maekawa M, Nishida E. Sef is a spatial regulator for Ras/MAP kinase signaling. *Dev Cell* 2004; 7: 33-44 [PMID: 15239952 DOI: 10.1016/j.devcel.2004.05.019]
- Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22: 153-183 [PMID: 11294822 DOI: 10.1210/er.22.2.153]
- Rubinfeld H, Seger R. The ERK cascade: a prototype of MAPK signaling. *Mol Biotechnol* 2005; 31: 151-174 [PMID: 16170216 DOI: 10.1385/MB:31:2:151]
- Ishibe S, Joly D, Zhu X, Cantley LG. Phosphorylation-dependent paxillin-ERK association mediates hepatocyte growth factor-stimulated epithelial morphogenesis. *Mol Cell* 2003; 12: 1275-1285 [PMID: 14636584 DOI: 10.1016/S1097-2765(03)00406-4]
- Woods AJ, Roberts MS, Choudhary J, Barry ST, Mazaki Y, Sabe H, Morley SJ, Critchley DR, Norman JC. Paxillin associates with poly(A)-binding protein 1 at the dense endoplasmic reticulum and the leading edge of migrating cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 6428-6437 [PMID: 11704675]
- Lewis JM, Baskaran R, Taagepera S, Schwartz MA, Wang JY. Integrin regulation of c-Abl tyrosine kinase activity and cytoplasmic-nuclear transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 15174-15179 [PMID: 8986783 DOI: 10.1073/pnas.93.26.15174]
- Sen A, De Castro I, Defranco DB, Deng FM, Melamed J, Kapur P, Raj GV, Rossi R, Hammes SR. Paxillin mediates extranuclear and intranuclear signaling in prostate cancer proliferation. *J Clin Invest* 2012; 122: 2469-2481 [PMID: 22684108 DOI: 10.1172/JCI62044]
- Reiske HR, Kao SC, Cary LA, Guan JL, Lai JF, Chen HC. Requirement of phosphatidylinositol 3-kinase in focal adhesion kinase-promoted cell migration. *J Biol Chem* 1999; 274: 12361-12366 [PMID: 10212207]
- Toker A, Newton AC. Akt/protein kinase B is regulated by autophosphorylation at the hypothetical PDK-2 site. *J Biol Chem* 2000; 275: 8271-8274 [PMID: 10722653 DOI: 10.1074/jbc.275.12.8271]
- Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 2005; 307: 1098-1101 [PMID: 15718470 DOI: 10.1126/science.1106148]
- Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN. Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 139-146 [PMID: 22260680 DOI: 10.1042/BST20110609]
- Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev*

- Cancer* 2002; 2: 489-501 [PMID: 12094235]
- 25 Larue L, Bellacosa A. Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer: role of phosphatidylinositol 3' kinase/AKT pathways. *Oncogene* 2005; 24: 7443-7454 [PMID: 16288291 DOI: 10.1038/sj.onc.1209091]
  - 26 Lindberg U, Karlsson R, Lassing I, Schutt CE, Höglund AS. The microfilament system and malignancy. *Semin Cancer Biol* 2008; 18: 2-11 [PMID: 18024149 DOI: 10.1016/j.semcancer.2007.10.002]
  - 27 Royer C, Lu X. Epithelial cell polarity: a major gatekeeper against cancer? *Cell Death Differ* 2011; 18: 1470-1477 [PMID: 21617693 DOI: 10.1038/cdd.2011.60]
  - 28 Stevenson RP, Veltman D, Machesky LM. Actin-bundling proteins in cancer progression at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125: 1073-1079 [PMID: 22492983 DOI: 10.1242/jcs.093799]
  - 29 Yamaguchi H, Condeelis J. Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 642-652 [PMID: 16926057]
  - 30 Ren J, Hamada J, Okada F, Takeichi N, Morikawa K, Hosokawa M, Kobayashi H. Correlation between the presence of microvilli and the growth or metastatic potential of tumor cells. *Jpn J Cancer Res* 1990; 81: 920-926 [PMID: 1977729 DOI: 10.1111/j.1349-7006.1990.tb02668.x]
  - 31 Muñoz-Pinedo C, El Mjiyad N, Ricci JE. Cancer metabolism: current perspectives and future directions. *Cell Death Dis* 2012; 3: e248 [PMID: 22237205 DOI: 10.1038/cddis.2011.123]
  - 32 Pokorný J, Jandová A, Nedbalová M, Jelínek F, Cifra M, Kučera O, Havelka D, Vrba J, Vrba J, Coček A, Kobilková J. Mitochondrial metabolism - neglected link of cancer transformation and treatment. *Prague Med Rep* 2012; 113: 81-94 [PMID: 22691280]
  - 33 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9]
  - 34 Kitada S, Pedersen IM, Schimmer AD, Reed JC. Dysregulation of apoptosis genes in hematopoietic malignancies. *Oncogene* 2002; 21: 3459-3474 [PMID: 12032782 DOI: 10.1038/sj.onc.1205327]
  - 35 Kirkin V, Joos S, Zörnig M. The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1644: 229-249 [PMID: 14996506 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2003.08.009]
  - 36 Fogg VC, Lanning NJ, MacKeigan JP. Mitochondria in cancer: at the crossroads of life and death. *Chin J Cancer* 2011; 30: 526-539 [PMID: 21801601 DOI: 10.5732/cjc.011.10018]
  - 37 Kirkegaard T, Jäättelä M. Lysosomal involvement in cell death and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 746-754 [PMID: 18948147]
  - 38 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
  - 39 Barros JC, Marshall CJ. Activation of either ERK1/2 or ERK5 MAP kinase pathways can lead to disruption of the actin cytoskeleton. *J Cell Sci* 2005; 118: 1663-1671 [PMID: 15797923 DOI: 10.1242/jcs.02308]
  - 40 Robertson LK, Ostergaard HL. Paxillin associates with the microtubule cytoskeleton and the immunological synapse of CTL through its leucine-aspartic acid domains and contributes to microtubule organizing center reorientation. *J Immunol* 2011; 187: 5824-5833 [PMID: 22043013 DOI: 10.4049/jimmunol.1003690]
  - 41 Asrih M, Pellieux C, Papageorgiou I, Lerch R, Montessuit C. Role of ERK1/2 activation in microtubule stabilization and glucose transport in cardiomyocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 301: E836-E843 [PMID: 21771966 DOI: 10.1152/ajpendo.00160.2011]
  - 42 Reszka AA, Seger R, Diltz CD, Krebs EG, Fischer EH. Association of mitogen-activated protein kinase with the microtubule cytoskeleton. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 8881-8885 [PMID: 7568036]
  - 43 Morishima-Kawashima M, Kosik KS. The pool of map kinase associated with microtubules is small but constitutively active. *Mol Biol Cell* 1996; 7: 893-905 [PMID: 8816996]
  - 44 Seger R, Hanoch T, Rosenberg R, Dantes A, Merz WE, Strauss JF, Amsterdam A. The ERK signaling cascade inhibits gonadotropin-stimulated steroidogenesis. *J Biol Chem* 2001; 276: 13957-13964 [PMID: 11278318]
  - 45 Lee HJ, Bach JH, Chae HS, Lee SH, Joo WS, Choi SH, Kim KY, Lee WB, Kim SS. Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase attenuates 3-hydroxykynurenine-induced neuronal cell death. *J Neurochem* 2004; 88: 647-656 [PMID: 14720214]
  - 46 Monick MM, Powers LS, Barrett CW, Hinde S, Ashare A, Groskreutz DJ, Nyunoya T, Coleman M, Spitz DR, Hunninghake GW. Constitutive ERK MAPK activity regulates macrophage ATP production and mitochondrial integrity. *J Immunol* 2008; 180: 7485-7496 [PMID: 18490749]
  - 47 Cordonnier MN, Dauzon D, Louvard D, Coudrier E. Actin filaments and myosin I alpha cooperate with microtubules for the movement of lysosomes. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 4013-4029 [PMID: 11739797]
  - 48 Matteoni R, Kreis TE. Translocation and clustering of endosomes and lysosomes depends on microtubules. *J Cell Biol* 1987; 105: 1253-1265 [PMID: 3308906 DOI: 10.1083/jcb.105.3.1253]
  - 49 van Deurs B, Holm PK, Kayser L, Sandvig K. Delivery to lysosomes in the human carcinoma cell line HEp-2 involves an actin filament-facilitated fusion between mature endosomes and preexisting lysosomes. *Eur J Cell Biol* 1995; 66: 309-323 [PMID: 7544728]
  - 50 Durrbach A, Louvard D, Coudrier E. Actin filaments facilitate two steps of endocytosis. *J Cell Sci* 1996; 109 (Pt 2): 457-465 [PMID: 8838669]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



# 启动子区甲基化对肝细胞癌锌指蛋白331表达的调控

杨志华, 郭明洲, 李鑫, 毛高平

杨志华, 安徽医科大学研究生院 安徽省合肥市 230032  
郭明洲, 李鑫, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853  
毛高平, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142  
杨志华, 主要从事消化系统肿瘤的临床与基础研究。  
作者贡献分布: 本课题由毛高平与郭明洲设计; 郭明洲指导实验操作; 杨志华负责实验操作、资料收集、数据整理及撰写论文; 李鑫参与细胞培养、DNA及RNA的提取; 文章的修改与审校由毛高平与郭明洲完成。  
通讯作者: 毛高平, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科。  
maogaoping@medmail.com.cn  
电话: 010-68410099-6232  
收稿日期: 2013-01-30 修回日期: 2013-02-06  
接受日期: 2013-03-05 在线出版日期: 2013-03-28

## Zinc-finger protein 331 expression is regulated by promoter region hypermethylation in hepatocellular carcinoma

Zhi-Hua Yang, Ming-Zhou Guo, Xin Li, Gao-Ping Mao

Zhi-Hua Yang, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China  
Ming-Zhou Guo, Xin Li, Department of Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China  
Gao-Ping Mao, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Chinese PLA, Beijing 100142, China  
Correspondence to: Gao-Ping Mao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Chinese PLA, Beijing 100142, China. maogaoping@medmail.com.cn  
Received: 2013-01-30 Revised: 2013-02-06  
Accepted: 2013-03-05 Published online: 2013-03-28

### Abstract

**AIM:** To analyze the methylation status and the expression regulation of zinc-finger protein 331 (ZNF331) in hepatocellular carcinoma.

**METHODS:** Five human hepatic cancer cell lines and 50 specimens of human primary hepatic cancer were employed to detect ZNF331 promoter region methylation by methylation specific PCR (MSP). Semi-quantitative RT-PCR was used to examine the expression of ZNF331.

**RESULTS:** Partial methylation was found in HBXF344, PLC/PRF/5, HepG2 and BEL-7402 cell

lines. Methylation was not detected in SNU449 cell line. Weak expression of ZNF331 was found in HBXF344, PLC/PRF/5, HepG2 and BEL-7402 cell lines. ZNF331 was moderately expressed in SNU449 cell line. Increased expression of ZNF331 was found in HBXF344, HepG2, BEL-7402, and PLC/PRF/5 cell lines after 5-Aza treatment. No significant change was examined in ZNF331 expression in SNU449 cell line before and after 5-Aza treatment. ZNF331 was methylated in 80% (40/50) of primary human hepatic cancer specimens, but methylation was not detectable in normal liver tissue specimens (0/10). No correlation was found between promoter region methylation and gender, age, AFP level, hepatitis virus infection, tumor size or tumor stage.

**CONCLUSION:** ZNF331 expression is silenced by promoter region hypermethylation in human hepatocellular carcinoma. ZNF331 is frequently methylated in human primary hepatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; DNA methylation; ZNF331 gene; Methylation-specific PCR

Yang ZH, Guo MZ, Li X, Mao GP. Zinc-finger protein 331 expression is regulated by promoter region hypermethylation in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 761-765 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/761.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.761>

### 摘要

**目的:** 探讨启动子区甲基化对肝细胞癌中锌指蛋白331(zinc-finger protein 331, ZNF331)表达的调控及意义。

**方法:** 采用甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP)检测ZNF331在肝癌细胞系和50例原发性肝细胞癌组织中的甲基化状况, 并采用半定量RT-PCR分析5-杂氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza)处理前后肝癌细胞系中ZNF331的表达情况。

**结果:** ZNF331在肝癌细胞系HBXF344、PLC/

### ■背景资料

表观遗传学是指在DNA序列不变的基础上, 基因表达的可遗传性改变, 包括DNA甲基化、组蛋白修饰、microRNA调控及染色体修饰等方式。肿瘤相关基因启动子区的异常高甲基化造成基因表达失活, 导致正常细胞的生长分化调控失常是肿瘤发生发展的关键, 这种异常改变多发生在肿瘤恶变早期。

### ■同行评议者

姚鹏, 副教授, 北京军区总医院全军肝病中心; 虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科



## ■研发前沿

随着表观遗传学的发展, DNA甲基化与肿瘤的关系成为研究的热点. 大量研究表明, 肿瘤发生发展过程中存在某些特异性的异常甲基化, 可作为肿瘤早期诊断及预后监测的分子生物学标志.

PRF/5、HepG2、BEL-7402中低表达, SNU449中表达正常. 5-Aza处理后HBXF344、HepG2、BEL-7402及PLC/PRF/5中ZNF331恢复表达. 50例原发性肝细胞癌标本中, ZNF331启动子区的甲基化率为80%(40/50), 而10例正常肝脏组织中ZNF331均无甲基化. ZNF331启动子区的甲基化与肝细胞癌患者的性别、年龄、肿瘤直径大小、血清甲胎蛋白值、肝炎病毒感染、分化水平及TNM分期均无关联( $P>0.05$ ).

**结论:** ZNF331启动子区高甲基化是肝癌的频发事件, ZNF331基因表达受启动子区甲基化调控.

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:** 肝细胞癌; DNA甲基化; ZNF331基因; 甲基化特异性PCR

杨志华, 郭明洲, 李鑫, 毛高平. 启动子区甲基化对肝细胞癌锌指蛋白331表达的调控. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 761-765 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/761.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.761>

## 0 引言

肝癌的发病率居恶性肿瘤的前列, 且呈逐年递增的趋势; 其预后差、病死率高, 临床危害严重. 目前手术、放化疗等治疗并未明显改善肝癌患者的预后, 因此, 临床急需进一步寻求新的治疗手段. 研究发现: 遗传调控和表观遗传调控紊乱导致基因异常表达及功能失调参与肿瘤的发生<sup>[1-3]</sup>. 其中, 抑癌基因启动子区的甲基化起着至关重要的作用<sup>[4-6]</sup>. 有别于经典遗传学, 表观遗传学的改变是可逆的, 这使其成为治疗疾病的潜在靶点<sup>[7]</sup>. 同时, 研究证实<sup>[8]</sup>: DNA异常甲基化在肿瘤形成过程中是可逆的, 这也为从表观遗传学角度治疗肿瘤提供了理论依据. 研究证实<sup>[9-11]</sup>: 锌指蛋白家族成员-锌指蛋白331(zinc-finger protein 331, ZNF331)在胃癌和多发性骨髓瘤中具有抑癌作用. 而研究其在肝细胞癌的报道鲜见. 我们研究ZNF331在肝细胞癌发生发展中表观遗传学的变化, 以了解表观遗传学在肝细胞癌发生发展中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 50例肝细胞癌组织标本来源于随机选取的2011-2012年间中国人民解放军总医院收治的50例肝细胞癌患者. 其中男37例, 女13例, 中位年龄52.3(17-79)岁, 术前均未经放疗、化疗及

免疫治疗. TNM分期 I-II期21例, III-IV期29例. 获取的新鲜标本一部分用10%甲醛溶液固定后送做病理检验, 另一部分迅速冻存于液氮, 之后迅速转存于-80℃冰箱. 10例肝正常组织来自于肝囊肿手术患者.

5株肝癌细胞系: SNU449、HBXF344、PLC/PRF/5、HepG2、BEL-7402, 均为中国人民解放军总医院消化科实验室已建立的人肝癌细胞株. 胎牛血清(FBS)及RPMI-1640培养基购自GIBCO公司; 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-dC)购自Sigma公司; TRIzol试剂盒及cDNA第一链合成试剂盒购自Invitrogen公司; DNA纯化试剂盒购自Promega公司; PCR引物均由华大基因公司合成. 细胞培养箱(MCO-20AIC型)和超低温冰箱由日本Sanyo公司生产; 超净工作台(Bcl-1360型)由北京亚泰科隆仪器公司生产; 倒置显微镜(CKX41型)由日本Olympus公司生产; 凝胶电泳仪(DYY-8C型)由北京六一仪器公司生产; 循环水式多用真空泵(SHB-III型)由郑州长城科工贸有限公司生产; 高速冷冻离心机(HC-2518R型)由科大创新中佳分公司生产.

**1.2 方法** 采用甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP)和半定量RT-PCR技术检测肝癌细胞系中ZNF331启动子区甲基化与基因表达情况, 并用甲基化酶抑制剂5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza)处理肝癌细胞系, 比较药物处理前后ZNF331 mRNA的表达, 以确定ZNF331基因的表达是否受启动子区甲基化调控, 具体步骤如下.

**1.2.1 细胞培养和5-Aza处理:** 5株肝癌细胞均为贴壁细胞, 均用含10%小牛血清和1%青霉素-链霉素的RMPI 1640培养基培养. 根据不同细胞的生长速度, 取对数生长期细胞按照10%-20%融合度分别接种于75 cm<sup>2</sup>培养瓶中, 每株细胞接种2瓶, 为加药组和未处理组. 待细胞贴壁后, 加药组用含5-Aza(2 μmol/L)的上述培养基培养, 每24 h更换1次培养基, 96 h后提取总RNA. 未处理组每24 h更换培养基1次, 在细胞融合度达70%左右提取总RNA. 培养环境37℃, 5%CO<sub>2</sub>.

**1.2.2 DNA和RNA的提取:** 肝细胞癌组织和细胞的DNA用蛋白酶K法提取, 用TRIzol试剂盒提取细胞总RNA, 提取的DNA和RNA用紫外分光光度计测定其浓度和纯度, 琼脂糖凝胶电泳检测RNA质量, DNA保存于-20℃, RNA保存于-80℃备用.

**1.2.3 DNA亚硫酸氢盐修饰:** 参照文献[9]对基因

## ■创新盘点

ZNF331是新近发现的一个抑癌基因. 研究表明其能够抑制胃癌的生长, 但在肝细胞癌中的未见相关报道. 本文研究ZNF331在正常肝组织、肝癌组织和肝癌细胞系的甲基化情况及ZNF331甲基化对ZNF331表达影响.

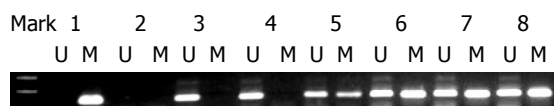


图 1 5株肝癌细胞系ZNF331基因启动子区甲基化特异性PCR分析结果。1: 甲基化阳性对照; 2: 为阴性对照; 3: 非甲基化对照; 4-8: 5个肝癌细胞系依次是SNU449, HBXF344, PLC/PRF/5, HepG2和BEL-7402; U: 非甲基化条带; M: 甲基化条带。

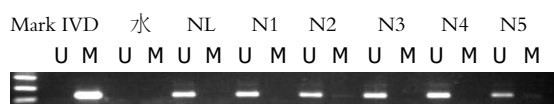


图 2 部分正常肝组织ZNF331基因启动子区甲基化特异性PCR分析结果。IVD: 甲基化阳性对照; 水: 为阴性对照, NL: 非甲基化对照; N1-N5为5例正常肝组织; U: 非甲基化条带; M: 甲基化条带。

组DNA进行亚硫酸氢盐修饰, 用DNA纯化试剂盒纯化回收DNA, 修饰后DNA作为MSP扩增的模板(即刻使用或保存于-20℃备用)。

1.2.4 甲基化特异性PCR(MSP)扩增: 设计ZNF331的特异性甲基化引物(ZNF331-M)和特异性非甲基化引物(ZNF331-U): (1)ZNF331-M: 上游5'-TAAGGTAGGACGTTTTTAGGGTCGC-3', 下游5'-AACTCTACACGACGCAAATAAAACCG-3', 产物为147 bp; (2)ZNF331-U: 上游5'-TTTTAAGGTAGGATGTTTTTAGGGTTGT-3', 下游5'-ACAACCTCTACACAACACAAATAAAACCA-3', 产物为152 bp。对亚硫酸盐修饰后的DNA样本进行PCR扩增。以IVD(*in vitro* methylated DNA)作为甲基化阳性对照, 以ZNF331非甲基化的人外周血淋巴细胞提取的DNA作为非甲基化对照, 以去离子水作为阴性对照。

1.2.5 MSP产物分析: 取10 μL PCR产物于2.0%的琼脂糖凝胶, 130 V电泳约25 min。判定标准: 若ZNF331-M引物扩增出147 bp条带, 而ZNF331-U引物未扩增出条带, 则说明ZNF331基因启动子区发生了完全甲基化; 如ZNF331-M引物未扩增出条带, 而ZNF331-U引物扩增出152 bp条带, 即说明未发生甲基化; 如果两种引物均扩增出相应大小的目的条带, 说明存在部分甲基化。

1.2.6 RT-PCR检测ZNF331 mRNA的表达: 以提取的总RNA为模板, 按照反转录第一链cDNA合成试剂盒说明逐步进行cDNA的合成。ZNF331基因引物设计: 上游5'-TAGGTCAGCTCTAGCCTCTC-3', 下游5'-AGCGTACCTTCACATATCCAG-3', 产物为347 bp。以水作为阴性对



图 3 部分肝癌组织ZNF331基因启动子区甲基化特异性PCR分析结果。IVD: 甲基化阳性对照; 水: 为阴性对照; NL: 非甲基化对照; T1-T5为5例肝癌组织。

照, 同时以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参基因。PCR产物用2.0%琼脂糖凝胶电泳, 凝胶图像处理系统观察、拍照并分析ZNF331基因mRNA的表达水平。

统计学处理 采用SPSS17.0软件包进行统计分析, 计数资料采用 $\chi^2$ 、校正 $\chi^2$ 或Fisher确切概率法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 MSP检测结果 5株肝癌细胞系中ZNF331启动子区甲基化率为83.3%(5/6), HBXF344、PLC/PRF/5、HepG2和BEL-7402表现为部分甲基化, 而SNU449为非甲基化(图1); 10例正常肝组织中均未检测到甲基化(图2); 50例HCC组织中ZNF331基因甲基化率为80%(图3), 其中10例呈完全甲基化、30例呈半甲基化状态。

2.2 启动子区甲基化对ZNF331基因表达的调控 5株肝癌细胞系, 5-Aza药物处理前后, SNU449细胞系中ZNF331表达无明显变化, 而余细胞系加药处理后ZNF331明显高表达(图4)。结果提示ZNF331基因表达受启动子区甲基化调控。

2.3 肝癌患者的临床指标与ZNF331基因启动子区甲基化关系 由表1可知, ZNF331基因启动子区甲基化水平与患者的性别、年龄、肿瘤直径大小、甲胎蛋白水平、乙型肝炎和/或丙型肝炎病毒感染、肿瘤分化水平及TNM分期均无相关性( $P$ 均 $>0.05$ )。

## 3 讨论

表观遗传学是指不伴有基因序列改变的、可遗传的基因表达改变<sup>[10]</sup>。研究证实<sup>[12,13]</sup>: DNA甲基化和组蛋白修饰等表观遗传学改变在肝癌发生发展过程中发挥着重要的作用。DNA甲基化作为表观遗传调控的重要机制之一, 主要调控靶基因的转录, 在肿瘤细胞分化和增殖中发挥重要的作用<sup>[14]</sup>。甲基化沉默的抑癌基因已成为目前肝癌机制研究的热点。研究发现<sup>[15-18]</sup>: LIFR、APC、sall3及miR-335等抑癌基因均因启动子区高甲基化导致其低表达, 且与肝癌的发生密切相关。而肿瘤相关基因的甲基化是肝癌发生过

## ■应用要点

本研究有助于明确肝细胞癌中ZNF331的甲基化状况, 为临床肝癌的早期诊断提供分子生物学标志奠定理论基础。进一步研究ZNF331在肝癌发展中的作用, 为肝细胞癌分子靶向治疗提供理论支持。从而可能使肝癌患者摆脱目前的临床早期诊断及治疗困境。

## ■名词解释

锌指蛋白: 一类具有手指状结构域的转录因子, 其在胚胎发育、细胞分化、细胞转化及细胞周期的调控中发挥重要功能, 并随时间和空间的不同进行特异表达。

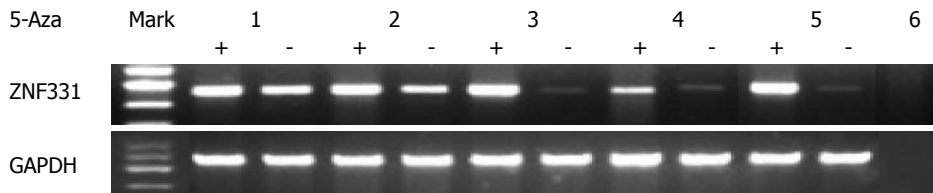


图4 甲基化抑制剂5-Aza处理前后肝癌细胞系中ZNF331表达的变化. 1-5: 5个肝癌细胞系依次是SNU449、HBXF344、HepG2、BEL-7402和PLC/PRF/5; 6(水): 阴性对照. ZNF331: 锌指蛋白331; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; +: 加5-Aza处理; -: 未加5-Aza处理.

表1 ZNF331基因启动子区甲基化与肝癌患者临床指征的关系

病理特征	n	甲基化	$\chi^2$ 值	P值
性别			0.526	0.468
男	37	31		
女	13	9		
年龄(岁)			0.052	0.820
≤50	16	12		
>50	34	28		
肿瘤直径大小(cm)			0.130	0.718
≤5	20	15		
>5	30	25		
甲胎蛋白(ng/mL)			1.048	0.306
≤200	36	27		
>200	14	13		
病毒感染			0.526	0.468
HBV和/或HCV	37	31		
无HBV和HCV	13	9		
分化水平			3.125	0.077
高	5	2		
中、低	45	38		
TNM分期			0.867	0.352
I-II	21	15		
III-IV	29	25		

程中频发的早期事件, 因此可以通过甲基化标志物检测进行肝癌的早期诊断. 本研究结果发现: 肝细胞癌中ZNF331启动子区甲基化率高达80%, 这提示ZNF331启动子区高甲基化在肝癌发生发展中较为普遍, 可作为临床对肝癌早期检测的理想候选指标.

ZNF331(又称ZNF361、ZNF463及RITA), 定位于染色体19q13, 是由Kruppel相关盒(Kruppel-associated box, KRAB)结构域和12个重复串联的C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>锌指结构域构成的锌指蛋白基因, 因其含KRAB结构域故被称为KRAB型锌指蛋白. KZNF(KRAB-containing zinc finger protein)是锌指类转录因子中最为庞大的一类<sup>[19]</sup>. KRAB结构域通过募集组蛋白甲基化酶、组蛋白去乙酰化酶复合物及异染色质蛋白等使靶基因沉默. 因

此, KRAB-ZF常作为转录抑制因子发挥作用, 与核仁的维持、细胞增殖、分化、凋亡以及细胞的恶性转化等密切相关. ZNF331参与精子的形成, 在胚胎发育、细胞增殖、分化、凋亡及调控细胞内信号传导等多种细胞生物学行为中起着重要的作用<sup>[20-22]</sup>. ZNF331抑制肿瘤生长主要是通过间接活化p53信号通路抑制细胞增殖, 诱导凋亡<sup>[23,24]</sup>.

目前, ZNF331在肝癌的相关研究未见报道. 本研究发现: 肝癌细胞系与肝癌组织中ZNF331基因启动子区甲基化率明显高于正常肝组织. ZNF331基因启动子区高甲基化在肝癌中普遍发生, 这表明ZNF331甲基化可能成为肝癌的早期诊断标志物. 我们应用甲基化酶抑制剂5-Aza, 降低甲基化水平, 结果显示: 肝癌细胞系ZNF331基因恢复其正常表达, ZNF331表达受甲基化调控. 这提示ZNF331基因在转录水平因启动子区高甲基化导致表达失活, 在肝癌的发生发展中可能发挥着重要的作用. 目前, 基因甲基化与肝炎病毒感染等临床病理特征是否有确切的相关性尚存争议, 本研究发现: ZNF331甲基化与患者的性别、年龄、甲胎蛋白水平、乙肝病毒感染、肿瘤TNM分期、分化水平及直径大小等无相关性 ( $P>0.05$ ).

总之, 本研究显示ZNF331启动子区甲基化与肝癌的发生密切相关, 可能作为肝癌诊断的标志物, 并为进一步认识肝癌的发病机制奠定了基础. 后期实验可进一步行ZNF331在肝细胞癌中的功能研究, 以明确其在肝癌发生发展中的作用及在肝细胞癌中是否发挥抑癌作用, 从而为肝细胞癌的表现遗传分子靶向治疗奠定理论基础.

## 4 参考文献

- Dumitrescu RG. Epigenetic targets in cancer epidemiology. *Methods Mol Biol* 2009; 471: 457-467 [PMID: 19109794 DOI: 10.1007/978-1-59745-416-2\_23]
- Piperi C, Vlastos F, Farmaki E, Martinet N, Papavasiliou AG. Epigenetic effects of lung cancer predisposing factors impact on clinical diagnosis and



- prognosis. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 1495-1501 [PMID: 18363846 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00309.x]
- 3 Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell* 2007; 128: 683-692 [PMID: 17320506 DOI: 10.1016/j.cell.2007.01.029]
  - 4 Chen YL, Ko CJ, Lin PY, Chuang WL, Hsu CC, Chu PY, Pai MY, Chang CC, Kuo MH, Chu YR, Tung CH, Huang TH, Leu YW, Hsiao SH. Clustered DNA methylation changes in polycomb target genes in early-stage liver cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 290-296 [PMID: 22842566 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.084]
  - 5 Zhao C, Bu X. Promoter methylation of tumor-related genes in gastric carcinogenesis. *Histol Histopathol* 2012; 27: 1271-1282 [PMID: 22936446]
  - 6 Mao J, Yu H, Wang C, Sun L, Jiang W, Zhang P, Xiao Q, Han D, Saiyin H, Zhu J, Chen T, Roberts LR, Huang H, Yu L. Metallothionein MT1M is a tumor suppressor of human hepatocellular carcinomas. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2568-2577 [PMID: 22971577 DOI: 10.1093/carcin/bgs287]
  - 7 Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429: 457-463 [PMID: 15164071 DOI: 10.1038/nature02625]
  - 8 Tao SF, Zhang CS, Guo XL, Xu Y, Zhang SS, Song JR, Li R, Wu MC, Wei LX. Anti-tumor effect of 5-aza-2'-deoxycytidine by inhibiting telomerase activity in hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2334-2343 [PMID: 22654424 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2334]
  - 9 Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9821-9826 [PMID: 8790415 DOI: 10.1073/pnas.93.18.9821]
  - 10 Berger SL, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shilatifard A. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev* 2009; 23: 781-783 [PMID: 19339683 DOI: 10.1101/gad.1787609]
  - 11 Moribe T, Iizuka N, Miura T, Kimura N, Tamatsukuri S, Ishitsuka H, Hamamoto Y, Sakamoto K, Tamesa T, Oka M. Methylation of multiple genes as molecular markers for diagnosis of a small, well-differentiated hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2009; 125: 388-397 [PMID: 19384946 DOI: 10.1002/ijc.24394]
  - 12 Bai X, Wu L, Liang T, Liu Z, Li J, Li D, Xie H, Yin S, Yu J, Lin Q, Zheng S. Overexpression of myocyte enhancer factor 2 and histone hyperacetylation in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 83-91 [PMID: 17611778 DOI: 10.1007/s00432-007-0252-7]
  - 13 Kondo Y, Shen L, Suzuki S, Kurokawa T, Masuko K, Tanaka Y, Kato H, Mizuno Y, Yokoe M, Sugauchi F, Hirashima N, Orito E, Osada H, Ueda R, Guo Y, Chen X, Issa JP, Sekido Y. Alterations of DNA methylation and histone modifications contribute to gene silencing in hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2007; 37: 974-983 [PMID: 17584191 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00141.x]
  - 14 Scusi EL, Loose DS, Wray CJ. Clinical implications of DNA methylation in hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 369-376 [PMID: 21609368 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00303.x]
  - 15 Okamura Y, Nomoto S, Kanda M, Li Q, Nishikawa Y, Sugimoto H, Kanazumi N, Takeda S, Nakao A. Leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) is detected as a novel suppressor gene of hepatocellular carcinoma using double-combination array. *Cancer Lett* 2010; 289: 170-177 [PMID: 19733004 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.08.013]
  - 16 Jain S, Chang TT, Hamilton JP, Lin SY, Lin YJ, Evans AA, Selaru FM, Lin PW, Chen SH, Block TM, Hu CT, Song W, Meltzer SJ, Su YH. Methylation of the CpG sites only on the sense strand of the APC gene is specific for hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2011; 6: e26799 [PMID: 22073196 DOI: 10.1371/journal.pone.0026799]
  - 17 Yang XX, Sun JZ, Li FX, Wu YS, Du HY, Zhu W, Li XH, Li M. Aberrant methylation and downregulation of sall3 in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2719-2726 [PMID: 22690083 DOI: 10.3748/wjg.v18.i21.2719]
  - 18 Dohi O, Yasui K, Gen Y, Takada H, Endo M, Tsuji K, Konishi C, Yamada N, Mitsuyoshi H, Yagi N, Naito Y, Tanaka S, Arii S, Yoshikawa T. Epigenetic silencing of miR-335 and its host gene MEST in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2013; 42: 411-418 [PMID: 23229728 DOI: 10.3892/ijo.2012.1724]
  - 19 Bellefroid EJ, Poncelet DA, Lecocq PJ, Revelant O, Martial JA. The evolutionarily conserved Krüppel-associated box domain defines a subfamily of eukaryotic multifingered proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 3608-3612 [PMID: 2023909 DOI: 10.1073/pnas.88.9.3608]
  - 20 Rippe V, Belge G, Meiboom M, Kazmierczak B, Fusco A, Bullerdiek J. A KRAB zinc finger protein gene is the potential target of 19q13 translocation in benign thyroid tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 26: 229-236 [PMID: 10502321 DOI: 10.1002/(SICI)1098-2264(199911)26:3<229::AID-GCC7>3.0.CO;2-J]
  - 21 Meiboom M, Murua Escobar H, Pentimalli F, Fusco A, Belge G, Bullerdiek J. A 3.4-kbp transcript of ZNF331 is solely expressed in follicular thyroid adenomas. *Cytogenet Genome Res* 2003; 101: 113-117 [PMID: 14610350 DOI: 10.1159/000074165]
  - 22 Yu J, Liang QY, Wang J, Cheng Y, Wang S, Poon TC, Go MY, Tao Q, Chang Z, Sung JJ. Zinc-finger protein 331, a novel putative tumor suppressor, suppresses growth and invasiveness of gastric cancer. *Oncogene* 2013; 32: 307-317 [PMID: 22370639 DOI: 10.1038/onc.2012.54]
  - 23 Enge M, Bao W, Hedström E, Jackson SP, Moumen A, Selivanova G. MDM2-dependent down-regulation of p21 and hnRNP K provides a switch between apoptosis and growth arrest induced by pharmacologically activated p53. *Cancer Cell* 2009; 15: 171-183 [PMID: 19249676 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.01.019]
  - 24 Saha MN, Jiang H, Mukai A, Chang H. RITA inhibits multiple myeloma cell growth through induction of p53-mediated caspase-dependent apoptosis and synergistically enhances nutlin-induced cytotoxic responses. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 3041-3051 [PMID: 21062913 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0471]

# 同行评价

本文具有一定的新颖性, 也有重要的临床意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 维生素D与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展

朴熙绪, 韩红梅

## ■背景资料

维生素D是一种人体必需的脂溶性甾醇类衍生物, 因其生物学作用广泛被视为一种甾醇类激素。人们熟知的维生素D的作用是其钙磷代谢和抗佝偻病作用。近年的研究表明, 维生素D参与细胞的增殖、分化与凋亡, 具有免疫调节、抗炎、抗纤维化等多种功能, 并且与代谢综合征, 不同病因的慢性肝病有一定关系。维生素D与NAFLD相关的研究领域已取得一些进展。

## ■同行评议者

张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病); 刘长征, 副教授, 中国医学科学院基础医学研究所

朴熙绪, 韩红梅, 延边大学附属医院消化内科 吉林省延吉市 133000

朴熙绪, 教授, 主要从事慢性肝病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本综述由朴熙绪与韩红梅共同完成; 由朴熙绪审校。

通讯作者: 朴熙绪, 教授, 133000, 吉林省延吉市局子街1327号, 延边大学附属医院消化内科。xixupiao@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-02-20

接受日期: 2013-03-08 在线出版日期: 2013-03-28

## Relationship between vitamin D and nonalcoholic fatty liver disease

Xi-Xu Piao, Hong-Mei Han

Xi-Xu Piao, Hong-Mei Han, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, Jilin Province, China

Correspondence to: Xi-Xu Piao, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, 1327 Juzi Street, Yanji 133000, Jilin Province, China. xixupiao@yahoo.com.cn

Received: 2013-01-28 Revised: 2013-02-20

Accepted: 2013-03-08 Published online: 2013-03-28

## Abstract

Vitamin D is an important secosteroid hormone with pleiotropic effects, including regulation of cell proliferation, differentiation, apoptosis, and immunomodulation. Recently certain evidence has indicated that insufficiency of vitamin D or vitamin D deficiency is related to nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Subjects with NAFLD have lower serum vitamin D levels than controls, and low vitamin D levels are closely associated with histologic severity of steatosis, necrosis, inflammation and fibrosis in NAFLD. Vitamin D-deficient diet aggravated high fat diet-induced hepatic inflammation in NAFLD models, while vitamin D supplementation improved hepatic histopathology. Vitamin D may act as a regulator in NAFLD through activating VDR and controlling various genes. Modulating hepatic stellate cells is an important mechanism underlying the antifibrotic effect of vitamin D in NAFLD. Vitamin D is a potential drug for treatment for NAFLD, and further prospective RCT studies are required to acquire sufficient

evidence.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Vitamin D; Vitamin D receptor; Nonalcoholic fatty liver disease; Liver fibrosis

Piao XX, Han HM. Relationship between vitamin D and nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 766-772 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.766>

## 摘要

维生素D是一种具有广泛生物学活性的重要开环甾醇类激素, 对机体细胞增殖、分化、凋亡、免疫调节等均有重要作用。近年的研究表明维生素D不足或缺乏与非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)相关。NAFLD患者血清25(OH)D水平低于对照人群, 低血清25(OH)D水平与患者的肝组织脂肪变性、炎症、纤维化程度有相关关系。维生素D缺乏饮食可加重NAFLD模型动物肝组织炎症, 补充维生素D可减轻肝组织病理改变。维生素D对NAFLD作用可能通过其受体VDR介导, 经众多基因调控实现。维生素D对肝星状细胞的调节可能是其抗非酒精性脂肪性肝纤维化的重要机制。至今的研究提示维生素D有望成为NAFLD的治疗药物, 但需要更多高质量实验和循证医学的证据。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 维生素D; 维生素D受体; 非酒精性脂肪性肝病; 肝纤维化

朴熙绪, 韩红梅. 维生素D与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(9): 766-772 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.766>

## 0 引言

维生素D是一种人体必需的脂溶性甾醇类衍生物, 因其生物学作用广泛而视为一种甾醇类激

素。人们最熟知的维生素D的作用是其钙磷代谢的调节和抗佝偻病作用。近年的研究表明, 维生素D参与细胞的增殖、分化及凋亡, 具有免疫调节、抗炎、抗氧化、抗纤维化、抗肿瘤等多种生物学功能<sup>[1-11]</sup>。维生素D的这些功能与不同病因的慢性肝病的发生发展有一定关系<sup>[12-16]</sup>。本文对维生素D代谢、机体维生素D不足及其与非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)关系的研究现状做简要综述。

## 1 维生素D的合成与代谢

机体维生素D的主要来源是皮肤合成, 少部分来自饮食。植物含维生素D<sub>2</sub>, 动物含D<sub>3</sub>。在阳光中波长290-315 nm的紫外线作用下皮肤内胆固醇代谢物7-脱氢胆固醇转化为维生素D<sub>3</sub>的前体物, 后者以热依赖过程迅速转化为维生素D<sub>3</sub>, 但过度的阳光照射并不引起维生素D中毒, 因为过量的维生素D还可被阳光破坏<sup>[17]</sup>。机体内少量的维生素D来自饮食, 如肥鱼、蛋黄、受紫外线照射的蘑菇类、补充食品等。饮食来源的维生素D<sub>2</sub>和D<sub>3</sub>在胆汁酸作用下由肠道吸收并以乳糜微粒形式经淋巴引流入静脉血流。皮肤和饮食来源的维生素D可储藏在体内脂肪细胞或可直接到达肝脏, 在肝脏25羟化酶作用下经羟化反应形成25羟维生素D[25(OH)D]。25羟化酶是细胞色素P450的亚型, 包括微粒体CYP2R1和线粒体CYP27A1酶。25(OH)D是血液中维生素D的主要形式, 尚无生物学活性, 因其半衰期较长(2-3 wk), 常作为检测机体维生素D储备状态的指标。血液中25(OH)D绝大多数(88%)与维生素D连接蛋白(vitamin D-binding protein, DBP)结合。DBP是分子量58 kDa的α-巨球蛋白, 在肝内合成, 是位于第4号染色体的白蛋白基因家族成员之一, 与白蛋白, 甲胎蛋白有高度同源系列<sup>[18]</sup>。DBP有多态性, 常见亚型有Gc1F、Gc1S和Gc2, 其中Gc1F对维生素D的亲合力最强, 这些亚型分布有显著的种族差异<sup>[19]</sup>。DBP除了携带维生素D的作用外还具有抗炎和免疫调节的作用<sup>[20,21]</sup>。

维生素D活化的最后步骤是25(OH)D在肾脏近曲小管内1α羟化酶(CYP27β1)作用下经1α羟化反应形成具有生物学活性的1,25二羟维生素D[1,25(OH)<sub>2</sub>D], 这一反应也可少量地发生于非肾脏组织细胞, 如淋巴细胞和甲状旁腺组织。1,25(OH)<sub>2</sub>D大多(85%)与维生素D连接蛋白结合, 其半衰期仅约4 h。维生素D的1α羟化作用受血清钙磷浓度, 甲状旁腺激素, 降钙素, 成纤维细胞

生长因子2,3和CYP27β1基因多态性的影响。机体1,25(OH)<sub>2</sub>D的状态受负反馈调节, 过量时自身合成减少或可通过上调25羟维生素D-24-羟化酶(CYP24A1)表达促进1,25(OH)<sub>2</sub>D的分解, 其分解代谢产物由胆汁排泄<sup>[22]</sup>。1,25(OH)<sub>2</sub>D是激活维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)的配体。细胞核内VDR通常与类维生素A受体形成二聚体, 经维生素D激活与靶基因启动区的维生素D反应元件连接而发挥转录因子的作用, 介导各种生理学反应。1,25(OH)<sub>2</sub>D还有一种更迅速的非基因途径的作用, 即配体直接连接到细胞壁小凹的VDR而起作用, 如在胰岛β细胞或心肌细胞中这一途径增加细胞内可利用钙, 经钙依赖信号途径调节各种生理反应<sup>[23,24]</sup>。1,25(OH)<sub>2</sub>D是激活基因途径还是非基因途径VDR取决于其构象的变化。1,25(OH)<sub>2</sub>D构象的改变是随机发生还是主动调节尚不清楚, 但这种构象的改变和配体-VDR复合体形成的模式, 有助于理解维生素D更广泛的生理学作用<sup>[25]</sup>。

VDR在机体许多组织细胞中表达, 包括肝、胰腺和几种免疫细胞-单核细胞、巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤(natural killer cell, NK)细胞等, 特别在胃肠道上皮细胞中表达最丰富。作为1,25(OH)<sub>2</sub>D激活的转录因子VDR直接或间接调节200种以上基因的表达, 从而影响细胞增殖, 分化和凋亡, 调节免疫和血管的生成等。利用VDR敲除小鼠的研究正在兴起, 将揭示维生素D更为广泛的生理学功能<sup>[22]</sup>。

## 2 维生素D不足及其相关因素

血清25(OH)D浓度是反映机体维生素D储备的客观指标, 但其正常范围的界定并不完全一致。一般认为正常人血清25(OH)D浓度为75-120 nmol/L(30-50 ng/mL), 25(OH)D<50 nmol/L(<20 ng/mL)定义为维生素D缺乏, 50-75 nmol/L(20-30 ng/mL)为维生素D不足<sup>[26-29]</sup>。按此定义估计, 全球约10亿人有维生素D不足或缺乏<sup>[30]</sup>。

阳光紫外线暴露不足是人体维生素D不足的最主要因素。现代工业所致空气污染阻滞维生素D合成必需的紫外线辐射, 现代人类生活方式如服饰、工作、旅游和室内运动等均可减少皮肤紫外线照射。为防止皮肤老化和癌症, 人们越来越有意识地利用太阳伞或防晒化妆品来减少阳光照射也是造成机体维生素D不足的重要因素。随着社会发展人类生命逐渐延长, 且维

### ■ 相关报道

维生素D缺乏在慢性肝病中比较常见, 特别在慢性丙型肝炎患者中维生素D缺乏可预测抗病毒疗效不佳, 补充维生素D可提高慢性丙型肝炎患者持久的病毒学应答。较多横向和纵向流行病学研究报道维生素D不足或缺乏与代谢综合征及其组分有关, 可能是部分代谢综合征及组分发生的环境因素, 在维生素D不足或缺乏人群中补充维生素D有一定防治代谢综合征的作用。非酒精性脂肪肝病(NAFLD)是代谢综合征的组成成分, 但有关维生素D与NAFLD相关的研究较少。



### ■创新盘点

本文比较系统地复习了维生素D的代谢和维生素D不足的原因,阐述了维生素D与NAFLD相关的研究进展,反映了该领域研究的概况,文献内容较新颖。

生素D的皮肤合成和肠道吸收均随年龄增长而减少。现代许多非强化食物所含维生素D明显少于野生的含油海鱼、淡水鱼、鱼肝油和卵黄等<sup>[30,31]</sup>。机体内维生素D的分布也影响血清维生素D含量。越来越多的肥胖可能通过脂肪细胞内滞留过多而减少血清25(OH)D。肥胖者与非肥胖者的脂肪组织以同样的浓度储存维生素D,因此经口摄入或皮肤合成的维生素D在肥胖者大量脂肪组织中稀释,导致血清维生素D含量下降<sup>[32,33]</sup>。各种原因的吸收不良性体重下降时血清维生素D浓度也下降。可见体质量改变是该领域研究容易混淆的问题。现在维生素D不足已经越来越成为世界范围倍受关注的问题<sup>[34,35]</sup>。另一方面遗传因素也影响机体的维生素D状态。维生素D轴相关基因多态性与血清维生素D浓度相关,包括维生素D连接蛋白,维生素D受体和 $\alpha 1$ 羟化酶基因多态性<sup>[36]</sup>。

### 3 维生素D不足与NAFLD的关系

NAFLD是影像学或组织学证实的肝脏的脂肪变性而无继发脂肪肝的原因,如大量饮酒、促脂肪肝药物、遗传性疾病等。NAFLD与代谢危险因素,如肥胖、糖尿病、脂质紊乱相关。组织学上可分为非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)和非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH),后者可发展为肝硬化、肝癌<sup>[37]</sup>。在发达国家NAFLD是最常见的肝病,发病率高达20%-30%<sup>[38]</sup>,约30%NAFLD患者有组织学证实的NASH<sup>[39]</sup>。NAFLD与代谢综合征密切相关,是代谢综合征的组成成分,其发病机制尚不完全清楚,一般认为胰岛素抵抗是肝脏脂肪变性的关键。

目前维生素D缺乏与代谢综合征主成分肥胖,血脂紊乱,高血糖和高血压等相关研究较多,相关证据也比较充分<sup>[40]</sup>,但维生素D与NAFLD相关研究较少。

个别研究结果血清维生素D水平与NAFLD之间并无独立相关性。在1 630例12-19岁美国青少年为对象的研究中,将血清ALT>30 U/L定义为可疑NAFLD,血清25(OH)D含量由低到高4个组的可疑NAFLD构成比分别为12.1%、6.9%、8.0%和13.17%( $P=0.05$ ),多元回归分析结果可疑NAFLD与男性及超质量有关,在排除肥胖因素后维生素D与可疑NAFLD之间并无相关关系<sup>[41]</sup>。

目前多数研究结果支持维生素D缺乏与NAFLD之间有相关关系。首先,NAFLD患者血

清维生素D浓度较低,低浓度血清维生素D水平增加NAFLD的风险。意大利糖尿病和代谢病临床就诊的262例个体中,162例NAFLD患者的血清25(OH)D水平显著低于无NAFLD者( $14.8 \text{ ng/mL} \pm 9.2 \text{ ng/mL}$  vs  $20.5 \text{ ng/mL} \pm 9.7 \text{ ng/mL}$ ,  $P<0.001$ , OR 0.95, 95%CI: 0.92-0.98),在调整性别、年龄、甘油三酯、高密度脂蛋白、高血糖等因素后NAFLD与血清25(OH)D水平之间呈独立相关关系( $P<0.005$ ),在调整性别,年龄,胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)后25(OH)D水平与脂肪肝指数之间呈显著负相关( $P<0.007$ )<sup>[42]</sup>。据韩国的一份最新报告,在6 567例研究对象中,2 863例NAFLD患者的血清25(OH)D水平低于3 704例正常人( $38.7 \text{ nmol/L} \pm 9.0 \text{ nmol/L}$  vs  $39.7 \pm 9.7 \text{ nmol/L}$ ,  $P<0.001$ ),血清25(OH)D低中高水平者中NAFLD的比例分别为45.9%、45.0%和40.0%( $P<0.001$ ),提示低水平血清维生素D增加NAFLD的风险<sup>[43]</sup>。

其次,NAFLD患者的血清维生素D水平与肝脏组织学严重程度相关。Targher等<sup>[44]</sup>报告,60例肝活检证实的NAFLD患者的血清25(OH)D浓度显著低于年龄、性别、体质量指数相配对的健康对照( $51.0 \text{ nmol/L} \pm 22.0 \text{ nmol/L}$  vs  $74.5 \text{ nmol/L} \pm 15.0 \text{ nmol/L}$ ,  $P<0.001$ ),下降的血清25(OH)D浓度与肝组织脂肪变性、坏死性炎症、纤维化严重程度密切相关( $P<0.001$ )。另有一组64例活检证实的NAFLD儿童(平均年龄 $12.6 \text{ 岁} \pm 2.7 \text{ 岁}$ )中平均血清25(OH)D<sub>3</sub>浓度 $21.9 \text{ ng/mL} \pm 10.2 \text{ ng/mL}$ ,35例肝纤维化患儿的25(OH)D<sub>3</sub>水平显著低于29例无纤维化患儿( $17.1 \text{ ng/mL} \pm 7.4 \text{ ng/mL}$  vs  $27.7 \text{ ng/mL} \pm 10.3 \text{ ng/mL}$ ,  $P<0.0001$ ),低水平25(OH)D<sub>3</sub>与肝组织纤维化( $P<0.0001$ )及炎症坏死程度( $P=0.024$ )相关;低25(OH)D<sub>3</sub>水平预测肝纤维化的敏感性为79%,特异性达63%<sup>[45]</sup>。

少数实验研究也支持维生素D与NAFLD相关。Nakano等<sup>[46]</sup>在胆碱缺乏饮食诱导的大鼠非酒精性脂肪性肝炎模型中,用人工阳光照射结果,随着活性维生素D<sub>3</sub>水平的升高,肝组织炎症和纤维化得到显著改善。高脂饮食加维生素D缺乏饮食饲养的SD幼鼠与单纯高脂饮食饲养者比较显示更明显的肝小叶炎症,NAFLD活动性积分(NAS)显著升高( $3.20 \pm 0.47$  vs  $1.50 \pm 0.48$ ,  $P<0.05$ )<sup>[47]</sup>。蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的小鼠NAFLD模型中腹腔注射 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 可降低血清丙氨酸氨基转移酶和谷草转氨酶,改善肝组织脂肪变性和血管周围炎症细胞浸润程度<sup>[48]</sup>。

#### 4 维生素D对NAFLD的作用机制研究

维生素D对NAFLD的作用机制尚不完全清楚. 可能与其促进胰岛素分泌, 改善胰岛素抵抗, 抑制肝组织脂肪生成, 促进脂肪酸氧化作用有关, 其作用经VDR介导, 可能与其多种基因的调控作用有关. 维生素D通过对肝星状细胞的调节发挥其抗非酒精性脂肪性肝纤维化的作用.

NAFLD与糖尿病及胰岛素抵抗密切相关, 因此维生素D的抗NAFLD作用可能与其促进胰岛素分泌, 改善胰岛素抵抗作用有关. 早在20世纪80年代初就已发现维生素D在胰腺的靶细胞可能是胰岛 $\beta$ 细胞, 维生素D缺乏可抑制胰岛素分泌<sup>[49,50]</sup>. 新近的体外实验表明, 维生素D<sub>3</sub>通过与其受体结合, 降低细胞因子诱导的胰腺 $\beta$ 细胞凋亡, 改善胰岛素分泌<sup>[51]</sup>, 可通过调节胰岛 $\beta$ 细胞内钙浓度, 抵抗 $\beta$ 细胞凋亡, 促进 $\beta$ 细胞增殖等途径影响胰岛素分泌<sup>[52]</sup>.

已有不少研究提示, 维生素D不足与胰岛素抵抗相关, 补充维生素D可改善胰岛素抵抗. 494例日本成年人中血清25(OH)D水平与胰岛素抵抗指标HOMA-IR呈显著负相关( $P = 0.01$ ), 与25(OH)D含量正常组相比HOMA-IR指数在25(OH)D不足组高5%, 25(OH)D缺乏组高18%, 提示维生素D状态与胰岛素抵抗相关<sup>[53]</sup>.

肝组织脂肪生成过多和分解减少是肝内脂肪过多沉积的直接原因. 给SD大鼠分别给予正常饮食, 高脂饮食或高脂饮食加1.0、2.5和5.0  $\mu\text{g/kg}$  1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>隔日1次腹腔内注射8 wk, 结果表明1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>可预防HFD诱导的大鼠体质量和肝脏重量增加, 剂量依赖地减轻肝脏脂肪变性, 下调肝组织中参与脂肪生成的胆固醇调节元件蛋白-1c(SREBP-1c)及其靶基因乙酰辅酶A羧化酶和脂肪酸合成酶mRNA表达, 上调肝组织中参与脂肪酸氧化过程的过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )及其靶基因肉毒碱棕榈酰转移酶mRNA表达, 提示1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>预防大鼠肝脏脂肪变性的作用与其抑制肝组织脂肪生成, 促进脂肪酸氧化作用有关<sup>[54]</sup>.

维生素D对NAFLD作用与体内多种受体, 细胞因子及酶的调控相关. Roth等对鼠龄25 d的SD幼鼠分别用低脂饮食, 低脂加维生素D缺乏饮食(LFD+VDD), 高脂饮食(WD)或高脂加维生素D缺乏饮食(WD+VDD)饲养10 wk后观察结果, 含VDD组的25(OH)D比对照组下降29%(95%CI: 23%-36%), 表现出显著的肝脂肪变性, 小叶炎

症及较高的NAFLD活动性积分; WD+VDD组的肝组织Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)2、TLR4、TLR9、抵抗素(resistin)、白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-4、IL-6及氧化应激标志物血红素氧化酶1(heme oxygenase, HO-1)的mRNA表达均显著高于WD组( $P < 0.05$ ); 逻辑回归分析显示, NAS积分与TLR2、4、9与内毒素受体CD14, PPAR $\gamma$ 和HO-1的mRNA表达水平之间呈显著相关关系. 研究者认为, 维生素D缺乏可提高肝组织抵抗素基因表达, 上调炎症和氧化应激基因, 可能通过内毒素, 经TLR引起NAFLD<sup>[47]</sup>. 25例非酒精性脂肪性肝炎患者的肝组织中用免疫组织化学法检测VDR、CYP2R1和CYP27A1结果, 肝内胆管细胞VDR表达与脂肪变性严重程度( $P < 0.02$ ), 小叶内炎症( $P < 0.01$ )及非酒精性脂肪性肝病积分( $P < 0.03$ )呈负相关, 肝内炎症细胞VDR阳性与肝细胞CYP2R1的表达之间呈密切相关, 提示维生素D/VDR系统可能参与NAFLD的发病过程<sup>[55]</sup>.

在蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的小鼠NAFLD模型中, 肝组织 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)和I型胶原mRNA的表达显著升高, 而5  $\mu\text{g/kg}$  1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 2次/wk腹腔注射8 wk使这些指标均显著下降( $P = 0.020$ ,  $P = 0.027$ ), 维生素D可能通过 $\alpha$ -SMA和I型胶原基因调控延缓小鼠非酒精性脂肪性肝纤维化的进程<sup>[48]</sup>.

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是各种原因的肝纤维化发生发展的关键细胞. 在各种损伤因子作用下HSC由无活性储脂细胞激活为有活性的成纤维细胞, 激活的HSC最显著标志是 $\alpha$ -SMA的表达, 可合成大量的细胞外基质特别是I型胶原在肝组织沉积而引起肝纤维化<sup>[56]</sup>. HSC还可表达基质金属蛋白酶(metalloproteinase, MMP)和组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP), MMP具有降解细胞外基质的作用, TIMP则抑制MMP的活性, 因此对肝纤维化的发生发展都有重要作用<sup>[57]</sup>. 血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)是HSC最有效的促分裂因子, 转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )是HSC细胞外基质蛋白合成的主要刺激因子<sup>[58,59]</sup>.

维生素D抗非酒精性脂肪性肝纤维化的作用可能通过对HSC的调控. 首先VDR在HSC中有明显表达, 提示维生素D可能通过HSC的VDR途径发挥其抗纤维化作用. Fickert等<sup>[60]</sup>在人肝星状细胞和肝细胞中检测了多种核受体, 包括

#### ■应用要点

本文有助于维生素D不足或缺乏在NAFLD发病中的作用及其机制的理解, 提示维生素D有望成为防治NAFLD的有效药物.

## ■同行评价

本文比较系统地介绍了维生素D的代谢,人群中维生素D不足的常见原因,比较全面地收集了维生素D与NAFLD相关的临床和基础研究的文献,内容较新颖,具有一定可读性。

核胆汁酸受体(farnesoid X receptor, FXR), 组织雄烷受体(constitutive androstane receptor, CAR), 孕烷受体(pregnenane X receptor, PXR)及VDR等, 结果发现人HSC中表达最多的是VDR, VDR在HSC的表达显著多于肝细胞( $16.1 \pm 8.3$  vs  $0.7 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ )。

研究表明VDR在静止的HSC高度表达, 当HSC激活期间VDR的表达下降40%。 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 可提高激活的HSC对VDR表达。 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 还可显著抑制PDGF诱导的HSC增殖和Cyclin D1表达50%, 抑制HSC组织金属蛋白酶抑制剂1(tissue inhibitor of metalloprotease 1, TIMP-1)的表达60%, 降下调节I型胶原 $\alpha 1$  40%, 并使基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)的活性增加30%。该研究还利用shRNA消除VDR的方法证实 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 对CyclinD1和I型胶原 $\alpha 1$ 表达的抑制作用呈VDR依赖性<sup>[61]</sup>。Seydel等<sup>[62]</sup>的研究发现, 游离脂肪酸可刺激体外培养的人肝星状细胞株LX-2细胞 $\alpha$ -SMA和TGF- $\beta$  mRNA的表达增强, 而维生素D可显著抑制游离脂肪酸对LX-2细胞 $\alpha$ -SMA和TGF- $\beta$  mRNA表达的刺激作用。这些研究表明HSC有VDR, 维生素D可经过VDR介导抑制HSC增殖和激活, 但维生素D对HSC凋亡的影响尚未见文献报道。

## 5 结论

机体维生素D主要来自皮肤, 少数从饮食摄取。体内维生素D在肝内经25羟化反应形成 $25(\text{OH})\text{D}$ , 在肾脏经1 $\alpha$ 羟化反应形成 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 。 $25(\text{OH})\text{D}$ 半衰期较长, 是反应机体维生素D储备的指标,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 是维生素D的活性形式, 经VDR介导发挥作用。现代生活方式及遗传因素与人类维生素D不足相关。NAFLD患者维生素D不足常见, 与其肝组织脂肪变性、炎症、纤维化相关、补充维生素D可改善NAFLD模型动物的肝组织病理变化。维生素D对NAFLD作用的机制尚不清楚, 可能通过VDR介导的基因调控, 抑制肝内脂肪生成, 促进脂肪酸氧化, 发挥抗炎抗纤维化等作用, 其抗非酒精性脂肪性肝纤维化作用可能通过对HSC的调控。维生素D可能是防治NAFLD的一种有效药物, 但需要更多高水平实验研究和循证医学的证据来证明。

## 6 参考文献

1 Hadjittofi C, Coran AG, Mogilner JG, Pollak Y, Mat-

ter I, Sukhotnik I. Dietary supplementation with vitamin D stimulates intestinal epithelial cell turnover after massive small bowel resection in rats. *Pediatr Surg Int* 2013; 29: 41-50 [PMID: 23114406 DOI: 10.1007/s00383-012-3205-4]

- 2 Aoi N, Inoue K, Chikanishi T, Fujiki R, Yamamoto H, Kato H, Eto H, Doi K, Itami S, Kato S, Yoshimura K.  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3 modulates the hair-inductive capacity of dermal papilla cells: therapeutic potential for hair regeneration. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 615-626 [PMID: 23197867 DOI: 10.5966/sctm.2012-0032]
- 3 Székely JL, Pataki Á. Effects of vitamin D on immune disorders with special regard to asthma, COPD and autoimmune diseases: a short review. *Expert Rev Respir Med* 2012; 6: 683-704 [PMID: 23234453 DOI: 10.1586/ers.12.57]
- 4 Stratos I, Li Z, Herlyn P, Rotter R, Behrendt AK, Mittlmeier T, Vollmar B. Vitamin d increases cellular turnover and functionally restores the skeletal muscle after crush injury in rats. *Am J Pathol* 2013; 182: 895-904 [PMID: 23260772 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.11.006]
- 5 Ferder M, Inserra F, Manucha W, Ferder L. The world pandemic of Vitamin D deficit could possibly be explained by cellular inflammatory response activity induced by the renin angiotensin system. *Am J Physiol Cell Physiol* 2013 Jan 30. [Epub ahead of print] [PMID: 23364265 DOI: 10.1152/ajpcell.00403.2011]
- 6 Golden GA, Wyatt TA, Romberger DJ, Reiff D, McCaskill M, Bauer C, Gleason AM, Poole JA. Vitamin D treatment modulates organic dust-induced cellular and airway inflammatory consequences. *J Biochem Mol Toxicol* 2013; 27: 77-86 [PMID: 23281135 DOI: 10.1002/jbt.21467]
- 7 Kono K, Fujii H, Nakai K, Goto S, Kitazawa R, Kitazawa S, Shinohara M, Hirata M, Fukagawa M, Nishi S. Anti-oxidative effect of vitamin d analog on incipient vascular lesion in non-obese type 2 diabetic rats. *Am J Nephrol* 2013; 37: 167-174 [PMID: 23406697 DOI: 10.1159/000346808]
- 8 Tan X, Li Y, Liu Y. Therapeutic role and potential mechanisms of active Vitamin D in renal interstitial fibrosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 491-496 [PMID: 17207995 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2006.11.011]
- 9 Shen CL, Samathanam C, Graham S, Dagda RY, Chyu MC, Dunn DM. Green tea polyphenols and  $1\alpha$ -OH-vitamin D attenuate chronic inflammation-induced myocardial fibrosis in female rats. *J Med Food* 2012; 15: 269-277 [PMID: 22181074 DOI: 10.1089/jmf.2011.0163]
- 10 Milczarek M, Rosinska S, Psurski M, Maciejewska M, Kutner A, Wietrzyk J. Combined colonic cancer treatment with vitamin d analogs and irinotecan or oxaliplatin. *Anticancer Res* 2013; 33: 433-444 [PMID: 23393334]
- 11 Reddy KK. Vitamin d level and Basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, and melanoma risk. *J Invest Dermatol* 2013; 133: 589-592 [PMID: 23399821 DOI: 10.1038/jid.2012.427]
- 12 Stokes CS, Volmer DA, Grünhage F, Lammert F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int* 2013; 33: 338-352 [PMID: 23402606 DOI: 10.1111/liv.12106]
- 13 Lim LY, Chalasani N. Vitamin d deficiency in patients with chronic liver disease and cirrhosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 67-73 [PMID: 22113744 DOI: 10.1007/s11894-011-0231-7]



- 14 Malham M, Peter Jørgensen S, Lauridsen AL, Ott P, Glerup H, Dahlerup JF. The effect of a single oral megadose of vitamin D provided as either ergocalciferol (D) or cholecalciferol (D) in alcoholic liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 172-178 [PMID: 22027703 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834d1755]
- 15 Ladero JM, Torrejón MJ, Sánchez-Pobre P, Suárez A, Cuenca F, de la Orden V, Devesa MJ, Rodrigo M, Estrada V, López-Alonso G, Agúndez JA. Vitamin D deficiency and vitamin D therapy in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2013; 12: 199-204 [PMID: 23396730]
- 16 Petta S, Ferraro D, Cammà C, Cabibi D, Di Cristina A, Di Marco V, Di Stefano R, Grimaudo S, Mazzola A, Levrero M, Scazzone C, Craxi A. Vitamin D levels and IL28B polymorphisms are related to rapid virological response to standard of care in genotype 1 chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2012; 17: 823-831 [PMID: 22505587 DOI: 10.3851/IMP2100]
- 17 Boucher BJ. Vitamin D insufficiency and diabetes risks. *Curr Drug Targets* 2011; 12: 61-87 [PMID: 20795936 DOI: 10.2174/138945011793591653]
- 18 White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 320-327 [PMID: 10996527 DOI: 10.1016/S1043-2760(00)00317-9]
- 19 Kamboh MI, Ferrell RE. Ethnic variation in vitamin D-binding protein (GC): a review of isoelectric focusing studies in human populations. *Hum Genet* 1986; 72: 281-293 [PMID: 3516862 DOI: 10.1007/BF00290950]
- 20 Yamamoto N, Homma S. Vitamin D3 binding protein (group-specific component) is a precursor for the macrophage-activating signal factor from lysophosphatidylcholine-treated lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 8539-8543 [PMID: 1924312 DOI: 10.1073/pnas.88.19.8539]
- 21 Metcalf JP, Thompson AB, Gossman GL, Nelson KJ, Koyama S, Rennard SI, Robbins RA. Gc-globulin functions as a chemotaxin in the lower respiratory tract. A potential mechanism for lung neutrophil recruitment in cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 844-849 [PMID: 2008995]
- 22 Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol* 2012; 57: 897-909 [PMID: 22634121 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.033]
- 23 Scholar EM, Paul S. Stimulation of tumor cell growth by vasoactive intestinal peptide. *Cancer* 1991; 67: 1561-1564 [PMID: 2001545 DOI: 10.1002/1097-0142(19910315)67:6<1561::AID-CNCR2820670617>3.0.CO;2-Z]
- 24 Norman AW. Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. *Endocrinology* 2006; 147: 5542-5548 [PMID: 16946007 DOI: 10.1210/en.2006-0946]
- 25 Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal* 2009; 2: re4 [PMID: 19531804 DOI: 10.1126/scisignal.275re4]
- 26 Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 353-373 [PMID: 16529140 DOI: 10.4065/81.3.353]
- 27 Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 18-28 [PMID: 16825677]
- 28 Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 1998; 351: 805-806 [PMID: 9519960 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)78933-9]
- 29 Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005; 16: 713-716 [PMID: 15776217 DOI: 10.1007/s00198-005-1867-7]
- 30 Bouillon R. Genetic and environmental determinants of vitamin D status. *Lancet* 2010; 376: 148-149 [PMID: 20541253 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60635-6]
- 31 Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors influencing vitamin D status. *Acta Derm Venereol* 2011; 91: 115-124 [PMID: 21384086 DOI: 10.2340/00015555-0980]
- 32 Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 690-693 [PMID: 10966885]
- 33 Drincic AT, Armas LA, Van Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20: 1444-1448 [PMID: 22262154 DOI: 10.1038/oby.2011.404]
- 34 Prentice A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutr Rev* 2008; 66: S153-S164 [PMID: 18844843 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2008.00100.x]
- 35 Soares MJ, Ping-Delfos WC, Sherriff JL, Nezhad DH, Cummings NK, Zhao Y. Vitamin D and parathyroid hormone in insulin resistance of abdominal obesity: cause or effect? *Eur J Clin Nutr* 2011; 65: 1348-1352 [PMID: 21712836 DOI: 10.1038/ejcn.2011.111]
- 36 Berry D, Hyppönen E. Determinants of vitamin D status: focus on genetic variations. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20: 331-336 [PMID: 21654390 DOI: 10.1097/MNH.0b013e328346d6ba]
- 37 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023 [PMID: 22488764 DOI: 10.1002/hep.25762]
- 38 Lazo M, Hernaez R, Bonekamp S, Kamel IR, Brancati FL, Guallar E, Clark JM. Non-alcoholic fatty liver disease and mortality among US adults: prospective cohort study. *BMJ* 2011; 343: d6891 [PMID: 22102439 DOI: 10.1136/bmj.d6891]
- 39 Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 2011; 140: 124-131 [PMID: 20858492 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.09.038]
- 40 Boucher BJ. Is vitamin D status relevant to metabolic syndrome? *Dermatoendocrinol* 2012; 4: 212-224 [PMID: 22928079 DOI: 10.4161/derm.20012]
- 41 Katz K, Brar PC, Parekh N, Liu YH, Weitzman M. Suspected nonalcoholic fatty liver disease is not associated with vitamin D status in adolescents after adjustment for obesity. *J Obes* 2010; 2010: 496829 [PMID: 21331294 DOI: 10.1155/2010/496829]

- 42 Barchetta I, Angelico F, Del Ben M, Baroni MG, Pozzilli P, Morini S, Cavallo MG. Strong association between non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and low 25(OH) vitamin D levels in an adult population with normal serum liver enzymes. *BMC Med* 2011; 9: 85 [PMID: 21749681 DOI: 10.1186/1741-7015-9-85]
- 43 Rhee EJ, Kim MK, Park SE, Park CY, Baek KH, Lee WY, Kang MI, Park SW, Kim SW, Oh KW. High serum vitamin D levels reduce the risk for nonalcoholic fatty liver disease in healthy men independent of metabolic syndrome. *Endocr J* 2013 Feb 13. [Epub ahead of print] [PMID: 23411507 DOI: 10.1507/endocj.EJ12-0387]
- 44 Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, Arcaro G. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17: 517-524 [PMID: 16928437]
- 45 Manco M, Ciampalini P, Nobili V. Low levels of 25-hydroxyvitamin D(3) in children with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 2229; author reply 2230 [PMID: 20513013 DOI: 10.1002/hep.23724]
- 46 Nakano T, Cheng YF, Lai CY, Hsu LW, Chang YC, Deng JY, Huang YZ, Honda H, Chen KD, Wang CC, Chiu KW, Jawan B, Eng HL, Goto S, Chen CL. Impact of artificial sunlight therapy on the progress of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *J Hepatol* 2011; 55: 415-425 [PMID: 21184788 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.028]
- 47 Roth CL, Elfers CT, Figlewicz DP, Melhorn SJ, Morton GJ, Hoofnagle A, Yeh MM, Nelson JE, Kowdley KV. Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates nonalcoholic fatty liver disease and increases hepatic resistin and Toll-like receptor activation. *Hepatology* 2012; 55: 1103-1111 [PMID: 21994008 DOI: 10.1002/hep.24737]
- 48 李艳芳, 唐夕岚, 凌文华. 1, 25-二羟基维生素D3对小鼠非酒精性脂肪性肝纤维化进程的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3191-3196
- 49 Clark SA, Stumpf WE, Sar M, DeLuca HF, Tanaka Y. Target cells for 1,25 dihydroxyvitamin D3 in the pancreas. *Cell Tissue Res* 1980; 209: 515-520 [PMID: 6996826 DOI: 10.1007/BF00234764]
- 50 Norman AW, Frankel JB, Heldt AM, Grodsky GM. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science* 1980; 209: 823-825 [PMID: 6250216 DOI: 10.1126/science.6250216]
- 51 Wang AP, Li X, Chao C, Huang G, Liu BL, Peng J, Zhou ZG. [1 $\alpha$ , 25(OH)(2) D(3) protects pancreatic  $\beta$ -cell line from cytokine-induced apoptosis and impaired insulin secretion]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2012; 92: 695-699 [PMID: 22781299]
- 52 Takiishi T, Gysemans C, Bouillon R, Mathieu C. Vitamin D and diabetes. *Rheum Dis Clin North Am* 2012; 38: 179-206 [PMID: 22525851 DOI: 10.1016/j.rdc.2012.03.015]
- 53 Pham NM, Akter S, Kurotani K, Nanri A, Sato M, Hayabuchi H, Yasuda K, Mizoue T. Serum 25-hydroxyvitamin D and markers of insulin resistance in a Japanese working population. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66: 1323-1328 [PMID: 23093338 DOI: 10.1038/ejcn.2012.169]
- 54 Yin Y, Yu Z, Xia M, Luo X, Lu X, Ling W. Vitamin D attenuates high fat diet-induced hepatic steatosis in rats by modulating lipid metabolism. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 1189-1196 [PMID: 22958216 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2012.02706.x]
- 55 Barchetta I, Carotti S, Labbadia G, Gentilucci UV, Muda AO, Angelico F, Silecchia G, Leonetti F, Fraioli A, Picardi A, Morini S, Cavallo MG. Liver vitamin D receptor, CYP2R1, and CYP27A1 expression: relationship with liver histology and vitamin D3 levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis or hepatitis C virus. *Hepatology* 2012; 56: 2180-2187 [PMID: 22753133 DOI: 10.1002/hep.25930]
- 56 Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-1835 [PMID: 8502273]
- 57 Knittel T, Mehde M, Grundmann A, Saile B, Scharf JG, Ramadori G. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors during hepatic tissue repair in the rat. *Histochem Cell Biol* 2000; 113: 443-453 [PMID: 10933221]
- 58 Foo NP, Lin SH, Lee YH, Wu MJ, Wang YJ.  $\alpha$ -Lipoic acid inhibits liver fibrosis through the attenuation of ROS-triggered signaling in hepatic stellate cells activated by PDGF and TGF- $\beta$ . *Toxicology* 2011; 282: 39-46 [PMID: 21251946 DOI: 10.1016/j.tox.2011.01.009]
- 59 Atorrasagasti C, Aquino JB, Hofman L, Alaniz L, Malvicini M, Garcia M, Benedetti L, Friedman SL, Podhajcer O, Mazzolini G. SPARC downregulation attenuates the profibrogenic response of hepatic stellate cells induced by TGF- $\beta$ 1 and PDGF. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G739-G748 [PMID: 21311029 DOI: 10.1152/ajpgi.00316.2010]
- 60 Fickert P, Fuchsbichler A, Moustafa T, Wagner M, Zollner G, Halilbasic E, Stöger U, Arrese M, Pizarro M, Solís N, Carrasco G, Caligiuri A, Sombetzki M, Reisinger E, Tsybrovskyy O, Zatloukal K, Denk H, Jaeschke H, Pinzani M, Trauner M. Farnesoid X receptor critically determines the fibrotic response in mice but is expressed to a low extent in human hepatic stellate cells and periductal myofibroblasts. *Am J Pathol* 2009; 175: 2392-2405 [PMID: 19910507 DOI: 10.2353/ajpath.2009.090114]
- 61 Abramovitch S, Dahan-Bachar L, Sharvit E, Weisman Y, Ben Tov A, Brazowski E, Reif S. Vitamin D inhibits proliferation and profibrotic marker expression in hepatic stellate cells and decreases thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Gut* 2011; 60: 1728-1737 [PMID: 21816960 DOI: 10.1136/gut.2010.234666]
- 62 Seydel S, Beilfuss A, Kahraman A, Aksoy K, Gerken G, Akkiz H, Canbay A. Vitamin D ameliorates stress ligand expression elicited by free fatty acids in the hepatic stellate cell line LX-2. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 400-407 [PMID: 21948571]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# PDGF及其受体与肝纤维化的相关性

黄雯, 朱萱

黄雯, 朱萱, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

黄雯, 主要从事肝病学方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由黄雯完成; 朱萱审校。

通讯作者: 朱萱, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科. jyyfy@163.com

电话: 0791-8692505

收稿日期: 2013-01-26 修回日期: 2013-02-17

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-28

## Correlation between PDGFs and their receptor and liver fibrosis

Wen Huang, Xuan Zhu

Wen Huang, Xuan Zhu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Xuan Zhu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. jyyfy@163.com

Received: 2013-01-26 Revised: 2013-02-17

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-28

## Abstract

Liver fibrosis occurs as a result of various injurious processes and is the common pathologic basis for all chronic hepatic diseases. Platelet-derived growth factors (PDGFs) are homodimers or heterodimers consisting of two polypeptide chains. Previous studies have proved that PDGFs are closely related to the occurrence and development of liver fibrosis. In this article, we review the advances in research on the role of PDGFs and their receptor in pathogenesis and therapy of liver fibrosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Platelet-derived growth factors; Platelet-derived growth-FR; hepatic stellate cells; Liver fibrosis

Huang W, Zhu X. Correlation between PDGFs and their receptor and liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 773-778 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/773.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.773>

## 摘要

肝纤维化是多种慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段, 是所有慢性肝病的共同病理基础。血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factors, PDGFs)是由4个亚基同型或异型两两相互聚合形成的二聚体, 现已证实其与肝纤维化的形成、发展密切相关。本文就PDGFs及其受体在肝纤维化的发生、治疗及其研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血小板源性生长因子; 血小板源性生长因子受体; 肝星状细胞; 肝纤维化

黄雯, 朱萱. PDGF及其受体与肝纤维化的相关性. *世界华人消化杂志* 2013; 21(9): 773-778 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/773.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.773>

## 0 引言

肝纤维化, 作为慢性肝病的共同晚期阶段, 主要由慢性肝损诱导的肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的活化、增殖引起, 以形成细胞外基质蛋白的沉积物、高发病率和死亡率为主要特点<sup>[1]</sup>。而在多种促纤维化因子中, 血小板衍生生长因子和转化生长因子在调节肝星状细胞的活化、增殖、迁移和细胞外基质的产生方面发挥至关重要的作用<sup>[1,2]</sup>。在肝纤维化时, 各种不同的细胞包括肝星状细胞, 在肝损阶段即可自分泌生长因子以及许多促炎症细胞因子, 并受这些因子的影响而调节自身的促有丝分裂作用, 而血小板源性生长因子信号通路是促进HSC的活化、分裂、增殖的最有效通路之一<sup>[3]</sup>。

## 1 PDGF及其受体的结构

血小板衍生生长因子家族包括4个生长因子成员(PDGF-A、PDGF-B、PDGF-C和PDGF-D), 在炎症微环境的刺激下, 由血小板和Kupffer细胞等分泌<sup>[4]</sup>, 并参与调控纤维母细胞和平滑肌细胞等结缔组织细胞的生长。PDGFs是两条多

## ■背景资料

肝纤维化是所有慢性肝病的共同病理基础, 是多种慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段, 如何阻止或逆转肝纤维化的发生、发展成为肝病治疗的重大课题。近年研究发现, 阻断血小板衍生生长因子(PDGFs)家族参与的信号通路可能达到治疗纤维化的目的。因此本文就PDGFs及其受体与肝纤维化的密切关系做一综述。

## ■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科



## ■创新盘点

本文全面专一的介绍PDGFs及其受体在结构、亚基、激活的信号通路、机制等方面与肝纤维化的密切关系,强调PDGF-B、PDGF-D、PDGFR- $\beta$ 在肝纤维化过程中的突出作用,概括PDGF家族与其他组织器官纤维化的关系,总结了PDGF家族参与的抗肝纤维化的多方研究成果。

肽链通过二硫键连接而成的同型或异型二聚体,具有多种形式的二聚体结构,即PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-AB、PDGF-CC以及PDGF-DD<sup>[5]</sup>。PDGFs必须与细胞膜上的相应受体结合后才能发挥其生物学效应。PDGFs有PDGFR $\alpha$ 和PDGFR $\beta$ 两种受体,他们都属于酪氨酸激酶受体(receptor tyrosine kinases, RTKs),并有不同的表达模式和生理作用。PDGFR $\alpha$ 信号调控原肠胚形式及一些诸如肺、肠、皮肤、睾丸、肾、骨和神经组织等的发育; PDGFR $\beta$ 信号被认为是早期造血系统和血管形成的必要调节者<sup>[6]</sup>。PDGFR $\alpha$ 与PDGF-A、-B和-C链具有较高的结合亲和力,而PDGFR $\beta$ 对PDGF-B和PDGF-D的亲和力更高<sup>[7]</sup>,可见PDGFR $\alpha$ 和 $\beta$ 两种受体对PDGF-B链具有较高的敏感性,相比于PDGF其他亚基,PDGF-AB、PDGF-BB的刺激信号在同时具有PDGFR $\alpha$ 和 $\beta$ 两种受体的组织中的传播效率可能更高,PDGF-BB和PDGF-DD较其他亚基在PDGFR $\beta$ 信号传播效率也可能更高。

## 2 PDGF激活的信号通路

PDGF不仅是强有力的促有丝分裂原,而且与TGF- $\beta$ 具有协同促纤维化作用的生长因子<sup>[4]</sup>。PDGF传导的信号由刺激跨膜酪氨酸激酶受体开始,已经证实有该受体启动多条信号通路,主要包括Ras-MAPK、PI3K/Akt、PLC- $\gamma$ 、钙通道、Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>、JAK/STAT途径等<sup>[8,9]</sup>,他们都参与细胞的生长发育过程。PDGFRs主要通过生长因子受体结合蛋白2(Grb2)和包含SH2结构域蛋白(Shc)与Ras-MAPK通路链接。Grb2与活化的PDGFR的蛋白结合域SH2结合,参与PDGF介导的信号转导<sup>[10]</sup>,或是Grb2同时与Shc、Sos结合形成Shc-Grb2-Sos复合物,并将Sos激活,激活的Sos与质膜上的Ras蛋白结合,激活Ras,引起下游Raf-1和MAPK级联的活化,进而刺激基因的转录,促进细胞生长、分化及迁移活动<sup>[11]</sup>。PI3K是一种胞内磷脂酰肌醇激酶,其信号感受器为丝氨酸/苏氨酸激酶,包括Akt/PKB<sup>[12]</sup>、p70S6激酶<sup>[13]</sup>、JNK<sup>[14]</sup>以及Rho家族的小GTP酶类<sup>[15]</sup>等。PDGFRs激活的PI3K/Akt通路促进肌动蛋白重组、增加细胞的迁移、刺激细胞的生长并抑制其凋亡<sup>[12,16]</sup>。PLC- $\gamma$ 与PDGFR结合,发生磷酸化后被激活,导致细胞内钙离子的流动和蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)的活化,刺激细胞的生长和迁移。PDGF诱导复制的能力主要依赖于胞外内流方式引起的细胞内持续的钙离子升高,

而非细胞内储存钙离子的释放,而且PDGF刺激可提高大鼠或人HSCs的Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交换泵活力,而Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>的交换又可调节PDGF诱导的HSCs增生反应<sup>[17]</sup>。Ping等<sup>[18]</sup>发现,降低钙调蛋白依赖性蛋白激酶II水平,不仅可削弱PDGF诱导的HSC增生,还减弱ERK1/2的磷酸化作用,但对于c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的磷酸化并无影响。PDGFRs还可激活与一些信号分子,包括酶类、适配器和转录因子。PDGF激活的多条信号通路中,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族成员调控的信号通路占主导作用,包括细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)通路以及两条应激活化蛋白激酶通路(stress activated protein kinase, SAPK): JNK和p38信号通路<sup>[19,20]</sup>。MAPKs能够磷酸化激活多种转录因子,这对于启动细胞的增殖和迁移非常重要。

## 3 PDGF亚基与肝纤维化

关于PDGF与肝纤维化的关系已经有许多相关研究,尽管已经证明PDGF的4种亚基都可能参与肝纤维化过程<sup>[21,22]</sup>,但他们在肝纤维化的发生、发展过程中所发挥的作用并不相同。Breitkopf等<sup>[23]</sup>研究了体外促肝纤维化模型,首先发现静息的HSC向肌成纤维细胞转化过程中PDGF的4个亚型的表达情况: PDGF-A mRNA仅出现微量的波动, PDGF-B在HSC激活的第3天表达已经明显下降,而C型、D型mRNA水平在此过程中表达分别升高5倍和8倍,且持续较长时间,表明在HSC激活的早期主要通过PDGF-B介导信号转导,后期则通过C型、D型介导,且比起PDGFR $\alpha$ 的轻微变化,PDGFR $\beta$ 出现早期持续的高表达。Campbell等<sup>[24]</sup>研究发现PDGF-C可能作为肝纤维化发生的起始作用因子,其作用机制可能是通过诱导大量促肝纤维化途径的激活而发挥作用。最近的研究表明, PDGF-B和PDGF-D经PDGFR $\beta$ 传递的信号与肝纤维化的关系最紧密。Borkham-Kamphorst等<sup>[21]</sup>研究发现,胆总管结扎引起纤维化的大鼠肝脏中PDGF配体和受体的转录水平被上调,其中PDGF-B、PDGF-D和PDGFR $\beta$ 的转录水平比PDGF-A、PDGF-C和PDGFR $\alpha$ 更高,他们还发现,经PDGF-B或PDGF-D刺激的肝星状细胞或肌成纤维母细胞发生显著的增殖表现,而经PDGF-A或PDGF-C处理的却没有明显的改变。说明只有PDGF-D与

PDGF-B对肝脏具有明显的促有丝分裂和纤维化的作用, 而PDGF-A和PDGF-C对肝纤维化的影响甚微<sup>[25]</sup>. Li等<sup>[26]</sup>用PDGF-BB加入HSCs的培养基中培养15 min后, 对比未加药处理的HSCs小而圆的形态, 加药处理后的呈现出扁平、纤薄、体型延长、出现类似伪足的形态, 表明PDGF-BB对HSCs的激活作用还是比较显著的. 最近的一项研究表明, 胆总管结扎引起的小鼠肝纤维化程度不如经PDGF-B抗体处理后的肝纤维化程度严重<sup>[27]</sup>. 此前Czochra等<sup>[28]</sup>通过研究过表达PDGF-B的转基因老鼠, 就已经发现其肝脏的纤维化水平明显提高, 由PDGF-B的高表达及其引发的 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)和PDGFR $\beta$ 的表达升高, 提示肝星状细胞和肌成纤维母细胞的显著激活, 可见PDGF-B是体内促增殖和纤维化的刺激物, 也是促进肝星状细胞进入分化阶段的有效诱导物. 因此, 在PDGF家族中以PDGF-B、PDGF-D和PDGFR $\beta$ 在肝纤维化过程中的作用尤为突出, HSCs表面的PDGF受体以 $\beta$ 受体为主, 并与PDGF-B和-D具有较强的亲和力<sup>[29,30]</sup>.

#### 4 PDGF信号在肝纤维化发病中的机制

肝纤维化的发生主要是因为HSCs的活动引起, 而PDGF作为促分裂和纤维化的最有力生长因子, 参与调节HSCs活化、增生、迁移等过程. PDGF主要在慢性肝损早期间质细胞增生和细胞外基质产生的时候高表达, 而非肝细胞再生时期<sup>[25]</sup>, 且静止期的HSCs无PDGF受体表达, 只有活化的HSCs高表达PDGF受体, 促进肝纤维化的发生和进展<sup>[31]</sup>. 已知NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)一直被公认为ROS的主要来源并专职控制细胞内ROS的水平, 参与调节细胞的再生、凋亡等生理活动<sup>[32,33]</sup>. Adachi等<sup>[34]</sup>发现NOX在PDGF调控的离体HSCs的增生及肝纤维化活体模型中发挥关键性作用, NOX是PDGF-BB诱导的HSC内产ROS的主要来源, PDGF-BB可促使HSC中NOX的表达并产生ROS, ROS又经p38MAPK的磷酸化途径促进HSCs的增生, 他们还发现, 经NOX抑制剂DPI处理后, PDGF-BB引起的HSC增生和MAPKs的磷酸化程度显著受到抑制, 进一步说明了PDHG-BB是通过激活NOX/产生ROS的过程以诱导的p38MAPK磷酸化, 将信号传至细胞核内, 调节基因的表达. 肝纤维化形成过程中, PDGF-B、PDGF-D与其敏感受体PDGFR $\beta$ 结合, 受体发生自身磷酸化并激活Ras

系统, 相继通过Raf-1、MEK和ERK(MAPKs通路)的磷酸化激活过程传播信号, 激活的ERK不仅可促进胞质靶蛋白的磷酸化、调节其他蛋白激酶活性, 还可进入细胞核内, 促进多种转录因子(如AP-1、NF- $\kappa$ B)的磷酸化, 使其与相应反应元件的靶基因启动子结合, 增强转录活性, 参与靶基因产物I型胶原、TIMP-1、MMP1、Bcl-2、XIAP等的表达, 调控细胞的分裂、增殖和凋亡<sup>[29,35]</sup>. TIMP-1、MMP1、I型胶原等在肝纤维化过程中是不可或缺的, 活化的HSCs可上调TIMPs的表达, 降低MMPs的表达, 促进胶原的产生, 增加细胞外基质的沉积, 形成瘢痕组织, 破坏肝脏的组织结构和器官功能<sup>[36,37]</sup>.

#### 5 PDGF信号参与其他疾病的发生

慢性纤维化改变可发生在多个不同器官和系统, PDGF信号通路参与形成纤维化的过程, 并在促进肌成纤维细胞的复制, 存活, 和迁移等方面发挥重要作用. 而PDGF的活动与肌成纤维细胞表面表达的PDGFR $\alpha$ 和 $\beta$ PDGF相关, 在纤维化发展过程中, 这些受体被激活继而放大PDGF传递的信号刺激. PDGF参与多个器官的纤维化过程, 包括肺<sup>[38]</sup>、肾<sup>[39]</sup>、肝<sup>[40,41]</sup>、真皮<sup>[42]</sup>和心脏<sup>[43]</sup>等. Nagaoka等<sup>[44]</sup>曾报道称正常人肺泡巨噬细胞中含有PDGF-A和PDGF-B的mRNA, 但PDGF-B比PDGF-A的mRNA多10倍的量, 他们还发现特发性肺纤维化病人的巨噬细胞中, PDGF-A和PDGF-B的mRNA水平都显著提高. 这说明PDGF在特发性肺纤维化病人肺泡巨噬细胞中的大量分泌是由于加快的转录速率, 并且被巨噬细胞释放的PDGF亚基主要是PDGF-B链构成的二聚体<sup>[45]</sup>. Kimani等<sup>[38]</sup>也发现PDGFR $\alpha$ 受体的表达可促进肺肌成纤维细胞的增生, 而PDGF-A对其却有抑制作用. 当然, 在其他的肺疾病中也可发现PDGF的过表达, 例如闭塞性细支气管炎<sup>[46]</sup>、石棉肺<sup>[47]</sup>、尘肺<sup>[48]</sup>等, 且都以PDGF-B链发挥关键作用. PDGF-C缺乏或有其中和抗体的老鼠可削弱经单侧输尿管结扎引起的肾纤维化的程度, 相反的是, PDGF-C对肝脏的纤维化进程影响不明显, 而以PDGF-B、PDGF-D对肝纤维化的影响更显著<sup>[49]</sup>. Liu等<sup>[50]</sup>从硬皮病患者病变处检测到PDGFR $\alpha$ 的表达升高, 受体结合的PDGF-AA配体也相应增加, 促进纤维母细胞的增生及向肌成纤维母细胞的转化. M2巨噬细胞分泌PDGF-CC可诱导口腔和牙龈纤维母细胞表达 $\alpha$ -SMA, 促进该细胞的分化<sup>[51]</sup>. 在心脏受损时,

#### ■名词解释

血小板源性生长因子(PDGF): 在生理状态下, 主要储存于血小板中, 肝脏受损时, 巨噬细胞、血小板、浸润的炎症细胞、受损的内皮细胞及激活的肝星形细胞均可以分泌PDGF, 成为促进有丝分裂因子, 刺激特定细胞群的分裂、增殖.

### ■同行评价

本文对PDGF及其受体在肝纤维化的发生、治疗及其研究进展进行综述,资料详细,内容丰富,条理清晰,可读性强。

可检测到PDGF的表达是提高了, PDGF促进中性粒细胞、巨噬细胞、纤维母细胞和平滑肌细胞等增生和迁移至伤处,刺激肉芽组织的形成,组织结构的纤维化改变<sup>[43]</sup>。

### 6 PDGF与抗肝纤维化

近年来,有一些关于经抗PDGFs、PDGFRs的抗体<sup>[27,52]</sup>或阻断PDGFs、PDGFRs信号通路<sup>[53]</sup>的方法对抗肝纤维化的研究,研究发现注射抗PDGF-B疫苗的小鼠,可抵制CCl<sub>4</sub>药物作用导致的肝纤维化发生,并抑制已发生纤维化的肝脏HSCs的活化、增殖<sup>[54]</sup>。川芎嗪具有削弱纤维化标志基因表达的作用,减少PDGFR $\beta$ 受体的表达,从而阻断PDGFR $\beta$ 下游ERK和p38的磷酸化作用,抑制过氧化物H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>引起的HSCs的活化,并诱导其凋亡<sup>[55]</sup>。苜蓿素、花青素等植物提取物有类似酪氨酸激酶抑制剂活性,通过减少PDGFR $\beta$ 和ERK1/2和Akt的磷酸化作用,抑制PDGF-BB导致的HSCs的活化、增生等<sup>[56,57]</sup>。索拉非尼,作为多重酪氨酸激酶受体抑制剂,针对PDGF受体及Raf/ERK信号通路,能有效治疗肝细胞癌患者,并且在纤维化动物模型中可发挥抗纤维的作用<sup>[58]</sup>。尼洛替尼,也具有酪氨酸受体抑制作用,阻断PDGF和TGF- $\beta$ 诱导的ERK和Akt磷酸化,抑制HSCs的增生、迁移及 $\alpha$ -SMA、胶原蛋白丝的合成<sup>[59]</sup>。实际上,PDGFR抑制剂在疾病的临床前期的运用研究,为抗纤维化的治疗提供了一个新的前景,PDGF受体抑制剂或抗PDGF疫苗很可能是有效预防和减缓肝纤维化的有效制剂。

### 7 结论

许多不同的疾病和毒素都可导致肝损害,长期慢性肝损常常会进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌,而治疗肝纤维化是非常困难的,如何阻止或逆转肝纤维化的发生、发展成为肝病治疗的重大课题。通过阐述PDGF在肝纤维化中的作用,对PDGF及其受体进行中和或抑制,就可能达到抗纤维化的目的,为抗肝纤维化的治疗提供了一个新的研究方向。

### 8 参考文献

- Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246]
- Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]

- Heldin CH. Autocrine PDGF stimulation in malignancies. *Ups J Med Sci* 2012; 117: 83-91 [PMID: 22512244 DOI: 10.3109/03009734.2012.658119]
- Pinzani M, Macias-Barragan J. Update on the pathophysiology of liver fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 4: 459-472 [PMID: 20678019 DOI: 10.1586/egh.10.47]
- Chen PH, Chen X, He X. Platelet-derived growth factors and their receptors: Structural and functional perspectives. *Biochim Biophys Acta* 2012 Nov 5. [Epub ahead of print] [PMID: 23137658 DOI: 10.1016/j.bbapap.2012.10.015]
- Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev* 2008; 22: 1276-1312 [PMID: 18483217 DOI: 10.1101/gad.1653708]
- Yang Y, Yuzawa S, Schlessinger J. Contacts between membrane proximal regions of the PDGF receptor ectodomain are required for receptor activation but not for receptor dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7681-7686 [PMID: 18505839 DOI: 10.1073/pnas.0802896105]
- Donovan J, Abraham D, Norman J. Platelet-derived growth factor signaling in mesenchymal cells. *Front Biosci* 2013; 18: 106-119 [PMID: 23276912]
- Clement DL, Mally S, Stock C, Lethan M, Satir P, Schwab A, Pedersen SF, Christensen ST. PDGFR $\alpha$  signaling in the primary cilium regulates NHE1-dependent fibroblast migration via coordinated differential activity of MEK1/2-ERK1/2-p90RSK and AKT signaling pathways. *J Cell Sci* 2012 Dec 21. [Epub ahead of print] [PMID: 23264740]
- Kawada K, Upadhyay G, Ferandon S, Janarthanan S, Hall M, Vilardaga JP, Yajnik V. Cell migration is regulated by platelet-derived growth factor receptor endocytosis. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 4508-4518 [PMID: 19528233 DOI: 10.1128/MCB.00015-09]
- Fey D, Croucher DR, Kolch W, Kholodenko BN. Crosstalk and signaling switches in mitogen-activated protein kinase cascades. *Front Physiol* 2012; 3: 355 [PMID: 23060802 DOI: 10.3389/fphys.2012.00355]
- Wang Y, Jiang XY, Liu L, Jiang HQ. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates hepatic stellate cell apoptosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5186-5191 [PMID: 18777595]
- Gäbele E, Reif S, Tsukada S, Bataller R, Yata Y, Morris T, Schrum LW, Brenner DA, Rippe RA. The role of p70S6K in hepatic stellate cell collagen gene expression and cell proliferation. *J Biol Chem* 2005; 280: 13374-13382 [PMID: 15677443]
- Tu CT, Li J, Wang FP, Li L, Wang JY, Jiang W. Glycyrrhizin regulates CD4+T cell response during liver fibrogenesis via JNK, ERK and PI3K/AKT pathway. *Int Immunopharmacol* 2012; 14: 410-421 [PMID: 22940540 DOI: 10.1016/j.intimp.2012.08.013]
- Blajicka K, Marinov M, Leitner L, Uth K, Posern G, Arcaro A. Phosphoinositide 3-kinase C2 $\beta$  regulates RhoA and the actin cytoskeleton through an interaction with Dbl. *PLoS One* 2012; 7: e44945 [PMID: 22984590 DOI: 10.1371/journal.pone.0044945]
- Glass DJ. PI3 kinase regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010; 346: 267-278 [PMID: 20593312 DOI: 10.1007/82\_2010\_78]
- Pinzani M. PDGF and signal transduction in hepatic stellate cells. *Front Biosci* 2002; 7: d1720-d1726 [PMID: 12133817]



- 18 Ping A, Yihao T, Jingxing D, Minkai C, Hesheng L. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II mediates platelet-derived growth factor-induced human hepatic stellate cell proliferation. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 935-942 [PMID: 22215519 DOI: 10.1007/s10620-011-2014-2]
- 19 Samajová O, Komis G, Samaj J. Emerging topics in the cell biology of mitogen-activated protein kinases. *Trends Plant Sci* 2013 Jan 3. [Epub ahead of print] [PMID: 23291243 DOI: 10.1016/j.tplants.2012.11.004]
- 20 Chye SM, Tiong YL, Yip WK, Koh RY, Len YW, Seow HF, Ng KY, Ranjit DA, Chen SC. Apoptosis induced by para-phenylenediamine involves formation of ROS and activation of p38 and JNK in Chang liver cells. *Environ Toxicol* 2012 Nov 22. [Epub ahead of print] [PMID: 23172806 DOI: 10.1002/tox.21828]
- 21 Borkham-Kamphorst E, van Roeyen CR, Ostendorf T, Floege J, Gressner AM, Weiskirchen R. Pro-fibrogenic potential of PDGF-D in liver fibrosis. *J Hepatol* 2007; 46: 1064-1074 [PMID: 17397961]
- 22 Thieringer F, Maass T, Czochra P, Klopčič B, Conrad I, Friebe D, Schirmacher P, Lohse AW, Blessing M, Galle PR, Teufel A, Kanzler S. Spontaneous hepatic fibrosis in transgenic mice overexpressing PDGF-A. *Gene* 2008; 423: 23-28 [PMID: 18598744 DOI: 10.1016/j.gene.2008.05.022]
- 23 Breitkopf K, Roeyen Cv, Sawitzka I, Wickert L, Floege J, Gressner AM. Expression patterns of PDGF-A, -B, -C and -D and the PDGF-receptors alpha and beta in activated rat hepatic stellate cells (HSC). *Cytokine* 2005; 31: 349-357 [PMID: 16039137]
- 24 Campbell JS, Hughes SD, Gilbertson DG, Palmer TE, Holdren MS, Haran AC, Odell MM, Bauer RL, Ren HP, Haugen HS, Yeh MM, Fausto N. Platelet-derived growth factor C induces liver fibrosis, steatosis, and hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3389-3394 [PMID: 15728360]
- 25 Borkham-Kamphorst E, Kovalenko E, van Roeyen CR, Gassler N, Bomble M, Ostendorf T, Floege J, Gressner AM, Weiskirchen R. Platelet-derived growth factor isoform expression in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury. *Lab Invest* 2008; 88: 1090-1100 [PMID: 18663351 DOI: 10.1038/labinvest.2008.71]
- 26 Li L, Li J, Wang JY, Yang CQ, Jia ML, Jiang W. Role of RhoA in platelet-derived growth factor-BB-induced migration of rat hepatic stellate cells. *Chin Med J (Engl)* 2010; 123: 2502-2509 [PMID: 21034618]
- 27 Ogawa S, Ochi T, Shimada H, Inagaki K, Fujita I, Nii A, Mofat MA, Katragadda M, Violand BN, Arch RH, Masferrer JL. Anti-PDGF-B monoclonal antibody reduces liver fibrosis development. *Hepatology* 2010; 40: 1128-1141 [PMID: 20880061 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2010.00718.x]
- 28 Czochra P, Klopčič B, Meyer E, Herkel J, Garcia-Lazaro JF, Thieringer F, Schirmacher P, Biesterfeld S, Galle PR, Lohse AW, Kanzler S. Liver fibrosis induced by hepatic overexpression of PDGF-B in transgenic mice. *J Hepatol* 2006; 45: 419-428 [PMID: 16842882]
- 29 Borkham-Kamphorst E, Herrmann J, Stoll D, Treptau J, Gressner AM, Weiskirchen R. Dominant-negative soluble PDGF-beta receptor inhibits hepatic stellate cell activation and attenuates liver fibrosis. *Lab Invest* 2004; 84: 766-777 [PMID: 15077122]
- 30 Borkham-Kamphorst E, Stoll D, Gressner AM, Weiskirchen R. Antisense strategy against PDGF B-chain proves effective in preventing experimental liver fibrogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 413-423 [PMID: 15358192]
- 31 Bonner JC. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 255-273 [PMID: 15207816]
- 32 Daiber A. Redox signaling (cross-talk) from and to mitochondria involves mitochondrial pores and reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1797: 897-906 [PMID: 20122895 DOI: 10.1016/j.bbabi.2010.01.032]
- 33 Jiang F, Zhang Y, Disting GJ. NADPH oxidase-mediated redox signaling: roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair. *Pharmacol Rev* 2011; 63: 218-242 [PMID: 21228261 DOI: 10.1124/pr.110.002980]
- 34 Adachi T, Togashi H, Suzuki A, Kasai S, Ito J, Sugahara K, Kawata S. NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005; 41: 1272-1281 [PMID: 15915457]
- 35 Kim EK, Choi EJ. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1802: 396-405 [PMID: 20079433 DOI: 10.1016/j.bbdis.2009.12.009]
- 36 Mann DA, Marra F. Fibrogenic signalling in hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2010; 52: 949-950 [PMID: 20395006 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.005]
- 37 Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012 Jun 6; 5 Suppl 1: S26. [Epub ahead of print] [PMID: 23259590]
- 38 Kimani PW, Holmes AJ, Grossmann RE, McGowan SE. PDGF-Ralpha gene expression predicts proliferation, but PDGF-A suppresses transdifferentiation of neonatal mouse lung myofibroblasts. *Respir Res* 2009; 10: 119 [PMID: 19939260 DOI: 10.1186/1465-9921-10-119]
- 39 Farris AB, Colvin RB. Renal interstitial fibrosis: mechanisms and evaluation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2012; 21: 289-300 [PMID: 22449945 DOI: 10.1097/MNH.0b013e3283521cfa]
- 40 Thoen LF, Guimarães EL, Dollé L, Mannaerts I, Najimi M, Sokal E, van Grunsven LA. A role for autophagy during hepatic stellate cell activation. *J Hepatol* 2011; 55: 1353-1360 [PMID: 21803012 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.07.010]
- 41 Guyot C, Lepreux S, Combe C, Sarrazay V, Billet F, Balabaud C, Bioulac-Sage P, Desmoulière A. Fibrogenic cell phenotype modifications during remodelling of normal and pathological human liver in cultured slices. *Liver Int* 2010; 30: 1529-1540 [PMID: 20846345 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02342.x]
- 42 Reich N, Maurer B, Akhmetshina A, Venalis P, Dees C, Zerr P, Palumbo K, Zwerina J, Nevskaya T, Gay S, Distler O, Schett G, Distler JH. The transcription factor Fra-2 regulates the production of extracellular matrix in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 280-290 [PMID: 20039427 DOI: 10.1002/art.25056]
- 43 Leask A. Potential therapeutic targets for cardiac fibrosis: TGFbeta, angiotensin, endothelin, CCN2, and PDGF, partners in fibroblast activation. *Circ Res* 2010; 106: 1675-1680 [PMID: 20538689 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.217737]
- 44 Nagaoka I, Trapnell BC, Crystal RG. Upregulation of platelet-derived growth factor-A and -B gene

- expression in alveolar macrophages of individuals with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1990; 85: 2023-2027 [PMID: 2347924]
- 45 Kogan EA, Tyong FV, Demura SA. [The mechanism of lung tissue remodeling in the progression of idiopathic pulmonary fibrosis]. *Ark Patol* 2010; 72: 30-36 [PMID: 21086635]
  - 46 Alho HS, Maasilta PK, Vainikka T, Salminen US. Platelet-derived growth factor, transforming growth factor-beta, and connective tissue growth factor in a porcine bronchial model of obliterative bronchiolitis. *Exp Lung Res* 2007; 33: 303-320 [PMID: 17694440]
  - 47 Li Y, Karjalainen A, Koskinen H, Vainio H, Pukkala E, Hemminki K, Brandt-Rauf PW. Serum growth factors in asbestosis patients. *Biomarkers* 2009; 14: 61-66 [PMID: 19283526 DOI: 10.1080/13547500802676868]
  - 48 Wang GZ, Wang MJ, Liu LH, Wang JH, Qin WH, Liu Y, He JF. [The surface biomarkers of sputum cells in coal mine workers and patients with pneumoconiosis]. *Zhonghua Laodong Weisheng Zhiyebing Zazhi* 2011; 29: 837-840 [PMID: 22468294]
  - 49 Martin IV, Borkham-Kamphorst E, Zok S, van Roeyen CR, Eriksson U, Boor P, Hittatiya K, Fischer HP, Wasmuth HE, Weiskirchen R, Eitner F, Floege J, Ostendorf T. Platelet-derived growth factor (PDGF)-C neutralization reveals differential roles of PDGF receptors in liver and kidney fibrosis. *Am J Pathol* 2013; 182: 107-117 [PMID: 23141925 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.09.006]
  - 50 Liu T, Zhang J. [Role of PDGF-A/PDGFR- $\alpha$  in proliferation and transdifferentiation of fibroblasts from skin lesions of patients with systemic sclerosis]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2012; 32: 496-501 [PMID: 22543129]
  - 51 Glim JE, Niessen FB, Everts V, van Egmond M, Beelen RH. Platelet derived growth factor-CC secreted by M2 macrophages induces alpha-smooth muscle actin expression by dermal and gingival fibroblasts. *Immunobiology* 2012 Oct 26. [Epub ahead of print] [PMID: 23182716 DOI: 10.1016/j.imbio.2012.10.004]
  - 52 Mahlknecht P, Stemmerger S, Sprenger F, Rainer J, Hametner E, Kirchmair R, Grabmer C, Scherfler C, Wenning GK, Seppi K, Poewe W, Reindl M. An antibody microarray analysis of serum cytokines in neurodegenerative Parkinsonian syndromes. *Proteome Sci* 2012; 10: 71 [PMID: 23173604 DOI: 10.1186/1477-5956-10-71]
  - 53 Hou X, Kumar A, Lee C, Wang B, Arjunan P, Dong L, Maminishkis A, Tang Z, Li Y, Zhang F, Zhang SZ, Wardega P, Chakrabarty S, Liu B, Wu Z, Colosi P, Fariss RN, Lennartsson J, Nussenblatt R, Gutkind JS, Cao Y, Li X. PDGF-CC blockade inhibits pathological angiogenesis by acting on multiple cellular and molecular targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 12216-12221 [PMID: 20566880 DOI: 10.1073/pnas.1004143107]
  - 54 Hao ZM, Fan XB, Li S, Lv YF, Su HQ, Jiang HP, Li HH. Vaccination with platelet-derived growth factor B kinoids inhibits CCl4-induced hepatic fibrosis in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 342: 835-842 [PMID: 22711911 DOI: 10.1124/jpet.112.194357]
  - 55 Zhang F, Ni C, Kong D, Zhang X, Zhu X, Chen L, Lu Y, Zheng S. Ligustrazine attenuates oxidative stress-induced activation of hepatic stellate cells by interrupting platelet-derived growth factor- $\beta$  receptor-mediated ERK and p38 pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 265: 51-60 [PMID: 23022513 DOI: 10.1016/j.taap.2012.09.016]
  - 56 Seki N, Toh U, Kawaguchi K, Ninomiya M, Koketsu M, Watanabe K, Aoki M, Fujii T, Nakamura A, Akagi Y, Kusukawa J, Kage M, Shirouzu K, Yamana H. Tricin inhibits proliferation of human hepatic stellate cells in vitro by blocking tyrosine phosphorylation of PDGF receptor and its signaling pathways. *J Cell Biochem* 2012; 113: 2346-2355 [PMID: 22359269 DOI: 10.1002/jcb.24107]
  - 57 Choi JH, Hwang YP, Park BH, Choi CY, Chung YC, Jeong HG. Anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuate the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor. *Environ Toxicol Pharmacol* 2011; 31: 212-219 [PMID: 21787688 DOI: 10.1016/j.etap.2010.10.011]
  - 58 Wang Y, Gao J, Zhang D, Zhang J, Ma J, Jiang H. New insights into the antifibrotic effects of sorafenib on hepatic stellate cells and liver fibrosis. *J Hepatol* 2010; 53: 132-144 [PMID: 20447716 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.027]
  - 59 Liu Y, Wang Z, Kwong SQ, Lui EL, Friedman SL, Li FR, Lam RW, Zhang GC, Zhang H, Ye T. Inhibition of PDGF, TGF- $\beta$ , and Abl signaling and reduction of liver fibrosis by the small molecule Bcr-Abl tyrosine kinase antagonist Nilotinib. *J Hepatol* 2011; 55: 612-625 [PMID: 21251937 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.035]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 肠道菌群参与结直肠癌发生的模式

贾盛佼, 王莉莉, 于新娟, 董开芯, 田字彬, 董全江

贾盛佼, 王莉莉, 于新娟, 董开芯, 董全江, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化内科及中心实验室 山东省青岛市 266071  
田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化内科 山东省青岛市 266003  
贾盛佼, 主要从事胃肠道菌群与消化系统肿瘤的基础与临床研究.  
作者贡献分布: 本文综述由贾盛佼完成; 资料查阅与分析由王莉莉、于新娟及董开芯完成; 董全江与田字彬审校.  
通讯作者: 董全江, 教授, 主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化内科及中心实验室, jiangacer@126.com  
电话: 0532-88905289  
收稿日期: 2013-01-24 修回日期: 2013-02-05  
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-28

## Mechanisms underlying the role of intestinal microbiota in pathogenesis of colorectal cancer

Sheng-Jiao Jia, Li-Li Wang, Xin-Juan Yu, Kai-Xin Dong, Zi-Bin Tian, Quan-Jiang Dong

Sheng-Jiao Jia, Li-Li Wang, Xin-Juan Yu, Kai-Xin Dong, Quan-Jiang Dong, Department of Gastroenterology, Department of Central Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong Province, China  
Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, Hospital Affiliated to Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China  
Correspondence to: Quan-Jiang Dong, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Department of Central Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Medical College of Qingdao University, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. jiangacer@126.com  
Received: 2013-01-24 Revised: 2013-02-05  
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-28

## Abstract

The homeostatic equilibrium of the intestinal microbiota plays a key role in digestion, assimilation, immuno-inflammatory reactions, regulation of intestinal epithelial proliferation, and resistance to infection. Under the influence of internal and external factors, some pathogens alter in number and functions. This directly or indirectly affects the intestinal epithelium and the enteric environment, which is closely associated with the pathogenesis of colorectal cancer. This paper summarizes the characteristics of

the normal intestinal microbiota, describes the “alpha-bug” hypothesis and the “driver-passenger” model, and discusses the adaptive alteration of the intestinal microbiota from a dynamic perspective. This will aid us in understanding the pathogenesis of colorectal cancer, providing a theoretical basis for the prevention and treatment of this disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Intestinal microbiota; Colorectal cancer; Pathogenesis

Jia SJ, Wang LL, Yu XJ, Dong KX, Tian ZB, Dong QJ. Mechanisms underlying the role of intestinal microbiota in pathogenesis of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 779-784 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/779.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.779>

## 摘要

健康状态下肠道菌群与人体和肠道微环境维持平衡状态, 对食物的消化吸收、调节肠道上皮细胞增殖、抵抗病原体和炎症免疫反应等具有重要意义. 在体内外因素影响下某些细菌先后发生数目及功能的变化引起肠道菌群改变进而影响肠上皮细胞和肠腔环境, 与结直肠癌的发生发展密切相关. 本文对肠道正常菌群特征作一综述, 并深入分析了菌群-结直肠癌的两个发病模型“Alpha-bug”和“driver-passenger”, 从菌群动态变化的角度探讨了肠道菌群在结直肠癌发生发展中的适应性变化和致病机制, 有利于深入理解结直肠癌发病机制, 并为指导临床治疗及预防工作提供了理论依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肠道菌群; 结直肠癌; 发病机制

贾盛佼, 王莉莉, 于新娟, 董开芯, 田字彬, 董全江. 肠道菌群参与结直肠癌发生的模式. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 779-784 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/779.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.779>

## ■背景资料

肠道菌群与结直肠癌的发生发展密切相关. 许多学者根据动物模型实验及高通量测序技术研究结果提出菌群在结直肠癌中作用的模型, 但由于研究和模型的局限性, 菌群的具体作用机制及其动态变化仍待进一步研究和探索.

## ■同行评议者

谭周进, 教授, 湖南中医药大学; 吴军, 研究员, 军事医学科学院生物工程研究所



## ■ 研发前沿

目前通过高通量测序技术已基本阐明肠道菌群的构成,对肠道菌群具体致病机制的研究仍处于初级阶段,大部分局限于肿瘤某一阶段一种或几种致病菌对肿瘤的作用。肠道菌群在结直肠癌发生发展中的动态变化及其作用机制仍不明确。

## 0 引言

结直肠癌是全世界最常见的癌症之一,每年都有超过一百万的新发病例,并且每年死亡人数达六十多万<sup>[1-3]</sup>。细菌感染和病毒感染与肿瘤发生密切相关<sup>[4-8]</sup>,20世纪70年代,Aries等<sup>[9]</sup>对人体肠道复杂共生菌与结直肠癌的关系进行了研究并提出两者之间存在相关关系的假设。此后动物模型实验研究更加深了人们对菌群与结直肠癌关系的理解<sup>[10-12]</sup>。近年来应用高通量测序技术可以更为深入直观的研究人体正常及病理肠黏膜中的菌群构成<sup>[13-15]</sup>。许多研究者提出关于菌群在结直肠癌中作用的模型<sup>[16-19]</sup>。虽然这些模型从不同角度阐述了菌群在结直肠癌发生发展中的作用及菌群构成演变,但由于这些模型的局限性,菌群的具体作用机制及菌群在结直肠癌的影响下所发生的变化仍待进一步研究和探索。本文深入分析了新近提出的菌群-结直肠癌的两个发病模型,从菌群动态变化的角度探讨了肠道菌群在结直肠癌发生发展中的适应性变化和致病机制,有利于深入理解结直肠癌发病机制,为指导临床预防及治疗工作提供理论依据。

## 1 人体正常肠道菌群

从出生起,人的胃肠道黏膜就有大量细菌开始定植。成年后,人体胃肠道存在10倍于人体细胞数量的细菌。由于大肠内容物移动缓慢,且其厌氧环境呈中性或弱碱性,有利于细菌的大量繁殖,因此整个胃肠道细菌最多的部位在大肠<sup>[20,21]</sup>。菌群定居于肠道黏膜表面,与宿主形成有机统一的整体<sup>[22]</sup>。人体胃肠道菌群数目庞大,大约有 $10^{14}$ ,构成复杂,至少有1 000个不同种类<sup>[23,24]</sup>。高通量测序技术检测出人体肠道菌群主要有7大门组成:厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、梭杆菌门、疣微球菌门、与蓝菌门较接近的未分类菌群<sup>[25]</sup>。加上之前已经鉴定出的螺旋体门和VadinBE97门,到目前为止人体肠道内已发现的细菌共有9个门<sup>[26]</sup>。大部分肠道菌属于厚壁菌门和拟杆菌门(占98%以上的序列),且大多数(95%)的厚壁菌属于梭菌纲。拟杆菌门中的拟杆菌属是粪便中的主要微生物<sup>[25]</sup>。早在20世纪70年代便有研究者发现肠道菌群有助于肠道的发育成熟、宿主消化食物及营养摄取和抵抗病原体<sup>[27]</sup>。近年来的研究发现肠道菌群还具有调节肠道上皮细胞增殖<sup>[28]</sup>、宿主能量代谢<sup>[29]</sup>和炎症免疫反应<sup>[30]</sup>的特点。庞大而复杂的肠道菌群通过长期进化以及与宿主的相互适应,在细菌、

环境和宿主之间达到平衡状态,一旦宿主免疫力改变、环境变化等因素引起这种平衡态破坏,肠道菌群结构改变造成肠道微环境的变化,损伤肠上皮细胞,导致过敏性疾病<sup>[31]</sup>、炎症性肠病及癌症<sup>[12,13]</sup>等疾病的发生。肠道菌群对结直肠癌的作用亦即通过上述机制发生的。

人体肠道菌群具有多样性、稳定性及可复性,其在菌群生态平衡的建立、维持及平衡破坏后的修复中均有重要体现<sup>[32]</sup>。菌群的多样性促成其稳定性,即菌群生态平衡不易被打破,而一旦由于环境改变、宿主免疫功能变化等引起平衡的破坏后,菌群的复性特性会促使菌群恢复到原平衡态或达到另外一个平衡态<sup>[32]</sup>。结直肠癌中肠道菌群平衡态的改变是一种被动的适应性的变化,体现了菌群对结直肠癌发生发展有促进或抑制作用。

## 2 “Alpha-bug”模型

Sears和Pardoll<sup>[16]</sup>通过对肠产毒性脆弱拟杆菌(*enterotoxigenic Bacteroides fragilis*, ETBF)的致病作用与机制的研究提出了“Alpha-bug”模型。该模型认为某种或某些特定肠道固有细菌通过直接或间接方式影响肠上皮细胞,使其易发生基因突变,这些肠道固有菌被定义为“Alpha-bugs”。其直接作用包括分泌毒素蛋白直接促癌作用等,间接作用包括改变结肠菌群使其更易引起黏膜免疫反应和结肠上皮细胞的变化。当上皮细胞基因突变累积到一定程度时诱发结直肠癌。在整个过程中,“Alpha-bugs”一直存在或其作用一直存在,并将其他益生菌“排挤”掉,同时菌群的改变也促使许多共同致病菌的出现,加速结直肠癌的发生与发展。该模型以ETBF为例,ETBF通过分泌脆弱拟杆菌毒素激发了结肠上皮细胞和黏膜免疫功能的重要改变进而促进了肠黏膜癌变,同时也改变了肠腔内的环境,出现了许多共同致病菌。结肠上皮的改变包括Wnt、NF- $\kappa$ B、Stat3等信号转导通路的激活<sup>[2,33,34]</sup>,结肠上皮细胞DNA的损伤等,后者可能是通过脆弱拟杆菌毒素对结肠上皮细胞的直接致癌作用<sup>[35]</sup>或炎症细胞释放的活化氧或氢类<sup>[36]</sup>的间接致癌作用实现的。黏膜免疫学的变化主要为Th17介导的免疫反应<sup>[37]</sup>,该反应可能与结肠上皮细胞的改变具有协同致癌作用。

“Alpha-bug”模型不仅深入分析了单一细菌或特定致病菌的作用,而且也提出了菌群的致病作用:特定致病菌诱导癌症发生过程中,许

多其他益生菌被“排挤”, 菌群的变化促使多种共同致病菌出现, 对癌症的发生与发展产生相同或相似的促进作用. 这为认识癌症或其他慢性免疫性疾病的发生提供了新思路. 但该模型仍存在许多需要探讨的问题: (1)该模型是通过分析ETBF对结直肠癌的致病作用而得出的, 缺少其他“Alpha-bugs”的论证说明, 需要更多的研究证实; (2)该模型提出菌群而非单一致病菌的致癌观点, 但肠道菌群发生何种改变, 共同致病菌以及被“排挤”的益生菌有哪些, 发生这些变化的机制如何, 这些问题尚不清楚; (3)该模型侧重探讨了ETBF在结直肠癌中的作用机制, 但是ETBF和继发出现的共同致病菌的作用时限以及各自的数目变化尚不明确.

### 3 “driver-passenger”模型

新近有3次研究运用高通量测序技术进行了菌群与结直肠癌的关系的探讨, 结果发现结直肠癌患者的肿瘤组织肠黏膜和周围正常组织肠黏膜的菌群存在很大差异<sup>[13-15]</sup>. 其中Marchesi等<sup>[13]</sup>研究发现肿瘤组织黏膜中*Coriobacteria*等具有益生菌特性的肠道共生菌高表达, 而潜在致病菌如大肠杆菌等的表达较低. 肿瘤周围正常组织黏膜中致病菌含量反而高于肿瘤组织. 由此, Tjalsma等<sup>[17]</sup>首次提出肠道菌群致癌的“driver-passenger”模型: 首先, 某些特定的肠道固有菌诱发了上皮细胞DNA损伤, 这些肠道固有菌被定义为“drivers”; 其次, 癌变过程介导了肠道微环境的改变, 这种改变有利于另外某些细菌的增殖存活, 这些细菌被定义为“passengers”.

该模型与“Alpha-bug”模型明显不同. 他强调由于肿瘤生长, 肠道微环境发生变化, “passengers”取代“drivers”而定植于肿瘤微环境中. 该模型列举了几种研究较多的“drivers”, 他们通过不同的机制促进了大肠的癌变过程. 例如: 粪肠球菌产生的胞外超氧化物转化为过氧化氢, 引起结肠上皮细胞的DNA损伤<sup>[38,39]</sup>; 某些大肠杆菌菌株的*pks*基因能编码colibactin蛋白, 这种基因毒性产物能够诱发DNA单链的损伤<sup>[40,41]</sup>; ETBF通过脆弱拟杆菌毒素直接作用于结肠上皮细胞, 同时通过引起免疫炎症反应促进结直肠癌的发生<sup>[35,42,43]</sup>; 肠杆菌科如志贺菌、柠檬杆菌、沙门菌等通过在肠道内的持续低水平定植引起结肠黏膜的无症状持续炎症反应, 同时产生可以引起结肠上皮细胞DNA损伤的基因毒性物质, 从而增加了个体对结直肠癌的易

感性<sup>[36,44]</sup>. 该模型的创新点在于“passengers”概念的提出, 与之前研究理论不同, 该模型认为结直肠癌发生后, 原发致病菌(“drivers”)会被一些更适宜在肠道肿瘤微环境中生存的机会性致病菌甚至益生菌所替代, 这些替代者被定义为“passengers”, 如梭杆菌<sup>[13-15]</sup>、解链食子酸链球菌亚种<sup>[45]</sup>、氏菌属<sup>[13]</sup>等. “passengers”既对肿瘤的进展有促进作用又不排除其具保护肠道内环境的益生菌效应. “driver-passenger”模型较好的解释了结直肠癌患者肿瘤组织与正常组织肠黏膜菌群的差异. 但该模型仍存在其局限性: (1)该模型参考的3项研究<sup>[13-15]</sup>的受试对象均为结直肠癌晚期患者, 缺少健康及癌症早期对照, 因此只能反映在癌症发展晚期的肠道菌群构成; (2)尽管这3项研究均分析了菌群种类、构成、丰度等, 但所有的实验方法都只是用来检测细菌的有无, 细菌之间的基因组差异造成的基因产物(如毒力因子)对肠道上皮的影响尚不明确.

### 4 结直肠癌发生发展过程中肠道菌群的适应性变化

健康状态下, 肠道菌群与人体和肠道微环境保持着平衡状态. 当机体受到某些内因或外因的作用如不合理饮食、感染、应激等, 发生肠道菌群失调, 这表现为肠道菌群的种类、数量、比例、定位和代谢特征等的变化<sup>[46]</sup>. 如给予小鼠致肥胖饮食处理后发现, 小鼠的远端肠道菌群中的厚壁菌门柔膜体纲的分支细菌数目明显增多<sup>[46]</sup>, 体现了菌群的被动性改变以适应周围环境的变化. 对无结肠袋炎的溃疡性结肠炎患者组, 患结肠袋炎的溃疡性结肠炎患者组以及家族性腺瘤息肉病患者组的结肠袋黏膜菌群研究结果显示3组的菌群构成明显不同, 其中患结肠袋炎的溃疡性结肠炎患者的梭菌属、真菌属较多, 而且患结肠袋炎的溃疡性结肠炎患者组与家族性腺瘤息肉病患者组相比, 其拟杆菌门及变形菌门较后者少, 厚壁菌门及疣微菌门较后者多<sup>[47]</sup>. 此结果反映了肠道菌群是随疾病的发生发展而不断变化的. 结直肠癌的“腺瘤-癌序列”模型假设基因突变的发生及积累促使结肠上皮增生和畸变, 最终导致结直肠癌<sup>[18,19]</sup>. 由此, 结直肠癌的发生是一个漫长的过程, 肠上皮细胞经历了“正常-过度增生-腺瘤-癌”的演变, 在此过程中, 菌群有可能呈现动态变化, 反复出现新的平衡, 我们可以称之为适应性变化.

### ■ 相关报道

近年来许多学者提出关于肠道菌群在结直肠癌中作用的模型, 这些模型从不同角度阐述了肠道菌群在结直肠癌发生发展中的作用及菌群构成演变, 但各模型之间仍存在争议, 菌群的具体致病机制以及菌群自身动态变化仍不明确.



## ■创新盘点

本文深入分析了新近提出的菌群-结直肠癌的两个发病模型,从菌群动态变化的角度探讨肠道菌群在结直肠癌发生发展中的适应性变化和致病机制,而不局限于分析结直肠癌某一阶段一种或几种致病菌对肿瘤的作用。

菌群的适应性变化与菌群自身的可复性有关。生态系统的可复性反映了一个系统在向另一个平衡状态改变之前可以承受的压力或波动的大小<sup>[48]</sup>。定居于人体肠道中数以亿计的细菌构成了一个复杂的生态系统,因此肠道菌群也具有可复性<sup>[32]</sup>。当菌群受到体内外各种刺激时,现有平衡状态被打破,可复性使菌群具有向平衡状态改变的倾向。

“driver-passenger”模型与“Alpha-bug”模型的不同之处在于前者提出了“drivers”被“passengers”取代,其依据是结直肠癌晚期患者的菌群分析<sup>[13-15]</sup>,但对于肿瘤发生发展过程中的其他阶段如肠上皮过度增生以及腺瘤阶段菌群如何并未分析讨论,亦即忽略了探讨在结直肠癌发生发展过程中细菌的存在及其作用是否会随着肠道微环境以及菌群的动态性变化而改变。菌群的适应性变化则可以从结直肠癌发生发展的纵向角度更合理地解释结直肠癌发生发展过程中肠道菌群的变化过程:健康状态下人体肠道菌群保持平衡状态,遗传、饮食、环境等多方面因素导致肠道中容易诱发结直肠癌的致病菌占优势,作用增强,因此该部分细菌对结直肠癌发挥主动性致病作用诱发癌症的发生。而肿瘤的生长使结肠黏膜屏障功能改变,结肠上皮细胞损伤、流血等改变了局部微环境<sup>[49]</sup>,使原有菌群平衡态被打破,菌群可复性使整个菌群不断发展向更适合改变了的肠道微环境的平衡态。在此发展过程中较适合此环境的细菌增殖,不适于在此环境中存活的细菌便减少甚至消失,由此所形成的新的平衡态反映了菌群对结直肠癌的作用。若具有促癌特征的细菌占优势则菌群能促进肿瘤的发生发展;反之,若抑癌菌占优势则菌群对肿瘤的发生发展具有抑制作用。如“driver-passenger”模型中,“drivers”的数目减少或消失以及“passengers”的出现是由于新的平衡态的需要,若“drivers”能够适应新的环境并在新的平衡态中具备相应的功能,则“drivers”便不会被“passengers”排挤掉,而是可以继续肠道中定植并发挥一定作用。

菌群的适应性变化是从动态的角度分析肠道菌群在结直肠癌中的变化而非局限于某一种或某几种细菌的改变,更符合菌群在人体肠道内的存在状态,因此从菌群的适应性变化角度分析讨论肠道菌群对结直肠癌的影响更为合理。但是肠道微环境的改变如何、菌群平衡态具体构成及两者之间存在何种关系仍待进一步研究

探讨。

## 5 结论

肠道菌群与结直肠癌密切相关。探究肠道菌群在结直肠癌发生发展中所起的作用有助于加深我们对结直肠癌发病机制的理解,从而更好地指导临床预防及治疗工作。但目前关于肠道细菌对结直肠癌的作用的研究大都局限于肿瘤某一阶段一种或几种致病菌对肿瘤的作用,对于肠道菌群在结直肠癌发生发展过程中的动态变化及致病机制仍不明确;菌群适应性变化中涉及到的肠道微环境的改变、菌群平衡态具体构成以及两者之间的关系亦不清晰,这些问题有待进一步研究探索。随着这些问题的解决,我们将更加全面深刻的认识人体肠道菌群对结直肠癌的作用机制以及菌群在肿瘤影响下自身的发展变化,这将会为临床预防及治疗结直肠癌提供有力的理论指导。

## 6 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 2449-2460 [PMID: 20018966 DOI: 10.1056/NEJMra0804588]
- 3 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 4 Dalton-Griffin L, Kellam P. Infectious causes of cancer and their detection. *J Biol* 2009; 8: 67 [PMID: 19678917 DOI: 10.1186/jbiol168]
- 5 Collins D, Hogan AM, Winter DC. Microbial and viral pathogens in colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12: 504-512 [PMID: 21067973 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70186-8]
- 6 Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118: 3030-3044 [PMID: 16404738]
- 7 Mager DL. Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. *J Transl Med* 2006; 4: 14 [PMID: 16566840]
- 8 Rowland IR. The role of the gastrointestinal microbiota in colorectal cancer. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 1524-1527 [PMID: 19442169]
- 9 Aries V, Crowther JS, Drasar BS, Hill MJ, Williams RE. Bacteria and the aetiology of cancer of the large bowel. *Gut* 1969; 10: 334-335 [PMID: 5771664]
- 10 Dove WF, Clipson L, Gould KA, Luongo C, Marshall DJ, Moser AR, Newton MA, Jacoby RF. Intestinal neoplasia in the ApcMin mouse: independence from the microbial and natural killer (beige locus) status. *Cancer Res* 1997; 57: 812-814 [PMID: 9041176]
- 11 Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, Dieleman LA,



- Grenther W, Balish E, Rennick DM, Sartor RB. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 1998; 66: 5224-5231 [PMID: 9784526]
- 12 Uronis JM, Mühlbauer M, Herfarth HH, Rubinas TC, Jones GS, Jobin C. Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility. *PLoS One* 2009; 4: e6026 [PMID: 19551144 DOI: 10.1371/journal.pone.0006026]
  - 13 Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WH, Rølofs R, Boleij A, Tjalsma H. Towards the human colorectal cancer microbiome. *PLoS One* 2011; 6: e20447 [PMID: 21647227 DOI: 10.1371/journal.pone.0020447]
  - 14 Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, Ojesina AI, Jung J, Bass AJ, Taberner J, Baselga J, Liu C, Shivdasani RA, Ogino S, Birren BW, Huttenhower C, Garrett WS, Meyerson M. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 292-298 [PMID: 22009990 DOI: 10.1101/gr.126573.111]
  - 15 Castellari M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercos E, Moore RA, Holt RA. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 299-306 [PMID: 22009989 DOI: 10.1101/gr.126516.111]
  - 16 Sears CL, Pardoll DM. Perspective: alpha-bugs, their microbial partners, and the link to colon cancer. *J Infect Dis* 2011; 203: 306-311 [PMID: 21208921 DOI: 10.1093/jinfdis/jiq061]
  - 17 Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, Dutilh BE. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 575-582 [PMID: 22728587 DOI: 10.1038/nrmicro2819]
  - 18 Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9: 138-141 [PMID: 8516849]
  - 19 Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 479-507 [PMID: 21090969 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130235]
  - 20 Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292: 1115-1118 [PMID: 11352068]
  - 21 Tlaskalová-Hogenová H, Stěpanková R, Kozáková H, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, Rossmann P, Hrnčíř T, Kverka M, Zákostelská Z, Klimešová K, Příbylová J, Bártová J, Sanchez D, Fundová P, Borovská D, Srůtková D, Zidek Z, Schwarzer M, Drastich P, Funda DP. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 110-120 [PMID: 21278760 DOI: 10.1038/cmi.2010.67]
  - 22 Rossi O, van Baaren P, Wells JM. Host-Recognition of Pathogens and Commensals in the Mammalian Intestine. *Curr Top Microbiol Immunol* 2011 Dec 17. [Epub ahead of print] [PMID: 22179258]
  - 23 Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65 [PMID: 20203603 DOI: 10.1038/nature08821]
  - 24 Dethlefsen L, Eckburg PB, Bik EM, Relman DA. Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol Evol* 2006; 21: 517-523 [PMID: 16820245]
  - 25 Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635-1638 [PMID: 15831718]
  - 26 Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 2006; 124: 837-848 [PMID: 16497592]
  - 27 Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977; 31: 107-133 [PMID: 334036]
  - 28 Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004; 118: 229-241 [PMID: 15260992]
  - 29 Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-15723 [PMID: 15505215]
  - 30 Noverr MC, Huffnagle GB. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol* 2004; 12: 562-568 [PMID: 15539116]
  - 31 Macdonald TT, Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science* 2005; 307: 1920-1925 [PMID: 15790845]
  - 32 Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489: 220-230 [PMID: 22972295 DOI: 10.1038/nature11550]
  - 33 Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 349-369 [PMID: 19366918 DOI: 10.1128/CMR.00053-08]
  - 34 Yu H, Kortylewski M, Pardoll D. Crosstalk between cancer and immune cells: role of STAT3 in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 41-51 [PMID: 17186030]
  - 35 Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S, Huso DL, Wu X, Murray-Stewart TR, Hacker-Prietz A, Rabizadeh S, Woster PM, Sears CL, Casero RA. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 15354-15359 [PMID: 21876161 DOI: 10.1073/pnas.1010203108]
  - 36 Housseau F, Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF)-mediated colitis in Min (Apc<sup>+/+</sup>) mice: a human commensal-based murine model of colon carcinogenesis. *Cell Cycle* 2010; 9: 3-5 [PMID: 20009569]
  - 37 Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. A human

# ■名词解释

肠产毒性脆弱拟杆菌(ETBF): 脆弱拟杆菌的一种类型, 肠脆弱拟杆菌为革兰阴性专性厌氧菌, 可分为产肠毒素和非产肠毒素两种类型。肠产毒性脆弱拟杆菌可分泌脆弱拟杆菌肠毒素至菌体细胞外引起组织细胞损伤。

## ■同行评价

本文重点对肠道菌群与结直肠癌发生发展相互作用的一个模型进行介绍,对相关研究具有一定的参考价值。

- colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022 [PMID: 19701202 DOI: 10.1038/nm.2015]
- 38 Wang X, Huycke MM. Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* promotes chromosomal instability in mammalian cells. *Gastroenterology* 2007; 132: 551-561 [PMID: 17258726]
- 39 Wang X, Allen TD, May RJ, Lightfoot S, Houchen CW, Huycke MM. *Enterococcus faecalis* induces aneuploidy and tetraploidy in colonic epithelial cells through a bystander effect. *Cancer Res* 2008; 68: 9909-9917 [PMID: 19047172 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1551]
- 40 Nougayrède JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, Buchrieser C, Hacker J, Dobrindt U, Oswald E. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science* 2006; 313: 848-851 [PMID: 16902142]
- 41 Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède JP. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 11537-11542 [PMID: 20534522 DOI: 10.1073/pnas.1001261107]
- 42 Wu S, Shin J, Zhang G, Cohen M, Franco A, Sears CL. The *Bacteroides fragilis* toxin binds to a specific intestinal epithelial cell receptor. *Infect Immun* 2006; 74: 5382-5390 [PMID: 16926433]
- 43 Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, Akin ML, Demirkalem P, Celenk T, Soyletir G. A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 782-786 [PMID: 16842574]
- 44 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234 [PMID: 16648837]
- 45 Klein RS, Recco RA, Catalano MT, Edberg SC, Casey JL, Steigbigel NH. Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon. *N Engl J Med* 1977; 297: 800-802 [PMID: 408687]
- 46 Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe* 2008; 3: 213-223 [PMID: 18407065 DOI: 10.1016/j.chom.2008.02.015]
- 47 Zella GC, Hait EJ, Glavan T, Gevers D, Ward DV, Kitts CL, Korzenik JR. Distinct microbiome in pouchitis compared to healthy pouches in ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1092-1100 [PMID: 20845425 DOI: 10.1002/ibd.21460]
- 48 Folke C. Reserves and resilience—from single equilibrium to complex systems. *Ambio* 2003; 32: 379 [PMID: 14627364]
- 49 Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, Ochiai A, Tomita M, Esumi H, Soga T. Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res* 2009; 69: 4918-4925 [PMID: 19458066 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4806]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 2012 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇,退稿887篇,退稿率57.63%,发表文章652篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评34篇(5.21%),基础研究94篇(14.42%),临床研究61篇(9.36%),焦点论坛20篇(3.07%),文献综述114篇(17.48%),研究快报86篇(13.19%),临床经验222篇(34.05%),病例报告21篇(3.22%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(《世界华人消化杂志》编辑部)

# 功能性消化不良的发病机制

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅, 哈尔滨医科大学附属第二医院  
消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086

全甲钊, 在读硕士, 主要从事功能性胃肠疾病与幽门螺杆菌关系的研究。

哈尔滨市科委青年科技创新人才基金资助项目, No. 2018rfqys103

作者贡献分布: 本文由王蓓蓓与白梅收集整理文献; 由全甲钊完成综述; 曲波审校。

通讯作者: 曲波, 副教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。

qubo\_1970@hotmail.com

电话: 0451-86605143

收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-02-19

接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-28

## Pathogenesis of functional dyspepsia

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Bei-Bei Wang, Mei Bai

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Bei-Bei Wang, Mei Bai, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang province, China

Supported by: the Young Talent Science and Technology Innovation Fund of Harbin Municipal Science and Technology Commission, No. 2018rfqys103

Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang province, China. qubo\_1970@hotmail.com

Received: 2013-01-06 Revised: 2013-02-19

Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-28

## Abstract

Functional dyspepsia (FD) is one of the most common clinical functional gastrointestinal disorders. As a chronic, relapsing and remitting disorder, FD not only significantly affects the quality of life of patients but also causes very high medical expenses. However, the specific pathogenesis of FD has always been a big problem for gastroenterologists. Recently, motility abnormalities, visceral hypersensitivity, psychosocial factors, *Helicobacter pylori*, genetic factors, excessive gastric acid secretion, environment, diet, and lifestyle have been proposed to explain the pathogenesis of FD, of which the brain-gut axis, autonomic nervous system, gastrointestinal hormones may play an important role. In this paper, we review the recent progress in the

pathogenesis of FD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Functional dyspepsia; Pathogenesis

Tong JZ, Qu B, Wang BB, Bai M. Pathogenesis of functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 785-790 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/785.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.785>

## 摘要

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病, 且其具有慢性、复发性、难以缓解性, 因而不仅明显影响患者的生活质量, 而且也造成了相当高的医疗费用支出。而FD疾病具体的发病机制一直是困扰众多学者的难题。目前多数学者认为胃动力异常、内脏高敏感性、社会心理学因素、幽门螺杆菌、遗传、过度的胃酸分泌、环境、饮食及生活方式与FD的发生有关, 且脑-肠轴、自主神经系统和胃肠激素在其中可能起着重要的作用。本文旨在对近年来有关FD发病机制的研究进展做一综述, 并对其中可能存在的潜在联系做一分析。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 功能性消化不良; 发病机制

全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅. 功能性消化不良的发病机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(9): 785-790 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/785.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.785>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGID), 且其具有慢性、复发性、难以缓解性<sup>[1]</sup>, 因而不仅明显的影响患者的生活质量, 而且也造成了相当高的医疗费用支出。目前, 许多致病因素被认为可能与FD有关, 包括: 胃动力异常、内脏高敏感性、社会心

## ■背景资料

功能性消化不良(FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病(FGID), 且其具有慢性、复发性、难以缓解性, 因而不仅明显影响患者的生活质量, 而且也造成了相当高的医疗费用支出。目前, 许多致病因素被认为可能与FD有关, 包括: 胃动力异常、内脏高敏感性、社会心理学因素、幽门螺杆菌(*H. pylori*)、遗传、环境、饮食和生活方式。其中, 胃动力异常和内脏高敏感性被认为是FD症状表现的主要因素, 其他影响因素之间也互相影响且通过调节胃动力、内脏敏感性来起作用。然而, 目前针对每种致病因素的随机对照实验研究几乎都存在较大的争议。

## ■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科



## ■ 研发前沿

目前认为FD与多种影响因素有关,而脑-肠轴、自主神经系统、胃肠激素可能在其中起着重要的衔接作用,目前未见有学者对其关系作一综述及分析。

理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)、遗传、环境、饮食和生活方式。其中,胃动力异常和内脏高敏感性被认为是FD症状表现的主要因素,但其他影响因素之间也互相影响且通过调节胃动力、内脏敏感性来起作用<sup>[2]</sup>。因此,理解FD疾病的各种发病机制并对其进行综合分析,从而发现其中的潜在联系,找到其中最根本、最普遍的影响因素并予以控制,或许才是解决此疾病最重要的措施。

## 1 功能性消化不良的定义及目前状况

**1.1 功能性消化不良的定义** FD是指主要表现为上腹部区域的不适症状,包括胃疼、烧心、餐后不适和胃部饱胀感等,而不能通过器质性原因来解释这些症状的消化不良,他也是众多功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal disorders, FGID)的其中之一<sup>[2]</sup>。目前,FD的诊断主要依靠罗马III标准,他被定义为<sup>[2]</sup>起源于胃十二指肠区域的症状,而且排除可以解释这些症状的任何器质性、全身性或代谢性疾病。这些症状包括上腹痛,上腹烧灼感,餐后饱胀和早饱。诊断之前至少6 mo出现症状,近3 mo符合症状诊断标准。

**1.2 功能性消化不良疾病的目前状况** 据对一所西方大学医院门诊患者的连续性研究得出<sup>[3]</sup>,40%以腹部症状为主诉的患者被诊断为FGID。而FD作为FGID的其中之一,在西方国家的成年人中的发病率约为15%,其中约25%的患者将会寻求医疗服务<sup>[4]</sup>。在我国,消化不良患者约占普通内科门诊的10%,占消化内科门诊的50%<sup>[5]</sup>。不幸的是,尽管存在如此多的FD患者,但在严格的临床研究中,几乎没有显示出比安慰剂更为有效的治疗方法<sup>[6]</sup>。由于治疗效果的不理想,患者不断求医,且检查和治疗这种疾病的花费很大,因而使治疗FD的费效比很高<sup>[7]</sup>。因此,FD也造成了重大的社会负担。

## 2 功能性消化不良的影响因素及其发病机制

**2.1 功能性消化不良疾病的社会心理学因素** 在FD疾病的各种相关因素中,社会心理学因素获得了相对较多的关注。很早以来,临床医师就注意到有慢性胃肠道症状的患者多伴有不同程度的情绪障碍<sup>[8]</sup>。而FD疾病的异常社会心理因素被认为主要来自于不良生活应激事件、异常个性特征和应对方式。国外研究发现FD患者常具有更多的负性生活事件,而负性生活事件则

与FGID的发生和抑郁、焦虑症的发病有直接关联,而童年受虐待史是成年后FD发病的报警因素<sup>[9,10]</sup>。一项基于社区人群的巢式病例对照研究<sup>[11]</sup>也显示,心理障碍分值高、负性生活事件多者更易患FD,躯体化、人际关系敏感和生活应激事件可能是FD的独立相关因素。临床研究也显示FD患者对安慰剂的有效率比其他疾病患者高35%-40%,这很大程度上表明FD涉及心理学因素,并且催眠疗法也显示出对FD患者有效<sup>[12]</sup>。国内吴改玲等<sup>[13]</sup>也通过研究认为存在抑郁和焦虑状态的FD患者更易出现自主功能受损,从而影响胃肠道的感觉和运动。

通过以上研究可得出社会心理学因素可能在FD疾病中起着重要的作用,而胃肠症状和心理疾患的并存说明FD的潜在病理生理学机制并不能仅仅被限制在内脏,而应该涉及更高级的系统,如:脑-肠轴和自主神经系统<sup>[14]</sup>。目前认为各种环境应激因子作用于大脑的应激反应系统,通过脑-肠轴的双向调节作用于胃肠道靶器官,使胃肠道运动、感觉、分泌和免疫功能发生变化,两者相互作用、相互影响而表现为FGID<sup>[8]</sup>。脑-肠轴的互动关系<sup>[7]</sup>表现为胃肠道壁的外在性初级感觉神经元接受胃肠道刺激上传,将信息上传至中枢神经系统,整合后又将信息发至靶器官,通过内在性初级感觉神经元调节胃肠神经系统的感觉和运动;同时,感觉和动力之间也存在互动关系,伤害性刺激传入至中枢,经过整合后传出神经冲动,并抵达靶器官,引起异常的动力活动。而心理应激能够影响中枢内分泌机制和自主神经调节活动<sup>[7]</sup>。这其中,胃肠激素或许起着关键的作用,目前发现的胃肠激素有40余种,他们不仅存在于消化系统,还存在于中枢神经系统,对胃肠运动功能起着重要的调节作用,他们作为肽能神经递质,通过直接与相应受体结合发挥效应,调节其他神经递质释放和传递,且通过迷走神经介导,在中枢和外周水平上对胃运动和胃排空进行精细调节<sup>[15]</sup>。而自主神经系统作为脑-肠互动中的重要信息载体,可调控胃肠道感觉和运动,其功能状态亦颇受关注<sup>[13]</sup>,以往的多数研究<sup>[13,16-18]</sup>提示FD患者存在自主神经功能异常,而伴随抑郁和/或焦虑状态的FD患者更易出现自主神经功能受损。因此,社会心理学因素可能通过影响胃肠道的自主神经系统和直接或间接影响胃肠激素的释放来调节胃肠道的感觉和运动功能,当精神心理出现异常时导致胃动力异常、内脏高敏感性的发生,从而形

成功能性胃肠病, 包括FD。

**2.2 功能性消化不良疾病的胃酸因素** 根据报告, 质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)对未经调查的消化不良疾病具有极好的疗效<sup>[19]</sup>。Miwa等<sup>[20]</sup>和Lee等<sup>[21]</sup>通过分别向健康成人胃和十二指肠灌注PH值为1的酸溶液, 导致受试者出现各种消化不良症状, 并据此认为这种症状与胃酸紧密相关。因此, 胃酸过多也被认为是FD的一个诱发因素。

然而, 根据目前的临床资料, 对FD患者应用PPI并没有取得非常好的效果。虽然PPI被广泛应用于未经调查消化不良患者的初始治疗中<sup>[6]</sup>, 但绝大多数这些患者患有胃食管反流性疾病, 所以PPI对FD的疗效仍应当区别开来看待。此外, 胃酸分泌受多种因素的影响, 除了进食后神经因素的调节外, 还受胃泌素、组胺等胃肠激素的调节。因此, 即使胃酸与FD症状有关, 也可能不是根本因素。因为, 他的分泌同样受到自主神经系统和脑-肠轴的影响。而当FD患者存在精神心理因素异常时, 同样可能引起胃酸分泌增多, 而这也可以解释为什么对FD患者单纯应用PPI药物不能起到良好的治疗效果。

**2.3 功能性消化不良疾病的幽门螺杆菌因素** 多年来, *H. pylori*与FD之间的关系已经得到了广泛的研究, 且目前国内外的主流共识意见对*H. pylori*阳性FD明确推荐根除*H. pylori*, 然而先前的部分研究除了得出根除*H. pylori*在消除消化不良症状方面有轻微的优势外, 其余研究资料尚不足以证明*H. pylori*感染与FD之间存在因果关系<sup>[5]</sup>。并且很多严格、高质量的随机、双盲对照临床研究对于根除*H. pylori*是否有助于改善FD症状的问题仍然存在高度争议<sup>[22,23]</sup>。

一篇Meta分析<sup>[24]</sup>显示根除*H. pylori*能够明显地改善FD患者的症状, 但效果不确切: 在每15个经过治疗的患者中, 仅有1例可得到症状的完全消除。Moayyedi等<sup>[25]</sup>认为对FD患者根除*H. pylori*的效果是微小的, 且绝大多数明确诊断为FD的患者将不会得到任何益处。而最近, Mazzoleni等<sup>[26]</sup>在巴西初级医疗中进行了一个大型随机对照试验, 得出对初级医疗中的*H. pylori*阳性FD患者应用质子泵抑制剂(PPI)三联疗法比应用PPI联合安慰剂抗生素更加有效, 而且得出这种疗效能够持续到治疗后的12 mo。他们认为从初级医疗中选择研究人群更富有代表性, 因此结果比先前的研究更为可靠。我国众多学者在此方面也做了大量的研究, 除极少部分学者<sup>[27]</sup>得出*H.*

*pylori*感染与FD之间并无相关联系之外, 大多数学者<sup>[28-30]</sup>认为根除*H. pylori*可在较长时间内改善FD症状。

通过以上研究, 我们可以看到目前对于*H. pylori*与FD的关系还不明确。虽然亚洲的*H. pylori*感染临床实践指导方针<sup>[31]</sup>主张对伴有*H. pylori*感染的FD患者予以根除*H. pylori*, 我国*H. pylori*感染处理的庐山共识(2007年)<sup>[5]</sup>推荐对“有消化不良症状的慢性胃炎”患者根除*H. pylori*, 然而, 他们也意识到这种措施的有限性, 这个声明也多是考虑根除*H. pylori*对FD患者所带来的其他益处, 包括: 改善胃黏膜组织学、预防消化性溃疡、有可能降低胃癌发病率等因素。然而, *H. pylori*是否真正与FD具有相关性还值得我们深入研究。据报道*H. pylori*在全球自然人群中的感染率超过50%, 我国是*H. pylori*高感染国家, 普通人群的感染率为34.52%-80.55%, 多数地区人群感染率在50%左右, 平均感染率为58.07%<sup>[32]</sup>。而FD患者中*H. pylori*感染率为40%-70%不等<sup>[33]</sup>, 这与普通人群*H. pylori*感染率接近。由于*H. pylori*感染率在普通人群中与FD患者中波动较大, 因此不能简单地认为FD患者*H. pylori*感染率比普通人群高。

目前, 许多专家对FD疾病中的*H. pylori*因素亦提出了新的观点, Moayyedi<sup>[34]</sup>认为根除*H. pylori*或许治疗了胃镜下漏掉的消化性溃疡, 预防了随访期间消化性溃疡的发生, 且认为根除*H. pylori*减少了胃黏膜层的炎症, 导致胃动力问题的逆转, 但或许并不是*H. pylori*在其中起主要作用, 因为在*H. pylori*感染阴性患者的上消化系中也能看到炎症改变<sup>[35]</sup>。Hu等<sup>[36]</sup>通过研究得出胃部其他细菌与*H. pylori*感染的伴发率很高, 这些非*H. pylori*性细菌或许也在胃部疾病中起着一定的重要作用。Anagnostopoulos等<sup>[37]</sup>亦对目前FD疾病的诊断及治疗提出质疑, 对*H. pylori*感染引起的消化不良, 他们认为这是由于*H. pylori*感染引起的器质性病变所引起, 且这种病变能够通过内镜, 尤其是放大内镜所观察到。他们还认为在某些器质性消化不良患者中, 患者的持续症状或许与FD症状具有重叠, 这样才能更好的解释那些治疗“器质性疾病”后仍然消化不良的情况<sup>[38]</sup>。

然而, 由于目前FD的病理生理学机制复杂多样, 而*H. pylori*在普通人群中的感染率本身就很高, 很多*H. pylori*阳性个体并没有FD症状, 且精神心理因素也能够通过脑肠轴影响胃肠激素

#### ■相关报道

柯美云认为脑-肠轴的互动关系表现为胃肠道壁的外在性初级感觉神经元接受胃肠道刺激上传, 将信息上传至中枢神经系统, 整合后又将信息发至靶器官, 通过内在性初级感觉神经元调节胃肠神经系统的感觉和运动。同时, 感觉和动力之间也存在互动关系, 伤害性刺激传入至中枢神经系统, 经过整合后传出神经冲动, 并抵达靶器官, 引起异常的动力活动。且心理应激能够影响中枢内分泌机制和自主神经调节活动。

### ■应用要点

本文对目前FD的各种发病机制做一综述,并对其之间可能的相互联系做一分析,为今后FD疾病病理生理学机制的研究提供参考。

的分泌,可能继而影响到胃的免疫及自我防护功能,从而导致*H. pylori*感染程度加重,引起一系列消化不良症状。且目前未见有人对*H. pylori*阳性FD患者中*H. pylori*的感染程度进行研究,因此单纯*H. pylori*感染与FD的确切关系还需要进一步的研究。

**2.4 功能性消化不良疾病中的遗传因素** 遗传因素方面, Holtmann等<sup>[39]</sup>发现消化不良症状与G-蛋白 $\beta 3$ 亚族基因825位置的单核苷酸多态性基因型有关,这一发现也激发了很多在FD领域遗传学的研究<sup>[40-42]</sup>,并得出FD与遗传的关系可能随民族和地理区域的不同而改变<sup>[2]</sup>,而直接的证据是美国的一项研究结果显示,一级亲属有腹部疼痛或肠道问题与本人患肠易激综合征(OR: 2.3; 95%CI: 1.3-3.9)或FD(OR: 1.8; 95%CI: 1.05-3.0)有相关性<sup>[43]</sup>。Gathaiya等<sup>[44]</sup>对从社区中随机选取的消化不良患者进行潜在危险因素评估,并得出具有胃肠疾病家族史的患者更可能报告具有消化不良症状。

基因的差异同样是通过影响神经调节递质信号及胃肠激素、炎症介质来影响个人的胃肠感觉、运动、免疫及自我防护机制来实现的<sup>[45]</sup>,这也说明了具有FD易感基因的个体容易受外界因素干扰,而罹患FD疾病。

**2.5 功能性消化不良疾病中的环境、饮食及生活方式因素** 目前,有报道称在童年时期遭受过身体或者性虐待的FD患者比其他FD患者具有更高的胃敏感性,并且成年后的受虐待史也与胃的容积改变具有相关性<sup>[46]</sup>。而这些不良环境及不良事件的影响必然影响个人的社会心理学因素,这可能仍然是通过异常的精神心理因素而引起FD症状。

饮食很有可能影响FD症状的表现,但是很多研究强调这样的影响很小,并且也有争议。饮食因素包括摄入的营养物类型和对某些食物或者营养素的潜在偏见和认知因素<sup>[47]</sup>。FD症状常常与食物的摄取有关,因此FD与食物的关系得到较多的关注。目前,有报道摄取脂肪或许会加重消化不良症状,并且腹部饱胀感与脂肪摄取和摄取的食物量有关<sup>[48,49]</sup>。另一项研究显示摄入高蛋白、高热量食物后,谷氨酸能够促进胃的运动<sup>[50]</sup>。然而,流行病学研究却显示在饮食和消化不良症状之间没有发现明显的相关性<sup>[44,51]</sup>。因此,饮食与FD之间的关系还需要进一步的研究。

目前认为生活方式包括低下的社会经济地位、吸烟、过多的摄入咖啡因、贫穷的生活

环境和慢性疾病能够引起或加重消化不良症状<sup>[52,53]</sup>。而这些因素明显能够影响个体的精神心理方面,因此不良生活方式引起FD的具体病理生理学机制还有待研究。而不良饮食习惯,包括空腹、不规律进食、暴饮暴食、食用刺激性食物与FD症状的相关性已经得到了我国多数学者的认可,但是目前国内外还缺乏对此方面的科学性研究。

不管是不良的生活环境还是不良的生活方式,他们在作用的同时必然伴随着对大脑中枢及胃肠道自主神经系统的刺激,从而影响胃肠激素的分泌,引起胃动力异常和内脏高敏感性,导致FD疾病的发生。

### 3 结论

各种影响因素都可能影响脑-肠轴和自主神经系统,从而引起胃肠激素和自主神经系统的改变,继而形成胃动力异常和内脏高敏感性,引发FD症状。而社会心理学因素、*H. pylori*因素、遗传因素和不良生活习惯因素或许是FD疾病的独立危险因素,这些因素可以独立存在,又可能通过相互影响、相互促进来引发或者加重FD症状,从而造成了FD病理生理学机制的复杂性。但这些危险因素影响脑-肠轴以及自主神经系统的机制和胃动力异常、内脏高敏感性的确切形成机制目前尚不清楚,且目前对这些独立危险因素与FD关系的研究普遍存在较多的争议,这也是需要我们去进一步研究的方向。而以往对这些独立危险因素进行实验研究时<sup>[22,23,48,49]</sup>,多没有把其他影响因素考虑在内,这无疑会造成研究结果的不准确性,导致实验结果的不完全一致,从而形成较大的争议。因此,我们在以后对某种独立危险因素进行研究的设计中,必须把其他可能的影响因素考虑在内,进行必要的排除,从而形成相对的单因素分析,只有这样,我们或许才能得到良好一致的结果,才能更接近问题的本质。

### 4 参考文献

- 1 Ford AC. Eradicating *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2012; 142: 1613-1614 [PMID: 22537648]
- 2 Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Matsumoto T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 53-60 [PMID: 21443711 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06633.x]
- 3 Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic



- with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 187-194 [PMID: 19997854 DOI: 10.1007/s00535-009-0168-x]
- 4 Thompson WG, Heaton KW. Functional bowel disorders in apparently healthy people. *Gastroenterology* 1980; 79: 283-288 [PMID: 7399231]
  - 5 刘文忠. 幽门螺杆菌感染与非溃疡性消化不良. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 91-97
  - 6 Talley NJ, Vakil N. Guidelines for the management of dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2324-2337 [PMID: 16181387 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00225.x]
  - 7 柯美云. 功能性胃肠病并非单纯性功能病. 中国实用内科杂志 2006; 26: 721-722
  - 8 梁列新. 功能性消化不良的心理社会因素研究. 胃肠病学 2008; 13: 125-128
  - 9 Miranda A. Early life stress and pain: an important link to functional bowel disorders. *Pediatr Ann* 2009; 38: 279-282 [PMID: 19476301]
  - 10 Sherbourne CD, Edelen MO, Zhou A, Bird C, Duan N, Wells KB. How a therapy-based quality improvement intervention for depression affected life events and psychological well-being over time: a 9-year longitudinal analysis. *Med Care* 2008; 46: 78-84 [PMID: 18162859]
  - 11 Locke GR, Weaver AL, Melton LJ, Talley NJ. Psychosocial factors are linked to functional gastrointestinal disorders: a population based nested case-control study. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 350-357 [PMID: 15046228 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04043.x]
  - 12 Miller V, Whorwell PJ. Hypnotherapy for functional gastrointestinal disorders: a review. *Int J Clin Exp Hypn* 2009; 57: 279-292 [PMID: 19459089 DOI: 10.1080/00207140902881098]
  - 13 吴改玲, 蓝宇. 符合罗马Ⅲ标准FD患者心理测试及自主神经功能观察44例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1473-1477
  - 14 Wu JC. Community-based study on psychological comorbidity in functional gastrointestinal disorder. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 23-26 [PMID: 21443703 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06642.x]
  - 15 Mosiienko HP. [Role of gastrointestinal hormones in pathogenesis of functional diseases of the digestive system in adolescent]. *Lik Sprava* 2008; (7-8): 47-50 [PMID: 19663016]
  - 16 Troncon LE, Thompson DG, Ahluwalia NK, Barlow J, Heggie L. Relations between upper abdominal symptoms and gastric distension abnormalities in dysmotility like functional dyspepsia and after vagotomy. *Gut* 1995; 37: 17-22 [PMID: 7672673 DOI: 10.1136/gut.37.1.17]
  - 17 黄纯焄, 李翀, 王春琳, 王林海, 王晓栋, 刘静, 杨琳. 功能性消化不良与心理因素及自主神经功能关系的初步研究. 胃肠病学和肝病杂志 2002; 11: 346-348
  - 18 李迎春, 赵宝龙, 周红, 王军, 王萍, 王井红. 心理状态变化与自主神经功能改变及胃电节律紊乱在功能性消化不良中的相互关系. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2063-2066
  - 19 Veldhuyzen van Zanten SJ, Chiba N, Armstrong D, Barkun A, Thomson A, Smyth S, Escobedo S, Lee J, Sinclair P. A randomized trial comparing omeprazole, ranitidine, cisapride, or placebo in helicobacter pylori negative, primary care patients with dyspepsia: the CADET-HN Study. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1477-1488 [PMID: 15984968 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.40280.x]
  - 20 Miwa H, Nakajima K, Yamaguchi K, Fujimoto K, Veldhuyzen VAN Zanten SJ, Kinoshita Y, Adachi K, Kusunoki H, Haruma K. Generation of dyspeptic symptoms by direct acid infusion into the stomach of healthy Japanese subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 257-264 [PMID: 17593071 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03367.x]
  - 21 Lee KJ, Vos R, Janssens J, Tack J. Influence of duodenal acidification on the sensorimotor function of the proximal stomach in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G278-G284 [PMID: 12760903 DOI: 10.1152/ajpgi.00086.2003]
  - 22 McColl K, Murray L, El-Omar E, Dickson A, El-Nujumi A, Wirz A, Kelman A, Penny C, Knill-Jones R, Hilditch T. Symptomatic benefit from eradicating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. *N Engl J Med* 1998; 339: 1869-1874 [PMID: 9862941 DOI: 10.1056/NEJM199812243392601]
  - 23 Blum AL, Talley NJ, O'Moráin C, van Zanten SV, Labenz J, Stolte M, Louw JA, Stubberöd A, Theodórs A, Sundin M, Bolling-Sternevald E, Jung-hard O. Lack of effect of treating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. Omeprazole plus Clarithromycin and Amoxicillin Effect One Year after Treatment (OCAY) Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 1875-1881 [PMID: 9862942 DOI: 10.1056/NEJM199812243392602]
  - 24 Laine L, Schoenfeld P, Fennerty MB. Therapy for *Helicobacter pylori* in patients with nonulcer dyspepsia. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2001; 134: 361-369 [PMID: 11242496]
  - 25 Moayyedi P, Deeks J, Talley NJ, Delaney B, Forman D. An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2621-2626 [PMID: 14687807 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.08724.x]
  - 26 Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, Milbradt TC, Von Reisswitz PS, Berwanger O, Bressel M, Edelweiss MI, Marini SS, Molina CG, Folador L, Lunkes RP, Heck R, Birkhan OA, Spindler BM, Katz N, Colombo Bda S, Guerrieri PP, Renck LB, Grando E, Hocevar de Moura B, Dahmer FD, Rauber J, Prolla JC. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med* 2011; 171: 1929-1936 [PMID: 22123802 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.533]
  - 27 李尚勤, 孟丽秋. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的相关性研究. 医学综述 2005; 11: 952-953
  - 28 卢世建. 根除幽门螺杆菌治疗功能性消化不良. 临床医学 2008; 28: 79-80
  - 29 沈洲立, 陈秀英. 联合根除幽门螺杆菌治疗功能性消化不良362例的临床分析. 重庆医学 2009; 38: 1779-1780
  - 30 李爱平. 根除幽门螺杆菌在以罗马Ⅲ为诊断标准的功能性消化不良中的作用. 中国中医药咨讯 2010; 2: 18-19, 27
  - 31 Fock KM, Katelaris P, Sugano K, Ang TL, Hunt R, Talley NJ, Lam SK, Xiao SD, Tan HJ, Wu CY, Jung HC, Hoang BH, Kachintorn U, Goh KL, Chiba T, Rani AA. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1587-1600 [PMID: 19788600 DOI:

# 同行评价

本文具有一定的可读性、科学性。

- 10.1111/j.1440-1746.2009.05982.x]
- 32 张天哲, 张铁民, 赵丹丹, 唐桂钰. 中国人群幽门螺杆菌感染相关因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1582-1589
- 33 彭娜, 徐三平. 根治幽门螺杆菌在功能性消化不良治疗中的意义. 临床消化病杂志 2008; 20: 81-82, 89
- 34 Moayyedi P. Helicobacter pylori eradication for functional dyspepsia: what are we treating?: comment on "Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia". *Arch Intern Med* 2011; 171: 1936-1937 [PMID: 22123803 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.541]
- 35 Futagami S, Shindo T, Kawagoe T, Horie A, Shim-puku M, Gudis K, Iwakiri K, Itoh T, Sakamoto C. Migration of eosinophils and CCR2-/CD68-double positive cells into the duodenal mucosa of patients with postinfectious functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1835-1842 [PMID: 20461070 DOI: 10.1038/ajg.2010.151]
- 36 Hu Y, He LH, Xiao D, Liu GD, Gu YX, Tao XX, Zhang JZ. Bacterial flora concurrent with Helicobacter pylori in the stomach of patients with upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1257-1261 [PMID: 22468090 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1257]
- 37 Anagnostopoulos GK, Yao K, Kaye P, Fogden E, Fortun P, Shonde A, Foley S, Sunil S, Atherton JJ, Hawkey C, Ragnunath K. High-resolution magnification endoscopy can reliably identify normal gastric mucosa, Helicobacter pylori-associated gastritis, and gastric atrophy. *Endoscopy* 2007; 39: 202-207 [PMID: 17273960]
- 38 Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Nakazato M, Date Y, Bowlus CL, Ishino Y, Watanabe E, Shiya T, Ueno H, Hoshino H, Satoh K, Sugano K. Changes in plasma ghrelin levels, gastric ghrelin production, and body weight after Helicobacter pylori cure. *J Gastroenterol* 2006; 41: 954-961 [PMID: 17096064]
- 39 Holtmann G, Siffert W, Haag S, Mueller N, Langkafel M, Senf W, Zotz R, Talley NJ. G-protein beta 3 subunit 825 CC genotype is associated with unexplained (functional) dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 126: 971-979 [PMID: 15057736 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.006]
- 40 Camilleri CE, Carlson PJ, Camilleri M, Castillo EJ, Locke GR, Geno DM, Stephens DA, Zinsmeister AR, Urrutia R. A study of candidate genotypes associated with dyspepsia in a U.S. community. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 581-592 [PMID: 16464220 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00481.x]
- 41 Oshima T, Nakajima S, Yokoyama T, Toyoshima F, Sakurai J, Tanaka J, Tomita T, Kim Y, Hori K, Matsumoto T, Miwa H. The G-protein beta3 subunit 825 TT genotype is associated with epigastric pain syndrome-like dyspepsia. *BMC Med Genet* 2010; 11: 13 [PMID: 20102604 DOI: 10.1186/1471-2350-11-13]
- 42 Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Wang F, Nakamura M, Sakata M, Hirata I, Nakano H. Homozygous 825T allele of the GNB3 protein influences the susceptibility of Japanese to dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 642-646 [PMID: 17717746 DOI: 10.1007/s10620-007-9923-0]
- 43 Locke GR, Zinsmeister AR, Talley NJ, Fett SL, Melton LJ. Familial association in adults with functional gastrointestinal disorders. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 907-912 [PMID: 10994826]
- 44 Gathaiya N, Locke GR, Camilleri M, Schleck CD, Zinsmeister AR, Talley NJ. Novel associations with dyspepsia: a community-based study of familial aggregation, sleep dysfunction and somatization. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 922-e69 [PMID: 19496951 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01320.x]
- 45 季洁如, 陈胜良. 功能性胃肠病的遗传机制-相关基因研究. 国际消化病杂志 2008; 28: 377-379
- 46 Geeraerts B, Van Oudenhove L, Fischler B, Vandenberghe J, Caenepeel P, Janssens J, Tack J. Influence of abuse history on gastric sensorimotor function in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 33-41 [PMID: 18694440 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01178.x]
- 47 Feinle-Bisset C, Horowitz M. Dietary factors in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 608-618 [PMID: 16918725 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00790.x]
- 48 Pilichiewicz AN, Horowitz M, Holtmann GJ, Talley NJ, Feinle-Bisset C. Relationship between symptoms and dietary patterns in patients with functional dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 317-322 [PMID: 18929687]
- 49 Pilichiewicz AN, Feltrin KL, Horowitz M, Holtmann G, Wishart JM, Jones KL, Talley NJ, Feinle-Bisset C. Functional dyspepsia is associated with a greater symptomatic response to fat but not carbohydrate, increased fasting and postprandial CCK, and diminished PYY. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2613-2623 [PMID: 18775003 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02041.x]
- 50 Kusano M, Zai H, Hosaka H, Shimoyama Y, Nagoshi A, Maeda M, Kawamura O, Mori M. New frontiers in gut nutrient sensor research: monosodium L-glutamate added to a high-energy, high-protein liquid diet promotes gastric emptying: a possible therapy for patients with functional dyspepsia. *J Pharmacol Sci* 2010; 112: 33-36 [PMID: 20093786 DOI: 10.1254/jphs.09R08FM]
- 51 Saito YA, Locke GR, Weaver AL, Zinsmeister AR, Talley NJ. Diet and functional gastrointestinal disorders: a population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2743-2748 [PMID: 16393229 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00288.x]
- 52 Mahadeva S, Goh KL. Epidemiology of functional dyspepsia: a global perspective. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2661-2666 [PMID: 16718749]
- 53 Mahadeva S, Yadav H, Rampal S, Goh KL. Risk factors associated with dyspepsia in a rural Asian population and its impact on quality of life. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 904-912 [PMID: 20179699 DOI: 10.1038/ajg.2010.26]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 管腔内局部照射诱发急性放射性食管损伤动物模型的构建及其应用

全甲钊, 曲波, 王耀明, 金世柱, 崔亚利, 辛然, 王蓓蓓, 姜海燕

全甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 姜海燕, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086  
王耀明, 黑龙江省医院放射科 黑龙江省哈尔滨市 150036  
崔亚利, 哈尔滨医科大学附属第三医院放射科 黑龙江省哈尔滨市 150086  
辛然, 哈尔滨医科大学附属第二医院重症医学科 黑龙江省哈尔滨市 150086  
全甲钊, 在读硕士, 主要从事骨髓间充质干细胞移植治疗食管放射性损伤的研究。  
哈尔滨市科委青年科技创新人才基金资助项目, No. 2018rfqys103  
作者贡献分布: 此课题由曲波与金世柱设计; 研究过程由全甲钊、辛然、王蓓蓓及姜海燕操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王耀明与崔亚利提供; 数据分析由王耀明与崔亚利完成; 本文写作由全甲钊完成。  
通讯作者: 曲波, 副教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。  
qubo\_1970@hotmail.com  
电话: 0451-86605143  
收稿日期: 2013-01-24 修回日期: 2013-02-15  
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-03-28

## Development of a rat model of intraluminal local radiation-induced acute radioactive esophageal injury

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Yao-Ming Wang, Shi-Zhu Jin, Ya-Li Cui, Ran Xin, Bei-Bei Wang, Hai-Yan Jiang

Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Shi-Zhu Jin, Bei-Bei Wang, Hai-Yan Jiang, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China  
Yao-Ming Wang, Department of Radiology, Heilongjiang Provincial Hospital, Harbin 150036, Heilongjiang Province, China  
Ya-Li Cui, Department of Radiology, the Third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China  
Ran Xin, Department of ICU, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China  
Supported by: the Young Talent Science and Technology Innovation Fund of Harbin Municipal Science and Technology Commission, No. 2018rfqys103  
Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo\_1970@hotmail.com  
Received: 2013-01-24 Revised: 2013-02-15  
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To develop a rat model of acute radioactive esophageal injury by local irradiation of the esophagus with  $^{125}\text{I}$  seed chain and to explore its clinical application.

**METHODS:**  $^{125}\text{I}$  seed chain was used to locally irradiate the esophagus of SD rats. The rats were killed on days 3, 5 and 7 after irradiation to take the full-length esophageal tissue. Tissue samples were embedded in paraffin, sectioned, and subjected to HE staining for pathological analysis. Pathological changes in the full-length esophageal tissue at one week and two weeks and living status at two weeks after intraluminal irradiation with 0.8 mCi  $^{125}\text{I}$  seed chain (initial activity 0.8 mCi) were observed.

**RESULTS:** The chain of five  $^{125}\text{I}$  seeds, with an initial activity of  $> 0.6$  mCi, could induce radioactive esophageal injury by intraluminally irradiating the esophagus for 5 d. Radioactive esophageal injury increased gradually with the increase in particle activity.  $^{125}\text{I}$  seed chain could be easily taken out postoperatively to avoid further esophageal injury. SD rats could gradually resume eating after intraluminal irradiation with  $^{125}\text{I}$  seed chain, and the injury tended to be repaired in two weeks.

**CONCLUSION:** The chain of five  $^{125}\text{I}$  seeds, with an initial activity of  $> 0.6$  mCi, can induce radioactive esophageal injury by intraluminally irradiating the rat esophagus for five days. Intraluminal brachytherapy with low-energy radionuclide  $^{125}\text{I}$  seed chain may provide a clinical option for treatment of advanced esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Radioactive esophageal injury;  $^{125}\text{I}$  seeds; Advanced esophageal carcinoma; Brachytherapy; Animal model

Tong JZ, Qu B, Wang YM, Jin SZ, Cui YL, Xin R, Wang

## ■背景资料

长期以来, 食管放射性损伤是头、颈及胸部恶性肿瘤放射治疗的重要并发症之一。它能够引起患者胸骨后疼痛、烧灼感、吞咽不适, 严重时甚至出现呛咳、呼吸困难、呕吐、咯血等, 严重影响患者的生存质量, 而且限制了放疗的剂量和进程。过去对食管放射性损伤的治疗主要集中在止痛解痉、抗菌消炎、保护消化道黏膜的对症处理上, 然而这些并不能从根本上解决问题。近些年来, 干细胞移植治疗组织器官损伤逐渐成为研究的热点, 且既往研究显示, 通过静脉注射骨髓细胞对接受单粒级高剂量照射的食管能够起到保护作用, 而干细胞移植治疗食管放射性损伤的研究需要较精确的动物模型。

## ■同行评议者

官泳松, 教授, 四川大学华西医院放射科



## ■ 研发前沿

以往的造模方法主要为外照射,照射剂量率大,短时间内使照射野接受非常大的射线剂量,虽然在照射过程中用铅板遮蔽了除照射野外的其他部分,但照射范围仍不够精确,且对照射野深度无法把握,不可避免地对食管周围组织同样造成较大的损伤。采用低能核素进行食管腔内照射的动物模型未见相关研究。

BB, Jiang HY. Development of a rat model of intraluminal local radiation-induced acute radioactive esophageal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 791-797 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.791>

## 摘要

**目的:** 构建急性放射性食管损伤动物模型,并进行临床应用方法学探讨。

**方法:** 应用不同初始活度的 $^{125}\text{I}$ 粒子链于SD大鼠食管管腔内进行局部照射,分别于照射3、5、7 d后处死大鼠,取全长食管组织做石蜡包埋、切片、HE染色,与空白组对照,进行病理学分析。观察初始活度0.8 mCi  $^{125}\text{I}$ 粒子链食管腔内照射后2 wk内大鼠生存状况及其7 d组在1 wk、2 wk时大鼠全长食管组织的病理变化。

**结果:** 初始活度在0.6 mCi以上的5颗 $^{125}\text{I}$ 粒子组成的粒子链对SD大鼠行食管腔内局部照射5 d以上可诱发放射性食管损伤,随粒子活度的增加,放射性食管损伤逐渐加重。术后, $^{125}\text{I}$ 粒子链可方便取出,不会对大鼠食管进一步损伤,且经 $^{125}\text{I}$ 粒子链食管腔内照射后SD大鼠可逐渐恢复饮食,2 wk后大鼠食管放射性损伤有修复的趋势。

**结论:** 食管管腔内应用初始活度0.6 mCi以上的5颗 $^{125}\text{I}$ 粒子组成的粒子链接近零距离持续照射5 d以上能够引起放射性食管损伤。食管腔内应用低能核素 $^{125}\text{I}$ 粒子链近距离放疗或许可为临床姑息治疗晚期食管癌提供方法学借鉴。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 放射性食管损伤;  $^{125}\text{I}$ 粒子; 晚期食管癌; 近距离放射疗法; 动物模型

全甲钊, 曲波, 王耀明, 金世柱, 崔亚利, 辛然, 王蓓蓓, 姜海燕. 食管腔内局部照射诱发急性放射性食管损伤动物模型的构建及其应用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(9): 791-797 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.791>

## 0 引言

长期以来,食管放射性损伤是头、颈及胸部恶性肿瘤放射治疗的重要并发症之一。它能够引起患者胸骨后疼痛、烧灼感、吞咽不适,严重时甚至出现呛咳、呼吸困难、呕吐、呕血等,严重影响患者的生存质量,而且限制了放疗的剂量和进程<sup>[1]</sup>。过去对食管放射性损伤的治疗主要集中在止痛解痉、抗菌消炎、保护消化系黏

膜的对症处理上,然而这些并不能从根本上解决问题。近些年来,干细胞移植治疗组织器官损伤逐渐成为研究的热点<sup>[2]</sup>,且既往研究显示<sup>[3]</sup>,通过静脉注射骨髓细胞对接受单粒级高剂量照射的食管能够起到保护作用。干细胞主要通过向损伤组织处特异性归巢、分化来达到修复损伤组织的目的,因此干细胞移植治疗食管放射性损伤的研究需要较精确的动物模型。以往的放射性食管损伤动物模型主要通过外照射<sup>[4,5]</sup>,虽然采用铅板遮蔽大部分照射野,但仍然无法保证照射的精确性。因此,目前急需建立一种简单易行,造模精确的动物模型,且可以大样本的制作,从而为预防、治疗放射性食管损伤研究提供一种可行的造模方法。本研究通过使用 $^{125}\text{I}$ 粒子链对清洁级SD大鼠进行食管腔内持续局部照射,后进行放射线学检查定位及组织病理学检查,成功建立急性放射性食管损伤的动物模型。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康成年♂清洁级SD大鼠84只,体重280-300 g,由哈尔滨医科大学第二附属医院实验动物研究中心提供。动物生长环境温度 $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,湿度75%。随机分为3个实验组,根据粒子初始活度的不同,分别为0.4 mCi组(18只)、0.6 mCi组(18只)、0.8 mCi组(18只),每个实验组按照照射时间3、5、7 d再分为3个亚组,共9组,每组各6只SD大鼠;另取24只SD大鼠,为观察组,分为A、B两组,其中A组18只,分组及处理同0.8 mCi组,于照射后2 wk时处死。B组6只,处理同0.8 mCi组7 d组,于照射后1 wk时处死;另设空白对照组6只。容纳 $^{125}\text{I}$ 粒子的细管(一次性输尿管导管,由上海上医康鸽医用器材有限责任公司生产,生产批号101103,规格F4), $^{125}\text{I}$ 粒子(6711型,呈圆柱状,长4.8 mm,直径0.8 mm,半衰期为59.6 d,能量为27.4-31.5 MeV X射线及35.5 MeV  $\gamma$ 射线,初始剂量率7.7 cGy/h,由天津赛德生物制药有限公司生产);7号缝合线;放射性防护设备:铅衣、铅眼镜、铅围脖、铅手套等;缝合针;直径0.7 mm导丝;X光机(荷兰PHILIPS公司);病理切片机(LEICA SM2000R,产自德国);显微镜(中国Motic公司),放大率100-400倍之间;HE染液;10%水合氯醛;利多卡因;医用碘伏皮肤消毒液。

## 1.2 方法

**1.2.1  $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置剂量学:** 本实验放射源由5颗 $^{125}\text{I}$ 粒子沿粒子长轴方向无间隔紧密直线排

列而成, 因此采用王耀明等<sup>[6]</sup>  $^{125}\text{I}$ 粒子链管内近距离治疗剂量学公式:  $D(r, \theta) = \sum_{i=1}^N D(r_i, \theta_i)$ , 其中,  $(r, \theta)$ 为关心点处的剂量率(单位:  $\text{cGy/h}$ ),  $N$ 为粒子数目,  $r_i$ 为关心点与各个粒子中心的距离,  $\theta_i$ 为关心点和粒子中心的连线与源长轴方向的夹角。

**1.2.2  $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置的放置与组织处理:** 所有大鼠均用10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)行腹腔注射麻醉后仰卧固定于鼠板上。实验组每个 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置放置5颗预置的 $^{125}\text{I}$ 粒子, 分别为0.4、0.6、0.8mCi, 对照组不放置 $^{125}\text{I}$ 粒子。实验前, 对 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置、缝合线、缝针和SD大鼠口腔壁用碘伏进行消毒。待固定好大鼠后, 用导丝分别把对应的 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置通过大鼠口腔送入每只大鼠的食管内, 送入深度选择为8 cm(此处可尽量减少对肺部敏感组织的照射), 后拔出导丝, 连接照射装置上的缝线于缝合针, 用利多卡因对大鼠尽量靠近咽部的口腔壁行局部麻醉后, 缝于大鼠口腔壁上从而固定 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置。操作完毕, 分别通过X线拍摄定位, 确定 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置位于大鼠食管内。大鼠复苏后, 给予进流食。在对应照射时间后, 用10%水合氯醛行腹腔注射麻醉大鼠, 经X线检查确定 $^{125}\text{I}$ 粒子链位置, 后取出 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置, 同时处死实验组大鼠, 取全长食管组织, 用4%多聚甲醛溶液固定, 经脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋处理后切片, HE染色后于显微镜下观察食管组织病理变化, 并处理保存图像。照射后观察组实验方法同上, 而在取出 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置后, 不予处死, 给予3 d组、5 d组、7 d组B组大鼠正常进食, 每天观察记录大鼠照射后2 wk内生存状态并记录大鼠进食、饮水情况。其中7 d组大鼠在照射后2 wk时处死, 取全长食管组织, 进行组织病理学分析。照射后观察组7 d组A组在照射后1 wk时处死, 并取全长食管组织, 进行组织病理学分析。

**1.2.3 病理对照评分:** 根据组织损伤程度<sup>[7]</sup>分为: 0: 黏膜层, 黏膜下层, 肌层及外膜层均无病理损伤; +: 黏膜上皮轻度坏死脱落(鳞状上皮层、棘细胞层破坏脱落, 基底层轻微破坏, 基底细胞间有微小裂隙, 基底层细胞中出现灶状核周空泡); ++: 黏膜上皮中度破坏(鳞状上皮层、棘细胞层、基底细胞层部分坏死脱落, 脱落范围小); +++: 黏膜上皮重度破坏, 全层剥脱, 脱落范围大。根据炎细胞浸润深度及程度<sup>[7]</sup>分为: 0: 黏膜层, 黏膜下层, 肌层及外膜层均无炎细胞浸润; +: 固有层或黏膜下层有少量炎细胞(1-5 neutrophil/HP), 炎细胞未侵及肌层和外膜层; ++: 固有层

和黏膜下层均存在中量炎细胞(6-15 neutrophil/HP), 少量炎细胞侵及肌层或外膜层; +++: 大量炎细胞(>15 neutrophil/HP)浸润固有层、黏膜下层、肌层和外膜。每1个“+”算作1分。放射性食管炎病理阴性积分为0。放射性食管炎病理变化程度为组织损伤及炎细胞浸润积分之和。

**统计学处理** 所有数据采用SAS9.1软件进行统计学分析处理, 各组放射性食管炎病理积分值的比较用One Way ANOV分析, 结果以mean  $\pm$  SD表示, 独立样本均数之间比较采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1  $^{125}\text{I}$ 粒子链置入大鼠食管腔结果**  $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置通过大鼠口腔顺利置入食管腔预置位置, 拍摄X线定位可见 $^{125}\text{I}$ 粒子链整齐排列于食管腔内(图1), 口端缝线缝于口腔壁后2 wk时间内未见皮肤感染。

**2.2 食管及周围组织吸收剂量** 根据王耀明等<sup>[6]</sup>的计算结果: 由于粒子的标量叠加作用, 10枚与20枚初始活度1 mCi的 $^{125}\text{I}$ 粒子组成的粒子链在距中心点以及端点垂直距离为0.5 cm处的剂量率( $\text{cGy/h}$ , 1 Gy = 100 cGy)分别为13.7178 cGy/h、14.0896 cGy/h和7.0448 cGy/h、7.0703 cGy/h。从结果中可见, 当粒子数目较多时, 由于关心点和粒子中心的连线与源长轴方向的夹角很小, 所以粒子链剂量率与粒子数目关系较小。而我们的实验模型, 大鼠食管壁几乎紧贴输尿管导管, 食管壁距种子源的最近距离接近0.5 mm。因此, 粒子周围食管组织接受到的放射剂量率将更高, 假设粒子活度为1 mCi, 粒子链周围食管组织接受到的放射剂量率范围理论上可高于7-13 cGy/h。

**2.3 对照组正常食管组织HE染色表现** 大鼠正常食管管腔内侧有一层薄的角化层, 黏膜层细胞排列紧密, 基底层细胞核染色较深, 向上皮侧蓝色逐渐变浅, 显示细胞分化良好。固有层有稀疏的胶原纤维, 多为纤维母细胞。肌层分为内环肌和外纵肌。外膜层较薄, 各层食管组织未见炎细胞浸润(图2A)。

**2.4 实验组食管组织肉眼、病理表现** 0.4 mCi组: 3、5、7 d组大鼠食管黏膜均未发生明显食管炎病理改变, 可于5 d和7 d组发现角化层增厚, 基底层细胞增生, 多边细胞层增厚, 少数血管轻度充血(图2B)。

0.6 mCi组: 3 d组肉眼均未见明显改变, 经HE染色后, 显微镜下观察可发现角化层增厚, 基

## ■ 相关报道

目前, 新型低能核素 $^{125}\text{I}$ 粒子由于其低能、安全性强等优点已被广泛应用于腔内近距离放射、食管支架联合 $^{125}\text{I}$ 粒子和肿瘤内植入 $^{125}\text{I}$ 粒子治疗食管癌的研究。



### ■应用要点

本研究可为建立放射性食管损伤动物模型提供一种新的造模方法,且为应用于临床治疗晚期食管癌提供方法学借鉴。

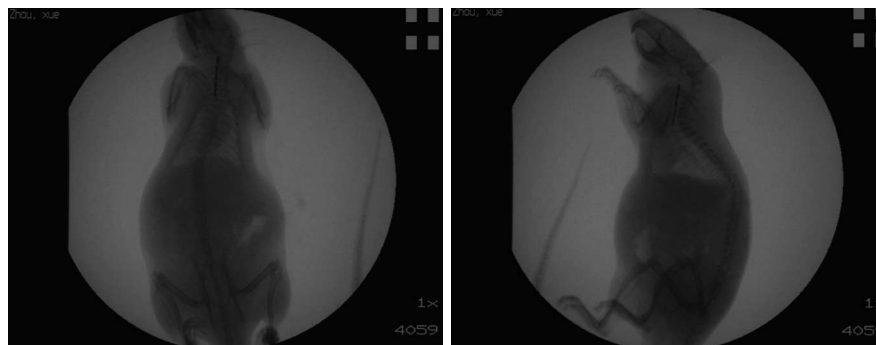


图1 动物模型<sup>125</sup>I粒子链照射装置X线定位。

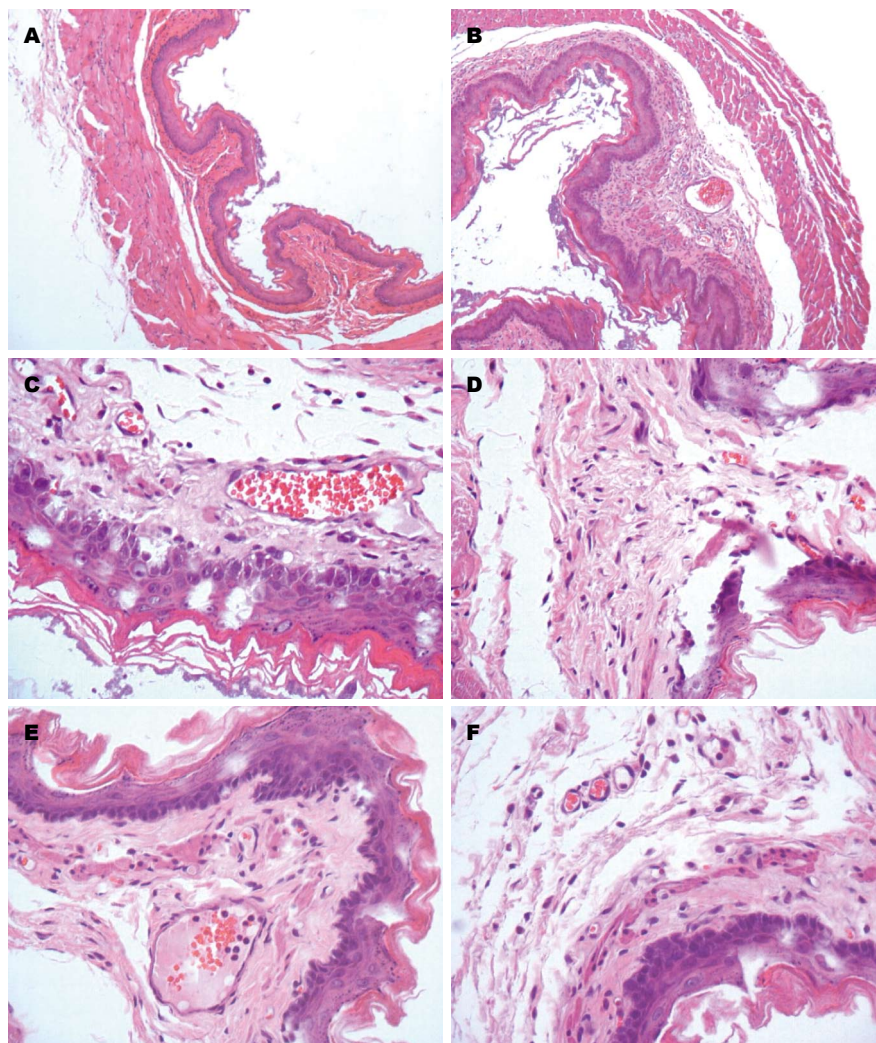


图2 不同初始<sup>125</sup>I粒子活度与照射时间放射性食管损伤的组织学变化。A: 正常对照组大鼠食管组织染色结果(HE × 100); B: 0.4 mCi组照射7 d后大鼠食管组织染色结果(HE × 100); C: 0.6 mCi组照射5 d后大鼠食管组织染色结果(HE × 400); D: 0.8 mCi组照射7 d后大鼠食管组织染色结果(HE × 400); E: 0.8 mCi组照射7 d后1 wk食管组织染色结果(HE × 400); F: 0.8 mCi组照射7 d后2 wk食管组织染色结果(HE × 400)。

底细胞增生, 多边细胞层增厚, 血管轻度充血。5 d组肉眼观未见明显变化。显微镜下观察可见食管上皮黏膜层少部分断裂、缺损, 血管充血, 固有层、黏膜下层有少量炎症细胞浸润(图2C)。7 d组肉眼可见管壁红肿, 管腔内侧病变区多处糜烂。显微镜下观察可见食管上皮角化层显著增厚, 黏膜层变薄, 多边形细胞及基底细胞排列不规则, 且断裂、缺损增多, 血管充血明显。固有层、黏膜下层可见较多炎症细胞浸润, 分别为中性粒细胞和淋巴细胞。

0.8 mCi组: 3 d组肉眼食管外观未见明显改变。显微镜下观察可见角化层增厚, 黏膜层细胞增生, 血管轻度充血。固有层、黏膜下层有少量炎症细胞浸润。5 d组肉眼可见食管外观轻度红肿, 管腔内侧部分黏膜层糜烂。显微镜下观察可见黏膜层多边形细胞和基底细胞排列紊乱, 且断裂、缺损明显增多, 血管充血明显。固有层、黏膜下层可见较多炎症细胞浸润, 分别为中性粒细胞和淋巴细胞。7 d组肉眼可见食管管壁红肿, 管腔内侧部分病变区可见部分区域明显糜



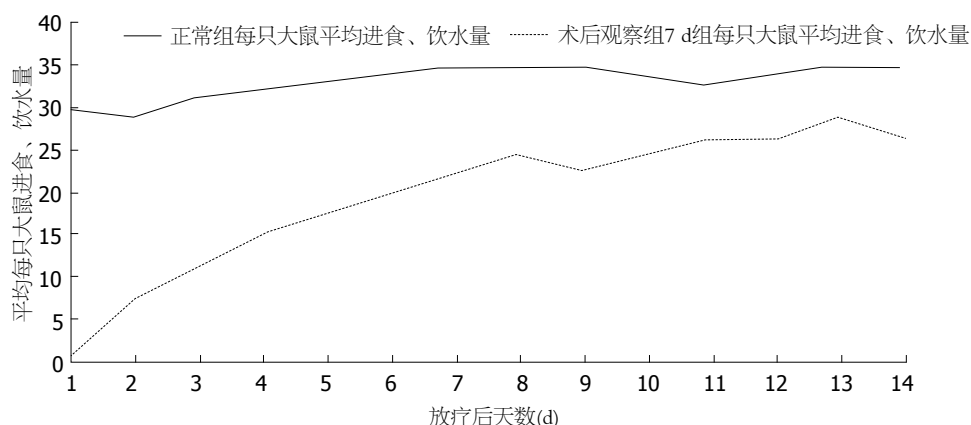


图3 平均每只大鼠每日进食、饮水量。

烂, 表面不光滑. 显微镜下观察可见上皮黏膜层变薄, 上皮层脱落的范围和深度较前面组明显加大, 血管充血明显. 固有层、黏膜下层可见较多炎症细胞浸润, 分别为中性粒细胞和淋巴细胞, 甚至肌层也可见炎症细胞浸润(图2D).

**2.4 观察组 $^{125}\text{I}$ 粒子链持续照射7 d后1、2 wk时组织病理学分析** 5颗初始活度0.8 mCi  $^{125}\text{I}$ 粒子照射7 d后1 wk肉眼可见食管壁仍有轻度红肿, 管腔内侧部分黏膜层仍有糜烂, 但较术后减轻. 显微镜下观察可见角化层增厚, 部分黏膜层区域可见断裂、缺损. 固有层、黏膜下层炎症细胞浸润明显, 以中性粒细胞和淋巴细胞为主, 毛细血管充血明显(图2E). 照射7 d后1 wk时食管损伤、炎症细胞及组织变化总积分与正常组差异有统计学意义,  $P<0.001$ . 照射7 d后2 wk肉眼食管外观较1 wk时明显好转, 仅见部分区域有轻微红肿, 管腔内侧未见明显糜烂, 黏膜较光滑. 显微镜下观察可见角质层、黏膜层变薄, 黏膜断裂、缺损明显减少. 固有层、黏膜下层仍可见少量炎症细胞浸润, 血管轻度充血. 照射7 d后2 wk与1 wk食管损伤、炎症细胞及组织变化总积分之间差异有统计学意义,  $P<0.05$ . 以上结果表明射线照射后2 wk食管黏膜上皮已开始逐渐自行修复(图2F).

**2.5 观察组 $^{125}\text{I}$ 粒子照射后2 wk内大鼠生存状况** 观察组大鼠在对应时间取出 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置后, 分别可见各组大鼠进食和饮水减少, 状态较正常鼠差, 随照射时间的延长而逐渐加重. 术后1、3和5 d组逐渐开始恢复进食及饮水, 后随天数增加, 进食及饮水逐渐增加. 术后第2天, 7 d组B组逐渐恢复少量饮水及进食, 但进食量较少, 后随天数增加饮水及进食量逐渐增多(图3). 以上各组大鼠在术后1 wk左右饮食基本恢复正常,

至2 wk时无死亡.

### 3 讨论

临床上对食管癌及胸部、头颈部恶性肿瘤患者进行放射治疗时, 照射野中的正常食管黏膜常发生充血、水肿, 表现为吞咽困难、局部疼痛、胸骨后烧灼感, 轻者摄入不足, 重者疼痛难以忍受, 营养不良、电解质紊乱, 甚至因此被迫停止放疗, 延误最佳治疗时机. 过去对放射性食管损伤的治疗主要采取对症支持治疗, 然而这些并不能从根本上解决问题<sup>[2]</sup>, 还可能因为治疗不及时或不当, 造成严重的食管狭窄等并发症. 随着干细胞的研究逐渐成为热点, 应用干细胞移植治疗食管放射性损伤为我们指出了一个新的研究方向<sup>[2]</sup>, 且既往的研究证实了骨髓干细胞在受过照射的损伤食管中具有一定程度归巢、增生并分化的能力<sup>[3]</sup>. 而干细胞的特异性定向分化需要我们去建立一种精确的动物放射性食管损伤模型.

以往的造模方法<sup>[4,5]</sup>主要为外照射, 照射剂量率大, 短时间内使照射野接受非常大的射线剂量, 虽然在照射过程中用铅板遮蔽了除照射野外的其他部分, 但照射范围仍不够精确, 且对照射野深度无法把握, 不可避免地对食管周围组织同样造成较大的损伤.  $^{125}\text{I}$ 粒子是一种新型低能核素, 半衰期59.6 d, 外部有一层用0.05 mm的钛(Ti)造成的包壳, 两端用Ti密封, 保证了使用时的安全性, 其内部有一根3 mm长的银丝, 表面涂有活性物质碘化银, 能够持续释放低剂量的X射线和 $\gamma$ 射线, 有效照射半径为15-20 mm.  $^{125}\text{I}$ 粒子放射剂量率低, 且放射剂量随距离增加而迅速衰减, 因此对粒子周围组织短时间内造成的损伤较低, 既往的多数研究<sup>[8-11]</sup>也证实了这一点.

■同行评价  
本文具有一定指导意义.

这些优点为管腔内照射造模提供了可能。

我们采用5颗 $^{125}\text{I}$ 粒子组成的粒子链放置于SD大鼠食管内,进行管腔内低剂量率持续照射,且参照沈莉等<sup>[4]</sup>使 $^{125}\text{I}$ 粒子装置仅照射大鼠食管上段2 cm,主照射野约占食管全长的25%,从而避免了对放射性射线高敏的肺的损伤。王耀明等依据美国医学物理家协会工作组43号报告(AAPM TG No. 43)及其更新报告<sup>[12,13]</sup>中的剂量计算模型以及相应的参数和实验数据,以单枚剂量计算模型为基础,利用“标量叠加”的方法,从理论上推导并得到了多枚粒子剂量计算的数学模型,为本实验剂量学奠定了理论基础。我们的实验模型中,放射性粒子与食管壁接触非常近(<0.5 mm),因此无法根据王耀明等<sup>[6]</sup>的计算公式计算准确放射剂量,但理论上1 wk内粒子周围食管组织接受到的放射剂量范围可达11-22 Gy。以往的实验中,郭金和等<sup>[8]</sup>采用2颗 $^{125}\text{I}$ 粒子照射2 wk可发现周围食管组织有炎症表现,宋永彬等<sup>[14]</sup>采用1颗 $^{125}\text{I}$ 粒子手术种植于食管处,1 wk即可发现食管炎症,而我们采用5颗粒子,且粒子的标量叠加效应将会产生更大的放射剂量,因此可以在更短时间内造成放射性食管损伤。据此,本实验选择照射3、5、7 d来进行研究。放射性食管损伤程度可通过光镜下食管组织的充血、炎性细胞浸润、黏膜层变化来判断,因此我们的实验采用单纯光镜下病理变化打分方法,评价大鼠食管放射性损伤程度,并得出0.6-0.8 mGy  $^{125}\text{I}$ 粒子链照射5 d以上可诱发放射性食管损伤。考虑到粒子活度较大对实验人员安全的影响及对大鼠损伤程度较大,因此建议实际应用时采用0.6 mGy活度 $^{125}\text{I}$ 粒子链持续照射7 d。

本实验过程中 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置存留于大鼠食管内,由于食管的扩张性,照射期间给予大鼠流食时,对大鼠进食将无过多影响,因此可应用于液体药物防治放射性食管损伤的研究,但更适用于静脉注射药物研究,因此符合我们通过静脉移植干细胞治疗食管放射性损伤的要求。然而,本实验方法术后约有20%的大鼠死亡,考虑与自制 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置技术不成熟,导致取出 $^{125}\text{I}$ 粒子照射装置过程中损伤食管有关。因此我们认为此种造模方法更适用于食管较粗的动物。

另一方面,目前新型低能核素 $^{125}\text{I}$ 粒子由于他的低能、安全性强等因素已被广泛应用于腔内近距离放射、食管支架联合 $^{125}\text{I}$ 粒子和肿瘤内植入 $^{125}\text{I}$ 粒子治疗食管癌的研究<sup>[15-18]</sup>,且已作为一种独立的方法被用于缓解不可治愈性食管癌的

吞咽困难症状<sup>[19]</sup>。而我们实验中的造模实验方法或许可为目前临床晚期食管癌短距离放射疗法提供一个新的思路:相对于以往较粗的食管癌管腔内放疗后装施源器<sup>[20]</sup>,我们实验方法中存在于食管腔内的粒子链放射装置较细,对食管腔本身不存在阻塞,还可极大程度上减少给患者带来的不适,且可根据需要随时、随地调整照射时间、照射部位,杀伤癌细胞,从而治疗或缓解晚期食管癌狭窄症状,达到缓解患者进食状况的目的;以往的管腔内近距离放射治疗放射源多采用 $^{226}\text{Ra}$ 、 $^{222}\text{Rn}$ 和 $^{192}\text{Ir}$ 等核素,这些核素释放高能的 $\gamma$ 射线,并发症高,临床应用受到了极大限制<sup>[6]</sup>,而我们的实验方法采用 $^{125}\text{I}$ 粒子,既往的研究也证明了他的安全性;郭金和等<sup>[8]</sup>通过动物实验证明了使用食管支架捆绑 $^{125}\text{I}$ 粒子的可行性和安全性,李强等<sup>[16]</sup>通过临床实验证明食管支架捆绑 $^{125}\text{I}$ 粒子疗效显著,然而食管支架捆绑 $^{125}\text{I}$ 粒子将会导致 $^{125}\text{I}$ 粒子无法取出,我们的实验方法在达到治疗目的后可随时取出照射装置,从而避免继续造成放射性损伤,极大地减少患者的痛苦,并在 $^{125}\text{I}$ 粒子活度降低时,可方便取出更换,保证了放射剂量的稳定性,提高了放射治疗的效率,从而更好地延长患者生命及改善患者生存质量。我们相信随着 $^{125}\text{I}$ 粒子链照射装置的逐步改进及照射方法的完善,将会为晚期食管癌患者提供一种简单易行、放疗效率高的新的治疗选择。

总之,我们认为此实验方法具有重要的临床意义。通过 $^{125}\text{I}$ 粒子链成功建立的动物急性放射性食管损伤模型将对临床有以下帮助:不仅能够为干细胞移植预防、治疗放射性食管损伤的研究提供一个良好的平台,且能够为近年来日益发展的 $^{125}\text{I}$ 粒子低能核素短距离放疗治疗食管癌提供一种新的研究方法。

#### 4 参考文献

- 1 张红,曾师. 益气活血化痰方配合复方合剂防治放射性食管炎临床观察. 中国中医药信息杂志 2010; 17: 61-62
- 2 全甲钊,曲波,金世柱. 干细胞移植治疗食管放射性损伤的研究进展. 胃肠病学和肝病杂志 2012; 21: 495-497
- 3 Epperly MW, Guo H, Shen H, Niu Y, Zhang X, Jefferson M, Sikora CA, Greenberger JS. Bone marrow origin of cells with capacity for homing and differentiation to esophageal squamous epithelium. *Radiat Res* 2004; 162: 233-240 [PMID: 15333000]
- 4 沈莉,单保恩,张莉,卢付河,董稚明,高国栋. 放射性食管炎动物模型的构建. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 13-16

- 5 路军章, 赵丽, 任建平, 曹秀堂, 李海霞, 赵红. 复方竹叶石膏颗粒对大鼠放射性食管炎的防治作用. 中西医结合学报 2011; 9: 435-441
- 6 王耀明, 王莉, 胡楠, 丛云峰, 孙士恒, 原龙.  $^{125}\text{I}$ 粒子链管内近距离治疗剂量分布的计算研究. 当代医学 2011; 17: 79-81
- 7 Trowers E, Thomas C, Silverstein FE. Chemical- and radiation-induced esophageal injury. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 1994; 4: 657-675 [PMID: 7812640]
- 8 郭金和, 滕皋军, 朱光宇, 何仕诚, 邓钢, 方文. 食管内照射支架的研制及动物实验研究. 中华放射学杂志 2006; 40: 550-555
- 9 高斌, 李劲松, 巢惠民, 胡永胜, 徐圣德, 季亚莉. CT导向下 $^{125}\text{I}$ 粒子植入术治疗恶性肿瘤. 医学影像学杂志 2006; 6: 469-471
- 10 孙常波, 吕宾, 包海标, 倪桂宝, 任永葆.  $^{125}\text{I}$ 粒子覆膜支架对正常食管组织的放射性损伤实验研究. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 366-369
- 11 吕进, 曹秀峰, 朱斌, 王冬冬, 纪律, 王山, 安红银. 术中 $^{125}\text{I}$ 粒子植入联合术后化学治疗中晚期食管鳞癌. 中华消化杂志 2011; 31: 173-177
- 12 Nath R, Anderson LL, Luxton G, Weaver KA, Williamson JF, Meigooni AS. Dosimetry of interstitial brachytherapy sources: recommendations of the AAPM Radiation Therapy Committee Task Group No. 43. American Association of Physicists in Medicine. *Med Phys* 1995; 22: 209-234 [PMID: 7565352 DOI: 10.1118/1.597458]
- 13 Rivard MJ, Coursey BM, DeWerd LA, Hanson WF, Huq MS, Ibbott GS, Mitch MG, Nath R, Williamson JF. Update of AAPM Task Group No. 43 Report: A revised AAPM protocol for brachytherapy dose calculations. *Med Phys* 2004; 31: 633-674 [PMID: 15070264]
- 14 宋永彬, 柳立军, 王志康. 放射性 $^{125}\text{I}$ 粒子植入对兔正常气管、食管、大动脉组织结构急性损伤的实验研究. 第一届中国肿瘤微创治疗研讨会暨中国抗癌协会肿瘤微创治疗专业委员会成立大会论文集 2005: 317-322
- 15 肖泽芬, 苗延俊, 王亚非, 冯宁远, 欧阳汉, 罗斗强. 食管癌腔内放射治疗技术的改进. 中华放射肿瘤学杂志 2000; 9: 29-32
- 16 李强, 陈士新, 赵永昌, 胡晓, 王亚莉, 冷保山, 张玉云, 王执民, 张洪新. 内放疗支架治疗食管癌的临床应用. 介入放射学杂志 2010; 19: 230-232
- 17 吕进, 曹秀峰, 朱斌, 纪律, 安红银. 术中联合 $^{125}\text{I}$ 粒子植入治疗中晚期食管鳞状细胞癌前瞻性研究. 中华外科杂志 2010; 48: 338-341
- 18 吕进, 曹秀峰, 朱斌, 纪律, 肖建, 王冬冬, 陶磊, 王山, 安红银. 放射性 $^{125}\text{I}$ 粒子治疗食管鳞癌的安全性及疗效. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3065-3071
- 19 Siersema PD. New developments in palliative therapy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 959-978 [PMID: 16997172 DOI: 10.1016/j.bpg.2006.07.005]
- 20 张可领, 金治宁. 食管癌腔内近距离放疗的方法和剂量. 医学综述 2002; 8: 266-267

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。



# 厄贝沙坦对糖尿病胃轻瘫大鼠ET-1和AT1R表达的影响

何莉莉, 朱雅娜, 任荣, 张玉, 王飞, 李媛, 张艺凡, 孙玉凤

## ■背景资料

胃轻瘫是临床上糖尿病的常见并发症, 其临床表现为恶心、呕吐、早饱、腹胀、腹痛等, 这些症状不仅严重影响患者的生活质量, 还会引起血糖波动, 促进糖尿病其他慢性并发症的发生和发展。因此在探讨胃轻瘫的临床诊治有着重要意义。厄贝沙坦是临床上治疗原发性高血压、糖尿病合并高血压及肾病常用药, 其是否能够改善糖尿病胃轻瘫, 国内外未见相关报道。

何莉莉, 朱雅娜, 任荣, 张玉, 王飞, 李媛, 孙玉凤, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市 050000

张艺凡, 河北省石家庄市中心医院中西医结合内科 河北省石家庄市 050000

何莉莉, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由孙玉凤、何莉莉、朱雅娜、任荣及张玉设计; 研究过程、资料查找及数据统计由何莉莉、朱雅娜、任荣、张玉、王飞、李媛及张艺凡共同完成; 本论文写作由何莉莉完成; 孙玉凤审核。

通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

sunyf789@yahoo.com.cn

电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-01-04 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-28

## Effect of irbesartan on expression of ET-1 and AT1R in gastric tissues of diabetic rats with gastroparesis

Li-Li He, Ya-Na Zhu, Rong Ren, Yu Zhang, Fei Wang, Yuan Li, Yi-Fan Zhang, Yu-Feng Sun

Li-Li He, Ya-Na Zhu, Rong Ren, Yu Zhang, Fei Wang, Yuan Li, Yu-Feng Sun, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Yi-Fan Zhang, Combination of Traditional Chinese and Western Medicine Department, the Central Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyf789@yahoo.com.cn

Received: 2013-01-04 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the therapeutical effect of irbesartan on diabetic gastroparesis (DG) in rats and to explore potential mechanisms involved.

**METHODS:** Thirty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into either a normal control group (NC group,  $n = 10$ ) or a diabetes mellitus group (DM group,  $n = 20$ ). Diabetes mellitus was induced with streptozotocin (50 mg/kg i.p.). The DM group was further divided into a diabetic control group (DC group,  $n = 10$ )

and an irbesartan group (DI group,  $n = 10$ ). The DI group was given irbesartan 0.012 g/(kg·d) through stomach feeding, while the NC and DC groups were given equal volume of saline by gavage. Six weeks later, all the rats were administered with phenol red solution to measure the rate of gastric emptying. Endothelin (ET-1) content in stomach tissue was measured by radioimmunoassay. Chemical colorimetry was used to measure the activity of nitric oxide synthase (NOS) in the stomach tissue. The expression level of angiotensin receptor (AT1R) mRNA was determined by RT-PCR.

**RESULTS:** Compared to the NC group, the rate of gastric emptying significantly decline in the other two groups ( $62.64\% \pm 4.51\%$  vs  $18.65\% \pm 4.30\%$ ,  $22.64\% \pm 2.88\%$ ); however, the rate of gastric emptying was significantly higher in the DI group than in the DC group ( $22.64\% \pm 2.88\%$  vs  $18.65\% \pm 4.30\%$ ). There was a significant difference in ET-1 content among the three groups (NC  $18.520$  pg/mgpro  $\pm 2.795$  pg/mgpro vs DC  $26.850$  pg/mgpro  $\pm 2.897$  pg/mgpro vs DI  $21.660$  pg/mgpro  $\pm 4.686$  pg/mgpro). Compared to the NC group, cNOS activity significantly declined in the DC and DI groups ( $0.521$  pg/mgpro  $\pm 0.057$  pg/mgpro vs  $0.323$  pg/mgpro  $\pm 0.079$  pg/mgpro,  $0.384$  pg/mgpro  $\pm 0.067$  pg/mgpro); however, there was no significant change in cNOS activity between the DC and DI groups ( $0.323$  pg/mgpro  $\pm 0.079$  pg/mgpro vs  $0.384$  pg/mgpro  $\pm 0.067$  pg/mgpro). iNOS activity in the DI group was significantly lower than that in the DC group ( $0.246$  pg/mgpro  $\pm 0.033$  pg/mgpro vs  $0.276$  pg/mgpro  $\pm 0.021$  pg/mgpro), but higher than that in the NC group ( $0.246$  pg/mgpro  $\pm 0.033$  pg/mgpro vs  $0.209$  pg/mgpro  $\pm 0.015$  pg/mgpro). The expression of AT1R mRNA in DC group and DI group was up-regulated significantly ( $0.741 \pm 0.010$ ,  $0.546 \pm 0.005$  vs  $0.207 \pm 0.004$ ) compared with the NC group. After intervention with irbesartan, the level of AT1R mRNA in the DI group was lower than that in the DC group ( $0.546 \pm 0.005$  vs  $0.741 \pm 0.010$ ).

**CONCLUSION:** Irbesartan can improve, to some extent, gastric emptying in rats with diabetic gas-

## ■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

troparesis possibly by altering the levels of ET, NOS, and AT1R mRNAs in the stomach tissue.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Diabetes mellitus; Diabetic gastroparesis; Irbesartan; Gastric evacuation rate; Endothelin; Nitric oxide synthase; Angiotensin receptor

He LL, Zhu YN, Ren R, Zhang Y, Wang F, Li Y, Zhang YF, Sun YF. Effect of irbesartan on expression of ET-1 and AT1R in gastric tissues of diabetic rats with gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 798-803 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/798.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.798>

## 摘要

**目的:** 研究厄贝沙坦对糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DG)的治疗作用及其可能的作用机制。

**方法:** 30只健康♂SD大鼠予链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)腹腔注射, 制备糖尿病大鼠模型。随机分为正常对照组(NC组)、糖尿病模型对照组(DC组)、厄贝沙坦治疗组(DI组), DI组予以厄贝沙坦按0.012 g/(kg·d)灌胃, 其余两组给予等体积生理盐水灌胃。6 wk后, 行酚红灌胃法测胃排空率; 放射免疫分析法测定大鼠胃组织内皮素(ET-1)含量、化学比色法检测胃组织一氧化氮合酶(NOS)活性、反转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定胃组织血管紧张素受体(AT1R)mRNA表达。

**结果:** DC组及DI组的胃排空率较NC组明显下降( $18.65\% \pm 4.30\%$ ,  $22.64\% \pm 2.88\%$  vs  $62.64\% \pm 4.51\%$ ), 而与DC组相比, DI组的胃排空率明显升高( $22.64\% \pm 2.88\%$  vs  $18.65\% \pm 4.30\%$ ); DI组胃组织ET-1含量较DC组明显下降( $21.660 \text{ pg/mgpro} \pm 4.686 \text{ pg/mgpro}$  vs  $26.850 \text{ pg/mgpro} \pm 2.897 \text{ pg/mgpro}$ ), 但是仍高于NC组( $21.660 \text{ pg/mgpro} \pm 4.686 \text{ pg/mgpro}$  vs  $18.520 \text{ pg/mgpro} \pm 2.795 \text{ pg/mgpro}$ ); NOS分为结构性NOS(cNOS)和诱导性(iNOS), 与NC组相比, DC组、DI组cNOS活性显著下降( $0.521 \text{ pg/mgpro} \pm 0.057 \text{ pg/mgpro}$  vs  $0.323 \text{ pg/mgpro} \pm 0.079 \text{ pg/mgpro}$ ,  $0.384 \text{ pg/mgpro} \pm 0.067 \text{ pg/mgpro}$ ), DI组cNOS活性较之DC组没有显著差异( $0.323 \text{ pg/mgpro} \pm 0.079 \text{ pg/mgpro}$  vs  $0.384 \text{ pg/mgpro} \pm 0.067 \text{ pg/mgpro}$ ), 而DI组iNOS活性较DC组明显下降( $0.246 \text{ pg/mgpro} \pm 0.033 \text{ pg/mgpro}$  vs  $0.276 \text{ pg/mgpro} \pm 0.021 \text{ pg/mgpro}$ ), 但仍高于NC组( $0.246 \text{ pg/mgpro} \pm 0.033 \text{ pg/mgpro}$  vs  $0.209 \text{ pg/mgpro} \pm 0.015 \text{ pg/mgpro}$ ); 厄贝沙

坦干预后, DI组胃组织(AT1R)mRNA表达低于DC组, 差异有统计学意义( $0.546 \pm 0.005$  vs  $0.741 \pm 0.010$ ), 而仍显著高于NC组( $0.546 \pm 0.005$  vs  $0.207 \pm 0.004$ )。

**结论:** 厄贝沙坦可能通过影响DG大鼠胃组织ET-1、NOS、AT1R mRNA水平来改善DG大鼠的胃排空障碍。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 糖尿病; 胃轻瘫; 厄贝沙坦; 胃排空率; 内皮素; 一氧化氮合酶; 血管紧张素受体

何莉莉, 朱雅娜, 任荣, 张玉, 王飞, 李媛, 张艺凡, 孙玉凤. 厄贝沙坦对糖尿病胃轻瘫大鼠ET-1和AT1R表达的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(9): 798-803 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/798.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.798>

## 0 引言

胃轻瘫(gastroparesis)是在排除胃机械性梗阻的情况下, 出现的以胃排空延迟主要特征的慢性疾病。其中糖尿病是引起胃轻瘫的3大主要病因之一<sup>[1]</sup>。已有报道显示: 胃轻瘫在糖尿病患者中发病率高达90%<sup>[2]</sup>。糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DG)是由Kassmader在1958年首次提出的, 已被公认为糖尿病的并发症之一<sup>[3]</sup>。目前医学界普遍认为DG的发病机制现主要认为与迷走副交感神经功能失调、高血糖、肠神经元的表达缺失、平滑肌异常、Cajal肠间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICCs)病变、激素异常、微血管病变等因素有关<sup>[4]</sup>, 其中有关胃微血管病变在DG发病机制研究的报道较少, 胃微循环是保证胃内平滑肌细胞、神经细胞及其他参与胃的舒缩活动的细胞正常功能的基础。因此我们认为正常的胃微循环是保持胃动力的基础。糖尿病微血管病变常见于眼、肾, 也可见于消化系, 主要的病理特征是内皮功能受损<sup>[5]</sup>。ET-1与NO是反映血管内皮功能的一对有价值的指标, 都由内皮细胞产生。NO的主要功能是使血管平滑肌舒张, 抑制血管平滑肌增殖, 能够使胃血流保持在一定水平; ET是血管内皮细胞损伤的标志物, 是迄今所知体内最强、持续时间最长的缩血管物质, 其大量的分泌能够造成血流淤滞, 使胃肠道缺血, 胃平滑肌细胞受损, 影响平滑肌舒缩功能, 可导致胃动力障碍。血管紧张素-II(angiotensin, Ang-II), 在病理条件下可促进内皮细胞分

## ■研发前沿

糖尿病胃轻瘫治疗在临床上越来越受到重视, 其多采用在控制血糖的基础上应用促胃动力药物, 包括多巴胺受体拮抗剂、52羟色胺(5HT<sub>4</sub>)受体激动剂、胃动素受体激动剂和抗胆碱药等, 但是疗效并不十分理想, 因此糖尿病胃轻瘫的治疗是临床上一大难点。

## ■相关报道

翟振艳等指出血管紧张素受体拮抗剂除了有降压作用外, 对血管内皮细胞有确实的保护作用, 有助于减少微血管和大血管并发症的发生。

### ■创新盘点

本文从厄贝沙坦改善血管内皮作用方面,联系糖尿病胃轻瘫发病机制来探讨厄贝沙坦治疗胃轻瘫的发病机制。

泌ET, 激活ROS可以降低内皮细胞一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性, 清除内皮细胞NO, 从而抑制内皮细胞活力。而Ang II主要通过血管紧张素受体(angiotensin receptor, ATR)主要是AT1R结合来发挥生物学效应的, 即AT1R的表达水平决定了Ang II的生物学效能。厄贝沙坦是血管紧张素受体拮抗剂, 国内外已有研究表明血管紧张素受体拮抗剂能够改善血管内皮功能, 有助于减少微血管并发症<sup>[6,7]</sup>, 而且厄贝沙坦是临床上治疗糖尿病并发心血管疾病及肾病的常用药, 但是作为糖尿病并发症之一的胃轻瘫, 厄贝沙坦对其是否也有一定的治疗作用, 国内外未见报道。本实验采用厄贝沙坦对DG大鼠进行干预, 通过观察其对DG大鼠胃组织ET-1、AT1R mRNA水平变化及NOS活性的影响来探讨厄贝沙坦对DG可能的治疗作用。

## 1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠(SPF级)30只, 体质量201-205 g, 由河北医科大学实验动物中心提供(动物合格证编号: 1112061), 安博维(杭州赛诺菲圣德拉堡民生制药公司), TURE script 1st Strand cDNA Synthesis Kit(Reagents公司), NOS测定试剂盒(南京建成生物工程研究所), TRIzol试剂(Invitrogen公司), 2×Tap PCR Master Mix(Reagents公司), 碘<sup>[125I]</sup>内皮素放射免疫分析法药盒(北京华埠力特生物技术研究所), 凝胶分析系统(UVP公司, 美国)。

### 1.2 方法

1.2.1 建模: 将大鼠随机分为正常对照组( $n = 10$ )、糖尿病模型组( $n = 10$ )和厄贝沙坦治疗组( $n = 10$ ), 均予以普通饲料(由河北医科大学实验动物中心提供)喂养, 适应性喂养2 wk后, 糖尿病模型组和厄贝沙坦组大鼠空腹一次性腹腔注射1%STZ(购自美国sigma公司, 以0.1 mmol/L pH为4.4的柠檬酸缓冲液配制而成)溶液50 mg/kg, 正常组大鼠仅注射相同体积的柠檬酸缓冲液(pH 4.4, 0.1 mmol/L)。72 h后, 采大鼠尾静脉血, 测定随机血糖,  $\geq 16.19$  mmol/L确立糖尿病模型建立。

1.2.2 给药方法: 造模成功后, 厄贝沙坦组予以0.012 g/(kg·d)灌胃, 正常对照组和糖尿病模型组给予等体积生理盐水灌胃。每日10:00给药一次, 共6 wk。实验结束时测胃排空率及取动物血清和胃组织。

1.2.3 观察指标和方法: (1)一般情况: 观察大鼠一般情况包括: 精神状态、活动情况、饮食、毛

色、饮水量、尿量等; (2)体质量: 称量各组大鼠给药前后体质量, 计算体质量变化; (3)生化指标测定: 血糖(blood glucose, BG)、血清肌酐(serum creatinine, Scr)、胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(total triglyceride, TG), 用Beckman cx7全自动生化分析仪测定; (4)酚红灌胃法检测胃排空率(gastric emptying rate, GER): 于第6周末, 禁食16-24 h、禁水2 h后, 予大鼠500 mg/L酚红溶液2 mL灌胃, 15 min后处死大鼠, 剖腹, 结扎贲门和幽门, 取出整个鼠胃, 沿胃大弯切开, 以蒸馏水冲洗胃内容物, 定容为20 mL。加入20 mL 0.5 mol/L氢氧化钠搅拌均匀, 静置1 h。取5 mL上清液, 加入0.5 mL 20%三氯乙酸去蛋白, 3 500 r/min离心10 min, 取上清液, 以分光光度计于560 nm波长处测定吸光度(A)值(实测值), 另取2 mL酚红溶液加入18 mL蒸馏水、20 mL 0.5 mol/L氢氧化钠、4 mL 20%三氯乙酸, 搅拌均匀, 测定A值(标准酚红A值)。大鼠GER = (1-实测酚红A值/标准酚红A值)×100%; (5)放射免疫法测胃组织ET含量: 胃组织总蛋白提取: 取-80 °C冻存的胃组织标本100 mg, 置于1-2 mL匀浆器中, 用干净的剪刀将组织块尽量剪碎。加1 mL RIPA和10  $\mu$ L PMSF于匀浆器中, 在低温下进行匀浆。将匀浆彻底后的液体移至1.5 mL EP管中, 然后在4 °C下10 000 r/min离心10-20 min, 上清液即为所提取的蛋白溶液; 胃组织ET含量测定: 将冷冻于-80 °C冰箱的组织提取液分别取出后置于冷水中复融, 混匀, 再次4 °C 3 000 r/min离心20 min, 取上清分装后用于测定。放免测定采用非平衡法, 具体操作步骤按碘<sup>[125I]</sup>内皮素放射免疫分析法药盒说明操作, 最后结果算出每毫克蛋白中ET-1含量; (6)化学比色法用于胃组织NOS活力测定: NOS催化L-Arg和分子氧反应生成NO, NO与亲核性物质生成有色化合物, 在530 nm波长下测定A值, 然后除以每毫升胃组织蛋白含量, 算得胃组织NOS活力。具体步骤按NOS测定试剂盒说明操作。组织NOS酶活力计算定义为: 每毫克组织蛋白每分钟生成1 nmol NO为一个酶活力单位; (7)RT-PCR法检测胃组织AT1R mRNA表达: 以TRIzol试剂按说明提取总RNA, 按201  $\mu$ L反应体系加RNA 2  $\mu$ L, 参照TURE script 1st Strand cDNA Synthesis Kit说明操作, 反应条件: 42 °C 30 min(cDNA合成), 99 °C 5 min(逆转录酶失活), 5 °C 5 min。然后对cDNA进行扩增; 取cDNA 2  $\mu$ L, 2×Tap PCR Master Mix 10  $\mu$ L, 目的基因和对应内参的上、下游引



## ■应用要点

本文从厄贝沙坦改善糖尿病胃轻瘫方面, 为厄贝沙坦临床应用提供新的思路。

表 1 各组大鼠体质量、BG、TG、TC、Scr比较 (mean ± SD)

分组	n	体质量(g)		BG(mmol/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	Scr(μmol/L)
		实验前(n = 30)	实验后				
NC	10	202.39 ± 0.80	289.85 ± 6.43	6.02 ± 1.09	0.90 ± 0.05	1.19 ± 0.09	71.62 ± 1.82
DC	8	203.86 ± 0.76	133.29 ± 6.14 <sup>a</sup>	22.09 ± 2.30 <sup>a</sup>	2.39 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.04 ± 0.04 <sup>a</sup>	90.73 ± 1.31 <sup>a</sup>
DI	9	203.18 ± 0.78	167.32 ± 4.92 <sup>ac</sup>	21.64 ± 2.88 <sup>a</sup>	2.34 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.02 ± 0.03 <sup>a</sup>	77.44 ± 2.48 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs NC组; <sup>c</sup>P<0.05 vs DC组. BG: 血糖; Scr: 血清肌酐; TC: 胆固醇; TG: 甘油三酯。

表 2 各组大鼠GER、ET、NOS、AT1R mRNA比较 (mean ± SD)

分组	n	GER(%)	ET(pg/mgpro)	iNOS(pg/mgpro)	cNOS(pg/mgpro)	AT1R/β-actin ratio
NC	10	62.64 ± 4.51	18.520 ± 2.795	0.209 ± 0.015	0.521 ± 0.057	0.207 ± 0.004
DC	8	18.65 ± 4.30 <sup>a</sup>	26.850 ± 2.897 <sup>a</sup>	0.276 ± 0.021 <sup>a</sup>	0.323 ± 0.079 <sup>a</sup>	0.741 ± 0.010 <sup>a</sup>
DI	9	22.64 ± 2.88 <sup>ac</sup>	21.660 ± 4.686 <sup>ac</sup>	0.246 ± 0.033 <sup>ac</sup>	0.384 ± 0.067 <sup>a</sup>	0.546 ± 0.005 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs NC组; <sup>c</sup>P<0.05 vs DC组. GER: 胃排空率; ET: 胃组织内皮素; iNOS: 诱导性一氧化氮合酶; cNOS: 结构性一氧化氮合酶。

物(20 μmol/L)各1 μL, 用DEPC水补至20 μL. 反应条件: AT1R: 94 °C预变性3 min; 94 °C变性40 s, 56 °C退火50 s, 72 °C延伸90 s, 循环30次, 72 °C延伸10 min. GAPDH: 94 °C预变性3 min; 94 °C变性40 s, 59 °C退火50 s, 72 °C延伸90 s, 循环30次, 72 °C延伸10 min. PCR产物在含x-gal的1%琼脂糖凝胶中电泳后, 置于凝胶分析系统进行吸光度扫描, 用目的基因吸光度与内参(β-actin)A值的比值来表示目的基因相对表达含量. GAPDH被用做对照. AT1R mRNA的引物序列为: sense 5'-CCAGCGTCAGTTTCAATC-3'; antisense 5'-TAGGGCTTTCCAAATAAGAGTA-3'(扩增片段为350 bp); 内参β-actin的引物序列: sense 5'-CCTTCATTGACCTCAACTAC-3'; antisense 5'-GGAAGGCCATGCCAGTGAGC-3'(扩增片段为594 bp)。

**统计学处理** 应用SPSS13.0软件. 计量资料符合正态分布, 方差齐, 用mean ± SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, 差别有统计学意义的, 可进一步做两两比较, 应用SNK法, α = 0.05。

## 2 结果

**2.1 大鼠的一般情况** 对照组大鼠饮食正常, 眼睛有神, 活动自如, 被毛紧披有光泽, 肌肉丰满, 粪便呈麦粒状, 尿量正常. 其他两组被注射STZ后, 均出现了明显的多饮、多食、多尿症状, 并逐渐出现精神萎靡, 反应迟钝. 实验结束前, 与对照组相比, 造模各组大鼠, 肌肉较少, 骨骼突出,

上述症状以模型组最为突出. 治疗期间, 由于高血糖不能耐受, 模型组死亡2只, 实验组动物死亡1只。

**2.2 各组大鼠BW、BG、TG、TC及Scr比较** 实验开始前, 正常对照组与实验组大鼠体质量没有明显差别(P>0.05). 与NC组相比, DC组与DI组大鼠体质量明显下降(P<0.05); DI组大鼠体质量明显增加, 与DC组相比有统计学意义(P<0.05). 与NC组相比, DC组与DI组大鼠血糖、血脂水平明显升高(P<0.05); 与DC组相比, DI组大鼠血糖没有明显变化(P>0.05). 同样, 厄贝沙坦干预后, 大鼠TC、TG水平与DC组相比并没有显著差别(P>0.05). 厄贝沙坦治疗后大鼠血清肌酐含量, 与DC组相比明显下降(P<0.05); 而与NC组相比, DI组与DC组肌酐水平显著升高(P<0.05, 表1)。

**2.3 各组大鼠胃排空率及胃组织ET、NOS、AT1R mRNA表达的比较** DC组与DI组的胃排空率较正常对照组明显下降(P<0.05), 与DC组比较, DI组胃排空率明显提高(P<0.05). 与NC组比较, 其余各组胃组织中ET-1含量明显增加(P<0.05); DI组胃组织中ET含量较DC组明显减少(P<0.05). NOS是由cNOS和iNOS组成, 实验结果显示: 与NC组相比, 所有糖尿病大鼠胃组织cNOS活性明显降低(P<0.05), iNOS活性明显升高(P<0.05), 而经厄贝沙坦治疗后的大鼠cNOS活性没有明显改善(P>0.05), iNOS活性却显著降低(P<0.05, 表2). 以相对密度值对AT1R mRNA表达进行半定量

### ■名词解释

胃排空: 食物由胃排入十二指肠的过程称为胃排空。食物刺激胃壁是促进胃排空的动力, 当幽门括约肌开放, 胃运动加强, 胃内压大于十二指肠压时, 胃内容物即可进入十二指肠, 而进入十二指肠的胃内容物通过肠壁的各种感受器, 反射性引起胃运动减弱, 排空减慢, 对胃的运动和排空起抑制作用。

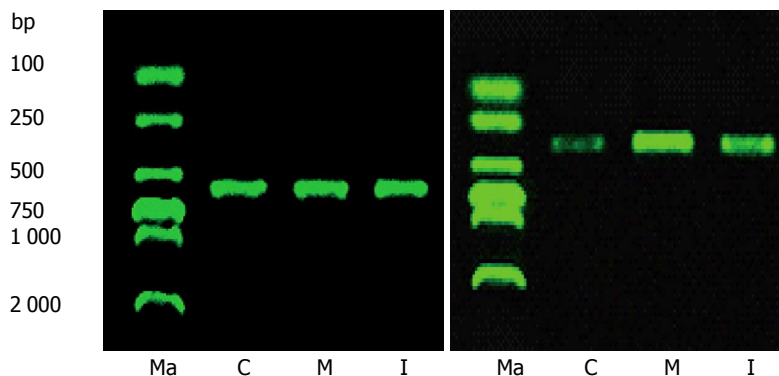


图1  $\beta$ -actin和AT1R mRNA的表达。Ma: DNA marker, C: NC组; M: DM组; I: DI组。

分析, 结果显示: 经厄贝沙坦治疗后大鼠胃组织AT1R mRNA表达与DC组相比明显下降( $P < 0.05$ ), 但仍高于NC组( $P < 0.05$ , 图1, 表2)。

### 3 讨论

糖尿病胃轻瘫是临床上糖尿病患者常见的一种慢性并发症, 其主要病理特点是胃动力下降、胃排空延迟、胃节律紊乱, 从而导致胃潴留。常见的症状有早饱、恶心、腹胀、呕吐、食欲不振等, 也可以仅有胃动力的障碍而无明显临床症状。近几年来随着医学检测技术的进步, DG的检出率随之上升, 因此其诊断和治疗也日益受到重视, 但是DG的发病机制尚未完全清楚, 主要与神经病变、胃肠激素异常、高血糖、胃微血管和平滑肌病变、Cajal间质细胞缺失、幽门螺杆菌感染等有关<sup>[8]</sup>。其中胃的微血管变引起的DG报道较少, 目前认为糖尿病微血管损伤常常是引起并发症的重要的病理生理基础。糖尿病微血管病变可以见于眼、肾脏和神经等全身多处部位, 亦可见于胃肠道。糖尿病性微循环障碍造成的局部缺血和神经营养的减弱或丧失可导致胃壁平滑肌细胞变性, 从而影响平滑肌的正常舒缩功能, 同时微循环障碍还可通过影响胃肠自主神经对DG的发生发展起促进作用<sup>[9]</sup>。

血管内皮损伤是糖尿病微血管病变的重要病理基础, ET-1与NO是反映血管内皮功能的一对有价值的指标, 均由内皮细胞释放。其中ET是21个氨基酸组成的肽家族, ET-1为主要亚型, 血管内皮细胞仅产生ET-1, 是至今发现的最强的缩血管物质, 且又能刺激血管内皮细胞及血管平滑肌细胞的生长; 而NO是一种高度活跃的自由基, 有脂溶性容易通过细胞膜, 具有舒张血管的功能, 能够抑制血管平滑肌细胞增殖, 他由NOS以左旋精氨酸(L-Arg)为底物催化生成, NOS同工酶分别为神经元型NOS(nNOS)、内皮型

NOS(eNOS)和诱导型NOS(iNOS), 其中nNOS和eNOS为结构性NOS(cNOS)。一般认为, cNOS介导的NO的释放是生理的, 其产量少, 作用持续而缓和; iNOS产生的NO是病理性的, 产量多, 易产生细胞毒性作用。ET和NO作为维持血管舒缩功能的重要活性物质, 在正常的情况下均处于动态的平衡, 能够共同保持血管的正常状态和功能<sup>[10]</sup>; 当ET轴及NO系统信号通路异常, 两者平衡关系被打破, 将会引起血管内皮功能紊乱、内皮脱落坏死和内皮下层各种成分暴露等血管壁正常结构的破坏; 血管内局部的缺氧和代谢物的堆积、血小板聚集等等将最终导致微循环障碍<sup>[11]</sup>。糖尿病状态下, 肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)异常活跃, 导致循环中Ang II含量及活性增加, Ang II同样作为最重要的缩血管活性物质之一, 可刺激其他收缩因子如ET1等的产生增多, 其机制与其能刺激血管细胞ET前体的转录有关<sup>[12]</sup>; 而且在Ang II刺激下, 内皮细胞病理性酶iNOS表达增高, 其催化产生NO能和O<sup>2</sup>·反应形成过氧亚硝基(ONOO·), 再快速分解成羟自由基(OH·), 在体内诱导巯基氧化和脂质过氧化而引起内皮细胞损伤<sup>[13]</sup>。Ang II导致血管内皮功能障碍的生物效应主要是通过与AT1R结合实现的, AT1R主要表达在血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMCs)、内皮细胞等<sup>[14]</sup>。AT1R属G蛋白偶联家族, 与Ang II结合后, 激活G蛋白, 通过三磷酸肌醇和乙酰甘油, 激活细胞内的两条信号通路: 一条是钙离子释放激活蛋白激酶C, 引起蛋白质合成; 另一条是通过蛋白激酶的级联放大激活丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK), MAPK进入细胞核内促进许多原癌基因的表达, 进一步促进细胞的分裂和增生<sup>[15]</sup>, 又可介导内皮功能障碍<sup>[16]</sup>。厄贝沙坦是高选择性Ang II受体抑制剂, 是临床糖尿病治疗的常用药, 能抑制Ang I

转化为Ang II, 通过选择性地阻断Ang II与AT1R的结合, 抑制血管收缩和醛固酮的释放, 减轻肾脏的高灌注、高滤过状态, 减少蛋白尿, 延缓糖尿病肾病的进展<sup>[17]</sup>, 同时能够改善胰岛素抵抗及糖、脂代谢紊乱<sup>[18]</sup>, 可以保护血管内皮功能<sup>[19]</sup>。

本实验结果显示: 应用厄贝沙坦后, DG大鼠胃排空率有一定改善, 但仍低于正常对照组; 胃组织ET-1含量明显减少, iNOS活性显著降低, AT1R mRNA表达明显减弱, 但仍高于正常对照组。这表明, 厄贝沙坦通过阻断Ang II与其受体结合而抑制Ang II的生物学效应, 减少了ET-1及AT1R mRNA表达, 同时减弱iNOS活性以减少病理性NO的释放而减轻其对内皮细胞的损伤, 最终结果达到了厄贝沙坦对胃组织微循环的保护作用, 预防胃壁平滑肌细胞变性以维持平滑肌的舒缩功能而改善DG大鼠的胃排空。本实验中糖尿病大鼠血清肌酐含量较模型组明显下降, 表明对其肾功能保护作用, 这与之前的文献报道一致<sup>[20]</sup>; 但是对糖尿病大鼠血脂并没有显著改善, 与之前的文献报道不一致<sup>[21]</sup>, 可能与其用药剂量和时间有关; 另外厄贝沙坦干预后, DG大鼠体重明显增加, 可能与其改善胃排空后增加食量有关。因此厄贝沙坦治疗DG大鼠胃动力障碍可能与其影响胃微循环障碍有关, 其机制有待于进一步探讨。

#### 4 参考文献

- 1 Waseem S, Moshiree B, Draganov PV. Gastroparesis: current diagnostic challenges and management considerations. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 25-37 [PMID: 19115465 DOI: 10.3748/wjg.15.25]
- 2 张万方, 黄伟文, 熊玉冰. 糖尿病胃动力障碍的症状流行病学调查分析. *国际医药卫生导报* 2009; 15: 97-101
- 3 Kashyap P, Farrugia G. Diabetic gastroparesis: what we have learned and had to unlearn in the past 5 years. *Gut* 2010; 59: 1716-1726 [PMID: 20871131 DOI: 10.1136/gut.2009.199703]
- 4 Ma J, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Diabetic gastroparesis: diagnosis and management. *Drugs* 2009; 69: 971-986 [PMID: 19496627 DOI: 10.2165/0003495-200969080-00003]
- 5 Schalkwijk CG, Stehouwer CD. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 2005; 109: 143-159 [PMID: 16033329 DOI: 10.1042/CS20050025]
- 6 巫文宏, 印建平. 厄贝沙坦氢氯噻嗪对原发性高血压患者疗效观察及对内皮功能的影响. *实用临床医药杂志* 2010; 14: 43
- 7 Candido R, Allen TJ, Lassila M, Cao Z, Thallas V, Cooper ME, Jandeleit-Dahm KA. Irbesartan but not amlodipine suppresses diabetes-associated atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109: 1536-1542 [PMID: 15023892 DOI: 10.1161/01.CIR.0000124061.78478.94]
- 8 姚东英, 刘菲. 糖尿病胃轻瘫发病机制的研究进展. *国际消化病杂志* 2011; 31: 16-17, 47
- 9 李浩旭, 秦晓民, 鲁彦, 豆兴成. 糖尿病胃轻瘫发病机制. *胃肠病学和肝病杂志* 2003; 12: 88-90
- 10 Kawanabe Y, Nauli SM. Endothelin. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68: 195-203 [PMID: 20848158 DOI: 10.1007/s00018-010-0518-0]
- 11 张蕾, 阮君山, 严令耕, 郑仕中, 王爱云, 陆茵. 内皮素和一氧化氮致血管损伤性疾病的分子机制及药物研发策略. *中国药理学通报* 2012; 28: 162-164
- 12 Park L, Thornhill J. Hypoxic modulation of striatal lesions induced by administration of endothelin-1. *Brain Res* 2000; 883: 51-59 [PMID: 11063987 DOI: 10.1016/S0006-8993(00)02884-5]
- 13 高雪, 杨洁, 元英进. 盐酸川芎嗪对血管紧张素II损伤内皮细胞的保护作用. *细胞生物学杂志* 2007; 29: 895-900
- 14 de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415-472 [PMID: 10977869]
- 15 Duff JL, Marrero MB, Paxton WG, Schieffer B, Bernstein KE, Berk BC. Angiotensin II signal transduction and the mitogen-activated protein kinase pathway. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 511-517 [PMID: 8574999]
- 16 Schiffrin EL, Deng LY. Relationship between small-artery structure and systolic, diastolic and pulse pressure in essential hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 381-387 [PMID: 10100076 DOI: 10.1097/00004872-199917030-00011]
- 17 Laverman GD, Navis G, Henning RH, de Jong PE, de Zeeuw D. Dual renin-angiotensin system blockade at optimal doses for proteinuria. *Kidney Int* 2002; 62: 1020-1025 [PMID: 12164886 DOI: 10.1046/j.1523-1755.2002.00536.x]
- 18 Kurtz TW, Pravenec M. Antidiabetic mechanisms of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists: beyond the renin-angiotensin system. *J Hypertens* 2004; 22: 2253-2261 [PMID: 15614015 DOI: 10.1097/00004872-200412000-00003]
- 19 周泉, 吴大方. 厄贝沙坦对老年代谢综合征患者血管内皮细胞功能的影响. *临床合理用药* 2011; 4: 19-20
- 20 Liu BC, Chen Q, Luo DD, Sun J, Phillips AO, Ruan XZ, Liu NF. Mechanisms of irbesartan in prevention of renal lesion in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 67-73 [PMID: 12511232]
- 21 Zorad S, Dou JT, Benicky J, Hutanu D, Tybitanclova K, Zhou J, Saavedra JM. Long-term angiotensin II AT1 receptor inhibition produces adipose tissue hypotrophy accompanied by increased expression of adiponectin and PPARgamma. *Eur J Pharmacol* 2006; 552: 112-122 [PMID: 17064684 DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.08.062]

■同行评价  
本文立意新颖, 有一定临床价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





## $\alpha$ -亚麻酸对转化生长因子 $\beta$ 1诱导的肝星状细胞的影响

王莉娟, 吴金明, 方红龙, 刘 扬, 黄智铭

### ■背景资料

研究表明约1%-5%的非酒精性脂肪肝病(NAFLD)患者最终可发展为肝纤维化及肝硬化, 其中肝星状细胞(HSC)的活化及增殖发挥了重要作用, 若能干扰HSC的活化及增殖, 可能是阻止肝硬化的途径之一。n-3族多不饱和脂肪酸可明显降低细胞中和转录因子(NF- $\kappa$ B)的含量, 可能对已活化的HSC的增殖有一定抑制作用。

王莉娟, 吴金明, 方红龙, 刘扬, 黄智铭, 温州医学院附属第一医院消化内科 浙江省温州市 325000

王莉娟, 硕士, 主要从事肝纤维化的研究。

作者贡献分布: 本研究由吴金明与王莉娟共同设计; 方红龙、刘扬及黄智铭进行指导, 实验由王莉娟完成; 最终数据分析与论文撰写由王莉娟完成; 吴金明审校。

通讯作者: 吴金明, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 325000, 浙江省温州市府学巷2号, 温州医学院附属第一医院消化内科。phdwu0003@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-10-12 修回日期: 2013-01-25

接受日期: 2013-03-06 在线出版日期: 2013-03-28

### Effect of ALA treatment on cell proliferation, secretion of types I and III collagen, and $\alpha$ -SMA expression in rat hepatic satellite cells treated with transforming growth factor $\beta$ 1

Li-Juan Wang, Jin-Ming Wu, Hong-Long Fang, Yang Liu, Zhi-Ming Huang

Li-Juan Wang, Jin-Ming Wu, Hong-Long Fang, Yang Liu, Zhi-Ming Huang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Jin-Ming Wu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, 2 Fuxuexiang, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China. phdwu0003@yahoo.com.cn

Received: 2012-10-12 Revised: 2012-01-25

Accepted: 2013-03-06 Published online: 2013-03-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the effect of treatment with  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) on cell proliferation, secretion of types I and III collagen, and  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) expression in transforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1)-treated rat hepatic satellite cells (HSCs).

**METHODS:** Cultured HSCs were divided into five groups: control group, TGF- $\beta$ 1 group (5 ng/mL) and three TGF- $\beta$ 1 plus ALA groups (treated with TGF- $\beta$ 1 plus 50, 150 or 250 ng/mL of ALA). Cell proliferation was assessed by MTT assay. The levels of types I and III collagen were measured by ELISA. Western blot was used to detect

the expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin.

**RESULTS:** TGF- $\beta$ 1 induced cell proliferation and increased the secretion of collagen in HSCs. Compared to the TGF- $\beta$ 1 group, treatment with different doses of ALA inhibited cell proliferation and decreased the secretion of types I and III collagen and expression of  $\alpha$ -SMA (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Treatment with ALA inhibits TGF- $\beta$ 1-induced cell proliferation, secretion of types I and III collagen, and  $\alpha$ -SMA expression in rat HSCs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:**  $\alpha$ -linolenic acid; Transforming growth factor- $\beta$ 1; Hepatic satellite cells; Fatty liver fibrosis; Cirrhosis

Wang LJ, Wu JM, Fang HL, Liu Y, Huang ZM. Effect of ALA treatment on cell proliferation, secretion of types I and III collagen, and  $\alpha$ -SMA expression in rat hepatic satellite cells treated with transforming growth factor  $\beta$ 1. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 804-808 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/804.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.804>

### 摘要

**目的:** 探讨 $\alpha$ -亚麻酸( $\alpha$ -linolenic acid, ALA)对转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1)诱导的肝星状细胞(hepatic satellite cell, HSC)增殖及分泌功能的影响。

**方法:** 采用活化的HSC作为研究模型, 将传代的细胞分为5组, 以MTT比色法观察ALA对HSC的增殖效应, 以ELISA检测细胞培养上清液中I型及III型胶原的含量, 以Western blot法检测 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)的表达。

**结果:** TGF- $\beta$ 1能诱导HSC增殖并促进胶原的分泌, ALA可不同程度抑制TGF- $\beta$ 1所诱导的HSC增殖及I、III型胶原和 $\alpha$ -SMA的表达( $P < 0.01$ ), 且呈剂量依赖性( $P < 0.05$ )。

**结论:** ALA在高浓度时对TGF- $\beta$ 1能诱导的

### ■同行评议者

高泽立, 副教授, 周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院

HSC起抑制作用, 可能对脂肪性肝纤维化及其引起的肝硬化有治疗作用。

© 2013年版权归Baishideng所有.

**关键词:**  $\alpha$ -亚麻酸; 转化生长因子 $\beta$ 1; 肝星状细胞; 脂肪性肝纤维化; 肝硬化

王莉娟, 吴金明, 方红龙, 刘扬, 黄智铭.  $\alpha$ -亚麻酸对转化生长因子 $\beta$ 1诱导的肝星状细胞的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 804-808 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/804.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.804>

## 0 前言

目前非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)越来越引起人们的重视, 研究发现约1%-5%的NAFLD患者最终可发展为肝纤维化及肝硬化<sup>[1]</sup>. 其中肝星状细胞(hepatic satellite cell, HSC)的活化及增殖发挥了重要作用<sup>[1]</sup>. n-3多不饱和脂肪酸有降低血脂、减少炎症细胞因子、减少肝脏丙二酰CoA的量、增强机体免疫功能、对肿瘤的抑制的分泌等生理作用<sup>[2-4]</sup>, 其中以 $\alpha$ -亚麻酸( $\alpha$ -linolenic acid, ALA)为代表, 但其对肝纤维化的影响研究较少. n-3多不饱和脂肪酸也为游离脂肪酸的组成部分, 可能对脂肪性肝纤维化产生一定影响. 另外转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)可通过HSC内的TGF- $\beta$ /Smads信号通路促进纤维化的发生发展, 被认为是调控肝纤维化的核心物质, 用TGF- $\beta$ 1促进增殖可使n-3多不饱和脂肪酸对HSC的作用结果更容易显现. 探讨ALA对TGF- $\beta$ 1所诱导的HSC增殖和活化的影响不仅有助于了解n-3多不饱和脂肪酸在脂肪性肝纤维化及肝硬化中所起的作用, 还对已进展为肝硬化患者的营养能量的补充具有指导意义.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DMEM培养基及胎牛血清(美国GIBCO公司),  $\alpha$ -亚麻酸(美国Sigma产品), MTT(北京索来宝生物公司), 重组人TGF- $\beta$ 1(美国Pedro Tech公司), 肝星状细胞系HSC2-T6细胞(温州医学院附属第一医院感染内科陈永平教授惠赠), 大鼠I型及III型胶原ELISA试剂盒(美国ADL公司), 大鼠 $\alpha$ -肌动蛋白抗体及内参 $\beta$ -tubulin(美国Santa Cruz公司).

### 1.2 方法

**1.2.1 HSC培养:** 肝星状细胞系HSC2-T6细胞用

含10%胎牛血清的DMEM培养瓶, 在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养, 计数及观察细胞活性, 以 $1 \times 10^5$ /mL的浓度接种于培养瓶中, 以后每2-3 d换液1次.

**1.2.2 自身配对设计:** 实验分组: A组: 对照组、B组: TGF- $\beta$ 1 5 ng/mL组、C组: TGF- $\beta$ 1 5 ng/mL+ALA 50 mmol/L组、D组: TGF- $\beta$ 1 5 ng/mL+ALA 150 mmol/L组、E组: TGF- $\beta$ 1 5 ng/mL+ALA 250 mmol/L组.

**1.2.3 MTT法检测细胞增殖:** HSC-T6细胞融合成单层后, 取对数生长期细胞, 分别以0.25%胰蛋白酶消化, 并接种至无菌96孔板内, 每次每组4个复孔, 调整细胞接种密度为 $1 \times 10^6$ /mL, 每孔均加入细胞悬液200  $\mu$ L, 置37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中, 24 h 96孔板内细胞贴壁后, 吸去原培养液, 按分组加入试剂, 每孔再加入无菌MTT溶液(5 mg/mL), 继续在原条件下孵育4 h, 然后终止培养, 吸去孔内培养液, 每孔加入150  $\mu$ L的DMSA, 微型振荡器振荡10 min, 选择490 nm波长, 在酶标仪上检测各孔的吸光(A)值, 实验重复4次.

**1.2.4 ELISA法检测I型及III型胶原的表达:** 收集做MTT时药物处理后的上清液. 按I型及III型胶原ELISA试剂盒操作说明书操作.

**1.2.5 Western blot法检测 $\alpha$ -SMA的表达:** 各组蛋白标本经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移至PVDF膜, 封闭1 h后, 加入 $\alpha$ -肌动蛋白抗体(1:400)和内参 $\beta$ -tubulin抗体(1:500), 一抗过夜后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2500)作用1 h, 电化学发光法检测, 在暗室中X光胶片曝光并冲洗显影, 测定各条带的灰度值, 经内参照 $\beta$ -tubulin校正后得到蛋白的相对表达量.

**统计学处理** 数据用mean $\pm$ SD表示, 采用SPSS17.0作One-way ANOVA分析, 两两比较用LSD检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 以MTT法检测HSC细胞增殖** 组间比较 $F = 25.07$ ,  $P < 0.01$ , 差异有统计学意义. LSD法多重比较可以发现ALA对HSC的增殖有抑制作用(B、C、D、E 4组各组间差异有统计学意义,  $P < 0.05$ , A组与E组间差异无统计学意义,  $P > 0.05$ ), 并呈剂量依赖性, A组与E组间无统计学差异可能为ALA对HSC的抑制作用与TGF- $\beta$ 1对HSC的增殖作用相互抵消所致. TGF- $\beta$ 1对HSC的增殖有促进作用(A组与B、C、D组比较,  $P < 0.05$ , 表1, 图1).

### ■研究前沿

据研究n-3族多不饱和脂肪酸有降低血脂、减少炎症细胞因子、减少肝脏丙二酰CoA含量、增强机体免疫功能等生理作用, 但是否对脂肪性肝纤维化及其引起的肝硬化有治疗作用尚不能明确.

### ■相关报道

n-3族多不饱和脂肪酸对脂肪肝及其产生的病理危害可能有一定的治疗的作用, 可能与其在肝病早期即对脂质沉积有一定的抑制作用有关, 推测可能与n-3类脂肪酸能抑制NF- $\kappa$ B及使花生四烯类产物减少有关.

## ■创新盘点

本文利用体外刺激活化的肝星状细胞,结果表明其可抑制活化细胞的增殖及减少胶原分泌等作用,多方面说明其可能用于肝纤维化的治疗。

表 1 ALA对HSC增殖的影响 (mean ± SD)

分组	A值	F值	P值
A组	0.52 ± 0.62 <sup>egi</sup>	25.07	<0.01
B组	1.14 ± 0.16 <sup>agik</sup>		
C组	0.98 ± 0.12 <sup>aeik</sup>		
D组	0.80 ± 0.75 <sup>aegk</sup>		
E组	0.64 ± 0.11 <sup>cegi</sup>		

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>c</sup>*P*>0.05 vs A组; <sup>a</sup>*P*<0.05 vs B组; <sup>a</sup>*P*<0.05 vs C组; <sup>i</sup>*P*<0.05 vs D组; <sup>k</sup>*P*<0.05 vs E组。ALA: α-亚麻酸; HSC: 肝星状细胞。

表 2 ALA对I型、III型胶原蛋白表达的影响

分组	I型胶原	III型胶原
A组	76.94 ± 11.89 <sup>gik</sup>	3.17 ± 0.50 <sup>gik</sup>
B组	159.13 ± 20.30 <sup>beikm</sup>	6.51 ± 0.79 <sup>beikm</sup>
C组	137.29 ± 17.12 <sup>degkm</sup>	5.38 ± 0.57 <sup>degkm</sup>
D组	115.69 ± 16.16 <sup>degim</sup>	4.28 ± 0.4 <sup>degim</sup>
E组	95.86 ± 23.11 <sup>dgik</sup>	4.39 ± 1.00 <sup>dgik</sup>

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs A组; <sup>d</sup>*P*<0.01 vs B组; <sup>e</sup>*P*<0.05 vs A组; <sup>g</sup>*P*<0.05 vs B组; <sup>i</sup>*P*<0.05 vs C组; D组与A、B、C、E组比较<sup>k</sup>*P*<0.05; <sup>m</sup>*P*<0.05 vs E组。ALA: α-亚麻酸。

表 3 Western blot检测α-SMA的表达

分组	α-SMA灰度值	F值	P值
A组	34.33 ± 13.65	226.31	<0.01
B组	450.00 ± 18.08		
C组	226.33 ± 23.01		
D组	136.05 ± 15.02		
E组	84.67 ± 15.50		

α-SMA: α-平滑肌肌动蛋白。

2.2 I型及III型胶原蛋白的表达 I型胶原纤维蛋白组间比较, *F* = 19.41, *P*<0.01, 差异有统计学意义; III型胶原纤维蛋白组间比较, *F* = 16.66, *P*<0.01, 差异有统计学意义。抑制作用呈剂量依赖性(*P*<0.05)。LSD法多重比较可以发现TGF-β1可促进HSC分泌I型及III型(*P*<0.01), 而ALA对I型及III型胶原蛋白的分泌均有一定的抑制作用(B、C、D、E 4组各组间差异有统计学意义, *P*<0.05, A组与E组间差异无统计学意义, *P*>0.05, A组与E组间无统计学差异可能为ALA对HSC的抑制作用与TGF-β1对HSC的增殖作用相互抵消所致), 并呈剂量依赖性(*P*<0.05, 表2, 图2, 3)。

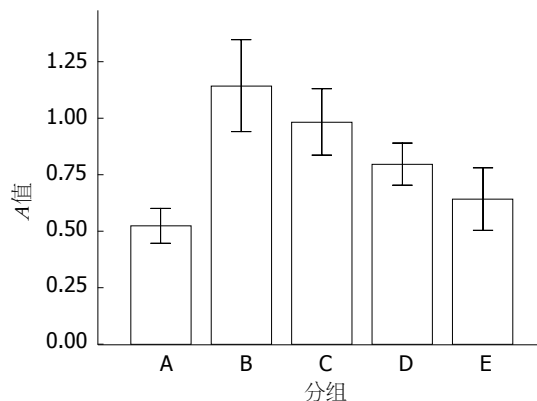


图 1 MTT法检测肝星状细胞增殖。

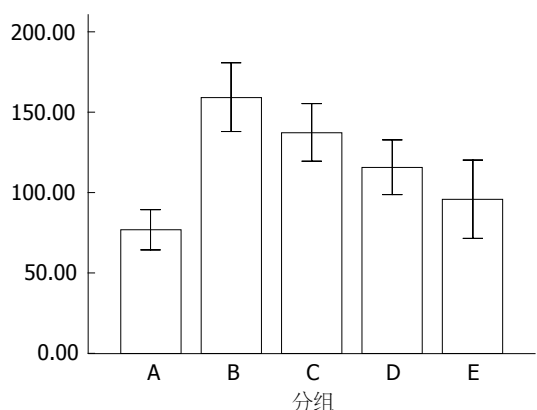


图 2 ELISA法检测I型胶原的表达。

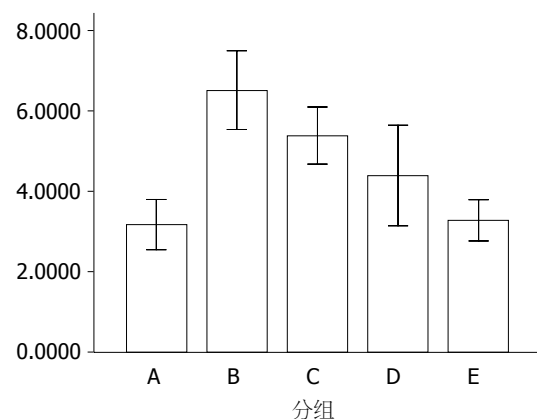


图 3 ELISA法检测III型胶原的表达。

2.3 Western blot检测α-SMA的表达 α-SMA组间比较*F* = 226.31, *P*<0.01, 差异有统计学意义。LSD法检验可以看出TGF-β1能明显促进HSC表达α-SMA(*P*<0.01), 经ALA作用后, TGF-β1诱导的α-SMA表达受到抑制并呈剂量依赖性(*P*<0.05, 表3, 图4)。

## 3 讨论

我们的研究结果可证实ALA对在高浓度时对



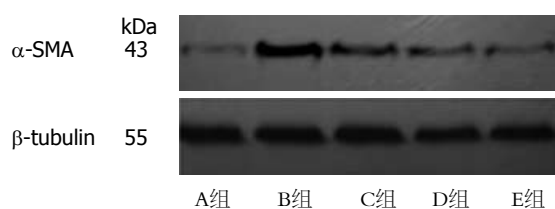


图 4 Western blot检测 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白的表达。

TGF- $\beta$ 1所诱导的HSC可能起抑制作用, 对脂肪性肝纤维化及脂肪性肝硬化可能具有一定治疗作用。TGF- $\beta$ 1所介导的信号通道被认为在HSC的活化及ECM的产生起重要作用<sup>[5]</sup>, 本实验也证实TGF- $\beta$ 1可促进HSC的增殖, HSC2-T6肝星状细胞系本身是活化的肝星状细胞系, 为使效果更明显, 予TGF- $\beta$ 1再激活。

有研究表明多不饱和脂肪酸(n-3及n-3+n-6)可能不能纠正肝纤维化及脂质沉积<sup>[6]</sup>。还有研究发现: n-3族多不饱和脂肪酸对脂肪肝及其产生的病理危害可能有一定的治疗的作用<sup>[7,8]</sup>, 可能与其在肝病早期即对脂质沉积有一定的抑制作用有关<sup>[8]</sup>, 究其机制, 推测可能与n-3类脂肪酸能抑制核转录 $\kappa$ B(nuclear transcription factor, NF- $\kappa$ B)及使花生四烯类产物减少有关<sup>[2,3]</sup>。这提示n-3族多不饱和脂肪酸对脂肪性肝纤维化可能有治疗作用, 但对体外HSC的增殖及分泌功能等尚无其他研究成果。因此本实验用MTT法、WB及ELISA法检测ALA对HSC的增值、活化、分泌功能的影响, 讨论n-3族多不饱和脂肪酸对脂肪性肝纤维化的作用。

细胞增殖是HSC活化的重要特征之一。MTT法检测结果显示ALA能一定程度的抑制由TGF- $\beta$ 1诱导的HSC的增殖, 并呈浓度依赖性: ALA低浓度时无明显作用; 当ALA浓度逐渐升高时可部分抑制HSC的活化, 并随着浓度的增高抑制作用增强。

各种原因导致的肝纤维化最后均表现为ECM的增加, 星状细胞分泌胶原纤维增加。实验结果提示ALA对HSC分泌胶原纤维有抑制作用, 作用随ALA浓度的增加而加强。 $\alpha$ -SMA是HSC活化的标志, 活化的HSC表达 $\alpha$ -SMA, 表达 $\alpha$ -SMA的多少可一定程度反映HSC的活化程度。高浓度的ALA可使HSC的 $\alpha$ -SMA表达减少, 低浓度时作用不明显, 说明高浓度时可抑制HSC的活化。

HSC的活化和增殖在脂肪性肝纤维化和肝硬化的发生发展起重要作用。近年来非酒精性

脂肪性肝病发病机制逐渐明确, 其中二次打击学说已被普遍认可, 以胰岛素抵抗为主的代谢综合征起重要作用<sup>[9]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、TGF- $\beta$ 、IGF-1等细胞因子刺激并激活HSC, 表达 $\alpha$ -SMA活化后以分泌以I型及III型胶原为主的细胞外基质<sup>[10]</sup>。已有研究表明: n-3多不饱和脂肪酸的可改善肝脂代谢, 能提高肝脏代谢关键酶脂蛋白酶的LDL受体的活性, 减少肝内甘油三酯的合成, 有直接降脂作用。

NF- $\kappa$ B是由作为转录因子的Rel家族组成的同二聚体或异二聚体。NF- $\kappa$ B可阻止TNF- $\alpha$ 所诱导的HSC的凋亡<sup>[11]</sup>。NF- $\kappa$ B的缺失可对活化的HSC凋亡起一定的作用<sup>[12]</sup>, 而n-3族多不饱和脂肪酸可明显降低细胞中NF- $\kappa$ B的含量<sup>[3]</sup>, 可能与其抑制已活化的HSC的增殖有关。

n-3族多不饱和脂肪酸还能降低细胞膜n-6族不饱和脂肪酸的含量, 从而降低n-6族不饱和脂肪酸代谢产物花生四烯类产物等炎症物质的产生<sup>[2]</sup>, 减少对HSC的刺激也可能是n-3族多不饱和脂肪酸对HSC起作用的途径之一。综上所述, n-3族多不饱和脂肪酸可能通过多种途径对HSC的增殖起抑制作用, 可能对脂肪性肝纤维化及其引起的肝硬化有治疗作用。

## 4 参考文献

- 1 Ji G, Zhao X, Leng L, Liu P, Jiang Z. Comparison of dietary control and atorvastatin on high fat diet induced hepatic steatosis and hyperlipidemia in rats. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 23 [PMID: 21269482 DOI: 10.1186/1476-511X-10-23.]
- 2 Norris JM, Yin X, Lamb MM, Barriga K, Seifert J, Hoffman M, Orton HD, Barón AE, Clare-Salzler M, Chase HP, Szabo NJ, Erlich H, Eisenbarth GS, Rewers M. Omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes. *JAMA* 2007; 298: 1420-1428 [PMID: 17895458]
- 3 Hardman WE. Omega-3 fatty acids to augment cancer therapy. *J Nutr* 2002; 132: 3508S-3512S [PMID: 12421878]
- 4 Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med* (Maywood) 2008; 233: 674-688 [PMID: 18408140 DOI: 10.3181/0711-MR-311.]
- 5 Zhao L, Gandhi CR, Gao ZH. Involvement of cytosolic phospholipase A2 alpha signalling pathway in spontaneous and transforming growth factor-beta-induced activation of rat hepatic stellate cells. *Liver Int* 2011; 31: 1565-1573 [PMID: 22093332 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02632.x.]
- 6 Fernández I, Fontana L, Gil A, Ríos C, Torres MI. Dietary supplementation with monounsaturated

**应用要点**  
ALA可抑制HSC的增殖及分泌, 为治疗脂肪性肝纤维化及其所引起的肝硬化提供新的途径。

## ■同行评价

本文设计合理, 实验方法可信, 统计方法运用合理, 参考文献较新, 值得基础研究者和广大临床医生阅读。

- and long-chain polyunsaturated fatty acids influences the liver structural recovery and hepatocyte binuclearity in female Wistar rats in experimental cirrhosis induced by thioacetamide. *Exp Toxicol Pathol* 2005; 57: 65-75 [PMID: 16089321]
- 7 Spadaro L, Magliocco O, Spampinato D, Piro S, Oliveri C, Alagona C, Papa G, Rabuazzo AM, Purrello F. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 194-199 [PMID: 18054848]
- 8 González-Pérez A, Horrillo R, Ferré N, Gronert K, Dong B, Morán-Salvador E, Titos E, Martínez-Clemente M, López-Parra M, Arroyo V, Clària J. Obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by omega-3 fatty acids: a role for resolvins and protectins. *FASEB J* 2009; 23: 1946-1957 [PMID: 19211925 DOI: 10.1096/fj.08-125674.]
- 9 Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Castella L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-1772 [PMID: 17456850 DOI: 10.2337/db06-1491]
- 10 Yamamoto M, Sumiyoshi H, Nakagami K, Tahara E. Distribution of collagen types I, III, and V in fibrotic and neoplastic human liver. *Acta Pathol Jpn* 1984; 34: 77-86 [PMID: 6328863]
- 11 Lang A, Schoonhoven R, Tuvia S, Brenner DA, Rippe RA. Nuclear factor kappaB in proliferation, activation, and apoptosis in rat hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2000; 33: 49-58 [PMID: 10905586]
- 12 Son G, Iimuro Y, Seki E, Hirano T, Kaneda Y, Fujimoto J. Selective inactivation of NF-kappaB in the liver using NF-kappaB decoy suppresses CCl4-induced liver injury and fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293: G631-G639 [PMID: 17640975]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心地感谢!

# SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用

霍明东, 丁曙晴, 丁义江, 江滨, 张波

霍明东, 张波, 南京中医药大学 江苏省南京市 210046  
丁曙晴, 丁义江, 江滨, 南京中医药大学第三附属医院 江苏省南京市 210001

霍明东, 博士研究生, 主要从事肛肠动力学的研究.

南京市卫生局重点基金资助项目, No. ZKX11004

江苏省中医药局科技基金资助项目, No. LZ11105

作者贡献分布: 此课题由丁义江与丁曙晴设计; 研究过程由霍明东、江滨及张波操作完成; 数据分析由霍明东完成; 论文写作由霍明东完成.

通讯作者: 丁义江, 教授, 210001, 江苏省南京市金陵路1号, 南京中医药大学第三附属医院. njgczx@gmail.com

电话: 025-83285156

收稿日期: 2013-02-04 修回日期: 2013-03-05

接受日期: 2013-03-16 在线出版日期: 2013-03-28

## Role of SCF/c-Kit signaling pathway in the pathogenesis of cathartic colon

Ming-Dong Huo, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, Bin Jiang, Bo Zhang

Ming-Dong Huo, Bo Zhang, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, Bin Jiang, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Key Fund of Nanjing Municipal Health Bureau, No. ZKX11004; and the Foundation of Jiangsu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, No. LZ11105

Correspondence to: Yi-Jiang Ding, Professor, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. njgczx@gmail.com

Received: 2013-02-04 Revised: 2013-03-05

Accepted: 2013-03-16 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the role of SCF/c-Kit signaling pathway in the pathogenesis of cathartic colon.

**METHODS:** Thirty-six healthy adult SD rats were randomly divided into three groups (12 rats per group): control group, model group, and recovery group. The control group was given normal saline by gavage, and the model group and recovery group were given rhein suspension by gavage to induce cathartic colon. Specimens were taken immediately after modeling in the model group and 30 days after model-

ing in the recovery group. The intestinal transit function was assessed in each rats of each group by detecting the first melena discharge time. RT-PCR and Western blot were used to detect SCF/c-Kit mRNA and protein expression levels in colon tissue.

**RESULTS:** Compared to the control group, the first melena discharge time was significantly prolonged in the model group ( $491.5 \pm 40.2$  vs  $373.4 \pm 46.5$ ,  $P < 0.01$ ); however, there was no significant difference in the first melena discharge time between the model group and recovery group ( $477.9 \pm 39.6$  vs  $491.5 \pm 40.2$ ,  $P > 0.05$ ). Compared to the control group, c-Kit and SCF mRNA and protein expression levels were significantly decreased in the model group (all  $P < 0.01$ ); however, there were no significant differences in c-Kit and SCF protein expression levels between the model group and recovery group (both  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Reduced colonic motility in rats with cathartic colon may be associated with down-regulation of SCF/c-Kit signaling in colon tissue.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Stimulant laxative; Cathartic colon; Rhein; c-Kit; Stem cell factor

Huo MD, Ding SQ, Ding YJ, Jiang B, Zhang B. Role of SCF/c-Kit signaling pathway in the pathogenesis of cathartic colon. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 809-813 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/809.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.809>

## 摘要

**目的:** 探讨SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用.

**方法:** 健康成年SD大鼠36只, 随机分为对照组(12只)、模型组(12只)和模型恢复组(12只). 对照组大鼠生理盐水灌胃, 模型组和模型恢复组大鼠采用“大黄酸混悬液灌胃法”制作“泻剂结肠”动物模型. 模型组造模结束后

## ■背景资料

便秘是临床常见病与多发病, 随着生活节奏的加快, 饮食结构的改变, 精神和社会因素的影响, 其发病率逐年上升. 我国患病率约为10%-15%. “泻剂结肠”是慢传输型便秘的重要临床类型, 目前尚无有效的治疗药物, 其发病机制的研究已经越来越引起人们的重视.

## ■同行评议者

赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院生理学教研室; 侯凤刚, 副主任医师, 副教授, 上海中医药大学附属市中医院肿瘤科



## ■研发前沿

ICC对胃肠动力的重要调控作用是近年来关于胃肠动力研究的突破性进展,有关ICC的调控机制是当今乃至今后的研究热点。

取材,模型恢复组造模结束正常饲养30 d后取材。各组大鼠处死前观察首粒黑便排出时间以检测肠道传输功能。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和Western blot技术分别检测各组大鼠结肠组织中c-Kit和SCF的mRNA水平和蛋白水平表达。

**结果:**模型组大鼠首粒黑便排出时间明显延长,与对照组差别显著( $491.5 \pm 40.2$  vs  $373.4 \pm 46.5$ ,  $P < 0.01$ );模型恢复组与模型组相比,首粒黑便排出时间没有统计学差异( $477.9 \pm 39.6$  vs  $491.5 \pm 40.2$ ,  $P > 0.05$ )。与对照组相比,模型组的c-Kit和SCF的mRNA水平和蛋白水平表达均明显减弱( $P < 0.01$ ),而模型恢复组与模型组相比,c-Kit和SCF的蛋白水平表达无明显差异( $P > 0.05$ )。

**结论:**“泻剂结肠”的结肠动力减退可能与结肠组织中SCF/c-Kit信号通路的表达下调有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 刺激性泻剂; 泻剂结肠; 大黄酸; c-Kit; 慢传输型便秘

霍明东, 丁曙晴, 丁义江, 江滨, 张波. SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 809-813 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/809.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.809>

## 0 引言

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)是临床上常见的一类以结肠动力减弱为主要特点的顽固性便秘。该病病因不清,症状顽固,常诱发急性心肌梗塞、脑血管意外,危机患者生命<sup>[1]</sup>。STC患者往往长期服用番泻叶、大黄等刺激性泻剂,依赖泻剂排便,剂量越用越大而效果越来越差,不服泻剂不排便,形成“泻剂结肠”。目前,“泻剂结肠”的发病机制尚不清楚,尚无有效的治疗方法。Cajal间质细胞(interstitial cells of cajal, ICC)是胃肠道起搏细胞,介导神经递质的产生和作用,ICC异常可导致胃肠动力障碍<sup>[2,3]</sup>。ICC特异性表达酪氨酸激酶受体c-Kit, c-Kit与其配体干细胞因子(stem cell factor, SCF)组成的SCF/c-Kit信号通路已被证实对ICC具有重要调控作用<sup>[4,5]</sup>。SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用尚不清楚。本研究中,我们通过给予大鼠大黄酸灌胃建立“泻剂结肠”动物模型,观察停用泻剂后,肠动力能否恢复,并探

讨SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用,为“泻剂结肠”的防治提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康成年SD大鼠36只,雌雄各半,体重180-220 g,由东南大学医学院实验动物中心提供。大黄酸(南京泽朗医药科技有限公司)。2%大黄酸混悬液:每100 mL生理盐水加入大黄酸2 g。3%戊巴比妥钠溶液:每40 mL生理盐水加入戊巴比妥钠1.2 g。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒购自大连TAKARA公司。BCA蛋白浓度测定试剂盒和SDS-PAGE凝胶配置试剂盒购自北京碧云天生物技术有限公司。兔来源GAPDH和c-Kit、SCF多克隆一抗及羊抗兔HRP二抗均购自美国Santa Cruz公司。ECL发光液购自北京博奥森生物技术有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 “泻剂结肠”大鼠模型的建立:**参照文献[6,7]并加以改进,24只大鼠应用“大黄酸混悬液灌胃法”制作大鼠“泻剂结肠”动物模型。造模时间共110 d,经历3个循环。第1循环隔日灌胃,1.2 mL/(100 g/次)(即每次每100 g大鼠用1.2 mL大黄酸混悬液灌胃);第2循环灌胃5 d停2 d,1.2 mL/(100 g/次);第3循环灌胃5 d停2 d,1.6 mL/(100 g/次)。每个循环结束以80%的大鼠稀便消失为标准。

**1.2.2 分组:**36只大鼠随机分为:(1)模型组:12只大鼠,造模结束后取材;(2)模型恢复组:12只大鼠,造模结束正常饲养30 d后取材;(3)对照组:12只大鼠,生理盐水灌胃,生理盐水灌胃频率及用量同模型组,与模型组同时取材。

**1.2.3 首粒黑便排出时间的检测:**各组大鼠处死前均停止灌胃1 wk后,以10%活性炭悬液3 mL灌胃,记录从灌胃到首粒黑便排出的时间以反映肠道传输功能。

**1.2.4 取材:**3%戊巴比妥钠1 mL/kg腹腔注射麻醉大鼠,固定,消毒,铺无菌孔巾。取腹部正中切口约3.0 cm切开腹壁各层,观察腹腔内情况。取中段结肠组织4块,迅速投入-180 °C液氮罐中,5 h后转移到-70 °C冰箱冻存,待RT-PCR和Western blot检测。

**1.2.5 RT-PCR法检测大鼠结肠组织c-Kit和SCF mRNA表达:**总RNA的提取按照异硫氰酸胍法,稍作改进。简而言之,将组织研碎、置于异硫氰酸胍裂解液,裂解后依次以酚、氯仿、异丁醇

## ■相关报道

已有研究表明,SCF/c-Kit信号通路对ICC的发育、分化及表型维持至关重要,但SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用尚未阐明。

抽提, 加入醋酸钠, 在-20℃冷异丙醇中沉淀1次, 而后溶于不含RNA酶的水中, -80℃冰箱保存。上述RNA经过DNA酶处理后, 总RNA被逆转录成cDNA, 逆转录所得cDNA在-20℃保存。引物由英骏公司合成, 序列如下: c-Kit(798 bp)的上游引物为: 5'-AGACCGAACGCAACTT-3', 下游引物为: 5'-GGTGCCATCCACTTCA-3'; SCF(756 bp)上游引物: 5'-AAACTGGTGGCGAATC-3', 下游引物: 5'-CACGGGTAGCAAGAAC-3'; GAPDH(609 bp)基因被用作管家基因, 以衡量加样的一致性。GAPDH的上游引物为: 5'-GC-CAGCCTCGTCTCA-3', 下游引物为: 下游引物: 5'-CACGCCACAGCTTTCC-3'。PCR反应条件: 94℃预变性4 min, 94℃变性30 s, 56℃(退火温度根据不同引物条件而定)退火30 s, 72℃延伸90 s, 共25个循环, 之后72℃延伸7 min。PCR产物鉴定: 配制1.7%的琼脂糖凝胶, 加入浓度0.5 μg/mL的溴化乙锭(EB), 每个样本取5 μL PCR产物和2 μL GAPDH PCR产物与2 μL 6×Loading Buffer上样缓冲液混合均匀加入至同一加样孔, 以0.5×TBE为缓冲液, 电压80 V, 电泳约20 min。上海复日公司Smartview 2001图像分析处理系统对电泳区带进行光密度扫描制片。

**1.2.6 Western blot法检测结肠组织中c-Kit及SCF的含量:** 200 mg组织经研磨粉碎, 加入1 000 μL新鲜配制的、冷的蛋白裂解液(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5, 150 mmol/L NaCl, 2 mmol/L EDTA, 1%SDS, 每10 mL加入一片蛋白酶抑制剂), 充分裂解后, 裂解液经4℃、14 000 r/min离心10 min, 上清液经BSA蛋白试剂盒测定总蛋白浓度后进行Western blot分析。取40 μg蛋白与上样缓冲液混合, 煮沸5 min, 置于12%SDS变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳结束后半干电转移法转移至PVDF膜, 室温下1%BSA封闭1h。加入稀释度1:1 000的羊抗大鼠多克隆抗体(Santa Cruz公司)4℃孵育过夜, 第2天用羊抗兔二抗(1:5 000稀释)室温孵育1 h。TBST洗膜, 化学发光法显色, X线底片曝光。GAPDH作为内参照, 实验重复3次。

**统计学处理** 采用SAS软件对数据进行统计学分析, 各组数据以mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, 包括正态分布检验和方差齐性分析, 如果不符合正态分布改用非参数检验分析。 $P<0.05$ 被认为有显著性差异。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠首粒黑便排出时间** 模型组大鼠首

粒黑便排出时间明显延长, 与对照组相比差别显著, 有统计学意义( $491.5\pm40.2$  vs  $373.4\pm46.5$ ,  $P<0.01$ )。而模型恢复组大鼠与模型组相比, 首粒黑便排出时间没有统计学差异( $477.9\pm39.6$  vs  $491.5\pm40.2$ ,  $P>0.05$ )。

**2.2 结肠组织c-Kit和SCF mRNA水平RT-PCR检测** 模型组和对照组结肠组织中c-Kit和SCF mRNA表达结果见图1。在结肠组织中, c-Kit(798 bp)、SCF(756 bp)和GAPDH(609 bp)都得到了有效扩增, 各个标本中GAPDH基因的扩增基本一致, 证实各样本的加样基本均衡。模型组c-Kit和SCF的mRNA表达较弱, 与对照组相比, 差别显著( $P<0.01$ )。

**2.3 结肠组织c-Kit和SCF的蛋白表达水平Western blot检测** 提取各组结肠组织的蛋白作Western blot分析, 比较c-Kit和SCF的蛋白表达(图2)。结果表明, 对照组有较强的c-Kit及SCF蛋白表达。与对照组相比, 模型组及模型恢复组的c-Kit及SCF蛋白表达明显减弱( $P<0.01$ ), 而模型恢复组与模型组相比, c-Kit及SCF蛋白表达均无明显差异( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

“泻剂结肠”是STC的一种重要临床类型, 患者长期服用刺激性泻剂如大黄、番泻叶等, 便秘症状逐渐加重, 结肠动力进行性减退, 到后期多是依靠大剂量泻剂维持排便, 最终导致“泻剂结肠”。结肠动力减退和依赖泻剂排便是“泻剂结肠”的主要特点。目前, “泻剂结肠”的发病机制尚不清楚, 治疗难度很大, 临床上多以对症治疗为主, 停药后症状改善不明显, 部分患者最终须行结肠切除术等毁损性治疗措施, 但治疗效果常不理想, 因此建立“泻剂结肠”动物模型进行结肠动力减退机制的研究对于“泻剂结肠”的防治具有极其重要的意义。

大黄酸是从中药大黄中提取的单体, 化学名“1,8-二羟基-3-羧基蒽醌”, 为大黄泻下作用的主要有效成分。本实验中, 我们采用“大黄酸混悬液灌胃法”制作大鼠“泻剂结肠”动物模型, 结果显示, 模型组大鼠肠道传输时间明显延长, 与对照组相比差别显著( $P<0.01$ ), “泻剂结肠”模型成功建立, 同时也提示, 刺激性泻剂可使肠动力减退, 损伤肠道传输功能。那么, “泻剂结肠”大鼠停用刺激性泻剂后, 肠道传输功能能否改善? 本实验中, 模型恢复组大鼠经停用刺激性泻剂30 d后, 与模型组相比, 首粒黑便排出时间未见明显改善( $P>0.05$ )。

### ■创新盘点

本研究通过“大黄酸混悬液灌胃法”制作“泻剂结肠”动物模型, 探讨SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用, 为“泻剂结肠”的防治提供理论依据。

## ■应用要点

本研究表明, 刺激性泻剂的长期使用引起结肠组织中SCF/c-Kit信号通路的异常改变参与了“泻剂结肠”的发病机制, 对临床“泻剂结肠”的治疗及刺激性泻剂的使用有一定指导意义。

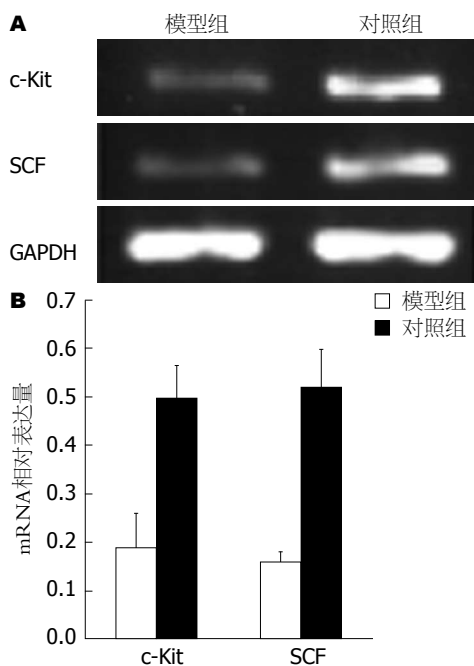


图1 对照组和模型组中c-Kit和SCF mRNA水平表达的差异。

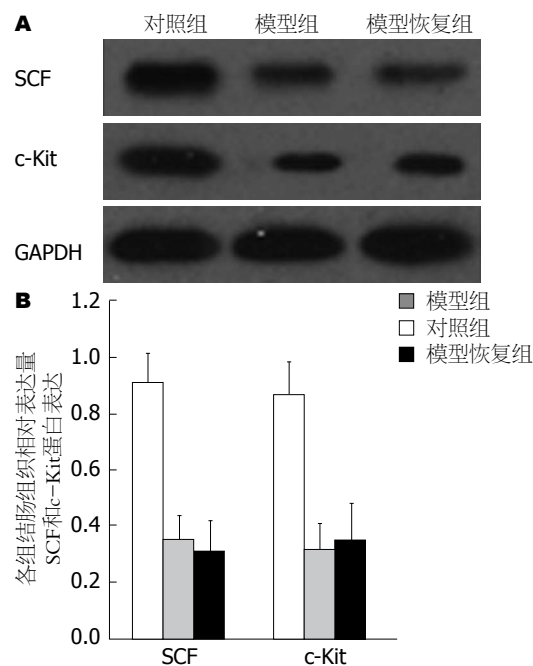


图2 各组结肠组织c-Kit和SCF的蛋白表达。

肠神经系统主要指消化道壁内由大量神经元所构成的巨大神经网络, 包括黏膜下丛、深肌丛及肌间神经丛等, 感知、启动和调控胃肠的运动和分泌功能, 其作用可不依赖中枢神经系统的调控。ICC是介于肠神经系统和平滑肌细胞之间的一类极其特殊的间质细胞, 是胃肠道慢波的起搏细胞, 对肠神经信号传递到效应器平滑肌细胞起重要的调控作用<sup>[8,9]</sup>。研究发现, STC患者肠道ICC数量减少, 不规则的慢波形成, 结肠传输减慢, 但ICC的减少是疾病进程中的因还是果仍难以确定<sup>[10,11]</sup>。酪氨酸激酶受体c-Kit是ICC的特异性标志物, SCF是c-Kit的天然配体, SCF与c-Kit结合后所启动的信号通路, 对ICC的增殖、分化及表型维持至关重要<sup>[12,13]</sup>。编码c-Kit的小鼠w位点突变及编码干细胞因子的s1位点突变均可导致胃肠道肌间丛ICC缺失, 肠慢波消失<sup>[14]</sup>。林琳等<sup>[15]</sup>利用吗啡诱导STC小鼠模型, 发现结肠组织ICC数量减少, c-Kit蛋白和c-Kit mRNA表达均减少。Brading等<sup>[16]</sup>研究发现微环境中SCF浓度对ICC的培养至关重要, ICC的培养必须依赖SCF才能成活, 不加SCF的培养基ICC基本不能存活。这些研究结果说明正常的SCF/c-Kit信号通路对ICC的表型维持和生理功能的实现具有不可替代的作用, 而c-Kit和SCF基因的正常表达是维持这一信号通路的必要条件。

我们通过RT-PCR法来观察对照组和模型组中c-Kit和SCF的mRNA水平表达的差异, 研究发

现, 与对照组相比, 模型组c-Kit和SCF的mRNA水平表达均明显降低( $P<0.01$ )。同时, 我们通过Western blot技术检测结肠组织中c-Kit和SCF的蛋白表达水平, 结果显示, 模型组c-Kit和SCF的蛋白表达水平也明显降低( $P<0.01$ )。据此可以推测, 刺激性泻剂的长期使用可引起结肠组织中c-Kit和SCF的mRNA和蛋白水平表达的下调, 破坏了正常的SCF/c-Kit信号通路, 进而引起ICC细胞的异常改变, 导致结肠动力减退, 最终形成“泻剂结肠”。本研究还观察了模型恢复组的SCF/c-Kit信号通路情况, 发现与模型组相比, 模型恢复组的c-Kit和SCF的蛋白表达水平均无明显改善( $P>0.05$ ), 由此我们推测, 停用泻剂30 d后, SCF/c-Kit信号通路不能恢复正常是“泻剂结肠”大鼠肠道传输功能未见明显改善的重要原因。因此, 如何能修复SCF/c-Kit信号传导通路, 促进ICC增殖和修复, 从而改善“泻剂结肠”的结肠动力, 值得进一步研究。

#### 4 参考文献

- 1 El-Salhy M. Chronic idiopathic slow transit constipation: pathophysiology and management. *Colorectal Dis* 2003; 5: 288-296 [PMID: 12814404]
- 2 Davidson RA, McCloskey KD. Morphology and localization of interstitial cells in the guinea pig bladder: structural relationships with smooth muscle and neurons. *J Urol* 2005; 173: 1385-1390 [PMID: 15758810 DOI: 10.1097/01.ju.0000146272.80848.37]
- 3 Biers SM, Reynard JM, Doore T, Brading AF. The functional effects of a c-kit tyrosine inhibitor on



- guinea-pig and human detrusor. *BJU Int* 2006; 97: 612-616 [PMID: 16469036 DOI: 10.1111/j.1464-410X.2005.05988.x]
- 4 Horváth VJ, Vittal H, Lörincz A, Chen H, Almeida-Porada G, Redelman D, Ordög T. Reduced stem cell factor links smooth myopathy and loss of interstitial cells of Cajal in murine diabetic gastroparesis. *Gastroenterology* 2006; 130: 759-770 [PMID: 16530517 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.12.027]
- 5 贾后军, 童卫东, 刘宝华. 胃肠道Cajal间质细胞与干细胞因子/c-kit信号途径关系. *医学研究生学报* 2010; 23: 192-195
- 6 巫全胜, 吴曙光, 赵菊花, 郭科男, 董小君, 钱宁. 大鼠药物依赖性便秘模型的制作. *实验动物科学* 2007; 24: 70-72
- 7 郑晨果, 金纯, 金定国. 大鼠泻剂结肠模型的再探讨. *浙江中西医结合杂志* 2006; 26: 687-655
- 8 Sanders KM, Ward SM. Interstitial cells of Cajal: a new perspective on smooth muscle function. *J Physiol* 2006; 576: 721-726 [PMID: 16873406 DOI: 10.1113/jphysiol.2006.115279]
- 9 Streutker CJ, Huizinga JD, Driman DK, Riddell RH. Interstitial cells of Cajal in health and disease. Part I: normal ICC structure and function with associated motility disorders. *Histopathology* 2007; 50: 176-189 [PMID: 17222246 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02493.x]
- 10 Farrugia G. Interstitial cells of Cajal in health and disease. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 54-63 [PMID: 18402642 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01109.x]
- 11 Lee JI, Park H, Kamm MA, Talbot IC. Decreased density of interstitial cells of Cajal and neuronal cells in patients with slow-transit constipation and acquired megacolon. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1292-1298 [PMID: 16048580 DOI: 10.1111/j.1400-1746.2005.03809.x]
- 12 Li J, Goodyer CG, Fellows F, Wang R. Stem cell factor/c-Kit interactions regulate human islet-epithelial cluster proliferation and differentiation. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 961-972 [PMID: 16213778 DOI: 10.1016/j.biocel.2005.08.014]
- 13 Bashamboo A, Taylor AH, Samuel K, Panthier JJ, Whetton AD, Forrester LM. The survival of differentiating embryonic stem cells is dependent on the SCF-KIT pathway. *J Cell Sci* 2006; 119: 3039-3046 [PMID: 16820414 DOI: 10.1242/jcs.03038]
- 14 Seki K, Komuro T. Distribution of interstitial cells of Cajal and gap junction protein, Cx 43 in the stomach of wild-type and W/Wv mutant mice. *Anat Embryol (Berl)* 2002; 206: 57-65 [PMID: 12478368 DOI: 10.1007/s00429-002-0279-0]
- 15 林琳, 姜柳琴, 张红杰, 胡晔东, 林征, 黄峻. 慢传输运动小鼠结肠组织中Cajal间质细胞的改变. *胃肠病学* 2006; 11: 462-467
- 16 Brading AF, McCloskey KD. Mechanisms of Disease: specialized interstitial cells of the urinary tract--an assessment of current knowledge. *Nat Clin Pract Urol* 2005; 2: 546-554 [PMID: 16474598 DOI: 10.1038/ncpuro0340]

#### ■同行评价

本文以大黄酸复制“泻剂结肠”动物模型, 探讨SCF/c-Kit信号通路在“泻剂结肠”发病机制中的作用, 有一定的创新性。

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

# 重组腺相关病毒介导的RNA干扰对乙型肝炎病毒复制和表达的影响

付冰峰, 李绍祥, 宁守斌

## ■背景资料

慢性乙型肝炎病毒感染可继发肝硬化、肝细胞癌, 目前全球每年因HBV感染相关的终末期肝病而死亡的人数多达100万, 是一个严重的公共卫生问题。核苷(酸)类似物和干扰素 $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )是目前全球公认有效的抗HBV药物, 但临床研究发现, 二者在使用过程中存在着应答率有限、停药后易反复等诸多问题, 而且干扰素治疗容易产生干扰素样反应, 核苷类药物易引起病毒变异继而耐药。因此, 寻找一种新的治疗HBV感染的方法势在必行。

## ■同行评议者

杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科; 张占卿, 主任医师, 上海市(复旦大学)公共卫生中心(肝脏病学, 传染病学)

付冰峰, 河北北方学院 河北省张家口市 075000  
李绍祥, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心 北京市 100700  
宁守斌, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142  
付冰峰, 硕士, 主要从事乙型肝炎相关的基础研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 30872353  
北京军区十一五计划基金资助项目, No. 06BJ020  
作者贡献分布: 此课题设计由李绍祥完成; 付冰峰完成实验主要内容, 并归纳整理; 宁守斌负责信息采集。  
通讯作者: 李绍祥, 副主任医师, 100700, 北京市东城区东四十条南门仓5号, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心。shxili@163.com  
收稿日期: 2013-01-16 修回日期: 2013-02-16  
接受日期: 2013-03-05 在线出版日期: 2013-03-28

## Effect of recombinant adenovirus-associated virus-mediated RNA interference on HBV replication and expression

Bing-Feng Fu, Shao-Xiang Li, Shou-Bin Ning

Bing-Feng Fu, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China  
Shao-Xiang Li, Institute of Liver Disease, Beijing Military General Hospital, Beijing 100700, China  
Shou-Bin Ning, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital of PLA, Beijing 100142, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30872353; and the Project of Beijing Military Region during the "11th Five-year Plan" Period, No. 06BJ020  
Correspondence to: Shao-Xiang Li, Associate Chief Physician, Institute of Liver Disease, Beijing Military General Hospital, 5 Dongsishitiao Nanmencang, Beijing 100700, China. shxili@163.com  
Received: 2013-01-16 Revised: 2013-02-16  
Accepted: 2013-03-05 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of recombinant adenovirus-associated virus (rAAV)-mediated RNA interference on HBV replication and expression in HepG2.2.15 cells.

**METHODS:** The expression box of hu6-shRNA was placed between two ITRs of AAV and then ligated to the basic core promoter (BCP) of HBV and BCP-driven Rep gene of AAV, which resulted in rAAV. The rAAV was transfected into HepG2.2.15 cells (HCC cells in which the HBV

gene was inserted). The expression of HBsAg and HBeAg and replication of HBV-DNA in cultured supernatant were determined on days 1, 2, 3 and 10 after transfection, and the AAVS1 region was sequenced on day 3 after transfection.

**RESULTS:** The target sequence-containing vectors PLRBR322-324, PLRBR522-324, PLRBR322-2424 and PLRBR522-2424 were successfully constructed. All the four vectors had inhibitory effects on the expression of HBsAg and HBeAg and on HBV-DNA replication, with the former two (PLRBR322-324 and PLRBR522-324) having more significant inhibitory effect on HBsAg expression, the latter two on HBeAg expression and the third on HBV-DNA replication. The inhibitory effects on HBsAg and HBeAg expression and HBV-DNA replication were most obvious on day 3 after transfection, and the inhibition rate remained high on day 10. Site-directed integration of the target sequence was located in the AAVS1 region.

**CONCLUSION:** The rAAV constructed by several elements of AAV and HBV, together with the help of site-directed integration mediated by Rep protein, is a good exploration to solve the problem of short-term effect of RNAi against HBV.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** RNA interference; ShRNA; Recombinant adenovirus-associated virus; HepG2.2.15 cells; Site-directed integration

Fu BF, Li SX, Ning SB. Effect of recombinant adenovirus-associated virus-mediated RNA interference on HBV replication and expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 814-819 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/814.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.814>

## 摘要

**目的:** 观察以重组腺相关病毒(recombinant adeno-associated virus, rAAV)介导的RNA干扰

(RNA interference, RNAi)对HepG2.2.15细胞中乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制和表达的影响。

**方法:** 将hu6驱动的shRNA表达框置于腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)的2个ITR(inverted terminal repeat, ITR)之间, 之后接有HBV的基本核心启动子(basic core promoter, BCP)及其驱动的AAV的Rep基因, 构成rAAV, 作为抗HBV的shRNA表达框的质粒载体, 转染HepG2.2.15细胞(肝细胞性肝癌细胞插入乙型肝炎病毒基因), 测定上清液中第1天、第2天、第3天及第10天HBsAg、HBeAg表达及HBV DNA拷贝数, 并对细胞基因组AAVS1区域进行测序。

**结果:** 成功构建了含目的序列的rAAV质粒载体PLRBR322-324、PLRBR522-324、PLRBR322-2424、PLRBR522-2424。体外质粒转染细胞实验显示4个载体对HBsAg、HBeAg表达及HBV DNA复制均有抑制效应, 且前两者对HBsAg高一些、后两者对HBeAg高一些, 第3个对HBV DNA拷贝数高一些。转染后第3天后抑制效应最明显, 第10天抑制率仍较高。针对细胞基因组AAVS1区域测序结果显示, 目的序列定点整合于该区域。

**结论:** 利用AAV和HBV各种元件构建的rAAV, 作为抗HBV的shRNA表达框的载体, 借助Rep蛋白介导的定点整合作用, 为解决RNAi抗HBV作用时间短暂的问题做了一些技术上的探索。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** RNA干扰; 短发夹RNA; rAAV; HepG2.2.15细胞; 定点整合

付冰峰, 李绍祥, 宁守斌. 重组腺相关病毒介导的RNA干扰对乙型肝炎病毒复制和表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 814-819 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/814.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.814>

## 0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染与肝硬化、肝细胞癌密切相关<sup>[1]</sup>, 目前全球每年因HBV感染相关的终末期肝病而死亡的人数多达100万<sup>[2]</sup>, 是一个严重的公共卫生问题。慢性乙型肝炎的治疗主要包括抗病毒、免疫调节、抗炎和抗氧化、抗纤维化及对症治疗, 其中抗病毒治疗是关键, 持续有效的抑制病毒能延缓

甚至阻滞肝病进程, 改善慢性HBV感染者生活质量<sup>[3]</sup>。但是抗HBV治疗, 阻断肝细胞内HBV的复制和表达, 仍是目前难题之一。近年来备受关注的RNA干扰技术, 为HBV基因治疗提供了新的策略。RNA干扰通过RNaseIII家族的Drosha酶和/或Dicer酶将双链RNA(dsRNA)切割成小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA), 降解与其同源的靶mRNA或抑制靶mRNA翻译, 从而下调靶基因表达<sup>[4]</sup>。这种机制存在几乎所有真核生物中<sup>[5]</sup>, 具有高效性、特异性等优点, 目前已有siRNA/shRNA抑制HBV复制与感染<sup>[6-9]</sup>报道, 但没有克服作用时间短暂等不足。为探讨RNAi抗HBV的作用效果, 解决RNAi作用时间短暂的问题, 本实验针对HBV pre-C/C区和S区基因序列, 设计构建重组腺相关病毒(recombinant adeno-associated virus, rAAV), 利用腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)宿主范围广、不致病、免疫原性低等优点<sup>[10]</sup>, 作为抗HBV的shRNA表达框的载体, 转染含HBV病毒基因组的HepG2.2.15细胞中, 观察对HBV复制和表达的抑制作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DMEM购自美国Gibco公司; 胎牛血清购自苏州四季青生物公司; 限制性内切酶BamH I、Xba I、Xho I、T4连接酶、Real-time PCR试剂盒均购自Takara生物技术公司; 转染试剂lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司; 质粒小提试剂盒、胶回收试剂盒购自美国Promega公司; 质粒中提试剂盒购自北京全式金生物公司; 引物由北京市理化分析测试中心合成; DH5 $\alpha$ 感受态细胞购自Tigen公司; ELISA试剂盒购自上海科华公司; HepG2.2.15细胞由解放军302医院曲建慧副教授惠赠; 质粒pGe322、pGe522及PLRBR由北京军区总医院全军肝病治疗中心实验室前期合成并保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 HepG2.2.15细胞的培养及准备:** HepG2.2.15细胞复苏后生长于DMEM中(含10%胎牛血清、2 mmol/L谷氨酰胺、100 U/mL青霉素及100  $\mu$ g/mL链霉素), 并在37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>孵箱中进行培养, 2-3 d更换培养液。

**1.2.2 靶位的选择及shRNA的设计:** 根据在GenBank中的HBV S基因及C基因作为靶序列, 同时根据shRNA设计原则, 靶位1(324-352)序列为: AACCTCCAATCACTCACCACCCTCTTGTC, 靶位2(2424-2452)序列为: GCTGGTGGCTC-

### ■ 研发前沿

近年来将AAV作为广泛应用的基因工程治疗载体, 利用其能使插入的siRNA表达时间延长, 可稳定发挥干扰作用, 解决RNA干扰抗HBV作用时间短暂的问题。



## ■创新盘点

RNAi作为一种全新的技术为防治乙型肝炎病毒感染提供了新的治疗思路,但是同时也有作用时间短暂等问题有待解决。直到最近几年因为AAV能使插入的siRNA表达时间延长,可稳定发挥干扰作用等优点,将AAV作为广泛应用的基因工程治疗载体,为解决RNAi作用时间短暂提供新的思路。

CAGTTCAGGAACAGTAAA.

1.2.3 重组载体的构建: (1)引物的合成: S1正义链5'-GATCCCGAACCTCCAATCACTCAC-CACCTCTGTGCGAAGCTTGGACAAGAG-GTTGGTGAGTGATTGGAGGTTTTTTT-3', S1反义链: 5'-CTAGAAAAAA AACCTCCAAT-CACTCACCAACCTCTTGTCCAAGCTTCGACAAGAGGTTGGTGAGTGATTGGAGGTCGG-3'; S2正义链: 5'-GATCCCGGCTGGTG-GCTCCAGTTCAGGAACAGTAAA GAAGCTT-GTTTACTGTTTCTGAACTGGAGCCAC-CAGCTTTTTT-3', S2反义链: 5'-CTAGAAAAAA GCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGTAAA CAAGCTTCTTTACTGTTTCTGAACTGGAGC-CACAGCCGG-3'。以上引物均由北京理化分析测试中心合成; (2)引物退火, 琼脂糖电泳, 切胶, 行胶回收; (3)载体的构建及检测: 以限制性内切酶*Bam*H I、*Xba* I 分别线性化pGe322、pGe522载体, 酶切产物进行琼脂糖凝胶电泳检测并回收, 双链DNA分别与酶切回收产物连接, 应用T4连接酶、16℃连接过夜, 形成pGe322-324、pGe522-324、pGe322-2424、pGe522-2424 4个重组载体。再将重组载体与PLRBR载体用限制性内切酶*Xba* I、*Xho* I 进行酶切, 37℃水浴过夜。对重组载体及PLRBR载体进行琼脂糖凝胶电泳检测并回收, 再将PLRBR载体回收产物分别与4个重组载体回收产物连接, 应用T4连接酶、16℃连接过夜, 形成PLRBR322-324、PLRBR522-324、PLRBR322-2424、PLRBR522-2424。将连接产物转化感受态细胞DH5 $\alpha$ 后铺于LB平板, 挑单个菌落进行过夜摇菌扩增, 质粒小提试剂盒提取质粒进行双酶切鉴定, 其电泳结果与实验预计结果相符。

1.2.4 转染HepG2.2.15细胞: 转染前用含0.25%胰酶-0.02%乙二胺四乙酸(EDTA)消化后吹打成单细胞悬液, 细胞技术后接种于12孔培养板中, 放于孵箱中进行培养。约24 h后观察细胞生长铺满孔底面积约70%时用于转染。转染前更换无血清培养基, 质粒与Lipofectamine 2000脂质体按1:3共转染, 室温放置20 min后加入每孔中, 在孵箱中培养6 h候换DMEM中(含10%胎牛血清、2 mmol/L谷氨酰胺、100 U/mL青霉素及100  $\mu$ g/mL链霉素), 并在37℃、5%CO<sub>2</sub>孵箱中进行培养。设空白对照组及转入空质粒的阴性对照组, 每组设3个复孔。

1.2.5 HBsAg、HBeAg及HBV-DNA的检测: 取转染后第1天、第2天、第3天及第10天上清液根据ELISA试剂盒实验步骤检测HBsAg、HBeAg。结果用S/N值(实验孔吸光度值/阴性对照孔吸光度值)表示。HBV-DNA检测: 将上清液吸出, 用磷酸盐缓冲液漂洗细胞, 制备细胞裂解液, 具体步骤按试剂盒说明书进行检测。

1.2.6 细胞核DNA的提取、纯化及测序: 取转染后3 d细胞, 留取上清液后, 按细胞DNA提取试剂盒步骤提取细胞DNA, 以细胞DNA为模板行PCR, 引物: 5'-AGGAACCCCTAGTGATGGAGT-3', 引物: 5'-TCAGAGGACATCACGTG-3', PCR产物送生物公司测序。

**统计学处理** 采用SPSS17.0数据包进行统计分析, 计量资料采用mean $\pm$ SD表示, 所得数据经正态性检验符合正态分布, 组间比较采用单因素方差分析, 多个均数之间两两比较采用LSD法, 以 $P<0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

体外质粒转染细胞实验显示本实验合成的4个载体(图1-4)对HBsAg、HBeAg表达及HBV DNA复制均有抑制效应, PLRBR322-324、PLRBR522-324载体靶向于HBV S区, 其抑制HBsAg作用较明显, 其中PLRBR322-324第1天、第2天抑制效率分别为28.3%和49.9%, 第3天最高达68.6%, 到第10天仍然有56%的抑制率(表1)。PLRBR322-2424、PLRBR522-2424靶向于HBV pre-C/C区, 其抑制HBeAg作用较明显, 其中PLRBR322-2424前两天抑制效率分别为24.9%、46.3%, 第3天达最大抑制效率为67.1%, 第10天抑制率仍较高, 达到了51.3%(表2); PLRBR322-2424对HBV-DNA抑制效作用最强, 第1天、第2天抑制率分别为26.4%、43.3%, 第3天最大, 达到57%, 第10天仍保持有41.4%的稳定抑制效果。阴性对照组与空白对照组比较无统计学意义(表3)。

## 3 讨论

据世界卫生组织报告, 全球约有20亿人曾感染过HBV, 其中3.5亿人为慢性感染者。核苷(酸)类似物和干扰素 $\alpha$ (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )是目前全球公认有效的抗HBV药物<sup>[1]</sup>, 但临床研究发现, 二者在使用过程中存在着应答率有限、停药后易反复等诸多问题, 而且干扰素治疗容易产生干扰素样反应, 核苷类药物易引起病毒变异继而耐

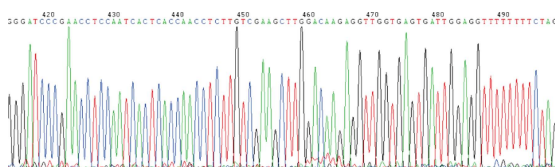


图 1 PLRBR322-324组测序结果.

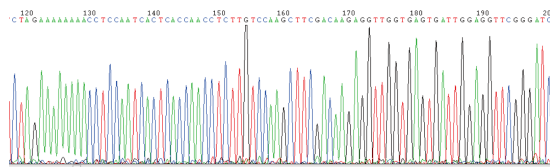


图 2 PLRBR522-324组测序结果.

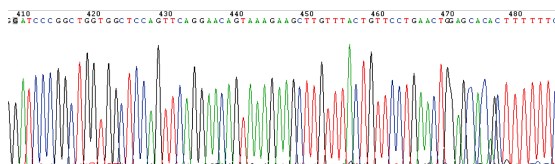


图 3 PLRBR522-2424组测序结果.

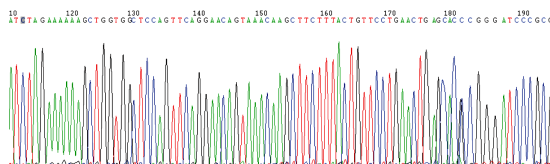


图 4 PLRBR322-2424组测序结果.

## ■应用要点

本文可能为乙肝治疗提供一种新的途径, 可以长期、有效的抑制病毒的复制和表达, 改善远期预后, 使大多数患者受益.

表 1 上清液HBsAg检测结果

分组	第1天	第2天	第3天	第10天
PLRBR322-324	5.39 ± 0.11 <sup>a</sup>	7.76 ± 0.09 <sup>a</sup>	9.29 ± 0.06 <sup>a</sup>	8.93 ± 0.12 <sup>a</sup>
PLRBR522-324	5.49 ± 0.13 <sup>a</sup>	8.01 ± 0.11 <sup>a</sup>	10.94 ± 0.13 <sup>a</sup>	9.75 ± 0.15 <sup>a</sup>
PLRBR322-2424	6.32 ± 0.08 <sup>a</sup>	10.74 ± 0.14 <sup>a</sup>	18.72 ± 0.17 <sup>a</sup>	13.71 ± 0.1 <sup>a</sup>
PLRBR522-2424	6.46 ± 0.10 <sup>a</sup>	11.01 ± 0.07 <sup>a</sup>	18.55 ± 0.12 <sup>a</sup>	14.02 ± 0.13 <sup>a</sup>
空白对照组	7.51 ± 0.13	15.49 ± 0.13	29.50 ± 0.14	20.28 ± 0.11
阴性对照组	7.26 ± 0.11	15.25 ± 0.18	29.26 ± 0.13	19.98 ± 0.12

<sup>a</sup>P<0.05 vs 空白对照组.

药<sup>[12]</sup>, 为改善疗效, 许多学者进行了联合用药抗HBV的探索, 但在最终疗效的评定上出现了较多争议<sup>[13,14]</sup>. 由于HBV复制及逆转录过程中存在RNA阶段, 从而为RNAi提供了靶点<sup>[15]</sup>. 早期的实验将shRNA序列插入到质粒中, 已经证实能够明显地抑制HBV的复制和表达, 但只能产生短时间的基因沉默效果, 对细胞毒性也较大<sup>[16]</sup>. 为此很多学者进行了试验性的研究, 将AAV作为广泛应用的基因工程治疗载体, 基于以下优点<sup>[10,17-22]</sup>: (1) 可以广泛感染人细胞, 包括分裂期细胞和非分裂期细胞; (2) AAV本身无致病性; (3) 可以特异性整合于人类19号染色体长臂末端, 无致癌及致突变作用; (4) 以辅助质粒P-Helper代替辅助病毒进行重组腺相关病毒的包装; (5) 使插入的siRNA表达时间延长, 可稳定发挥干扰作用.

本实验将hu6-shRNA表达框置于AAV两个ITR之间, 之后接BCP和Rep基因, 构成rAAV, 作为抗HBV的shRNA表达框的载体. rAAV感染HepG2.2.15细胞后, BCP驱动Rep蛋白得以表达, 因Rep蛋白有促进复制、定点整合及拯救的作用, 因此LITR-hu6-shRNA-RITR可以复制, 使得rAAV的拷贝数大大增加. 但由于rAAV没有Cap

基因, 因此复制的rAAV基因组不能被包装成子代病毒颗粒, 只是拷贝数增加而已, 因而不会引起靶细胞裂解. 其基因组所携带的hu6-shRNA表达框, 通过RNAi途径, 发挥抗HBV作用. 随着时间的延迟, BCP-Rep被清除, Rep基因随之降解、消失, rAAV失去产毒性感染的条件, 因为Rep定点整合作用, 其基因组整合入AAVS1, 进入潜伏感染, 所携带的hu6-shRNA表达框也随之定点整合到AAVS1, 并随着细胞的分裂而分裂、复制, 持续生成shRNA, 通过RNAi稳定发挥抗HBV的作用<sup>[23]</sup>. 体外质粒转染细胞实验显示本实验合成的4个载体对HBsAg、HBeAg表达及HBV DNA复制均有抑制效应, PLRBR322-324、PLRBR522-324载体靶向于HBV S区, 其抑制HBsAg作用较明显, PLRBR522-2424靶向于HBV pre-C/C区, 其抑制HBeAg作用较明显, PLRBR322-2424对HBV-DNA抑制效作用最强, 说明通过RNAi抑制靶基因表达的有效性很大程度上取决于靶向的mRNA部位及与靶序列的匹配程度. 在本实验中针对单一一位点设计的shRNA表达质粒表现出对HBsAg、HBeAg以及HBV-DNA均有不同程度的抑制效应, 其原因可

## ■名词解释

RNA干扰(RNAi):指在进化过程中高度保守的、由双链RNA(dsRNA)诱发的、同源mRNA高效特异性降解的现象。由于使用RNAi技术可以特异性剔除或关闭特定基因的表达,所以该技术已被广泛用于探索基因功能和传染性疾病及恶性肿瘤的基因治疗领域。

表 2 上清液HBeAg检测结果

分组	第1天	第2天	第3天	第10天
PLRB322-324	6.51 ± 0.04 <sup>a</sup>	12.01 ± 0.11 <sup>a</sup>	20.32 ± 0.06 <sup>a</sup>	12.80 ± 0.13 <sup>a</sup>
PLRBR522-324	6.36 ± 0.11 <sup>a</sup>	11.89 ± 0.06 <sup>a</sup>	21.09 ± 0.08 <sup>a</sup>	12.68 ± 0.14 <sup>a</sup>
PLRBR322-2424	5.71 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.37 ± 0.10 <sup>a</sup>	10.62 ± 0.14 <sup>a</sup>	8.65 ± 0.09 <sup>a</sup>
PLRBR522-2424	5.75 ± 0.12 <sup>a</sup>	8.56 ± 0.08 <sup>a</sup>	11.96 ± 0.13 <sup>a</sup>	8.96 ± 0.11 <sup>a</sup>
空白对照组	7.60 ± 0.07	15.56 ± 0.15	32.25 ± 0.28	17.75 ± 0.07
阴性对照组	7.41 ± 0.23	15.32 ± 0.21	31.92 ± 0.11	17.50 ± 0.13

<sup>a</sup>P<0.05 vs 空白对照组。

表 3 上清液HBA-DNA检测结果 (10<sup>5</sup> copies/mL)

分组	第1天	第2天	第3天	第10天
PLRB322-324	1.29 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.75 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.77 ± 0.06 <sup>a</sup>
PLRBR522-324	1.32 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.81 ± 0.04 <sup>a</sup>
PLRBR322-2424	1.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.03 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.08 <sup>a</sup>
PLRBR522-2424	1.23 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.68 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.11 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.78 ± 0.08 <sup>a</sup>
空白对照组	1.71 ± 0.02	2.89 ± 0.05	4.68 ± 0.07	2.95 ± 0.02
阴性对照组	1.63 ± 0.04	2.71 ± 0.09	4.51 ± 0.05	2.79 ± 0.06

<sup>a</sup>P<0.05 vs 空白对照组。

能在于针对某一位点的siRNA不仅能够使相应mRNA降解,同时可以降解HBV的全长mRNA。由于HBV的全长mRNA同时是逆转录模板,其降解会导致HBV-DNA的复制明显减低,从而减少转录产物mRNA的数量,进而减少各位点的表达量。针对细胞基因组AAVA1区域的测序结果可见目的序列,证明shRNA定点整合于细胞基因组,因此可以持续生成shRNA。与王玥等<sup>[24]</sup>实验结果最大抑制率达87.49%相比本实验抑制相对较低,可能与转染效率低相关,下一步拟将rAAV经同源重组的方法置入腺病毒基因组中,形成腺病毒/腺相关病毒杂合体病毒并进行病毒包装、扩增,再转染HepG2.2.15细胞,提高转染效率。与胡斌等<sup>[25]</sup>合成的载体相比,本载体中有Rep基因,shRNA能定点整合与细胞基因组,可发挥长期稳定的干扰基因表达的作用。

本研究表明以AAV作为载体,将shRNA置于其中后,通过转染靶细胞使shRNA定点整合入细胞内,从而可以长期稳定发挥抗HBV复制和表达的作用,为解决RNAi作用短暂的问题打下了基础,使之可能成为一种不同于传统乙肝治疗的新途径,可以长期、有效的抑制病毒的复制和表达,改善远期预后,使大多数患者受益。

## 4 参考文献

- Chien RN, Liaw YF. Thymalfasin for the treatment of chronic hepatitis B. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; 2: 9-16 [PMID: 15482167 DOI: 10.1586/14787210.2.1.9]
- Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]
- Morgan M, Keeffe EB. Diagnosis and treatment of chronic hepatitis B: 2009 update. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2009; 55: 5-22 [PMID: 19212304]
- Weinberg MS, Arbutnot P. Progress in the use of RNA interference as a therapy for chronic hepatitis B virus infection. *Genome Med* 2010; 2: 28 [PMID: 20429960 DOI: 10.1186/gm149]
- Hannon GJ. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244-251 [PMID: 12110901 DOI: 10.1038/418244a]
- 边中启, 崔志磊, 陈维灶, 刘明秋, 严维耀, 郑兆鑫. siRNA抑制乙型肝炎病毒在HepG2215细胞中的复制与表达. *中华医学杂志* 2009; 89: 347-351
- 边中启, 孙璐璐, 陈维灶, 肖安, 马世武, 崔志磊, 刘霜, 刘明秋, 严维耀, 郑兆鑫. 靶向C基因的shRNA抗乙型肝炎病毒在BHK-21细胞中的复制与表达. *中华医学杂志* 2010; 90: 2776-2781
- Starkey JL, Chiari EF, Isom HC. Hepatitis B virus (HBV)-specific short hairpin RNA is capable of reducing the formation of HBV covalently closed circular (CCC) DNA but has no effect on established CCC DNA in vitro. *J Gen Virol* 2009; 90: 115-126 [PMID: 19088280 DOI: 10.1099/vir.0.004408-0]
- Ebert G, Poeck H, Lucifora J, Baschuk N, Esser K, Esposito I, Hartmann G, Protzer U. 5' Triphosphorylated small interfering RNAs control replication of



- hepatitis B virus and induce an interferon response in human liver cells and mice. *Gastroenterology* 2011; 141: 696-706, 706. e1-e3 [PMID: 21684282 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.001]
- 10 Flotte TR. Gene therapy progress and prospects: recombinant adeno-associated virus (rAAV) vectors. *Gene Ther* 2004; 11: 805-810 [PMID: 15042119 DOI: 10.1038/sj.gt.3302233]
- 11 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57: 167-185 [PMID: 22436845 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010]
- 12 李文滨, 吴畏, 伍衡, 肖治宇, 林青, 王捷. RNA干扰沉默乙型肝炎病毒复制对肝癌细胞系HepG2.2.15生长的影响. *中华肝胆外科杂志* 2010; 16: 688-691
- 13 Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, Zeuzem S, Akarca US, Cakaloglu Y, Simon C, So TM, Gerken G, de Man RA, Niesters HG, Zondervan P, Hansen B, Schalm SW. Pegylated interferon alpha-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 2005; 365: 123-129 [PMID: 15639293 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)17701-0]
- 14 Buster EH, Ter Borg MJ, Vingerling JR, Janssen HL. Low incidence of retinopathy during peginterferon alpha-2b and lamivudine therapy for chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006; 45: 160-161; author reply 160-161 [PMID: 16723166 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.04.003]
- 15 杨慧, 赵龙凤, 赵中夫, 张国英, 刘明社. 短发夹RNA介导的RNA干扰技术在HepG2.2.15细胞中的应用研究. *中国药物与临床* 2011; 11: 502-504, I0001
- 16 张正茂, 田拥军, 孟忠吉, 雷延昌, 李新宇, 王宝菊, 杨东亮. RNA干扰抑制人乙型肝炎病毒复制的研究. *中国病毒学* 2006; 21: 348-352
- 17 McCarty DM, Young SM, Samulski RJ. Integration of adeno-associated virus (AAV) and recombinant AAV vectors. *Annu Rev Genet* 2004; 38: 819-845 [PMID: 15568995 DOI: 10.1146/annurev.genet.37.110801.143717]
- 18 Shiau AL, Liu PS, Wu CL. Novel strategy for generation and titration of recombinant adeno-associated virus vectors. *J Virol* 2005; 79: 193-201 [PMID: 15596815 DOI: 10.1128/JVI.79.1.193-201.2005]
- 19 Smith-Arica JR, Bartlett JS. Gene therapy: recombinant adeno-associated virus vectors. *Curr Cardiol Rep* 2001; 3: 43-49 [PMID: 11139798 DOI: 10.1007/s11886-001-0009-x]
- 20 Daly TM. Overview of adeno-associated viral vectors. *Methods Mol Biol* 2004; 246: 157-165 [PMID: 14970590]
- 21 Grieger JC, Samulski RJ. Adeno-associated virus as a gene therapy vector: vector development, production and clinical applications. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2005; 99: 119-145 [PMID: 16568890 DOI: 10.1007/10\_005]
- 22 Malecki M, Woźniak A, Janik P. [Adeno-associated viruses (AAV)]. *Postepy Biochem* 2008; 54: 57-63 [PMID: 18610582]
- 23 李绍祥, 张艳霞, 张成平, 胡学玲, 李娟, 姚鹏, 胡大荣. Ad/rAAV杂合体病毒介导抗HBV shRNA表达框定点整合研究. *中国现代医学杂志* 2010; 21: 3254-3262
- 24 王玥, 牛俊奇, 丁艳华, 王峰. 应用RNA干扰抑制乙型肝炎病毒复制和表达. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 790-792
- 25 胡斌, 杨燕, 刘嘉, 马智勇, 黄红平, 余源, 刘慎沛, 杨东亮. 表达HBsAg特异性SiRNA的重组腺相关病毒载体的构建. *实用肝脏病杂志* 2010; 13: 161-165

## ■同行评价

本文设计合理, 具有一定创新性, 可为乙型肝炎治疗提供新的思路。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评、基础研究、临床研究、焦点论坛、文献综述、研究快报、临床经验、病例报告和会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 以肝病症状为首表现的肝豆状核变性93例

林连捷, 王东旭, 郑长青, 曹男, 丁楠楠

### ■背景资料

肝豆状核变性(W-D)是以铜代谢障碍为特征的常染色体单基因隐性遗传疾病, 此病于1912年由Wilson首次描述。1952年, Sternlieb等确立WD临床诊断标准。1993年, Bull等将WD致病基因准确地定位于染色体13q14.3。此基因称为ATP7B基因, 编码一种铜转运P型ATP酶, 其突变导致铜与前铜蓝蛋白结合, 使转运蛋白铜蓝蛋白减少, 大量未经结合的铜进入血循环, 在脑、肝、肾、角膜等组织沉积而发病。

林连捷, 王东旭, 郑长青, 曹男, 丁楠楠, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004

林连捷, 副教授, 副主任医师, 主要从事慢性肝病方面的研究。

辽宁省科学技术基金资助项目, No. 2010225008

辽宁省博士科研启动基金资助项目, No. 20081048

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-7

作者贡献分布: 林连捷与王东旭对此文所作贡献均等; 此课题由林连捷与王东旭设计; 研究过程由林连捷、王东旭、郑长青、曹男及丁楠楠共同完成; 数据分析与论文写作由林连捷与王东旭完成。

通讯作者: 林连捷, 副教授, 副主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。  
audreylin73@hotmail.com

收稿日期: 2013-01-19 修回日期: 2013-02-20

接受日期: 2013-03-08 在线出版日期: 2013-03-28

### Wilson's disease with hepatic manifestations as the first presentation: An analysis of 93 cases

Lian-Jie Lin, Dong-Xu Wang, Chang-Qing Zheng, Nan Cao, Nan-Nan Ding

Lian-Jie Lin, Dong-Xu Wang, Chang-Qing Zheng, Nan Cao, Nan-Nan Ding, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Liaoning Province, No. 2010225008; the Doctoral Scientific Research Foundation of Liaoning Province, No. 20081048; the Science and Technology Project of Shenyang, No. F10-205-1-7

Correspondence to: Lian-Jie Lin, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, 39 Huaxiang Street, Tiexi District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. audreylin73@hotmail.com

Received: 2013-01-19 Revised: 2013-02-20

Accepted: 2013-03-08 Published online: 2013-03-28

### Abstract

**AIM:** To analyze the clinical data for patients with Wilson's disease with hepatic manifestations as the first presentation to provide a reference for the diagnosis of this disease.

**METHODS:** The clinical data for 93 patients with Wilson's disease with hepatic manifestations as the first presentation, who were treated at our hospital from January 1993 to April 2010, were reviewed retrospectively.

**RESULTS:** The age of onset ranged from 4 to 49

years. The average course before achieving a definite diagnosis was 17.48 mo. Main first symptoms were jaundice (47.31%), fatigue (39.78%), and nausea and vomiting (37.63%). Main clinical presentation was cirrhosis. The positive rate of corneal K-F ring was 91.67%. The rate of abnormal urinary copper was 84.48%, and serum ceruloplasmin was abnormal in 81.40% of cases. Varying degrees of abnormality of liver function and blood coagulation were also observed. The percentage of patients showing abnormal liver and spleen ultrasound manifestations was 97.37%. The misdiagnosis rate was 61.29%.

**CONCLUSION:** Patients who are suspected to have Wilson's disease with hepatic manifestations as the first presentation should undergo timely determination of K-F ring, 24-h urinary copper, serum ceruloplasmin, and abdominal ultrasound to improve early diagnosis, treatment, prognosis, and reduce misdiagnosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Wilson's disease; Clinical analysis; K-F ring; Ceruloplasmin; Misdiagnosis

Lin LJ, Wang DX, Zheng CQ, Cao N, Ding NN. Wilson's disease with hepatic manifestations as the first presentation: An analysis of 93 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 820-823 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/820.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.820>

### 摘要

**目的:** 分析以肝病症状为首表现肝豆状核变性患者的临床资料, 指导本病的诊断。

**方法:** 回顾性分析1993-01/2010-04于我院首诊的93例以肝病为首表现肝豆状核变性患者的临床资料。

**结果:** 发病年龄4-49岁; 确诊前平均病程17.48 mo; 首发症状依次为黄疸(47.31%), 乏力(39.78%), 恶心呕吐(37.63%); 临床主要表现为肝硬化; 角膜K-F环阳性率91.67%, 尿铜异常率84.48%, 血清铜蓝蛋白异常率81.40%, 肝功及凝血指标有不同程度的异常, 肝胆脾超声

### ■同行评议者

白岚, 教授, 主任医师, 南方医院惠侨科

异常率97.37%; 首诊误诊率达61.29%。

**结论:**对可疑肝豆状核变性的肝病患者应及时行K-F环、血清铜蓝蛋白、24 h尿铜、肝胆脾超声等检查, 早期进行诊治, 减少误诊, 改善预后。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 肝豆状核变性; 诊断; K-F环; 铜蓝蛋白; 误诊

林连捷, 王东旭, 郑长青, 曹男, 丁楠楠. 以肝病症状为首表现的肝豆状核变性93例. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 820-823 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/820.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.820>

## 0 引言

肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration, HLD), 又名Wilson病(Wilson's disease, WD), 是一种常染色体隐性遗传铜代谢障碍疾病, 世界范围内的发病率为1/30 000-1/100 000<sup>[1]</sup>. 由于铜在体内异常蓄积的部位不同, 本病可出现多系统、多器官的病变, 最常受累的器官为肝脏、脑、角膜. 此外, 还可累及肾脏、胰腺、皮肤、心脏和血液等器官<sup>[2]</sup>, 本研究通过回顾性分析我院收治的93例以肝病症状为首表现的WD患者的临床资料, 提高临床医生对该病的认识, 指导该病的早期诊断, 减少误诊与漏诊。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我院1993-01/2010-04收治的以肝病症状为首表现的首诊WD患者共93例, 其中男48例, 女45例, 男女比例为1.07:1, 年龄4-49岁, 平均(11.84±6.81)岁, 其中0-14岁者75例(80.64%), 15-40岁者17例(18.28%), >40岁者1例(1.08%); 仅有2例患者有明确家族史。

**1.2 方法** 根据Sternlieb诊断标准<sup>[3]</sup>, 至少具备以下4项中的两项者可以确诊: (1)肝病史和肝病症状; (2)肉眼或裂隙灯下角膜色素环(K-F环)阳性; (3)血清铜蓝蛋白降低; (4)出现震颤、肌强直及面具样面容等神经系统表现. 若为非典型病例, 可结合患者临床表现、实验室检查铜代谢异常, 24 h尿铜排泄增多、血铜减少、D-青霉胺治疗有效及阳性家族史明确诊断. 回顾性分析93例患者的临床资料, 内容包括病程、临床表现、实验室检查及影像学检查等。

**统计学处理** 应用SPSS17.0统计软件进行分

析, 计量资料以mean±SD表示。

## 2 结果

### 2.1 临床表现

**2.1.1 首发症状:** 黄疸44例(47.31%), 乏力37例(39.78%), 恶心呕吐35例(37.63%), 发热31例(33.33%), 腹胀31例(33.33%), 茶色尿27例(29.03%), 食欲不振24例(25.81%), 腹痛19例(20.43%), 腹泻4例(4.30%), 腹水21例(22.58%), 黑便4例(4.30%)。

**2.1.2 临床表现:** 表现为肝硬化的有50例(53.76%), 其中单纯无症状性肝硬化占8.00%(4/50)、肝功能失代偿或门脉高压占68.00%(34/50)、肝硬化基础上急性肝衰竭占24.00%(12/50); 急性肝炎19例(20.43%); 暴发性肝衰竭15例(16.13%); 无症状性转氨酶升高5例(5.38%); 表现为慢性肝病4例(4.30%)。

**2.2 实验室检查** 共有60例患者完善K-F环检查, 55例K-F环阳性, 阳性率91.67%, 其他实验室检查见表1. 共有76例患者完善肝胆脾超声检查, 有74例患者可见超声异常, 超声异常率达97.37%, 异常表现分布如下: 弥漫性肝损伤/肝硬化63.51%(47例), 脾大45.95%(34例), 腹腔积液43.24%(32例), 胆囊壁厚/不光滑33.78%(25例), 肝大27.03%(20例), 肝内胆管结石/胆囊结石8.11%(6例), 腹腔内淋巴结肿大6.76%(5例). 部分患者同时合并有多项肝胆脾超声异常。

共有25例患者完善了头MRI检查, 有7例患者存在异常, 异常率在28.0%, 其中累及基底节3例, 苍白球3例, 侧脑室2例, 枕叶1例, 红核1例, 黑质1例, 部分患者同时累及多部位脑实质。

上述患者经我院确诊前的病程长短不一, 少数患者是以急性起病, 多数患者慢性起病, 病程时间较长, 所有患者病程分布在1 d-12年不等, 确诊前的平均病程17.48 mo; 初步诊断即诊断为肝豆状核变性的有36人(38.71%), 其余患者的初步诊断均存在不同程度的误诊, 首诊误诊率达61.29%, 误诊情况涉及消化、肾内、血液、风湿免疫、感染等多个科室, 其中误诊为肝硬化21例, 急性肝炎18例, 溶血性贫血7例, 急性肝衰竭4例, 嗜血细胞综合征、血小板减少性紫癜、系统性红斑狼疮、肾炎、急性胃炎、细菌性腹膜炎、结核性腹膜炎各1例。

## 3 讨论

WD是以铜代谢障碍为特征的常染色体单基因隐性遗传疾病, 此病于1912年由Wilson首次描

### ■研究前沿

WD患者在铜代谢指标、肝功及凝血指标方面均有不同程度的异常. CER也是WD诊断的重要指标, 另外CER做为一种极相反应蛋白, 部分WD患者由于感染或炎症而造成血清CER正常或升高. 而肝功各项指标及凝血指标的亦可见明显的异常, 表明了肝病为首表现的WD患者在肝脏合成、代谢能力等各方面的受损。



## ■应用要点

对93例以肝病症状为首表现的WD患者的临床资料进行回顾性分析,以期提高临床医生对该病的认识,指导该病的早期诊断,减少误诊及漏诊。

表 1 肝豆状核变性患者实验室检查指标阳性率

指标	参考值	阳性例数/检查例数(n)	阳性率(%)	最小值	最大值	平均(mean ± SD)
CER(mg/L)	< 200	70/82	81.40	20.0	710.0	130.25 ± 106.01
尿Cu(μg/24 h)	> 100	49/58	84.48	17.0	3 685.0	1 765.06 ± 966.72
血Cu(μmol/L)	< 63	50/75	66.67	6.7	173.1	56.16 ± 40.59
ALT(U/L)	> 40	57/90	63.33	1.2	945.0	131.46 ± 103.55
AST(U/L)	> 34	40/53	75.47	16.0	545.0	110.26 ± 93.60
ALP(U/L)	> 150	50/87	57.47	10.0	829.0	212.76 ± 156.67
γ-GT(U/L)	> 64	37/62	59.65	14.0	333.0	98.75 ± 73.75
TBil(μmol/L)	> 20.5	54/88	61.36	4.3	710.7	112.19 ± 96.28
DBil(μmol/L)	> 8.6	43/75	57.33	0.8	194.1	56.84 ± 34.21
UDBil(μmol/L)	> 11.9	55/87	63.22	1.3	386.2	56.76 ± 45.31
PT(s)	> 13.5	37/44	84.09	11.1	41.6	22.44 ± 9.17
APTT(s)	> 37.0	29/41	70.73	19.2	78.7	46.31 ± 14.84
FIB(g/L)	< 2.0	32/42	76.19	0.42	2.97	1.15 ± 0.65
TT(s)	> 19.5	23/38	60.53	8.1	33.6	21.49 ± 4.90

CER: 铜蓝蛋白; Cu: 铜; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; ALP: 碱性磷酸酶; γ-GT: γ-谷氨酰转氨酶; TBil: 总胆红素; DBil: 直接胆红素; UDBil: 间接胆红素; PT: 凝血酶原时间; APTT: 活化部分凝血酶时间; FIB: 纤维蛋白原; TT: 凝血酶时间。

述, 1952年, Sternlieb<sup>[4]</sup>确立WD临床诊断标准。1993年, Bull等将WD致病基因准确地定位于染色体13q14.3。此基因称为ATP7B基因, 编码一种铜转运P型ATP酶, 其突变导致铜与前铜蓝蛋白结合, 使转运蛋白铜蓝蛋白减少, 大量未经结合的铜进入血循环, 在脑、肝、肾、角膜等组织沉积而发病<sup>[5]</sup>。本病多见于儿童及青少年, 多数患者在5-35岁之间发病, 一般18岁以下者的首发症状以肝损害居多, 成年期则多以锥体外系症状为首表现<sup>[6-8]</sup>。从本研究结果看, 发病年龄在14岁以下的比例在80.64%, 但仍有1例49岁患者以肝病为首表现而被诊断, 故在临床工作中应重视高龄患者的诊治, 以免造成误诊或漏诊。从首发症状上看, 以黄疸、乏力及恶心呕吐占前3位, 虽无明显的特异性, 但也从一定程度上反映了患者肝功能的受损。从临床表现上看, 肝硬化的比例高达50.0%, 这提示我们对于病因不明的肝硬化患者, 尤其是青少年肝硬化患者, 要警惕WD的可能。

K-F环是由铜沉积在角膜的后弹力层所致, 为靠近角膜周围缘的金黄色或褐色的色素环, 被认为是WD的重要阳性体征。本组研究中可见K-F环的阳性率可达91.67%, 充分表现了K-F在本病中的意义, 但仍有8.33%的患者K-F环阴性, 且曾有文献报道, 当患者以肝损害为主而无神经系统损害时K-F环检出率仅为44%-62%<sup>[6]</sup>。因此在临床工作中不应忽视K-F阴性的WD患者的

诊断。此外, 在一些慢性胆汁淤积性疾病以及新生儿胆汁淤积病中也可出现K-F环阳性, 故应注意排除此类“假阳性”疾病。

WD在铜代谢指标、肝功及凝血指标方面均有不同程度的异常: 铜代谢指标中可见24 h尿铜异常率在84.48%, 表明了24 h尿铜在WD诊断中的重要意义, 此外, 对于24 h尿铜增加不明显者亦可行青霉胺试验(一次性口服青霉胺0.5 g, 若6 h尿铜>300 μg有诊断意义)指导诊断<sup>[9]</sup>。CER也是WD诊断的重要指标, 本组研究中CER阳性率在81.40%, 但是, 还应注意到CER降低可能与基因变异引起的无铜蓝蛋白血症或低铜蓝蛋白血症<sup>[10]</sup>肾病综合征、慢性活动性肝炎、原发性胆汁性肝硬化某些吸收不良综合征等同样也可以导致CER降低, 另外CER做为一种急相反应蛋白, 部分WD患者由于感染或炎症而造成血清CER正常或升高<sup>[11]</sup>。故应辩证看待CER在WD疾病中的变化; 而肝功各项指标及凝血指标亦可见明显的异常, 表明了肝病为首表现的WD患者在肝脏合成、代谢能力等各方面受损。

在影像学检查上, 肝胆脾超声异常率可高达97.37%。由于WD肝病病理改变从轻到重分为4期: 肝脂肪变性期、肝炎期、肝纤维化期及肝硬化期, 故在肝胆脾超声检查上可见到各种异常的表现: 包括肝脏增大、回声粗糙(弥漫性肝损伤)、肝脏缩小(肝硬化)。另外, 发生于青少年的胆囊结石、胆囊壁水肿、脾脏肿大等声像特

点, 可为WD的诊断提供支持<sup>[12]</sup>. 肝周脂肪层显著增厚也可作为WD诊断的佐证<sup>[13]</sup>. 因此, 肝胆脾超声对于发现是以肝病为首表现的患者肝脏受损情况有着重要的意义. 而MRI结果异常率仅为28.0%, 考虑与本组患者首发表现为肝病表现为铜主要沉积部位在肝脏.

所有入组患者的首诊误诊率在61.29%, 分析原因在于以下几个方面: (1)临床医生对本病缺乏认识, 思维局限, 遇到转氨酶升高、上消化道出血等往往只考虑肝炎、肝硬化, 而忽视了鉴别诊断中的少见病, 这是造成部分患者长期误诊及多次误诊的主要原因; (2)忽视对K-F环、CER、24 h尿铜等指标的检查, 尤其是对于不明原因的肝病、青少年肝硬化的患者而言, 这些检查项目有着重要的意义; (3)部分WD患者由于合并了病毒性肝炎或者肝硬化, 而造成漏诊.

WD做为少数可有效控制的遗传性疾病, 其病情的轻重与基因突变类型的相关性关系并不大<sup>[14]</sup>, 主要与铜在体内的蓄积量及时间长短密切相关<sup>[15]</sup>, 所以早期诊断与治疗对WD患者尤为重要. 因此, 这要求我们临床医生在临床工作中加强对本病的认识, 对于不明原因的肝炎、肝衰竭、青少年肝硬化以及既往有WD家族史的肝病患者要警惕WD的可能, 及时行K-F环、血清CER、24 h尿铜, 肝胆脾超声等检查, 对于诊断不明确的患者可以考虑行肝铜含量测定(肝铜含量 $\geq 250 \mu\text{g/g}$ 肝干质量是WD的最佳诊断指标<sup>[16]</sup>)或基因检测, 以早期诊治, 改善患者预后.

#### 4 参考文献

- 1 Ala A, Walker AP, Ashkan K, Dooley JS, Schilsky ML. Wilson's disease. *Lancet* 2007; 369: 397-408 [PMID: 17276780 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60196-2]
- 2 吴建红, 吕晓光, 华影, 谭小平, 张建新. 肝豆状核变性的循证治疗. *中国全科医学* 2012; 15: 289
- 3 Sternlieb I. Wilson's disease. *Clin Liver Dis* 2000; 4: 229-239, viii-ix [PMID: 11232186 DOI: 10.1016/S1089-3261(05)70105-7]
- 4 Sternlieb I. Perspectives on Wilson's disease. *Hepatology* 1990; 12: 1234-1239 [PMID: 2227823]
- 5 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组, 中华医学会神经病学分会神经遗传病学组. 肝豆状核变性的诊断与治疗指南. *中华神经科杂志* 2008; 41: 566-569
- 6 Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut* 2007; 56: 115-120 [PMID: 16709660 DOI: 10.1002/hep.1840120526]
- 7 Mak CM, Tam S, Fan ST, Liu CL, Lam CW. Wilson's disease: a patient undiagnosed for 18 years. *Hong Kong Med J* 2006; 12: 154-158 [PMID: 16603785]
- 8 Roberts EA, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: an update. *Hepatology* 2008; 47: 2089-2111 [PMID: 18506894 DOI: 10.1002/hep.22261]
- 9 朱贞祥, 董玲, 朱新宇, 沈锡中, 翁书强. 肝豆状核变性69例临床病例分析. *中华消化杂志* 2012; 32: 46-48
- 10 郑国庆, 周云, 南燕, 吴斌. 儿童肝豆状核变性26例临床分析. *实用医学杂志* 2010; 26: 3571-3573
- 11 林连捷, 郑长青. Wilson病的诊断和治疗. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1614-1617
- 12 胡纪源, 洪铭范, 苏增锋, 程楠, 韩咏竹, 杨任民. 1200例肝豆状核变性的肝脾胆肾声像图表现及临床研究. *中国临床神经科学* 2003; 11: 161-165
- 13 Akhan O, Akpınar E, Oto A, Köroğlu M, Özmen MN, Akata D, Bijan B. Unusual imaging findings in Wilson's disease. *Eur Radiol* 2002; 12 Suppl 3: S66-S69 [PMID: 12522607]
- 14 Schmidt HH. Role of genotyping in Wilson's disease. *J Hepatol* 2009; 50: 449-452 [PMID: 19118916 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.008]
- 15 杨建栋, 窦科峰. 肝豆状核变性诊疗进展. *第四军医大学学报* 2009; 30: 2252-2254
- 16 李新华, 张欣欣. 肝豆状核变性诊疗进展 - 美国肝病学会诊疗指南专题报道. *诊断学理论与实践* 2009; 8: 222-229

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

**本刊讯** 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

## 自身免疫性胰腺炎7例

杨 旸, 姜沫含, 孙明军

### ■背景资料

自身免疫性胰腺炎(AIP)是由自身免疫介导的一种慢性胰腺炎。目前全球范围内对AIP认识仍处于早期阶段,我国自2004年以来相继有关于AIP的病例报道,但对其总体认识水平及重视程度仍与欧美国家有一定差距,相关科研与临床水平有待进一步提高。

杨旸, 姜沫含, 孙明军, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

杨旸, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由孙明军设计; 资料收集与数据分析由杨旸与姜沫含共同完成; 课题研究与论文写作由杨旸完成; 论文校审由孙明军完成。

通讯作者: 孙明军, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科。smjwm@163.com

收稿日期: 2013-01-17 修回日期: 2013-02-24

接受日期: 2013-03-08 在线出版日期: 2013-03-28

### Clinical characteristics of autoimmune pancreatitis: An analysis of 7 cases

Yang Yang, Mo-Han Jiang, Ming-Jun Sun

Yang Yang, Mo-Han Jiang, Ming-Jun Sun, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China  
Correspondence to: Ming-Jun Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. smjwm@163.com

Received: 2013-01-17 Revised: 2013-02-24

Accepted: 2013-03-08 Published online: 2013-03-28

### Abstract

**AIM:** To analyze and summarize the clinical characteristics of autoimmune pancreatitis (AIP) for the purpose of improving its diagnosis and treatment.

**METHODS:** The clinical data for 7 patients with autoimmune pancreatitis who were hospitalized in the past two years were analyzed retrospectively.

**RESULTS:** Main clinical manifestations were obstructive jaundice in 7 cases (100%), mild abdominal pain or epigastric discomfort in 3 cases (42.9%), weakness or weight loss in 5 cases (71.4%), diarrhea in 3 cases (42.9%), abdominal distension in 2 cases (28.6%), and dyspepsia in 2 cases (28.6%). All 7 patients had elevated serum gamma globulins (100%). Six (85.7%) patients had elevated serum IgG, aminotransferase and FBG, and four patients had elevated CA199

(57.1%). Two (28.6%) patients tested positive for RF and AMA, and three (42.9%) positive for ANA. Diffuse or localized enlargement of the pancreas was revealed by B ultrasound in 4 cases and CT in 6 cases. MRCP showed narrowing of the pancreatic section of the common bile duct in 6 cases. ERCP demonstrated narrowing of the pancreatic section of the common bile duct and the head segment of the main pancreatic duct in 4 cases. Six patients underwent steroid therapy, which was effective in all patients. Three out of six cases (including 2 cases without sufficient course of treatment) recurred and turned better after receiving steroid therapy again. Jaundice relieved in three cases after ERCP-guided common bile duct stent implantation.

**CONCLUSION:** The clinical manifestations of AIP show some characteristics. Accurate diagnosis and treatment of AIP rely on clinical symptoms, imaging features, serum examinations and response to steroid therapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Autoimmune pancreatitis; Clinical manifestation; Diagnosis; Treatment

Yang Y, Jiang MH, Sun MJ. Clinical characteristics of autoimmune pancreatitis: An analysis of 7 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(9): 824-828 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/824.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.824>

### 摘要

**目的:** 分析自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)的临床特征, 提高对AIP的诊断及治疗水平。

**方法:** 回顾性分析我院近2年来诊治的7例AIP患者资料。

**结果:** 临床表现: 7例患者均出现梗阻性黄疸(100%), 轻度腹痛或上腹不适3例(42.9%), 乏力、体质量减轻5例(71.4%), 腹泻3例(42.9%), 腹胀和食欲减退各2例(28.6%)。实验室检查: 7例血γ球蛋白比例均升高(100%), 6

### ■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办



例(85.7%)IgG水平升高, 转氨酶升高者6例(85.7%), CA199升高者4例(57.1%), 空腹血糖升高者6例(85.7%), RF阳性者和抗线粒体抗体(antimitochondrial antibody, AMA)阳性者分别为2例(28.6%), 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)阳性者3例(42.9%)。影像学表现: 4例行B超检查和6例行CT检查均表现为胰腺弥漫性或局限性肿大, 6例行MRCP均显示胆总管胰腺段狭窄, 4例行ERCP均显示胆总管胰腺段狭窄和主胰管胰头段狭窄。治疗: 6例患者应用激素治疗均有效, 其中3例复发(2例激素未用至足够疗程)再次应用激素均有效。3例行ERCP胆总管支架植入术后黄疸好转。

**结论:** AIP临床表现具有一定特征, 应综合分析其临床症状、血清学检查、影像学表现及对激素治疗的反应等因素对AIP作出早期正确的诊断及治疗。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 自身免疫性胰腺炎; 临床特征; 诊断; 治疗

杨咏, 姜沫含, 孙明军. 自身免疫性胰腺炎7例. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 824-828 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/824.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.824>

## 0 引言

自身免疫性胰腺炎(autoimmunepancreatitis, AIP)是由自身免疫介导的一种慢性胰腺炎。患者多无酒精嗜好, 临床上有如下特点: 梗阻性黄疸、高球蛋白血症、胰腺弥漫性肿大、胆胰管不同程度狭窄、显著的淋巴细胞浸润伴纤维化。目前全球范围内对AIP认识仍处于早期阶段, 2004年我国自唐令诤等<sup>[1]</sup>首次报道1例有组织学证据, 对泼尼松等糖皮质激素反应良好的AIP患者以来, 诊断明确的病例不多, 但提示我国亦存在AIP患者。本文对我院近2年来诊治的7例AIP患者的临床特征进行回顾性分析。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-08/2012-08收住中国医科大学附属第一医院消化科的AIP患者7例, 男6例, 占85.7%, 女1例, 占14.3%; 年龄43-74岁, 平均59.4岁±10.9岁。

### 1.2 方法

**1.2.1 诊断标准:** 采用亚洲标准<sup>[2]</sup>(1)影像学(2条必备): 胰腺实质影像学: 腺体弥漫性/局限性/局灶

性增大, 有时伴有包块和/或低密度边缘; 胰胆管影像学: 弥漫性/局限性/局灶性胰管狭窄, 常伴有胆管狭窄; (2)血清学(可仅具备一条): 血清高水平IgG或IgG4; 其他自身抗体阳性; (3)组织学: 胰腺病变部位活检示淋巴浆细胞浸润伴纤维化, 有大量IgG4阳性细胞浸润。其中2条影像学为必备条件, 血清学和组织学可仅具备其一; 手术切除的胰腺标本组织学表现为淋巴浆细胞硬化性胰腺炎(lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis, LPSP)时, 也可作出AIP诊断。(4)可选择的标准: 对激素治疗的反应。在患者仅满足影像学2条必备条件, 且胰胆肿瘤检查指标均为阴性的情况下, 激素试验性治疗可在胰腺专家的密切注视下进行。

**统计学处理** 计量资料以mean±SD表示, 计数资料以例数或百分率进行描述, 正常参考范围为常规实验室结果。

## 2 结果

**2.1 临床表现** 7例患者均出现梗阻性黄疸(100%), 轻度腹痛或上腹不适3例(42.9%), 乏力、体质量减轻5例(71.4%), 腹泻3例(42.9%), 腹胀和食欲减退各2例(28.6%), 1例表现为: 双侧颌下及左侧腋下淋巴结肿大、双侧腹股沟多发淋巴结肿大, 1例可见腹膜后小淋巴结影, 6例血糖升高患者中4例确诊为糖尿病, 3例并发间质性肺炎, 3例并发自身免疫性肝病, 1例合并硬化性胆管炎, 4例合并胆囊或胆管结石, 另1例出现口干眼干等症状并确诊为结缔组织病。

**2.2 实验室检查** 所有患者血γ球蛋白比例均升高31.2%±6.1%; 7例患者中6例(85.7%)IgG水平升高, 平均浓度为21.70 g/L±12.18 g/L, 其中3例行IgG4检查, 化验值均升高; 只有1例血清淀粉酶升高72.7 U/L±49.2 U/L; 除1例直接胆红素高达221.8 mmol/L外, 其余患者血清胆红素均呈轻中度升高, 直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)为65.08 mmol/L±83.19 mmol/L; 转氨酶升高者6例(85.7%), 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)为241.0 U/L±190.4 U/L; CA199升高者4例(57.1%), 为69.4 U/mL±64.2 U/mL, 空腹血糖升高者6例(85.7%)为7.6 U/mL±1.90 U/mL, 其中4例确诊为糖尿病。另外, 类风湿因子(rheumatoid factor, RF)阳性者和抗线粒体抗体(antimitochondrial antibody, AMA)阳性者分别为2例(28.6%), 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)阳性者3例(42.9%); 7例患者均进行抗SSA/SSB、

## ■ 研发前沿

目前普遍认为组织学是诊断AIP的金标准, 但由于胰腺的特殊性, 获得满意的活检标本较为困难, 胰腺活检在诊断中的作用仍有争议。如何在避免开腹损伤的情况下做出及时正确的诊断有待进一步探讨研究。

## ■ 相关报道

吕红等研究表明16例患者中嗜酸性粒细胞升高者占43.7%, 本研究中7例患者中嗜酸性粒细胞计数和比例均在正常范围内。就此还需进行大样本资料调查分析, 明确嗜酸性粒细胞升高是否对AIP有临床意义及其机制。

### ■创新盘点

本研究中7例患者无1例因误诊而行开腹探查术,而是综合考虑患者临床表现、实验室检查、影像学特征表现及试验性激素治疗有效性等做出最后诊断,避免了损伤,并且根据患者病情特殊性采取以激素治疗为主联合ERCP胆管支架植入术或熊去氧胆酸等药物治疗,取得良好疗效。

抗平滑肌抗体(anti-smooth muscle antibody, SMA)检测,均为阴性。

**2.3 影像学检查** 6例行CT检查的患者均有胰腺肿大伴胆道低位梗阻,其中5例(83.3%)呈弥漫性肿大,其中1例(16.7%)外周见鞘膜样结构。1例(16.7%)呈局限性肿大,肿大部位位于胰头。4例行增强CT检查,可见增强后强化程度减低,胰腺轮廓不光滑,周围可见少量索条影。4例行B超检查示肿大胰腺(3例为弥漫性肿大,1例为局限性肿大)呈低回声。行MRCP检查的6例患者全部表现为胆道梗阻:胆总管胰腺段管壁增厚,管腔呈线性狭窄,上游胆道扩张。其中1例(16.7%)胰管粗细不均,2例(33.3%)可见胰腺体尾部饱满,体积增大,信号不均匀,增强扫描后不均匀强化,边界毛糙,可见低信号软组织包膜。4例行ERCP结果示:胆总管胰腺段狭窄,狭窄段光滑,伴上游胆管、肝管扩张。其中1例(25%)主胰管胰头段狭窄并可见部分胆管呈串珠样。2例行PET-CT检查,1例回报胰腺代谢弥漫性增高,1例显示胰腺体尾部代谢弥漫增高并显示胆总管胰腺部代谢增高,延迟显像后降低。

**2.4 治疗与随访** 7例患者中6例(85.7%)给予甲强龙或强的松治疗,1例因合并感染未用激素,仅对症治疗。黄疸严重或血清学指标升高明显者予甲强龙静点冲击治疗(起始剂量为320或160 mg/d,每3 d后复查血清学指标好转剂量减半,当减量至40 mg时改为口服),口服甲强龙或强的松者剂量为30-40 mg/d或0.6 mg/(kg·d),每2 wk复查指标( $\gamma$ 球蛋白、IgG、胆红素等)好转后递减4-8 mg,当减量至4-8 mg时停药或继续小剂量维持。此6例激素治疗均有效:临床症状改善,血清学指标,如 $\gamma$ 球蛋白、IgG、胆红素、淀粉酶、肝功、CA-199等恢复正常或有不同程度下降,影像学(MRCP或CT)显示胰腺肿大程度减轻。AIP合并糖尿病4例,其中1例为既往糖尿病患者,3例继发于自身免疫性胰腺炎,均予胰岛素联合激素治疗,血糖控制良好。

应用激素6例患者中5例进行随访,随访时间4 mo-1年。其中2例未复发(其中1例行ERCP下胆管支架植入术),3例复发。复发病例中,2例激素未用至足够疗程(分别用药7 wk和10 wk)即停药,1例用至足疗程(停药后1年零7 mo)复发。复发病例再次应用激素均有效,其中1例第2次用药至足够疗程后再次复发。4例合并自身免疫性肝病的均复发,其中1例未用激素,1例激素疗程不够(口服甲强龙两个半月即停药,起始剂量32 mg)。

3例患者因黄疸严重或合并感染行ERCP胆总管支架植入术,术后黄疸好转,肝功能、胆红素等指标下降,但因支架脱落或堵塞等原因需反复更换支架,联合足疗程激素治疗者,未见复发。5例使用熊去氧胆酸胶囊250 mg, 2次/d或3次/d治疗,联合激素或甘乐等药物,对症状缓解或血清学异常指标恢复均有良好作用。

### 3 讨论

1995年Yoshida等<sup>[3]</sup>正式提出AIP的概念。1997年由Ito等<sup>[4]</sup>明确提出其诊断标准。2001年,在TIGAR-O慢性胰腺炎危险因素分类系统中,AIP已被作为慢性胰腺炎的一种独立分型而存在<sup>[5]</sup>。AIP多见于中老年男性,本研究显示男女比例为6:1,平均年龄为59.4岁 $\pm$ 10.9岁,与日本报道的平均发病年龄超过55岁<sup>[6]</sup>,男女发病率比例2-5:1<sup>[7,8]</sup>大致相符。

AIP包括原发性和继发性两种。继发性胰腺炎常伴发与胰腺本身病变程度不平行的其他自身免疫系统疾病<sup>[9]</sup>,如干燥综合征、原发性胆汁性肝硬化、肝外胆管硬化症、间质性肺炎等。另有研究表明50%的AIP患者伴有2型糖尿病。本研究中4例确诊为糖尿病,3例并发间质性肺炎,3例并发自身免疫性肝病,1例合并硬化性胆管炎,另1例出现口干眼干等症状并确诊为结缔组织病。提示AIP发病与自身免疫因素相关。与以往报道不同的是,本组7例患者中4例合并胆囊或胆管结石,可能提示胰腺炎的反复发作是AIP发作的危险因素,慢性胰腺炎患者并不能排除合并AIP的可能。

AIP多起病隐匿,临床表现轻微且多无特异性,可表现为:阻塞性黄疸,轻微上腹痛或上腹部不适,体质量减轻,低热,周身不适,腹泻、乏力、恶心、呕吐等胃肠道症状。其中最常见的症状为梗阻性黄疸,其发生机制: IgG4<sup>+</sup>浆细胞、CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞大量浸润胰胆管,导致慢性炎症和纤维化,致胰胆管狭窄进而出现梗阻性黄疸。本研究中7例患者均出现梗阻性黄疸(100%),轻度腹痛或上腹不适3例(42.9%),乏力、体质量减轻5例(71.4%),腹泻3例(42.9%),腹胀和食欲减退各2例(28.6%),这与国内外研究一致,7例患者均以梗阻性黄疸为主诉就诊,经影像学检查并完善IgG4等特异指标后确诊,故临床上对疑似AIP的梗阻性黄疸患者应强化完善影像学,血清 $\gamma$ 球蛋白、IgG等指标的检查,以免疏忽漏诊。

AIP的实验室检查可以有以下表现: (1) $\gamma$ 球蛋白增高和/或IgG增高, 尤其是IgG4; (2)自身抗体如ANA、ASMA、抗乳铁蛋白抗体(ALF)、ACA-II阳性, 其中较特异的是ALF和抗碳酸酐酶-II(ACA II); (3)血淀粉酶多正常或稍高于正常; (4)淤胆性肝功能异常: 主要表现为直接胆红素为主的血清胆红素升高, 同时伴有不同程度的转氨酶升高; (5)血糖增高; (6)CA199升高: 约有半数AIP患者的肿瘤标志物(例如CA199)水平可升高但通常低于胰腺癌患者; (7)嗜酸粒细胞增高. 其中血清 $\gamma$ 球蛋白和IgG(特别是IgG4)升高, 被认为是对AIP进行诊断、鉴别诊断、复发监测及治疗效果评价的特征性指标. Hamano等<sup>[10]</sup>报道, 血清IgG4升高诊断AIP的敏感性为95%, 特异性为97%. 本研究中 $\gamma$ 球蛋白增高率达100%, IgG增高率达85.7%, 并且经激素治疗后两者均有不同程度下降. 由于条件限制, 并非所有患者均行IgG4检测, 其中3例于北京行IgG4检查, 结果均显示高于正常实验室参考范围. 目前我院也已经普及IgG亚类检测, 以便更好的进行自身免疫性胰腺炎的临床研究. 自身抗体阳性是AIP实验室检查的另一常见特征, 但由于阳性率较高的ALF和ACA II并不常见于常规实验室检测中, 本研究中缺乏相关证据. 其他在临床工作中常被检验的抗体如ANA、RF、抗SSA/SSB阳性率相对较低, 本研究中显示RF阳性者和AMA阳性者分别为2例(8.6%), ANA阳性者3例(42.9%), 7例患者均进行抗SSA/SSB、SMA检测, 结果均为阴性. 另外, 与以往研究结果不一致的是: 7例患者中嗜酸粒细胞计数和比例均在正常范围内. 就此还需进行大样本资料调查分析, 明确嗜酸性粒细胞升高是否对AIP有临床意义及其机制.

AIP在影像学上主要表现为胰腺弥漫性或局限性肿大, 主胰管和胆总管胰腺段狭窄. 胰管的狭窄部分与胰腺的肿胀部分相一致, 其病理基础是胰管管壁的大量炎症细胞, 特别是淋巴细胞的浸润和纤维化, 病变后期管壁由于纤维化而增厚狭窄<sup>[11]</sup>. 由于肿大胰头压迫、管壁淋巴细胞浸润及纤维化, 胰腺炎症还可累及胆总管胰腺段, 造成管壁增厚及管腔狭窄, 狭窄段以上胆管不同程度扩张<sup>[12]</sup>. 炎症和纤维化累及胰周脂肪组织, 出现围绕胰腺的环形包膜样结构, 也是AIP非常重要的特征<sup>[13]</sup>. 本研究中6例行MRCP均显示胆总管胰腺段狭窄, 并伴有不同程度上游胆道的扩张, 4例行ERCP显示胆总管胰腺段狭窄和主胰管胰头段狭窄, 符合AIP特征性影像学

表现.

日本标准认为组织学是诊断AIP的金标准, 但由于胰腺的特殊性, 获得满意的活检标本较为困难, 胰腺活检在诊断中的作用仍有争议<sup>[14]</sup>. 开腹探查得到的病理结果虽阳性率相对较高但对患者创伤大, 在临床中难以实施, EUS引导下FNA细胞学检查受取材部位等影响, 获取组织量较少, 标本往往不能满足AIP的诊断需求. 在日本标准的基础上, 2008-06推出的亚洲标准将“激素治疗有效”作为重要一项纳入其中, 为AIP的诊断提供了更为明确和统一的指南. 标准指出: 当临床高度怀疑AIP但不能确诊时, 试验性激素治疗有效者也可获得确诊. 激素治疗推荐用药为糖皮质激素, 多推荐起始剂量为30-40 mg/d<sup>[15]</sup>或每日0.6 mg/kg<sup>[16]</sup>, 总疗程6-12 mo<sup>[15]</sup>. 治疗成功的标准是临床症状改善、实验室检查结果好转、内外分泌功能恢复和影像学征象显著改善. 对于黄疸严重或合并感染者可联合ERCP行胆总管支架植入术. 研究表明激素治疗效果良好, 对AIP及AIP继发的II型糖尿病均有显著疗效, 但停药后可能出现复发, 尤其用药疗程不足者或自身免疫肝病者复发率高, 此时小剂量激素(4-8 mg)或优思弗可做维持治疗预防复发. 本研究中6例患者应用激素治疗均有效, 临床症状、血清学指标、影像学均有不同程度改善. 3例行ERCP胆总管支架植入术者, 术后黄疸、实验室指标好转, 联合激素治疗效果良好.

目前自身免疫性胰腺炎已经越来越多的受到临床医务工作者的重视, 其相关科研与临床水平也在逐步提高. 但由于确切发病机制尚不清楚且临床表现缺乏特异性, 其诊断方面仍需进一步完善, 避免不必要的开腹探查术. 治疗方面应保证激素治疗的及时性和足疗程, 并加强随访力度, 对复发者可再次用药并采取维持治疗预防复发.

#### 4 参考文献

- 1 唐令谄, 冯昌宁, 蒋智敏. 原发性自身免疫性胰腺炎1例报道并文献复习. 胰腺病学 2004; 4: 41-42
- 2 Otsuki M, Chung JB, Okazaki K, Kim MH, Kamisawa T, Kawa S, Park SW, Shimosegawa T, Lee K, Ito T, Nishimori I, Notohara K, Naruse S, Ko SB, Kihara Y. Asian diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: consensus of the Japan-Korea Symposium on Autoimmune Pancreatitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 403-408 [PMID: 18600383 DOI: 10.1007/s00535-008-2205-6]
- 3 Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality. Proposal of the

#### ■名词解释

EUS-FNA: 超声内镜引导下细针穿刺活检, 利用超声探头在近距离对病变组织进行实时扫描观察并行细针穿刺活检取得组织标本, 对淋巴结病变及消化道疾病, 如胰腺和直肠周围病变诊治均有重要临床意义.



## ■同行评价

本文主题明确,思路清楚,分析透彻,而且有一段时间的随诊观察,有重要的理论意义和临床应用价值。

- 4 Ito T, Nakano I, Koyanagi S, Miyahara T, Migita Y, Ogoshi K, Sakai H, Matsunaga S, Yasuda O, Sumii T, Nawata H. Autoimmune pancreatitis as a new clinical entity. Three cases of autoimmune pancreatitis with effective steroid therapy. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1458-1468 [PMID: 9246047 DOI: 10.1023/A:1018862626221]
- 5 Etemad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001; 120: 682-707 [PMID: 11179244 DOI: 10.1053/gast.2001.22586]
- 6 Fukumori K, Shakado S, Miyahara T, Fukuizumi K, Takemoto R, Nishi H, Sakai H, Muranaka T, Sata M. Atypical manifestations of pancreatitis with autoimmune phenomenon in an adolescent female. *Intern Med* 2005; 44: 886-891 [PMID: 16157994 DOI: 10.2169/internalmedicine.44.886]
- 7 Okazaki K. Autoimmune pancreatitis: etiology, pathogenesis, clinical, findings and treatment. The Japanese experience. *Jop J Pancreas* 2005; 6(1 Suppl): 89
- 8 Kamisawa T, Yoshiike M, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Treating patients with autoimmune pancreatitis: results from a long-term follow-up study. *Pancreatol* 2005; 5: 234-238; discussion 234-238 [PMID: 15855821 DOI: 10.1159/000085277]
- 9 Hamano H, Arakura N, Muraki T, Ozaki Y, Kiyosawa K, Kawa S. Prevalence and distribution of extrapancreatic lesions complicating autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 1197-1205 [PMID: 17287899]
- 10 Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, Unno H, Furuya N, Akamatsu T, Fukushima M, Nikaido T, Nakayama K, Usuda N, Kiyosawa K. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; 344: 732-738 [PMID: 11236777 DOI: 10.1056/NEJM200103083441005]
- 11 Günter Klöppel, Jutta Lüttges, Bence Sipos, Paola Capelli, Giuseppe Zamboni. Autoimmune pancreatitis: pathological findings. *J Pancreas* 2005; 6: 97-101
- 12 Abraham SC, Cruz-Correa M, Argani P, Furth EE, Hruban RH, Boitnott JK. Lymphoplasmacytic chronic cholecystitis and biliary tract disease in patients with lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 441-451 [PMID: 12657928 DOI: 10.1079/0000478-200304000-00003]
- 13 沈镭, 房静远. 自身免疫性胰腺炎的诊断和治疗进展. *中华消化杂志* 2008; 28: 716-717
- 14 Kwon S, Kim MH, Choi EK. The diagnostic criteria for autoimmune chronic pancreatitis: it is time to make a consensus. *Pancreas* 2007; 34: 279-286 [PMID: 17414049 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31802eff5f]
- 15 Ito T, Nishimori I, Inoue N, Kawabe K, Gibo J, Arita Y, Okazaki K, Takayanagi R, Otsuki M. Treatment for autoimmune pancreatitis: consensus on the treatment for patients with autoimmune pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2007; 42 Suppl 18: 50-58 [PMID: 17520224]
- 16 Kamisawa T, Shimosegawa T, Okazaki K, Nishino T, Watanabe H, Kanno A, Okumura F, Nishikawa T, Kobayashi K, Ichiya T, Takatori H, Yamakita K, Kubota K, Hamano H, Okamura K, Hirano K, Ito T, Ko SB, Omata M. Standard steroid treatment for autoimmune pancreatitis. *Gut* 2009; 58: 1504-1507 [PMID: 19398440 DOI: 10.1136/gut.2008.172908]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为3年。(《世界华人消化杂志》编辑部)

# KAP-1在胰腺癌中的表达及临床意义

江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊

江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

江建新, 副主任医师, 主要从事肝胆胰脾疾病的基础与临床研究。国家自然科学基金资助项目, No. 81160311

贵州省科教青年英才培养工程基金资助项目, No. 黔省专合字[2012]177号

贵州省科技厅2011年度社会攻关计划基金资助项目, No. 黔科合SY字[2011] 3007

贵州省肝胆胰疾病研究科技创新人才团队基金资助项目, No. 黔科合人才团队[2010]4010

作者贡献分布: 主要实验设计、资料收集分析、统计及文章撰写由江建新完成; 文章修改与审阅由孙诚谊完成; 样本处理、实验操作由詹磊、黄洋及何燕浙完成。

通讯作者: 孙诚谊, 教授, 550001, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院肝胆外科。chengyisun@medmail.com.cn  
电话: 0851-6773083

收稿日期: 2013-01-19 修回日期: 2013-02-18

接受日期: 2013-02-26 在线出版日期: 2013-03-28

## Clinical significance of expression of KAP-1 in pancreatic carcinoma

Jian-Xin Jiang, Lei Zhan, Yang Huang, Yan-Zhe He, Cheng-Yi Sun

Jian-Xin Jiang, Lei Zhan, Yang Huang, Yan-Zhe He, Cheng-Yi Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160311; the Outstanding Young Training Project of Science and Education of Guizhou Province, No. [2012]177; the Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. [2011] 3007; and the Project of Liver and Pancreatic Diseases Technological Innovation Talent Team of Guizhou Province, No. [2010]4010

Correspondence to: Cheng-Yi Sun, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 28 Guiyi Street, Guiyang 550001, Guizhou Province, China. chengyisun@medmail.com.cn

Received: 2013-01-19 Revised: 2013-02-18

Accepted: 2013-02-26 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of KAP-1 in pancreatic carcinoma.

**METHODS:** The expression of KAP-1 protein in 46 pancreatic cancer specimens (including 15 cases of highly differentiated cancer, 17 cases of moderately differentiated cancer, and 14 cases of poorly differentiated cancer) and 9 normal pancreas specimens was detected by immuno-

histochemistry. The mRNA and protein expression of KAP-1 in 8 cases of pancreatic cancer and matched tumor-adjacent pancreatic tissue and in pancreatic carcinoma cell lines (BxPC3, CAPAN-1, PANC-1, AsPC-1, SW1990, MiaPaCa-2 and CFPAC-1) was also detected by RT-qPCR and Western blot.

**RESULTS:** The positive rate of KAP-1 expression was 45.6% (21/46) in pancreatic cancer and 11.1% (1/9) in normal pancreatic tissue, and was 78.6% (11/14) in poorly differentiated pancreatic cancer, 47.1% (8/17) in moderately differentiated pancreatic cancer, and 13.3% (2/15) in highly differentiated pancreatic cancer. The mRNA and protein expression of KAP-1 was higher in pancreatic cancer than in matched tumor-adjacent pancreatic tissue. The mRNA expression of KAP-1 was highest in poorly differentiated pancreatic cancer line Panc-1, higher in BxPC-3 and CFPAC-1, lower in SW1990, Capan-1 and MIAPaCa-2, and lowest in AsPC-1 and Capan-2. The protein expression of KAP-1 was highest in poorly differentiated pancreatic cancer line MIAPaCa-2 and Panc-1, higher in CFPAC-1 which is derived from liver metastases of pancreatic cancer cell, and was undetectable in other cell lines.

**CONCLUSION:** The expression of KAP-1 in human pancreatic cancer tissue is significantly higher than that in normal pancreatic tissue, and KAP-1 expression is involved in pancreatic cancer cell differentiation. KAP-1 may play an important role in the development of pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Pancreatic carcinoma; KAP-1; Differentiation

Jiang JX, Zhan L, Huang Y, He YZ, Sun CY. Clinical significance of expression of KAP-1 in pancreatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 829-834 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/829.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.829>

## 摘要

**目的:** 研究KAP-1在胰腺癌组织和细胞株中的

## ■背景资料

胰腺癌的早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发是其致死的关键因素, 胰腺癌干细胞具有不同分化潜能, 以及侵袭转移和治疗抵抗能力。

## ■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室; 郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

## ■研究前沿

KAP-1在胰腺癌组织及胰腺癌细胞系中的表达和作用未见文献报道。本文初步研究表明KAP-1在胰腺癌组织中高表达,正常胰腺组织中几乎不表达,其表达与胰腺癌细胞分化相关;为后续的探讨KAP-1在胰腺癌干细胞中的作用及其作用机制研究奠定基础。

## 表达及意义

**方法:** 采用免疫组织化学方法检测46例胰腺癌标本(高分化15例,中分化17例,低分化14例)及9例正常胰腺标本中的KAP-1表达;采用RT-qPCR和Western blot的方法检测8对胰腺癌组织和配对癌旁组织标本中KAP-1的mRNA和蛋白质水平;采用RT-qPCR和Western blot检测胰腺癌细胞株BxPC3、PANC-1、AsPC-1、SW1990、MIAPaCa-2、CFPAC-1、Capan-1和Capan-2中KAP-1 mRNA和蛋白的表达水平。

**结果:** 免疫组织化学结果显示KAP-1在胰腺癌组织中阳性表达率为45.6%(21/46例),正常胰腺组织中阳性表达率为11.1%(1/9);在低分化胰腺癌组织中阳性表达率为78.6%(11/14),中分化胰腺癌组织为47.1%(8/17),高分化胰腺癌组织为13.3%(2/15); RT-qPCR和Western blot显示在胰腺癌组织中KAP-1的mRNA和蛋白质水平较癌旁正常胰腺组织高, KAP-1的mRNA水平在Panc-1中最高,在BxPC-3和CFPAC-1中较高,在SW1990、Capan-1和MIAPaCa-2中较低,在AsPC-1和Capan-2中最低。KAP-1蛋白质水平在低分化胰腺癌细胞株MIAPaCa-2和Panc-1中高,来源于肝转移的胰腺癌细胞系CFPAC-1中较高,其余细胞株中不表达。

**结论:** KAP-1在胰腺癌组织中高表达,正常胰腺组织中几乎不表达,其表达与胰腺癌细胞分化相关; KAP-1可能在胰腺癌发生发展中发挥重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 胰腺癌; KAP-1; 分化

江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊. KAP-1在胰腺癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 829-834 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/829.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.829>

## 0 引言

胰腺癌是高度恶性、预后最差的恶性肿瘤之一,其5年生存率不到5%<sup>[1]</sup>。大多数患者因确诊时伴有局部和/或远处的侵袭、转移而丧失手术时机<sup>[2]</sup>,即使临床手术根治性切除的胰腺癌患者术后也大多数因出现复发和远处转移预后极差,其原因为术前就有微转移灶形成及其化疗抵抗<sup>[3]</sup>,胰腺癌的早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发是其致死的关键因素。肿瘤干细

胞理论解释了上述现象。胰腺癌干细胞研究表明<sup>[4]</sup>:在原发肿瘤里存在一个亚群细胞,这群细胞具有自我更新、分化潜能以及在异位重新成瘤能力。同时,这群细胞还具有侵袭转移和化疗抵抗特性。最新的研究表明:胰腺癌在形成之前通过上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)形成胰腺癌干细胞,是其早期发生转移,治疗抵抗,复发的根本原因<sup>[5]</sup>。我们前期依据文献以MIA-PaCa2(TIC<sup>high</sup>)与BxPc-3(TIC<sup>low</sup>)作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞<sup>[6]</sup>,通过蛋白质组学筛选胰腺癌干细胞相关差异蛋白,发现KAP-1(KRAB-associated protein 1)在前者表达较后者高10倍多,并通过检索文献提示KAP-1与EMT和干细胞的“干性”相关<sup>[7]</sup>。KAP-1是一个97 kDa的核磷蛋白。人KAP-1基因位于19号染色体,位置是19q13.4,共16个外显子。小鼠KAP-1基因位于7号染色体,位置是7A2,共17个外显子。KAP-1具有TIF1家族中常见的保守结构域: N端的RBCC(RING-B box-coiled-coil)结构域、C端保守的PHD型锌指和紧随其后的Bromodomain(BrD)结构域,中部是该家族内保守度最低的区域,一般情况下富含脯氨酸,甘氨酸和丝氨酸<sup>[8]</sup>。为了进一步研究KAP-1在胰腺癌及胰腺癌干细胞中的作用,我们首先检测KAP-1在胰腺癌组织和细胞株中的表达,探讨其可能的临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胰腺癌细胞系PANC-1、AsPC-1、SW1990、MIA-PaCa2、CFPAC-1、BxPC3、Capan-1以及Capan-2购自American Tissue Culture Collection(ATCC);兔抗人TIF1 $\beta$ 单克隆抗体购自美国Cell Signaling公司;小鼠抗 $\beta$ -actin单克隆抗体购自美国Abcam公司;荧光定量PCR仪为美国Bio-Rad公司(型号: CFX96);DAB显色试剂盒(武汉百奥斯生物科技有限公司);SP免疫组织化学试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学法检测KAP-1在胰腺癌组织中的表达:** 46例胰腺癌标本(高分化15例,中分化17例,低分化14例)及9例正常胰腺标本取自本院接受胰十二指肠切除和胰体尾部切除术住院患者术后的胰腺癌和正常胰腺组织石蜡块标本。均经常规病理检查证实为胰腺癌,包括胰头部32例、胰尾部14例;男36例,女20例,年龄36-68岁(中位年龄52岁)。手术标本经5  $\mu$ m厚连续切片,



脱腊、脱水、高温修复抗原、3%双氧水和山羊血清封闭非特异性蛋白后, TIF1 $\beta$ 的免疫组织化学染色行链霉素亲和素-过氧化酶复合物法(SP法), TIF1 $\beta$  mAb工作液浓度为1:100, 实验程序严格按照说明书进行, PBS代替一抗作为阴性对照. 结果判断每张切片在400倍光学显微镜下连续找10个视野, 每个视野计数50个肿瘤细胞. KAP-1阳性判断标准以肿瘤细胞内出现棕黄色染色为阳性. 免疫组织化学结果以阳性细胞数所占百分比来表示, 考虑到KAP-1阳性染色的肿瘤细胞较少, 只要在肿瘤细胞中发现KAP-1的阳性染色则判断为KAP-1阳性表达细胞<sup>[9]</sup>.

**1.2.2 RT-qPCR检测KAP-1的mRNA表达:** 上述8种胰腺癌细胞株按照ATCC提供的培养条件, 进行细胞培养. 按照试剂盒说明书进行操作, 提取8例胰腺癌和癌旁组织以及8种胰腺癌细胞株的总mRNA、去除基因组DNA并合成cDNA后; 根据实时定量PCR试剂盒说明书进行加样. 反应条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 60 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 45个循环. 实验重复3次. 由随机附带软件LCS480 1.5.039计算Ct值和拷贝数, 利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对其进行计算分析( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法以管家基因GAPDH为参照基因, 以BxPC-3样本数据为校准样本, 其他细胞株Ct值与之相比较, 相对分析mRNA表达水平), 其中KAP-1引物: 上游5'-AAGTCTCGGGATGGTGAACG-3', 下游: 5'-CAGACACCTGGCGGATTGA-3', 长度262 bp; GAPDH引物: 上游: 5'-TGA CTTCAACAGC-GACACCCA-3', 下游: 5'-CACCTGTGCTGTAGCCAAA-3', 长度121 bp. (引物序列由软件Beacon designer 7设计, 上海生工生物工程技术服务有限公司合成).

**1.2.3 Wsetern blot检测KAP-1的蛋白表达:** 上述8种胰腺癌细胞株按照ATCC提供的培养条件, 进行细胞培养. 分别提取上述8例胰腺癌和配对癌旁组织以及8种胰腺癌细胞株的总蛋白; 将提取的蛋白质样本按每孔30  $\mu$ g上样于12% SDS-PAGE后进行电泳; 用电转移法转移蛋白质至PVDF膜, 然后用5%脱脂奶粉封闭膜1 h. 加入小鼠抗TIF1 $\beta$ 单克隆抗体(1:600)后4 °C孵育过夜, 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗鼠IgG孵育1 h. 参照免疫印迹化学发光试剂盒说明进行化学发光法显示结果, X线胶片曝光. 实验重复3次, 条带密度采用QuantityOne Program(Bio-Rad)软件进行分析. 目的蛋白的相对表达水平 = 目的蛋白的灰度值/ $\beta$ -actin

蛋白的灰度值, 取3次平均值. 采用GAPDH为参照.

**统计学处理** 采用SPSS17.0对数据进行统计, 计数资料采用两个或多个样本的 $t$ 检验,  $P<0.05$ 具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 免疫组织化学检测KAP-1在胰腺癌组织中的表达** KAP-1主要为核表达, 在胰腺癌组织中性表达率为45.6%(21/46例), 正常胰腺组织中性表达率为11.1%(1/9例); 在低分化胰腺癌组织中性表达率为78.6%(11/14例), 中分化胰腺癌组织为47.1%(8/17例), 高分化胰腺癌组织为13.3%(2/15例)(图1), 差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**2.2 RT-qPCR、Wsetern blot检测8例胰腺癌和癌旁组织KAP-1的mRNA和蛋白表达** RT-qPCR检测结果显示: KAP-1的mRNA在8对胰腺癌和癌旁组织中, 前者表达水平显著高于后者(图2,  $P<0.05$ ). Wsetern blot检测结果显示: KAP-1的蛋白在胰腺癌中表达较配对癌旁组织显著增高(图3).

**2.3 RT-qPCR、Wsetern blot检测8种胰腺癌细胞株KAP-1的mRNA和蛋白表达** KAP-1的mRNA在上述8种胰腺癌细胞株的水平由高到低依次为PANC-1、BxPC3、CAPAN-1、SW1990、MiaPaCa-2、AsPC-1、CAPAN-2(图4). KAP-1的蛋白表达在低分化胰腺癌细胞株MIAPaCa-2和Panc-1中高, 来源于肝转移的胰腺癌细胞系CF-PAC-1中表达较高, 其余细胞系中不表达(图5).

## 3 讨论

KAP-1是一种转录中介因子, 在诸多转录调控复合体中起桥梁作用<sup>[8]</sup>. 他通过其N端RBCC结构域与含KRAB结构域的锌指蛋白、MDM2、MM1、C/EBP $\beta$ 等相互作用; 通过C端的PHD及BrD结构域与SETDB1、Mi-2 $\alpha$ 等分子相互作用, 参与形成具有组蛋白甲基化酶或组蛋白去乙酰化酶活性的复合体; 通过中间的HP1BD区域与HP1蛋白相互作用, 进而与组蛋白相结合. 许多研究表明, KAP-1在肿瘤细胞中高表达. Ho等<sup>[10]</sup>采用蛋白质组学技术筛选KAP-1在乳腺癌中高表达, 且与乳腺癌侵袭转移相关. Yokoe等<sup>[11]</sup>证实KAP-1在胃癌中高表达, 且和胃癌的腹腔播散及不良预后相关. 研究也表明KAP-1是维持干细胞的“干性”关键基因之一. Hu等<sup>[12]</sup>研究表明KAP-1在胚胎干细胞(embryonic stem

### ■ 相关报道

Ho等采用蛋白质组学技术证明KAP-1在乳腺癌中高表达, 且与乳腺癌侵袭转移相关. Takeshi等证实KAP-1在胃癌中高表达, 且和胃癌的腹腔播散及不良预后相关. Bingnan等发现KAP-1与化疗耐药相关, 且KAP-1的Ser824发生磷酸化.

## ■创新盘点

本研究检测不同分化程度的临床胰腺癌标本和8种不同分化程度的胰腺癌细胞系中KAP-1的表达水平,探讨其在胰腺癌与癌旁的表达以及与胰腺癌细胞分化的关系。

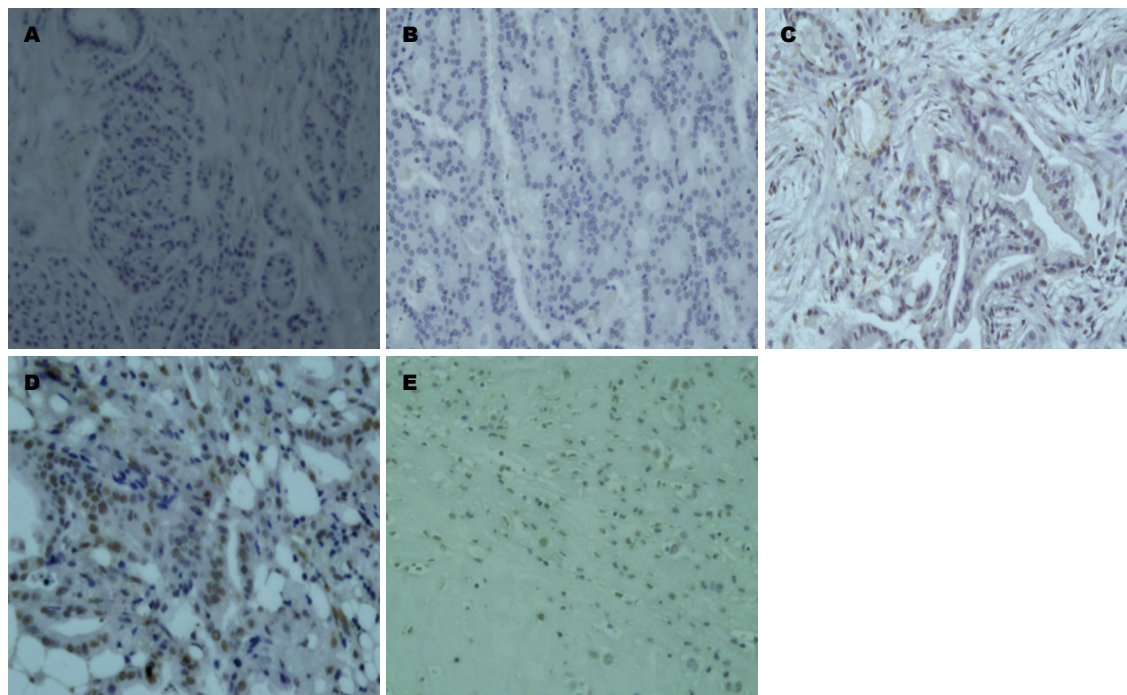


图1 免疫组织化学检测KAP-1在不同分化胰腺癌组织和正常胰腺组织中的表达( $\times 40$ )。A: 阴性对照组; B: 正常胰腺组织; C: 高分化胰腺癌组织; D: 中分化胰腺癌组织; E: 低分化胰腺癌组织。

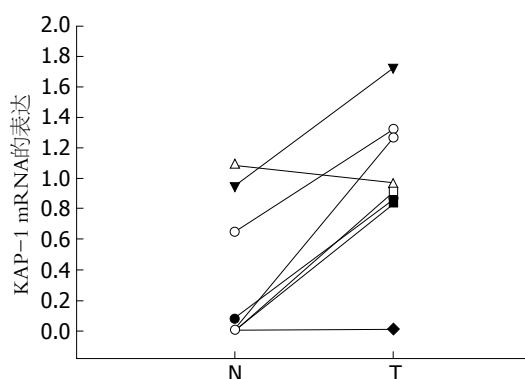


图2 RT-qPCR检测8例胰腺癌和癌旁组织中KAP-1 mRNA的表达。N: 癌旁组织; T: 胰腺癌组织。

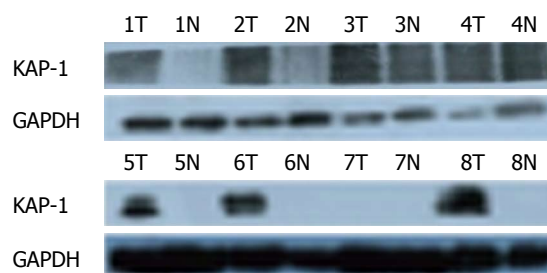


图3 Western blot检测8例胰腺癌和癌旁组织中KAP-1的蛋白表达。N: 癌旁组织; T: 胰腺癌组织。

cell, ES)和胚胎组织中高表达,在ES分化组织中表达下调,在胰腺组织中表达极低;RNAi抑制KAP-1的表达能增加分化细胞的百分率。采用Trim28 ChIP证实KAP-1通过靶向具有多向分化潜能性基因Cnot3、Nanog、Sox2、Tcf3、Il6st和Lefty2启动子区域调节其表达(Trim28-binding sites: GCCGCGXX),从而维持干细胞的自我更新能力,是ES自我更新的关键基因之一。Fazzio等<sup>[13]</sup>的研究也证实了KAP-1在ES的“干性”维持方面发挥重要作用。Wolf等<sup>[14]</sup>研究表明: F9胚胎癌细胞(embryonal carcinoma, EC)发生分化时, KAP-1的表达水平下调; RNAi抑制KAP-1的表达, F9 EC和JM1 ES生长抑制, 细胞

发生分化。Seki等<sup>[15]</sup>研究证实: KAP-1能改变ES的多向分化潜能或是分化状态,是这两种状态的临界关卡点。KAP-1在具有多向分化潜能的鼠ES高表达; RNAi抑制KAP-1的表达,鼠ES显示分化状态。此外,磷酸化的KAP-1和特异性多向分化潜能转录因子Oct3/4形成复合物,能抑制ES的分化,维持其多向分化潜能,诱导iPS细胞(诱导多能干细胞iPS Cell)。Cammass等<sup>[16]</sup>也证实了KAP-1在F9 EC分化中的作用。此外, KAP-1参与EMT发生,与肿瘤的侵袭转移、化疗耐药相关。Venkov等<sup>[17]</sup>以SJL/J小鼠肾近端小管上皮细胞株MCT(mIMCD)为研究对象,采用凝胶迁移或电泳迁移率实验和DNA亲和层析法及后续的质谱分析,在纤维母细胞特异性蛋白1(fibroblast specific protein 1, FSP1)的近端顺式作用子元件域绑定的蛋白复合物中鉴定出两个蛋白质,分

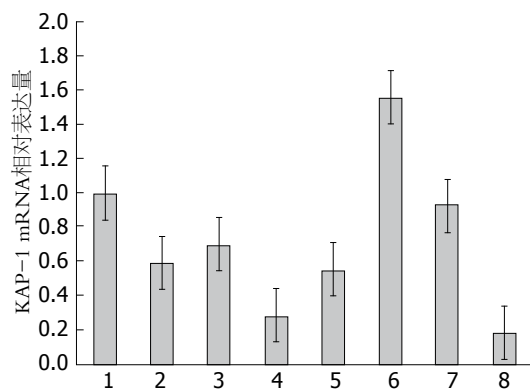


图4 RT-qPCR检测8种胰腺癌细胞株中KAP-1的mRNA相对表达量(以BXPc-3样本数据为校准样本). 1: BXPc-3; 2: SW1990; 3: Capan-1; 4: ASPC-1; 5: MIAPaCa-2; 6: Panc-1; 7: CFPAC-1; 8: Capan-2.

别为CBF-A和KAP-1. FSP1在人肿瘤细胞中称为S100A4, 在EMT发挥重要作用; S100A4能增加肿瘤细胞的运动和侵袭能力, 导致转移瘤的发生. 最近有研究表明<sup>[18]</sup>: 在人畸胎瘤细胞系NTera2D1中, KAP-1能在mRNA水平上激活许多EMT相关基因, 如ACTA2、S100A4、SNAIL2、TJP1、TJP2、TWIST1、VIM等. KAP-1与乳腺癌的侵袭转移相关<sup>[10]</sup>. Han等<sup>[19]</sup>比较结肠癌细胞株HCT-116(具有结肠癌干细胞特性, 对化疗药NSC 724998不敏感)和恶性黑色素瘤细胞株A375(对化疗药NSC 724998敏感)NSC 724998处理前后不同蛋白质表达的变化, 发现KAP-1在治疗后的表达上调, 且KAP-1的Ser824发生磷酸化. 上述这些研究充分表明KAP-1不仅在肿瘤的发生发展中发挥重要作用, 而且与肿瘤干细胞及其生物学功能密切相关.

我们的实验结果显示KAP-1在胰腺癌组织中高表达, 正常胰腺组织中几乎不表达; 在低分化胰腺癌组织中表达最高, 中分化胰腺癌组织中表达较高, 高分化胰腺癌组织中低表达; 这表明KAP-1在胰腺癌的发生发展过程中可能发挥重要作用, 与胰腺癌细胞分化相关. 我们的RT-qPCR、Wsetern blot检测8例胰腺癌和配对癌旁组织中KAP-1的mRNA和蛋白表达结果也证实了上述结果. 在不同分化的细胞系中, KAP-1的蛋白表达在未分化或低分化胰腺癌细胞株MIAPaCa-2和Panc-1中高, 来源于肝转移的胰腺癌细胞系CFPAC-1中表达较高, 其余细胞系中不表达. 这也表明KAP-1与胰腺癌细胞的分化相关. KAP-1的mRNA表达在Panc-1中表达最高, 在BXPc-3和CFPAC-1中较高, 在SW1990、Capan-1和MIAPaCa-2中较低, 在ASPC-1和Capan-2

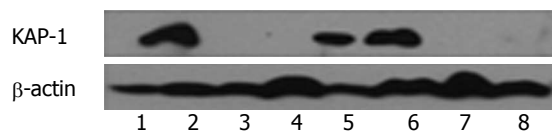


图5 Wsetern blot检测8种胰腺癌细胞株中KAP-1的蛋白相对表达量. 1: BXPc-3; 2: Panc-1; 3: ASPC-1; 4: SW1990; 5: CFPAC-1; 6: MIAPaCa-2; 7: Capan-1; 8: Capan-2.

中最低. 这表明KAP-1的蛋白表达可能还受转录后调控. 此外, 我们的研究也表明在具有多药耐药和EMT特性的胰腺癌细胞株MIA-PaCa2、Panc-1中<sup>[20]</sup>KAP-1高表达, 在而在多药敏感, 且不具有EMT特性的胰腺癌细胞株BxPc-3、Capan-1及Capan-2中无表达. 由于胰腺癌干细胞具有多药耐药和EMT特性, 这也从一个侧面提示KAP-1与胰腺癌干细胞相关.

总之, KAP-1在胰腺癌细胞中高表达, 其表达与胰腺癌细胞的分化相关, KAP-1作为一种转录中介因子, 在诸多转录调控复合体中所起的桥梁作用可能和胰腺癌干细胞“干性”维持相关. 探讨KAP-1的生物学功能及其调控机制, 有助于揭示胰腺癌的发生机制, 发现新的胰腺癌治疗靶点.

#### 4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Tuveson DA, Neoptolemos JP. Understanding metastasis in pancreatic cancer: a call for new clinical approaches. *Cell* 2012; 148: 21-23 [PMID: 22265397 DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.021]
- 3 Lim KH, Chung E, Khan A, Cao D, Linehan D, Ben-Josef E, Wang-Gillam A. Neoadjuvant therapy of pancreatic cancer: the emerging paradigm? *Oncologist* 2012; 17: 192-200 [PMID: 22250057 DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0268]
- 4 Rasheed ZA, Matsui W. Biological and clinical relevance of stem cells in pancreatic adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 15-18 [PMID: 22320910 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07015.x]
- 5 Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, Maitra A, Bailey JM, McAllister F, Reichert M, Beatty GL, Rustgi AK, Vonderheide RH, Leach SD, Stanger BZ. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell* 2012; 148: 349-361 [PMID: 22265420 DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.025]
- 6 Kallifatidis G, Rausch V, Baumann B, Apel A, Beckermann BM, Groth A, Mattern J, Li Z, Kolb A, Moldenhauer G, Altevogt P, Wirth T, Werner J, Schemmer P, Büchler MW, Salnikow AV, Herr I. Sulforaphane targets pancreatic tumour-initiating cells by NF-kappaB-induced antiapoptotic signaling. *Gut* 2009; 58: 949-963 [PMID: 18829980 DOI: 10.1136/gut.2008.149039]
- 7 江建新, 高珊, 潘耀振, 孙诚谊. 蛋白组学分析胰腺癌干细胞相关差异蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2013;

#### ■应用要点

研究KAP-1在胰腺癌组织和细胞系中表达与意义, 为后续探讨KAP-1在胰腺癌干细胞中的作用及其作用机制研究奠定基础.



## ■同行评价

本文研究创新性较好,具有一定的指导意义.

- 21: 145-152
- 8 Yang D, Jiang Y, He FC. [KAP-1, a scaffold protein in transcription regulation]. *Yi Chuan* 2007; 29: 131-136 [PMID: 17369165]
- 9 殷涛, 王春友, 熊炯炘, 陶京, 赵刚. Vimentin在胰腺癌细胞中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3822-382
- 10 Ho J, Kong JW, Choong LY, Loh MC, Toy W, Chong PK, Wong CH, Wong CY, Shah N, Lim YP. Novel breast cancer metastasis-associated proteins. *J Proteome Res* 2009; 8: 583-594 [PMID: 19086899 DOI: 10.1021/pr8007368]
- 11 Yokoe T, Toiyama Y, Okugawa Y, Tanaka K, Ohi M, Inoue Y, Mohri Y, Miki C, Kusunoki M. KAP1 is associated with peritoneal carcinomatosis in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 821-828 [PMID: 19898899 DOI: 10.1245/s10434-009-0795-8]
- 12 Hu G, Kim J, Xu Q, Leng Y, Orkin SH, Elledge SJ. A genome-wide RNAi screen identifies a new transcriptional module required for self-renewal. *Genes Dev* 2009; 23: 837-848 [PMID: 19339689 DOI: 10.1101/gad.1769609]
- 13 Fazio TG, Huff JT, Panning B. An RNAi screen of chromatin proteins identifies Tip60-p400 as a regulator of embryonic stem cell identity. *Cell* 2008; 134: 162-174 [PMID: 18614019 DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.031]
- 14 Wolf D, Goff SP. TRIM28 mediates primer binding site-targeted silencing of murine leukemia virus in embryonic cells. *Cell* 2007; 131: 46-57 [PMID: 17923087 DOI: 10.1016/j.cell.2007.07.026]
- 15 Seki Y, Kurisaki A, Watanabe-Susaki K, Nakajima Y, Nakanishi M, Arai Y, Shiota K, Sugino H, Asashima M. TIF1beta regulates the pluripotency of embryonic stem cells in a phosphorylation-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 10926-10931 [PMID: 20508149 DOI: 10.1073/pnas.0907601107]
- 16 Cammas F, Herzog M, Lerouge T, Chambon P, Losson R. Association of the transcriptional corepressor TIF1beta with heterochromatin protein 1 (HP1): an essential role for progression through differentiation. *Genes Dev* 2004; 18: 2147-2160 [PMID: 15342492 DOI: 10.1101/gad.302904]
- 17 Venkov CD, Link AJ, Jennings JL, Plieth D, Inoue T, Nagai K, Xu C, Dimitrova YN, Rauscher FJ, Neilson EG. A proximal activator of transcription in epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2007; 117: 482-491 [PMID: 17273560 DOI: 10.1172/JCI29544]
- 18 Iyengar S, Ivanov AV, Jin VX, Rauscher FJ, Farnham PJ. Functional analysis of KAP1 genomic recruitment. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 1833-1847 [PMID: 21343339 DOI: 10.1128/MCB.01331-10]
- 19 Han B, Stockwin LH, Hancock C, Yu SX, Hollingshead MG, Newton DL. Proteomic analysis of nuclei isolated from cancer cell lines treated with indenoloquinoline NSC 724998, a novel topoisomerase I inhibitor. *J Proteome Res* 2010; 9: 4016-4027 [PMID: 20515076 DOI: 10.1021/pr100194d]
- 20 Arumugam T, Ramachandran V, Fournier KF, Wang H, Marquis L, Abbruzzese JL, Gallick GE, Logsdon CD, McConkey DJ, Choi W. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5820-5828 [PMID: 19584296 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2819]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# EphA3在结肠癌组织中的表达及临床意义

于泳, 窦科峰, 王家林, 李霄, 王建锋, 韩炜, 张卓超, 阮柏, 王德盛

于泳, 窦科峰, 李霄, 王建锋, 韩炜, 张卓超, 阮柏, 王德盛, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科 陕西省西安市 710032

王家林, 武警陕西省总队医院肝胆胸外科 陕西省西安市 710054

作者贡献分布: 此课题由于泳、窦科峰、王家林及王德盛设计; 研究过程由于泳、李霄、王建锋、韩炜、张卓超及阮柏完成; 此研究所用试剂及经费由王德盛提供; 数据分析由于泳完成; 本论文写作由于泳完成。

通讯作者: 王德盛, 教授, 710032, 陕西省西安市长乐西路126号, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科。

yyhys2011@163.com

收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-02-20

接受日期: 2013-03-15 在线出版日期: 2013-03-28

## Clinical significance of expression of EphA3 in colon cancer

Yong Yu, Ke-Feng Dou, Jia-Lin Wang, Xiao Li, Jian-Feng Wang, Wei Han, Zhuo-Chao Zhang, Bai Ruan, De-Sheng Wang

Yong Yu, Ke-Feng Dou, Xiao Li, Jian-Feng Wang, Wei Han, Zhuo-Chao Zhang, Bai Ruan, De-Sheng Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Jia-Lin Wang, Department of Hepatobiliary and Thoracic Surgery, Shaanxi Armed Police Corps Hospital, Xi'an 710054, Shaanxi Province, China

Correspondence to: De-Sheng Wang, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, 126 Changle West Road, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. yyhys2011@163.com

Received: 2013-01-28 Revised: 2013-02-20

Accepted: 2013-03-15 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the significance of expression EphA3 protein in colon cancer and the correlation between EphA3 expression and tumor angiogenesis.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to examine EphA3 expression in 108 surgically resected colon cancer specimens and 15 normal colon mucosal tissue specimens. Microvessel density (MVD) in colon cancer was determined after immunostaining for CD31, and the correlation between EphA3 expression and MVD in co-

lon cancer was assessed. The clinical and pathological significance and the prognosis of patients were analyzed using statistical methods.

**RESULTS:** Expression of EphA3 protein in cancer tissue was significantly higher than that in normal colon mucosa tissue. MVD was significantly correlated with overexpression of EphA3, and high MVD was present in tumor areas that were strongly positive for EphA3. Overexpression of EphA3 protein was correlated with tumor size (71.8% vs 28.2%), TNM stages (I: 25.0% vs 75.0%; II: 67.9% vs 32.1%; III: 86.5% vs 13.5%; IV: 90.9% vs 9.1%), differentiation grade (low differentiation: 90.0% vs 10.0%; moderate differentiation: 62.5% vs 37.5%; high differentiation: 37.5% vs 62.5%), lymph node metastasis (94.1% vs 5.9%) and distant metastasis (75.0% vs 25.0%), but not with patient age or sex.

**CONCLUSION:** There is a correlation between EphA3 protein overexpression and tumor infiltration and poor prognosis of colon cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Colon cancer; EphA3; Angiogenesis; Microvessel density

Yu Y, Dou KF, Wang JL, Li X, Wang JF, Han W, Zhang ZC, Ruan B, Wang DS. Clinical significance of expression of EphA3 in colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 835-839 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/835.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.835>

## 摘要

**目的:** 探讨酪氨酸蛋白激酶受体EphA3在结肠癌组织中的表达与结肠癌微血管生成之间的关系以及临床意义。

**方法:** 应用免疫组织化学法检测108例结肠癌组织和15例正常结肠组织中EphA3蛋白的表达情况, 同时使用CD31染色检测肿瘤微血管密度(microvessels density, MVD), 并分析EphA3与MVD的关系及其与病理分期、预后的关系。

## ■背景资料

酪氨酸蛋白激酶受体EphA3参与肾癌、肝癌、黑色素瘤和肉瘤的发生、血管生成、肿瘤转移和侵袭, 然而在实体肿瘤结肠癌中的研究很少, 结肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 因此研究结肠癌发生、肿瘤血管生成、转移与侵袭相关分子机制具有重要意义。

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

## ■研发前沿

EphA异常表达与多种肿瘤密切相关,其中EphA1、2、4、7在结肠癌组织中异常表达与肿瘤发生、转移和患者生存率密切相关。EphA3在肝癌、肾癌、黑色素瘤和肉瘤组织中高表达,与肿瘤的发生、转移侵袭密切相关。

**结果:** EphA3蛋白在癌组织中的表达明显高于正常结肠黏膜组织( $P<0.001$ ),而且EphA3阳性表达强度高的肿瘤区域有较高的微血管密度( $P<0.001$ )。EphA3蛋白高表达与肿瘤大小[51(71.8%) vs 20(28.2%)], TNM分期[I: 8 (25.0%) vs 24(75.0%); II: 19(67.9%) vs 9 (32.1%); III: 32(86.5%) vs 5(13.5%); IV: 10(90.9%) vs 1(9.1%)], 分化[低分化: 18 (90.0%) vs 2(10.0%); 中分化: 45(62.5%) vs 27(37.5%); 高分化: 6(37.5%) vs 10(62.5%)], 淋巴结转移[64(94.1%) vs 4(5.9%)]及远处转移[42(75.0%) vs 14(25.0%)]相关,而与患者年龄和性别差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**结论:** EphA3蛋白的高表达与结肠癌的发生、浸润以及患者预后密切相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 结肠癌; EphA3; 血管生成; 微血管密度

于泳, 晏科峰, 王家林, 李霄, 王建锋, 韩炜, 张卓越, 阮柏, 王德盛. EphA3在结肠癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 835-839 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/835.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.835>

## 0 引言

EphA(erythropoietin-producing hepatocellular 3)是重要的酪氨酸激酶受体家族成员之一, EphA不仅参与胚胎发育、血管形成和神经分化,而且在肿瘤发生、发展和转移中也发挥重要作用<sup>[1]</sup>。目前研究表明EphA异常表达与胃癌、肝癌和胰腺癌的转移、预后密切相关<sup>[2]</sup>,而其中EphA1、2、4、7在结肠癌组织中异常表达与肿瘤发生、转移和患者生存率密切相关<sup>[3-6]</sup>。研究表明EphA3在肾癌、肝癌、黑色素瘤和肉瘤中均高表达<sup>[7]</sup>,然而EphA3在实体肿瘤尤其是结肠癌中研究相对较少,而且各研究结果相互矛盾<sup>[8,9]</sup>。结肠癌是消化系的最常见恶性肿瘤之一,世界范围内结肠直肠癌的发病率和死亡率均居恶性肿瘤的第3位,寻找肿瘤相关基因进行干预是预防、治疗结肠癌的新思路,本研究通过免疫组织化学方法检测EphA3在人结肠癌组织中的表达情况,并探讨EphA3表达水平与患者肿瘤微血管生成以及患者临床资料之间的关系,希望给结肠癌的诊治提供新的靶点。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 108例结肠癌组织标本取自2010-01-2012-

01在我院手术治疗中患者癌组织, 15例正常结肠黏膜组织取自在此期间外伤患者结肠组织,所有标本经过40 g/L的甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规切片保存。其中男65例,女43例;年龄36-79岁,平均年龄55岁;肿瘤直径 $\leq 5.0$  cm 37例,直径 $> 5$  cm 71例;临床病理0-I期32例,II-IV期76例;低分化20例,中分化72例、高分化16例;伴淋巴结转移68例,远处转移56例。抗人EphA3单克隆抗体购自Santa Cruz公司, CD31单克隆抗体和二抗试剂盒购自Abcam公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学检测:** 组织经甲醛溶液固定、石蜡包埋后进行常规切片,切片经二甲苯和乙醇脱蜡水化处理,之后进行抗原修复、封闭内源性过氧化物酶以及正常山羊血清封闭抗原;按照试剂说明滴加稀释后兔抗人EphA3和CD31抗体4℃过夜;室温复温1 h后滴加生物素标记二抗, 37℃孵育30 min, PBS冲洗后DAB显色、苏木紫衬染、封片,显微镜下观察,结果中出现淡黄色颗粒为阳性结果。

**1.2.2 微血管密度判定:** 根据文献进行MVD密度评分<sup>[10]</sup>: 0: 未染色, +: 弱阳性, ++: 中等染色, +++: 强染色。染色百分比分数如下: +: 阳性细胞 $< 10\%$ , ++: 阳性细胞10%-50%, +++: 阳性细胞达50%以上。评分在2-6为阳性, 1分以下为阴性。

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计软件进行统计学分析处理,采用Pearson  $\chi^2$ 检验计算EphA3的表达与不同临床病理特征的关系; Spearman's相关性检测分析EphA8与MVD的关系; Kaplan-Meier法绘制生存曲线, Log-rank检验分析曲线有无统计学差异。可信区间为95%, 取 $P<0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 EphA3在结肠癌组织和正常结肠黏膜中的表达情况** 免疫组织化学结果表明: EphA3蛋白表达于细胞质,呈棕黄色。108例患者结肠癌组织中69例有不同程度的表达,阳性率为63.9%(69/108),而15例正常结肠黏膜组织中,阳性率为13.3%(2/15)其余均为阴性,两者比较有统计学意义(图1A, B,  $P<0.001$ )。

**2.2 EphA3表达与患者临床病理特征之间关系** 结肠癌组织中, EphA3蛋白表达与临床病理指标的关系(表1)。EphA3在肿瘤直径 $> 5.0$  cm病例中阳性率为(51/71)71.8%,而直径 $\leq 5.0$  cm病例中阳性率只有(18/37)48.6%,两者比有统计学差

## ■相关报道

在胃癌中EphA3高表达与患者年龄、肿瘤大小、组织分化程度、TNM分期、肿瘤浸润程度、淋巴结转移及患者低生存率密切相关。



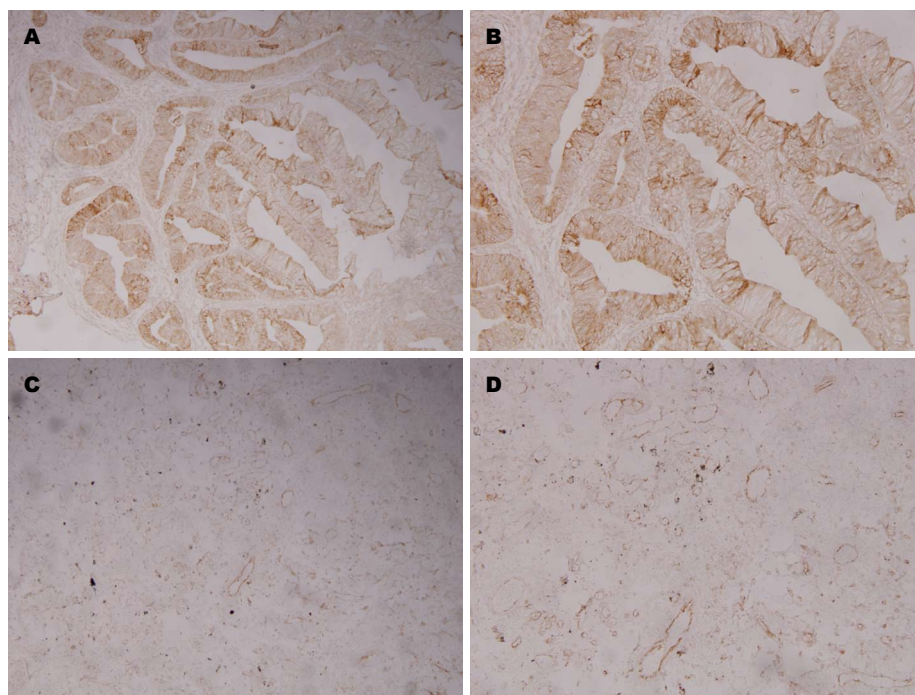


图1 免疫组织化学染色EphA3和MVD表达情况. A: EphA3( $\times 200$ ); B: EphA3( $\times 400$ ); C: MVD( $\times 200$ ); D: MVD( $\times 400$ ).

#### ■创新盘点

本文提出EphA3在结肠癌中高表达, 并且其高表达与肿瘤血管密度呈正相关, EphA3高表达与结肠癌的恶性程度相关.

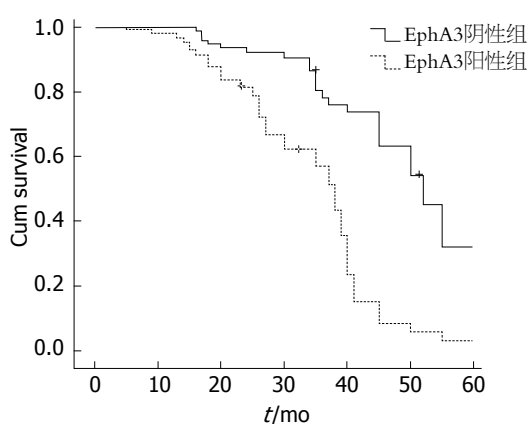


图2 结肠癌中EphA3表达和生存时间的关系(K-M线).

异( $P = 0.017$ ); EphA3表达也与肿瘤TNM分期存在相关性, 随着分期进展表达升高( $P < 0.001$ ); EphA3表达也与患者肿瘤分化程度相关, 高分化患者(6/16)阳性率为37.5%, 中等分化(45/72)阳性率为62.5%, 低分化(18/20)阳性率为90.0% ( $P = 0.007$ ); 在68例淋巴结转移患者中阳性率为(64/68)94.1%, 显著高于无淋巴结转移患者(5/40)12.5% ( $P < 0.001$ ); 有远处转移患者阳性率为(42/56)75.0%与没有远处转移者(27/52)51.9%相比有统计学差异( $P = 0.013$ ), 但EphA3表达与患者的性别和年龄差异无显著相关性.

2.3 EphA3表达与MVD的关系 免疫组织化学检测患者MVD, 如文献报道我们将评分值30作为分界值将患者分成两组, 其中MVD值低患者19例(17.6%), 较高患者89例(82.4%)(图1C, D).分

析发现EphA3与MVD成正相关, 其相关系数为0.647( $P < 0.001$ , 表2).

2.4 生存分析 EphA3阳性患者生存时间明显短于阴性患者, 3年生存率分别为53.6%和79.5%, 患者5年生存率分别为23.1%和56.4%, 平均生存时间分别为34.3 mo  $\pm$  1.4 mo和48.4 mo  $\pm$  2.3 mo,  $\chi^2 = 24.6$ ,  $P < 0.001$ (图2).

### 3 讨论

近年来我国结肠癌发生率越来越高, 5年生存率普遍较低, 而且发病年龄也越来越年轻, 结肠癌成为威胁人类健康的一个重要疾病<sup>[9]</sup>. 结肠癌的发病较为隐匿, 大多数患者出现大便性状和次数改变时才来就诊, 此时肿瘤已经发展到中晚期, 部分已失去手术指征. 结肠癌的转移和复发是导致患者死亡的最主要原因, 虽然随着检查治疗技术的不断提高, 结肠癌的诊治效果有一定的提高, 但是尚不能完全治愈. 因此, 有必要寻找合适的检测或治疗靶点更好地为结肠癌患者服务, 达到早诊断、早治疗以及预防复发的目的.

酪氨酸激酶途径是一种非常重要的细胞内信号转导通路, 可有效地将外界刺激信息传递至细胞核. EPH基因家族是新发现最大的酪氨酸激酶受体家族成员之一, 广泛表达于上皮来源的细胞中, 这类激酶和受体相互作用可以调节神经细胞形成、血管发育和肿瘤血管的形成, 一些研究评估了这些激酶在不同人类肿瘤中的

#### ■应用要点

EphA3可能参与结肠癌血管的生成, 通过临床大量样本进一步验证, 该因子可作为临床结肠癌的诊治和预后提供参考.

## ■名词解释

微血管密度: 生物组织如皮肤、肌肉、器官等组织中单位面积密度的微血管数量, 本文中具体指在结肠癌组织中新生血管密度情况。

表 1 EphA3 表达与结肠癌临床病理特征的关系  $n(\%)$ 

	EphA3		$P$ 值
	阳性	阴性	
性别			0.547
男	43(66.1)	22(33.9)	
女	26(60.5)	17(39.5)	
年龄(岁)			0.413
≤ 55	28(59.6)	19(40.4)	
>55	41(67.2)	20(32.8)	
肿瘤大小(cm)			0.017
>5.0	51(71.8)	20(28.2)	
≤5.0	18(48.6)	19(51.4)	
肿瘤分期			<0.001
I	8(25.0)	24(75.0)	
II	19(67.9)	9(32.1)	
III	32(86.5)	5(13.5)	
IV	10(90.9)	1(9.1)	
肿瘤分化			0.007
低分化	18(90.0)	2(10.0)	
中分化	45(62.5)	27(37.5)	
高分化	6(37.5)	10(62.5)	
淋巴结转移			<0.001
有	64(94.1)	4(5.9)	
无	5(12.5)	35(87.5)	
远处转移			0.013
有	42(75.0)	14(25.0)	
无	27(51.9)	25(48.1)	

表 2 EphA3表达与MVD关系 ( $n$ )

变量	EphA3		$P$ 值	$\chi^2$ 值
	阳性	阴性		
MVD			<0.001	0.647
高值	62	27		
低值	7	12		

在正常上皮细胞中EphA3能与其配体有效结合并经吞噬溶酶体途径被快速降解, 故其蛋白低表达或缺失。而在肿瘤细胞中, 因细胞间连接的破坏导致EphA3的配体结合及降解发生障碍, 而表现为高表达及异常的细胞定位<sup>[2,13]</sup>。EphA3的过度表达同时会引起EphA3功能发生变化, 成为功能强大的癌蛋白, 启动其他的信号转导途径, 调节细胞黏附、肿瘤侵袭与转移。大多数肿瘤的远处转移及复发者EphA3表达较高。本研究发现EphA3高表达与癌组织大小、TNM分期、分化程度、淋巴结转移以及远处转移有关, 表明EphA3蛋白的高表达与结肠癌黏膜上皮细胞的癌变和癌细胞的恶性侵袭能力有关。EphA3表达增高, 削弱肿瘤细胞之间的连接, 增加肿瘤细胞与细胞外基质成分的黏附, 增强对基质的侵袭, 而这些是肿瘤细胞获得侵袭、转移能力的重要特性, 提示EphA3的高表达促进了肿瘤的侵袭和转移。因此, 我们假设EphA3在结肠癌中高表达可能和DNA的甲基化有关, 而这一变化可能引起肿瘤细胞形态学和生物学特性的改变, 例如细胞增殖、活性、黏附能力、迁移能力和抗凋亡能力变化。

目前在评价肿瘤血管密度方面, MVD应用非常广泛, 研究表明较高密度的MVD与肿瘤的大小、组织分化程度、浸润情况、淋巴结是否转移密切相关, 可以通过简单的免疫组织化学方法评价各种肿瘤的进展和转移情况<sup>[14-16]</sup>。本实验中较高的MVD值和肿瘤的临床病理分期和预后密切相关。进一步研究EphA3和MVD成正相关, 即EphA3阳性肿瘤细胞中血管密度更大。

总之, 我们通过免疫组织化学方法证明了EphA3在结肠癌细胞中明显表达高于正常结肠黏膜细胞。这一结果提示在早期结肠癌中EphA3低表达患者生存率较高; EphA3高表达和肿瘤的血管生成有关, 可见该因子可作为肿瘤危险预测指标。本实验可能对于研究结肠癌血管生成和预测患者生存情况提供帮助, 具有良好的应用前景。

作用, 主要与细胞增殖、凋亡和肿瘤生成密切相关<sup>[10]</sup>。在人类不同肿瘤研究中发现酪氨酸激酶和其受体与肿瘤的黏附、迁移和血管生成相关; 目前实验已经证实酪氨酸激酶受体EphA1、2、4和7在结肠癌组织中高表达并参与了结肠癌发生和转移过程<sup>[3-6]</sup>。EphA3是EPH基因家族成员之一, 研究表明该基因在T和B淋巴瘤细胞中高表达, 而且与肿瘤的转移密切相关<sup>[11]</sup>。进一步研究发现EphA3在肝癌、肾癌、黑色素瘤和肉瘤组织中高表达<sup>[7,12]</sup>, 在胃癌中EphA3高表达与患者年龄、肿瘤大小、组织分化程度、TNM分期、肿瘤浸润程度、淋巴结转移以及患者低生存率密切相关。然而EphA3在结肠癌中研究有限, 而且研究结果之间互相矛盾<sup>[8,9]</sup>, 因此我们在结肠癌组织中检测了EphA3表达情况。

本研究利用免疫组织化学技术检测了EphA3蛋白在结肠癌组织及其正常黏膜中的表达情况, 结果发现: EphA3蛋白在结肠癌黏膜组织中表达明显高于其正常结肠黏膜组织, 提示EphA3可能成为结肠癌的一个新的肿瘤标志物。

## 4 参考文献

- 1 Xi HQ, Wu XS, Wei B, Chen L. Eph receptors and ephrins as targets for cancer therapy. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 2894-2909 [PMID: 22862837 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2012.01612.x]
- 2 Hérault M, Schaffner F, Augustin HG. Eph receptor and ephrin ligand-mediated interactions during angiogenesis and tumor progression. *Exp Cell Res* 2006; 312: 642-650 [PMID: 16330025]
- 3 Tanabe H, Kuribayashi K, Tsuji N, Tanaka M, Kobayashi D, Watanabe N. Sesamin induces autophagy in colon cancer cells by reducing tyrosine phosphorylation of EphA1 and EphB2. *Int J Oncol* 2011; 39: 33-40 [PMID: 21503576 DOI: 10.3892/ijo.2011.1011]
- 4 Saito T, Masuda N, Miyazaki T, Kanoh K, Suzuki H, Shimura T, Asao T, Kuwano H. Expression of EphA2 and E-cadherin in colorectal cancer: correlation with cancer metastasis. *Oncol Rep* 2004; 11: 605-611 [PMID: 14767510]
- 5 Oshima T, Akaike M, Yoshihara K, Shiozawa M, Yamamoto N, Sato T, Akihito N, Nagano Y, Fujii S, Kunisaki C, Wada N, Rino Y, Tanaka K, Masuda M, Imada T. Overexpression of EphA4 gene and reduced expression of EphB2 gene correlates with liver metastasis in colorectal cancer. *Int J Oncol* 2008; 33: 573-577 [PMID: 18695888 DOI: 10.3892/ijo.00000042]
- 6 Wang J, Kataoka H, Suzuki M, Sato N, Nakamura R, Tao H, Maruyama K, Isogaki J, Kanaoka S, Ihara M, Tanaka M, Kanamori M, Nakamura T, Shinmura K, Sugimura H. Downregulation of EphA7 by hypermethylation in colorectal cancer. *Oncogene* 2005; 24: 5637-5647 [PMID: 16007213 DOI: 10.1038/sj.onc]
- 7 Wimmer-Kleikamp SH, Lackmann M. Eph-modulated cell morphology, adhesion and motility in carcinogenesis. *IUBMB Life* 2005; 57: 421-431 [PMID: 16012051 DOI: 10.1080/152165]
- 8 Herath NI, Spanevello MD, Doecke JD, Smith FM, Pouponnot C, Boyd AW. Complex expression patterns of Eph receptor tyrosine kinases and their ephrin ligands in colorectal carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2012; 48: 753-762 [PMID: 21852108 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.07.003]
- 9 Xi HQ, Zhao P. Clinicopathological significance and prognostic value of EphA3 and CD133 expression in colorectal carcinoma. *J Clin Pathol* 2011; 64: 498-503 [PMID: 21415057 DOI: 10.1136/jcp.2010.087213]
- 10 Matsubara J, Yamada Y, Nakajima TE, Kato K, Hamaguchi T, Shirao K, Shimada Y, Shimoda T. Clinical significance of insulin-like growth factor type 1 receptor and epidermal growth factor receptor in patients with advanced gastric cancer. *Oncology* 2008; 74: 76-83 [PMID: 18544998 DOI: 10.1159/000139127]
- 11 Hafner C, Schmitz G, Meyer S, Bataille F, Hau P, Langmann T, Dietmaier W, Landthaler M, Vogt T. Differential gene expression of Eph receptors and ephrins in benign human tissues and cancers. *Clin Chem* 2004; 50: 490-499 [PMID: 14726470 DOI: 10.1373/clinchem.2003.026849]
- 12 Bae HJ, Song JH, Noh JH, Kim JK, Jung KH, Eun JW, Xie HJ, Ryu JC, Ahn YM, Kim SY, Lee SH, Yoo NJ, Lee JY, Park WS, Nam SW. Low frequency mutation of the Ephrin receptor A3 gene in hepatocellular carcinoma. *Neoplasia* 2009; 56: 331-334 [PMID: 19469653 DOI: 10.4149/neo]
- 13 Surawska H, Ma PC, Salgia R. The role of ephrins and Eph receptors in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 419-433 [PMID: 15561600]
- 14 Iordache S, Saftoiu A, Georgescu CV, Ramboiu S, Gheonea DI, Filip M, Schenker M, Ciurea T. Vascular endothelial growth factor expression and microvessel density—two useful tools for the assessment of prognosis and survival in gastric cancer patients. *J Gastrointest Liver Dis* 2010; 19: 135-139 [PMID: 20593045]
- 15 Zhang Z, Wang Q, Ma J, Yi X, Zhu Y, Xi X, Feng Y, Jin Z. Reactive oxygen species regulate FSH-induced expression of vascular endothelial growth factor via Nrf2 and HIF1 $\alpha$  signaling in human epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep* 2013; 29: 1429-1434 [PMID: 23404377 DOI: 10.3892/or.2013.2278]
- 16 Zhang N, Wu P, Wu L, Shayiremu D, Shan H, Ye L, Jiang WG, Gong K, Yang Y. The Differential Expression of Vascular Endothelial Growth Inhibitor Isoforms, VEGI251, VEGI174 and VEGI192 in Human Clear-cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Genomics Proteomics* 2013; 10: 47-53 [PMID: 23382586]

## ■同行评价

本文设计合理, 方法科学, 手段较先进, 数据可靠, 分析可信, 有一定临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 地衣芽孢杆菌联合PPI三联疗法根除幽门螺杆菌的临床疗效

蒋永爱, 欧希龙, 王建宁

## ■背景资料

随着抗生素在临床治疗过程中的广泛应用, 幽门螺杆菌(*H. pylori*)对抗生素耐药率正在逐年上升, 导致*H. pylori*根除率越来越低。如何提高*H. pylori*根除率, 选择更有效的治疗方案是当前临床医生普遍关注的问题。

蒋永爱, 欧希龙, 东南大学医学院 江苏省南京市 210015  
王建宁, 南京市江宁医院消化科 江苏省南京市 211100  
蒋永爱, 副主任医师, 就读于东南大学医学院, 目前在南京江宁医院消化科从事消化内科工作。

作者贡献分布: 欧希龙指导课题设计、临床实验、论文撰写及推荐论文发表; 蒋永爱负责搜集文献资料、具体实施临床实验及撰写论文; 王建宁指导临床实验与论文撰写。

通讯作者: 欧希龙, 主任医师, 210015, 江苏省南京市丁家桥87号, 东南大学医学院。ouxilong@126.com

收稿日期: 2013-01-02 修回日期: 2013-03-01

接受日期: 2013-03-08 在线出版日期: 2013-03-28

## Efficacy of *Bacillus licheniformis* combined with PPI triple therapy in eradication of *Helicobacter pylori*

Yong-Ai Jiang, Xi-Long Ou, Jian-Ning Wang

Yong-Ai Jiang, Xi-Long Ou, School of Medicine, Southeast University, Nanjing 210015, Jiangsu Province, China  
Jian-Ning Wang, Department of Digestive Medicine, Jiangning Hospital, Nanjing 211100, Jiangsu Province, China  
Correspondence to: Xi-Long Ou, Chief Physician, School of Medicine, Southeast University, 87 Dingjiaqiao, Nanjing 210015, Jiangsu Province, China. ouxilong@126.com

Received: 2013-01-02 Revised: 2013-03-01

Accepted: 2013-03-08 Published online: 2013-03-28

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of *Bacillus licheniformis* in combination with PPI triple therapy on the cure rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and improvement of clinical symptoms.

**METHODS:** One hundred and twenty patients who were diagnosed with erosive gastritis or peptic ulcer with *H. pylori* infection by gastroscopy, rapid urease method and pathological staining at our hospital were randomly divided into three groups: triple therapy group ( $n = 40$ , treated with lansoprazole 30 mg bid + amoxicillin 1.0 bid + levofloxacin 0.5 QD), quadruple therapy group ( $n = 40$ , treated with bismuth pectin 0.2 bid + lansoprazole 30 mg bid + amoxicillin 1.0 bid + levofloxacin 0.5 QD), and combination treatment group ( $n = 40$ , treated with *Bacillus licheniformis* 0.5 bid + lansoprazole 30 mg bid + amoxicillin 1.0

bid + levofloxacin 0.5 QD). The triple therapy and quadruple therapy groups were treated for 7 d, and the treatment group continued taking *Bacillus licheniformis* capsules for an additional 14 d. Patients with gastric ulcer continued taking LAN 30 mg, once daily for 5 wk, and those with duodenal ulcer continued taking lansoprazole 30 mg, once daily for 3 wk.

**RESULTS:** *H. pylori* eradication rate was significantly higher in the *Bacillus licheniformis* group than in the triple therapy group (85% vs 70%,  $P < 0.05$ ), but showed no significant difference between the *Bacillus licheniformis* group and quadruple therapy group (85% vs 82.5%,  $P > 0.05$ ). The clinical symptoms were improved more significantly in the *Bacillus licheniformis* group than in the triple therapy group (97.5% vs 75.0%,  $P < 0.05$ ); however, there was no significant difference in the percentage of patients showing symptom improvement between the *Bacillus licheniformis* group and quadruple therapy group (97.5% vs 95.0%,  $P > 0.05$ ). The incidence of adverse reactions was significantly lower in the *Bacillus licheniformis* group than in the triple therapy group (2.5% vs 12.5%,  $P < 0.05$ ) and quadruple therapy group 2 (2.5% vs 25.0%,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** *Bacillus licheniformis* can improve the eradication rate of *H. pylori*, alleviate clinical symptoms and reduce the incidence of adverse reactions in patients undergoing triple therapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

**Key Words:** Erosive gastritis; Peptic ulcer; *Bacillus licheniformis*; *Helicobacter pylori*; Eradication rate; Incidence rate

Jiang YA, Ou XL, Wang JN. Efficacy of *Bacillus licheniformis* combined with PPI triple therapy in eradication of *Helicobacter pylori*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 840-844 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/840.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i9.840>

## 摘要

**目的:** 观察地衣芽孢杆菌联用标准三联疗法

## ■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的根治率、临床症状改善率的影响。

**方法:** 选择我院经胃镜检查, 快速尿素酶法及病理活检染色诊断确诊为糜烂性胃炎或消化性溃疡并伴有*H. pylori*感染的患者120例, 随机分成3组: 对照组1(A组, 三联组,  $n = 40$ 例)予以兰索拉唑30 mg bid+阿莫西林1.0 bid+左氧氟沙星0.5 qd; 对照组2(B组, 四联组,  $n = 40$ 例)予以果胶铋0.2 bid+三联组; 治疗组(C组, 地衣芽孢杆菌+三联,  $n = 40$ 例)予以地衣芽孢杆菌0.5 bid+三联组。对照组疗程均为7 d, 治疗组治疗7 d后, 继续服用地衣芽孢杆菌胶囊(整肠生)14 d。另外胃溃疡患者治疗1 wk后继续服用兰索拉唑30 mg, 1次/d, 5 wk; 十二指肠溃疡患者治疗1 wk后继续服用兰索拉唑30 mg, 1次/d, 3 wk。

**结果:** 地衣芽孢杆菌组对*H. pylori*根除率明显高于标准三联组(85.0% vs 70.0%,  $P < 0.05$ )、而和铋四联组比较, 无显著性差异(85.0% vs 82.5%,  $P > 0.05$ ); 地衣芽孢杆菌组对患者临床症状缓解明显高于对照组1(标准三联组)(97.5% vs 75.0%,  $P < 0.05$ )、而与对照组2(铋四联组)比较, 无明显差异(97.5% vs 95.0%,  $P > 0.05$ ); 地衣芽孢杆菌组不良反应发生率低于明显对照组1(2.5% vs 12.5%,  $P < 0.05$ )和对照组2(2.5% vs 25.0%,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 地衣芽孢杆菌能提高标准三联疗法*H. pylori*根除率, 明显缓解患者临床症状, 减少不良反应的发生率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

**关键词:** 糜烂性胃炎; 消化性溃疡; 地衣芽孢杆菌; 幽门螺杆菌; 根治率; 不良反应

蒋永爱, 欧希龙, 王建宁. 地衣芽孢杆菌联合PPI三联疗法根除幽门螺杆菌的临床疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 840-844 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/840.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.840>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)发现至今已有30年, 对*H. pylori*感染的治疗也越来越深入, 它是一种存在于人类胃黏膜的G-的螺旋形细菌, 是慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤等的发生发展的重要因素<sup>[1]</sup>, 根除*H. pylori*是预防溃疡复发<sup>[2]</sup>和治疗慢性胃炎的重要手段, 而对于慢性胃炎患者, 根除*H.*

*pylori*治疗还可降低其胃癌的发生率<sup>[3]</sup>, 目前*H. pylori*根除治疗方案很多, 其中PPI加两种抗生素的三联疗法, 仍是当前国内外根治*H. pylori*共识意见推荐的一线治疗方法。但是, 随着抗生素在临床治疗过程中的广泛应用, *H. pylori*对抗生素耐药率正在逐年上升<sup>[4]</sup>, 导致*H. pylori*根除率越来越低<sup>[5,6]</sup>。如何提高*H. pylori*根除率, 选择更有效的治疗方案是当前临床医生普遍关注的问题。近年来, 微生态制剂, 益生菌在根除*H. pylori*感染过程中的作用越来越受到人们的重视。国外研究表明<sup>[7]</sup>, 微生态制剂不仅能改善胃肠道生态平衡, 减少不良反应, 提高患者依从性, 而且能提高*H. pylori*根除率。本实验选用的为益生菌-地衣芽孢杆菌(整肠生), 临床较少运用于清除*H. pylori*。我们通过地衣芽孢杆菌联合质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)为基础的三联疗法进行*H. pylori*根除治疗, 与单用PPI三联及含铋四联治疗相比较, 观察其是否能提高*H. pylori*根除率、临床症状缓解率以及减少不良反应的发生率。最终取得满意效果, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验通过收集我院胃镜室2012-05/2013-01经胃镜检查确诊为慢性活动性胃炎或消化性溃疡, 并行快速尿素酶法及病理活检Giemsa染色法同时证实*H. pylori*感染的患者120例。入选标准: (1)经胃镜检查确诊的糜烂性胃炎及十二指肠溃疡患者; (2)快速尿素酶试验和胃镜检查病理活检Giemsa染色法同时证实*H. pylori*阳性者; (3)既往未接受过正规*H. pylori*根除治疗。排除标准: (1)年龄<17岁或>80岁; (2)治疗前2 wk用过抗生素、铋剂、H2受体阻滞剂(H2 receptor antagonist, H2RA)、PPI和长期使用甾体或非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drug, NSAID)者; (3)既往胃部手术史、妊娠或哺乳期妇女; (4)对本研究用药物过敏者; (5)同时存在其他影响本研究评价的严重疾病或者不能正确表达自己主诉, 如有药物成瘾、精神障碍等依从性差者, 不能合作者。终止研究标准: (1)病情恶化或出现严重并发症; (2)治疗期间出现严重不良反应, 无法耐受者; (3)治疗期间出现其他疾病干扰本观察; (4)失访; (5)治疗期间妊娠。治疗药物: 兰索拉唑(湖北潜龙药业有限公司)、阿莫西林(上海衡山药业有限公司)、左氧氟沙星(四川科伦药业有限公司)、果胶铋(哈药集团)、地衣芽孢杆菌(辽宁胜方医药有限公司)。

## 1.2 方法

### ■ 研发前沿

目前益生菌在*H. pylori*治疗方面的研究很多, 科研设计方案也是多种多样, 存在很多问题, 如益生菌与抗生素联合使用的间隔时间, 服药方法等。

## ■创新盘点

目前根除 *H. pylori* 的两联抗生素多为克拉霉素和阿莫西林, 阿莫西林联合左氧氟沙星根除 *H. pylori* 较少报道; 益生菌研究方面, 大多为双歧杆菌, 较少研究地衣芽孢杆菌, 本实验使用地衣芽孢杆菌联合兰索拉唑、阿莫西林、左氧氟沙星进行 *H. pylori* 根除, 目前鲜有报道。

表 1 3组患者 *H. pylori* 根除率 ( $n = 40$ )

分组	阳性( $n$ )	阴性( $n$ )	根除率(%)
三联组	12	28	70.0
铋四联组	7	33	82.5
地衣芽孢杆菌组	6	34	85.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 标准三联组。

1.2.1 分组: 对符合条件的120例患者根据就诊先后随机分为标准三联组(A组, 兰索拉唑+阿莫西林+左氧氟沙星)、四联对照组(B组, 果胶铋+三联)和地衣芽孢杆菌治疗组(C组, 地衣芽孢杆菌+三联标准)。A组40例, 男28例, 女12例, 平均年龄为44.4岁; B组40例, 男34例, 女6例, 平均年龄42.8岁; C组40例, 男27例, 女13例, 平均年龄45.1岁, 3组患者一般资料比较差异无统计学意义。

1.2.2 治疗: 三联组(A组): 兰索拉唑30 mg bid+阿莫西林1.0 bid+左氧氟沙星0.5 qd疗程7 d; 铋四联组(B组): 兰索拉唑30 mg bid+阿莫西林1.0 bid+左氧氟沙星0.5 qd+果胶铋0.2 bid疗程7 d; 地衣芽孢杆菌+三联组(C组): 兰索拉唑30 mg bid+阿莫西林1.0 bid+左氧氟沙星0.5 qd, (10:00-16:00) 疗程7 d; 地衣芽孢杆菌胶囊(整肠生), 2粒 tid, 21 d(服用时与抗菌药物服用至少间隔2 h, 7:00-12:00-20:00)。胃溃疡患者治疗1 wk后继续服用兰索拉唑30 mg 1次/d, 5 wk, 十二指肠溃疡患者治疗1 wk后继续服用兰索拉唑30 mg, 1次/d, 3 wk。停药4 wk后(治疗结束后4 wk), 行<sup>13</sup>C尿素呼气试验了解 *H. pylori* 根除情况。

1.2.3 观察指标及疗效判定标准: (1)临床症状及不良反应观察: 记录治疗前消化道症状(上腹痛、腹胀、反酸、嗝气、纳差等症状), 服药后第1周不良反应事件(头痛、恶心呕吐、腹泻、皮疹等症状)的发生率, 第1、3周症状缓解率和疗程结束后4 wk的 *H. pylori* 根除率; (2)临床症状缓解分级: 0 无症状; I 轻度, 可以感觉到有症状但易于耐受; II 中度, 明显不适, 足以干扰正常活动; III 重度, 不能从事正常活动。治疗后症状改善 I 级判定为治疗显效; 治疗后症状改善 II 级以上(含 II 级)都判定为症状缓解; (3) *H. pylori* 根除标准: 疗程结束后, 停药4 wk, 复查<sup>13</sup>C-尿素呼气试验, 阴性认为 *H. pylori* 被根除。<sup>13</sup>C-尿素呼气试验采用安徽养和医疗器械设备有限公司生产的YH04幽门螺杆菌检测仪及<sup>13</sup>C-尿素胶囊。

**统计学方法** 所有数据采用SPSS10.0软件进行统计分析, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 表示

有统计学意义。

## 2 结果

120例患者均坚持满疗程治疗(溃疡患者包括抗溃疡治疗), 疗程结束后无1例失访。

2.1 *H. pylori* 根除率 标准三联组( $n = 40$ )疗程结束后, *H. pylori* 根除28例, 根除率70.0%, 铋四联组( $n = 40$ )疗程结束后, *H. pylori* 根除33例, 根除率82.5%, 地衣芽孢杆菌组疗程结束后, *H. pylori* 根除34例, 根除率85.0%; 地衣芽孢杆菌组对 *H. pylori* 根除率明显高于标准三联组(85.0% vs 70.0%,  $P < 0.05$ )、而和铋四联组对 *H. pylori* 根除率比较, 无显著性差异(85.0% vs 82.5%,  $P > 0.05$ , 表1)。

2.2 临床症状改善率 治疗7 d后临床症状改善率: 标准三联组, 临床症状改善30例, 改善率75.0%; 铋四联组, 临床症状改善38例, 改善率95.0%; 地衣芽孢杆菌组, 临床症状改善38例, 改善率97.5%; 地衣芽孢杆菌组对患者临床症状改善明显高于标准三联组(97.5% vs 75.0%,  $P < 0.05$ )、而与铋四联组比较, 无明显差异(97.5% vs 95.0%,  $P > 0.05$ , 表2)。治疗21 d后3组患者临床症状基本消失, 无统计学差异。

2.3 不良反应发生率 标准三联组治疗7 d后, 发生头痛、恶心呕吐等不良反应6例, 发生率12.5%; 铋四联组, 治疗7 d后, 发生头痛、恶心呕吐等不良反应10例, 发生率25.0%; 地衣芽孢杆菌组, 治疗7 d后, 发生头痛、恶心呕吐等不良反应1例, 发生率为2.5%; 地衣芽孢杆菌组明显低于标准三联组(2.5% vs 12.5%,  $P < 0.05$ )和铋四联组(2.5% vs 25.0%,  $P < 0.05$ , 表3)。

## 3 讨论

我国是一个 *H. pylori* 感染率较高的国家, 感染率42.0%-90.0%<sup>[8]</sup>, *H. pylori* 已被确认与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤和胃癌密切相关<sup>[1]</sup>, 世界卫生组织已将其列为 I 类致癌因子。因此, *H. pylori* 感染的治疗是 *H. pylori* 研究领域中的重点, 中华医学会消化病学分会 *H. pylori* 学组于2005-03/2006-05完成了一项涉及全国16个省市包括20多个中心的大规模 *H. pylori* 耐药(包括对甲硝唑、克拉霉素和阿莫西林)流行病学调查及耐药对治疗的影响, 结果显示 *H. pylori* 对常用抗生素耐药性随时间变迁而逐渐上升<sup>[9]</sup>。面对 *H. pylori* 治疗上的困境, 微生态制剂(益生菌)在根除 *H. pylori* 感染过程中的作用越来越



表 2 3组患者治疗7 d后临床症状缓解率 ( $n = 40$ )

分组	显效( $n$ )	缓解( $n$ )	无效( $n$ )	有效率(%)
三联组	17	13	10	75.0
铋四联组	28	10	2	95.0
地衣芽孢杆菌组	28	24	1	97.5 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 标准三联组。

越受到人们的重视。近年来随着微生态医学的兴起, 微生态制剂(益生菌)在临床的广泛应用也为 *H. pylori* 感染防治提供了新的思路。 *H. pylori* 对上皮细胞的黏附力是 *H. pylori* 能牢固定植于胃黏膜的基本条件, 也是 *H. pylori* 导致胃黏膜损伤的重要原因之一, 而益生菌能抑制 *H. pylori* 的黏附, 其确切机制并不清楚, 可能机制是<sup>[10]</sup>: 益生菌分泌的某些抗细菌黏附的活性物质; 益生菌可与 *H. pylori* 竞争黏附于胃黏膜结合位点, 即所谓的“夺位”作用。体外实验显示: 益生菌可以抑制 *H. pylori* 对肠上皮细胞 HT29 或胃内皮细胞 NKN45 的黏附<sup>[11]</sup>。在体外, 益生菌可以通过竞争黏附位点干扰 *H. pylori* 与胃上皮细胞的黏附。动物实验也证实<sup>[12]</sup>, 预先给予益生菌, 可以阻止或减少无菌鼠的 *H. pylori* 定植, 这可能与益生菌阻碍了 *H. pylori* 的黏附有关。已有研究显示<sup>[13]</sup>: 益生菌可能通过活化 *H. pylori* 感染中细胞因子信号抑制物的表达和信号转导来发挥抗炎作用, 其结果提示益生菌的抗炎作用有可能通过抑制 *H. pylori* 感染中产生的炎性介质表达来实现的。因而, 他不仅可能具有对抗 *H. pylori* 感染的作用, 而且还能调节机体的免疫机能, 通过改善胃肠道微生态环境, 提高 *H. pylori* 根除治疗的依从性等多种作用<sup>[14]</sup>。本实验通过“益生菌-地衣芽孢杆菌(整肠生)联合PPI三联疗法”, 与传统标准三联疗法及含铋四联疗法在 *H. pylori* 根除率及临床症状改善率方面进行对比研究, 结果显示: 地衣芽孢杆菌能提高标准三联疗法 *H. pylori* 根除率, 提高临床症状缓解, 减少不良反应的发生率。国外 Iakovenko 等<sup>[15]</sup> 在类似研究中发现, 接受三联抗生素加益生菌组治疗与三联抗生素相比, *H. pylori* 根除率分别为 89.1% 和 63.5%, 实验结果与我们大致相仿。Sheu 等<sup>[16]</sup> 也证实了三联疗法加益生菌组比单用三联疗法 *H. pylori* 根除率高 (91% vs 78%,  $P < 0.05$ ), 且可以明显减少三联疗法治疗过程中出现的恶心、呕吐、腹泻、头痛的发生率。

表 3 3组患者治疗7 d后不良反应发生率 ( $n = 40$ )

分组	不良反应阳性( $n$ )	不良反应发生率(%)
三联组	6	12.5
铋四联组	10	25.0
地衣芽孢杆菌组	1	2.5 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 标准三联组和铋四联组。

总之, 我们认为地衣芽孢杆菌胶囊(整肠生)联合三联疗法治疗 *H. pylori* 感染具有安全性好、疗效高、不良反应小的特点, 为益生菌联合PPI三联根除 *H. pylori* 提供了有力的循证医学证据, 在根除 *H. pylori* 过程中使用益生菌值得临床推广。当然, 本研究样本量较小, 还需进行大样本研究, 以进一步佐证衣芽孢杆菌(整肠生)在清除 *H. pylori* 过程中的作用。

#### 4 参考文献

- Jin Z, Hu FL, Wei H, Tang XY, Dong Y. [Establishment of Mongolian gerbil model of long-term *Helicobacter pylori* infection]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 1518-1522 [PMID: 18956630]
- Miwa H, Sakaki N, Sugano K, Sekine H, Higuchi K, Uemura N, Kato M, Murakami K, Kato C, Shiotani A, Ohkusa T, Takagi A, Aoyama N, Haruma K, Okazaki K, Kusugami K, Suzuki M, Joh T, Azuma T, Yanaka A, Suzuki H, Hashimoto H, Kawai T, Sugiyama T. Recurrent peptic ulcers in patients following successful *Helicobacter pylori* eradication: a multicenter study of 4940 patients. *Helicobacter* 2004; 9: 9-16 [PMID: 15156899 DOI: 10.1111/j.1083-4389.2004.00194.x]
- Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 187-194 [PMID: 14722144 DOI: 10.1001/jama.291.2.187]
- Ott EA, Mazzoleni LE, Edelweiss MI, Sander GB, Wortmann AC, Theil AL, Sommi G, Cartell A, Rivero LF, Uchôa DM, Francesconi CF, Prolla JC. *Helicobacter pylori* eradication does not cause reflux oesophagitis in functional dyspeptic patients: a randomized, investigator-blinded, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1231-1239 [PMID: 15882244 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02461.x]
- Gao W, Cheng H, Hu F, Li J, Wang L, Yang G, Xu L, Zheng X. The evolution of *Helicobacter pylori* antibiotics resistance over 10 years in Beijing, China. *Helicobacter* 2010; 15: 460-466 [PMID: 21083752 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2010.00788.x]
- 成虹, 胡伏莲, 李江. 幽门螺杆菌耐药性对其根除治疗影响的研究. *中华医学杂志* 2006; 86: 2679-2682
- Rokka S, Myllykangas S, Joutsjoki V. Effect of specific colostral antibodies and selected lactobacilli on the adhesion of *Helicobacter pylori* on AGS

#### ■应用要点

本研究通过地衣芽孢杆菌联合质子泵抑制剂(PPI)为基础的三联疗法进行 *H. pylori* 根除治疗, 与单用PPI三联及含铋四联治疗相比较, 最终结果: 地衣芽孢杆菌能提高标准三联疗法 *H. pylori* 根除率, 明显缓解患者临床症状, 降低不良反应的发生率。

## ■同行评价

本研究有一定的科学意义,设计基本合理。

- cells and the Helicobacter-induced IL-8 production. *Scand J Immunol* 2008; 68: 280-286 [PMID: 18627549 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2008.02138.x]
- 8 Pellicano R, Astegiano M, Smedile A, Bonardi R, Morgando A, Repici A, Rizzetto M. [Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in the 2006 clinical practice]. *Minerva Med* 2006; 97: 19-24 [PMID: 16565694]
- 9 Marzio L, Coraggio D, Capodicasa S, Grossi L, Cappello G. Role of the preliminary susceptibility testing for initial and after failed therapy of Helicobacter pylori infection with levofloxacin, amoxicillin, and esomeprazole. *Helicobacter* 2006; 11: 237-242 [PMID: 16882326 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2006.00407.x]
- 10 胡伏莲, 周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 第3版. 北京: 中国科技出版社, 2009: 635-644
- 11 Nam H, Ha M, Bae O, Lee Y. Effect of Weissella confusa strain PL9001 on the adherence and growth of Helicobacter pylori. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 4642-4645 [PMID: 12200324 DOI: 10.1128/AEM.68.9.4642-4645.2002]
- 12 Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y. Prevention of Helicobacter pylori infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut* 1997; 41: 49-55 [PMID: 9274471 DOI: 10.1136/gut.41.1.49]
- 13 Lee JS, Paek NS, Kwon OS, Hahm KB. Anti-inflammatory actions of probiotics through activating suppressor of cytokine signaling (SOCS) expression and signaling in Helicobacter pylori infection: a novel mechanism. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 194-202 [PMID: 20136974 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06127.x]
- 14 Ables AZ, Simon I, Melton ER. Update on Helicobacter pylori treatment. *Am Fam Physician* 2007; 75: 351-358 [PMID: 17304866]
- 15 Iakovenko EP, Grigor'ev IA, Iakovenko AV, Agafonova NA, Prishchikova AS, Sheregova EN, Vasil'ev IV, Komleva IuV, Oprishchenko IV, Anashkin VA. [Effects of probiotic bifiform on efficacy of Helicobacter pylori infection treatment]. *Ter Arkh* 2006; 78: 21-26 [PMID: 16613091]
- 16 Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD. Impact of supplement with Lactobacillus and Bifidobacterium-containing yogurt on triple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1669-1675 [PMID: 12197847 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01335.x]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

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

# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。



《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能写成Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook. et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行,每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上



角注码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址:<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

## 2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: [www.gicasym.org](http://www.gicasym.org)

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: [info@keystonesymposia.org](mailto:info@keystonesymposia.org)

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: [cme.med.miami.edu/x88.xml](http://cme.med.miami.edu/x88.xml)

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [zhshfbwkzz@yahoo.com.cn](mailto:zhshfbwkzz@yahoo.com.cn)

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: [www.cag-acg.org/cddw](http://www.cag-acg.org/cddw)

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: [www.apaslconference.org](http://www.apaslconference.org)

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: [ewancool@hotmail.com](mailto:ewancool@hotmail.com)

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: [www.crdinnovation.com](http://www.crdinnovation.com)

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: [cihexpo@163.com](mailto:cihexpo@163.com)

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: [bithuiyi@163.com](mailto:bithuiyi@163.com)

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: [nancy@bitconferences.cn](mailto:nancy@bitconferences.cn)

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: [yangxinxue999@163.com](mailto:yangxinxue999@163.com)

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: [csonsc@VIP.163.com](mailto:csonsc@VIP.163.com)

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: [casgmail@126.com](mailto:casgmail@126.com)

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: [secretariat@apcc2013.com](mailto:secretariat@apcc2013.com)

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈敬贤 教授  
安徽医科大学微生物学教研室

程树群 副教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

崔云甫 教授  
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院

顾国利 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普通外科

顾岩 教授  
上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

郭永红 副主任医师  
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郝立强 副教授  
上海长海医院普外二科

何松 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

江学良 教授  
中国人民解放军济南军区总医院消化科

姜波健 教授  
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李涛 副主任医师  
北京大学人民医院肝胆外科

李永翔 教授  
安徽医科大学第一附属医院普外科

李勇 副教授  
上海中医药大学附属市中医医院消化科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授  
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

刘宝林 教授  
中国医科大学附属盛京医院

刘炳亚 研究员  
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘丽江 教授  
江汉大学医学院病理学

刘亮明 副教授  
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

刘颖斌 主任医师  
上海交通大学医学院附属新华医院

刘占举 教授  
同济大学附属上海市第十人民医院

禄韶 副教授  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

彭宗根 副研究员  
中国医学科学院医药生物技术研究病毒室

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

许剑民 教授  
上海市复旦大学附属中山医院普外科

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

张国 主任医师  
广西壮族自治区人民医院科研部

张明辉 副主任医师  
河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

赵青川 教授  
西京医院消化外科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





百世登  
**Baishideng**®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

