ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

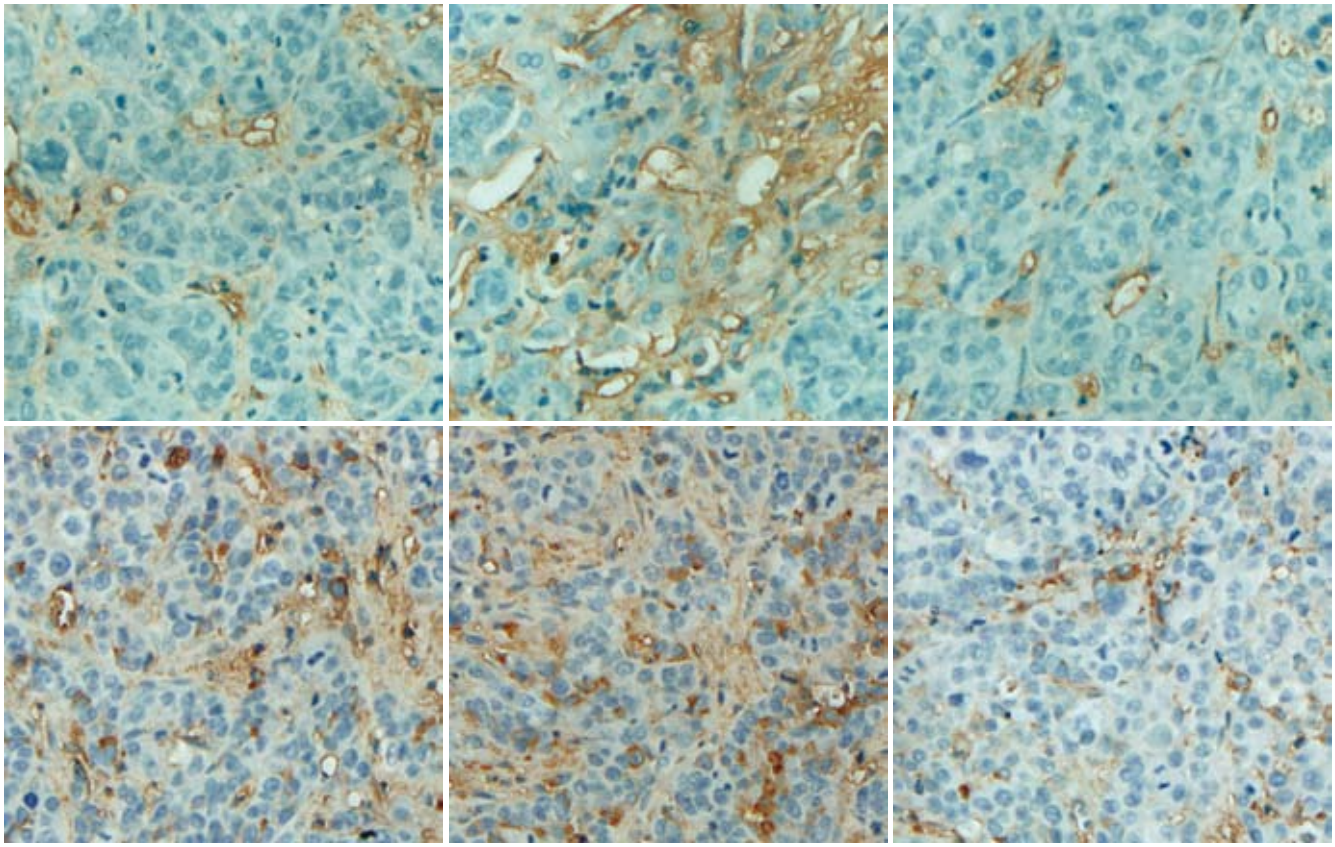
2009 年 2 月 18 日　　第 17 卷　　第 5 期　　(Volume 17 Number 5)

www.wjgnet.com

二零零九年二月十八日

第十七卷

第五期



5 | 2009

ISSN 1009-3079

名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31
wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
王宝恩教授
危北海研究员
吴孟超教授
杨春波教授
周殿元教授

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思凤教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

程英升教授
范学工教授
高毅主任医师
江学良主任医师
李岩教授
刘连新教授
吕宾教授
罗和生教授
聂青和教授
王小众教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
苌新明教授
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌副教授
迟宝荣教授
崔立红副教授
邓长生教授
丁士刚主任医师
董蕾教授
杜雅菊主任医师
樊晓明主任医师
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
高峰副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
郭晓钟教授
何松教授
洪天配教授
胡伏莲教授
胡和平主任医师
黄晓东副主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠副教授
江米足主任医师
姜春萌教授
姜慧卿教授
金瑞教授
蓝宇教授
李定国教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
李玉明教授
李祖国副教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授
马欣主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉副教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈守荣教授
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
宋于刚教授
唐世刚教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党副教授
王晓艳副教授
闻勤生教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
许乐主任医师
杨建民教授
姚树坤教授
叶红军主任医师
张春清教授
张国梁主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张晓岚教授
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永副教授
郑鹏远教授
周国雄主任医师
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

消化外科学

别平教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈力教授
陈立波副教授
陈凛教授
陈强谱教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程爱群主任医师
程树群副教授
仇毓东副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰副主任医师
丁义涛教授
董明教授
房林副教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
葛海燕教授
龚建平教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何超教授
何裕隆教授
黄志勇副教授
季加孚教授
英卫东副主任医师
蒋龙元副教授
李国威教授
李华副教授
李华山副主任医师
李靖副教授
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗副教授
李旭副教授
梁力建教授
刘超副教授
刘建教授
刘作金副教授
卢实春教授
陆才德教授
禄韶英副主任医师
吕明德教授
吕云福教授
彭吉润主任医师
彭心宇教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民副主任医师
邱宝安主任医师
邱双健副教授
邱伟华副主任医师
裘正军教授
沈柏用副教授
沈世强教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙学英教授
孙延平副主任医师
邰升副教授
汤恢焕教授
田晓峰教授
汪波副主任医师
汪根树副教授
王春友教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
王广义教授
王健生副教授
王鲁副教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王要军教授
王悦华副主任医师

世界华人消化杂志®

编辑委员会

王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴河水教授
吴健雄教授
吴金术教授
吴泰璜教授
吴志勇教授
谢敏主任医师
谢晓华副教授
邢光明教授
徐大华主任医师
徐迅迪副主任医师
徐泱副主任医师
许戈良教授
严律南教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
杨秋蒙副主任医师
杨维良教授
伊力亚尔·夏合丁教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于则利教授
郁宝铭教授
元云飞教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张群华教授
张水军教授
张宗明教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松副研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
陈耀凯副教授
陈志辉副主任医师
党双锁教授
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
何生松教授
胡国信副主任医师
林菊生教授
刘杞教授
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
钱林学主任医师
秦波教授
石统东副教授
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
唐霓副研究员
唐晓鹏教授
王凯教授
王怡主任医师
魏来教授
吴建国教授
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副主任医师
杨林副研究员
姚鹏副教授
张继明教授
张明辉副主任医师
张绪清副教授
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵连三教授
周霞秋教授
朱传武副主任医师
庄林主任医师

消化中医药学

蔡淦教授
陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
李军祥教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘孟安教授
刘平教授
刘绍能主任医师
沈洪教授
唐志鹏研究员
王富春教授
王新月教授
谢鸣教授
徐列明教授
许玲副教授
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰主任医师
曹志成院士
陈公琰主任医师
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘彬彬副研究员
刘云鹏教授
沈克平主任医师
肖文华主任医师
熊斌教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
陈克敏教授
官泳松教授
韩新巍教授
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐爱民副教授
徐克教授
扬业发教授
杨建勇教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授
郝俊鸣副主任医师
潘林娜教授
孙明军教授
万军教授
吴硕东教授
袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
樊红副教授
高春芳研究员
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
胡旭初副教授
黄文林教授
李刚教授
李杰副教授
李永哲副研究员
李增山副教授
刘克辛教授
梅林教授
彭曦副研究员
钱睿哲教授
任超世研究员
任浩副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田颖刚副研究员
汪思应教授
吴军研究员
吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
姚登福教授
阴赖宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬副教授
张青云研究员
张学教授
赵平副教授
周南进研究员
周士胜教授
周素芳教授
周晓东研究员
周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
李淳副教授
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
马大烈教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
魏蕾教授
阎晓初副教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵景民教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2009 年 2 月 18 日　第 17 卷　第 5 期　(总第265期)

述　评

441 如何评估胰头十二指肠切除的难度和可能性
吴金术, 彭创

基础研究

444 IRAK-M短发夹RNA对RAW264.7细胞内毒素耐受性的抑制作用
李旭宏, 陈先锋, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平

449 槐耳清膏联合化疗栓塞对兔VX2肝癌肝功能、VEGF及MVD的影响
任建庄, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 夏向文, 赵辉, 段旭华

454 酵母双杂交技术筛选人胰腺细胞中HCV 1b NS3结合蛋白基因
胡传翠, 张锦前, 王琦, 李国力, 李朝品, 成军

459 *c-myc*反义寡核苷酸对结肠癌HT-29细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响
邵国利, 吴爱国, 焦得阎, 纪术峰

临床研究

464 多层螺旋CT灌注成像技术对肝硬化储备功能的评估
刘剑仑, 苏丹柯, 杨华伟, 许宇彪, 王彩红, 李强, 韦长元

焦点论坛

470 胰头十二指肠切除术研究进展
吴金术, 彭创, 钟德玠, 李汉贤, 陈道瑾, 成伟, 王群伟, 刘威, 余子建, 戴小明

471 血管变异与胰头十二指肠切除
彭创, 吴金术

473 胰十二指肠切除术中的胰颈与纤维板的切断
钟德玠

476 胰十二指肠切除术消化道重建方法的争议和评价
李汉贤

482 胰十二指肠切除术的出血和止血
陈道瑾, 成伟

485 扩大的胰头十二指肠切除术
王群伟, 刘威

490 胰腺癌扩大根治手术与血管骨骼化问题探讨
余子建, 戴小明

文献综述

495 TFF3与胃癌关系研究进展
许鸿志, 任建林

研究快报

500 姜黄素固体分散体对酒精性肝损伤大鼠氧化应激的影响
韩刚, 姚国贤, 原海忠, 董月

临床经验

504 无症状贲门松弛患者酸反流食管动力检测及意义
张定国, 崔毅

508 胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗97例
罗红彬, 胡中伟, 郭家伟

512 香砂六君颗粒对脾虚患者及大鼠胃肠运动的调节作用
李志, 肖国辉, 徐州, 段国勋, 杨晓华

516 足三里梁门胃俞穴区红外辐射与慢性胃痛的相关规律及其应用
常小荣, 严洁, 易受乡, 岳增辉, 林亚平

521 腹腔镜下经胆囊管内置管(c管)引流术
张光辉, 吴硕东, 苏洋, 李英
524 基于64层螺旋CT断层图像的影像后处理-大肠三维重建及虚拟内镜
俞金龙, 黄宗海, 陈海金, 方驰华
529 腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术的安全性
张超, 刘涛, 余佩武, 甘露, 刘立业
532 APC基因MCR区突变与大肠肿瘤患者临床发病的关系
冯莉芳, 赖仁胜, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐翔, 陈彤, 耿建祥

致　　谢

538 致谢世界华人消化杂志编委

消　　息

443 世界华人消化杂志英文摘要要求
448 中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志2007年影响因子0.568
453 世界华人消化杂志名词术语标准
469 2007年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序
475 世界华人消化杂志数字用法标准
489 世界华人消化杂志中文摘要要求
494 世界华人消化杂志参考文献要求
499 世界华人消化杂志标点符号用法
503 第二十一次全国中西医结合消化学术会议征文通知
520 世界华人消化杂志计量单位标准
523 世界华人消化杂志正文要求
537 世界华人消化杂志外文字符标准

封面故事

任建庄, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 夏向文, 赵辉, 段旭华. 槐耳清膏联合化疗栓塞对兔VX2肝癌肝功能、VEGF及MVD的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 449-453
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/449.asp

本期责任人

编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 吴鹏朕; 责任编辑 李军亮; 英文编辑 张海宁, 张晓枚; 审核编辑 张海宁; 形式规范 马连生

世界華人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)
创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2009-02-18
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣
总　编　辑 马连生
常务副总编辑 张海宁
编辑部主任 张海宁
期刊名称 世界华人消化杂志
主管单位 山西省科学技术厅
主办单位 太原消化病研治中心

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
出版 世界华人消化杂志编辑部
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044，北京市399信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界华人消化杂志编辑部
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.

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

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

2009年版权归世界华人消化杂志所有

中国标准连续出版物号 ISSN 1009-3079 / CN 14-1260/R　邮发代号 82-262　国外代号 M 4481　国内定价 每期24.00元 全年864.00元　广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

February 2009 Contents in Brief Volume 17 Number 5

EDITORIAL

441 How to assess the difficulty and possibility of pancreatoduodenectomy
Wu JS, Peng C

BASIC RESEARCH

444 Inhibitory effect of short hairpin RNA targeting IRAK-M gene for endotoxin tolerance in RAW264.7 cells
Li XH, Chen XF, You HB, Liu HZ, Liu ZJ, Gong JP

449 Effect of Huaier extract combined with chemoembolization on the expression of VEGF, MVD and hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma
Ren JZ, Zheng CS, Feng GS, Liang HM, Xia XW, Zhao H, Duan XH

454 Screening of proteins binding to HCV 1b NS3 protein from human pancreas cDNA library by yeast two-hybrid system
Hu CC, Zhang JQ, Wang Q, Li GL, Li CP, Cheng J

459 Effect of *c-myc* antisense oligodeoxynucleotides on proliferation, apoptosis and chemosensitivity of colorectal cancer cell line HT-29
Shao GL, Wu AG, Jiao DC, Ji SF

CLINICAL RESEARCH

464 Evaluation of liver reserve function with multi-slice spiral CT perfusion imaging
Liu JL, Su DK, Yang HW, Xu YB, Wang CH, Li Q, Wei CY

TOPIC HIGHLIGHT

470 Advances in pancreatoduodenectomy
Wu JS, Peng C, Zhong DW, Li HX, Chen DJ, Cheng W, Wang QW, Liu W, Yu ZJ, Dai XM

471 Vascular variant and pancreatoduodenectomy
Peng C, Wu JS

473 Dissection of pancreatic neck and fiberboard in pancreatoduodenectomy
Zhong DW

476 Controversies and appraisals about gastrointestinal reconstruction in pancreatoduodenectomy
Li HX

482 Hemorrhage and hemostasis of pancreatoduodenectomy
Chen DJ, Cheng W

485 Extended pancreatoduonectomy
Wang QW, Liu W

490 An exploration of the extended lymph node dissection and skeletonization of the vasculature for pancreatic adenocarcinoma
Yu ZJ, Dai XM

REVIEW

495 Advance in relationship between TFF3 and gastric cancer
Xu HZ, Ren JL

RAPID COMMUNICATION

500 Effects of curcumin solid dispersion on oxidative stress of alcoholic hepatic injury in rats
Han G, Yao GX, Yuan HZ, Dong Y

CLINICAL PRACTICE

504 Detection of acid reflux and esophageal motor function for asymptomatic patulous cardia patients and its significance
Zhang DG, Cui Y

508 Endoscopic therapy for hemorrhage from gastric varices: an analysis of 97 cases
Luo HB, Hu ZW, Guo JW

512 Action of Xiangshaliujun granule on gastrointestinal peristalsis in experimental rats and patients with spleen deficiency syndrome

Li Z, Xiao GH, Xu Z, Duan GX, Yang XH

516 Relation of the infrared radiation on Zusanli, Liangmen and Weishu area with chronic gastric pain and its application
Chang XR, Yan J, Yi SX, Yue ZH, Lin YP

521 Laparoscopic c-tube biliary drainage
Zhang GH, Wu SD, Su Y, Li Y

524 Image post-processing based on 64-slice helical CT sectional images: three-dimensional reconstruction and virtual endoscopy of large intestine
Yu JL, Huang ZH, Chen HJ, Fang CH

529 Evaluation of laparoscopic D3 radical correction with pelvic autonomic nerve preservation for rectal cancer
Zhang C, Liu T, Yu PW, Gan L, Liu LY

532 Correlation of APC MCR mutation with colorectal neoplasms
Feng LF, Lai RS, Liu L, Xie L, Wu XB, Zhang SP, Tang X, Chen T, Geng JX

ACKNOWLEDGMENT

538 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology

COVER

Ren JZ, Zheng CS, Feng GS, Liang HM, Xia XW, Zhao H, Duan XH. Effect of Huaier extract combined with chemoembolization on the expression of VEGF, MVD and hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma.
Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 449-453
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/449.asp

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiao-Fang Liu* Review Editor: *Jun-Liang Li* Electronic Page Editor: *Peng-Zhen Wu*
Editor-in-Charge: *Jun-Liang Li* English Language Editor: *Hai-Ning Zhang, Xiao-Mei Zhang*
Proof Editor: *Hai-Ning Zhang* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date Fabruary 18, 2009

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION
Department of Science and Technology of Shanxi Province

SPONSOR
Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

EDITING
Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wcjd@wjgnet.com

PRINTING
Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING
Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

OVERSEAS DISTRIBUTOR
Beijing Bureau for Distribution of Newspapers and Journals (Code No. 82-261)
China International Book Trading Corporation PO Box 399, Beijing, China (Code No. M4481)

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF
Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF
Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS
Director: Hai-Ning Zhang

SUBSCRIPTION
RMB 24 Yuan for each issue
RMB 864 Yuan for one year

CSSN
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT
© 2009 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS
Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

Copyright © 2009 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 441-443
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

述评 EDITORIAL

如何评估胰头十二指肠切除的难度和可能性

吴金术, 彭 创

吴金术, 彭创, 湖南省人民医院肝胆科 湖南省长沙市 410005
吴金术, 教授, 主要从事肝胆胰脾外科疾病方面的研究.
通讯作者: 彭创, 410005, 湖南省长沙市, 湖南省人民医院肝胆科. pengchuangcn@163.com
收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2009-02-08
接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-02-18

How to assess difficulty and the possibility of pancreatoduodenectomy

Jin-Shu Wu, Chuang Peng

Jin-Shu Wu, Chuang Peng, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan Province, China
Correspondence to: Chuang Peng, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, China. pengchuangcn@163.com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-08
Accepted: 2009-02-09 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

Pancreatoduodenectomy has wide use and also puts high technical requirements with more postoperative complications. How to assess the difficulty and the possibility of pancreatoduodenectomy and to avoid negative laparotomy has been a question that concerns people. The aim of this paper is to introduce some of our experience dealing with pancreatoduodenectomy.

Key Words: Pancreatoduodenectomy; Laparotomy; Resection range

Wu JS, Peng C. How to assess difficulty and the possibility of pancreatoduodenectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 441-443

摘要

胰头十二指肠切除术切除范围大, 对手术技术要求高, 术后并发症多. 如何在术前评估胰头十二指肠切除的难度和可能性, 避免阴性剖腹探查, 是当今人们关注的热点. 本文结合文献介绍一些经验如下.

关键词: 胰头十二指肠切除术; 剖腹探查; 切除范围

吴金术, 彭创. 如何评估胰头十二指肠切除的难度和可能性. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 441-443
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/441.asp

0 引言

胰头十二指肠切除术逐年增加. 湖南省肝胆医院2008年施行胰头十二指肠切除术161例, 是1990年的53.7倍, 切除率达92%. 如何在术前评估胰头十二指肠切除的难度和可能性, 避免阴性剖腹探查, 已是当今人们关注的热点[1-2]. 就此, 谈谈我们的体会.

1 病史

患者在以下情况下, 提示手术将有困难: (1)过去有胆道手术、胆管囊状扩张症内引流或医源性远段胆管损伤史; (2)过去患有重症胰腺炎或并发胰头周脓肿; (3)近期并发胆道感染, 急性梗阻性化脓性胆管炎(acute obstructive suppurative cholangitis, AOSC).

2 症状及体征

患者顽固性腰背部疼痛, 提示肿瘤已累及腹腔神经丛. 腹部检查已扪及胰头肿块及明显腹水征.

3 疾病的性质

适应胰头十二指肠切除术的疾病很多, 如十二指肠乳头腺癌、壶腹癌、总胆管下段癌、胰腺导管癌、胆管囊状扩张症恶性变、慢性胰腺炎、医源性远段胆管损伤、胰管结石Type Ⅰ、胰头外伤、十二指肠憩室恶变等.

十二指肠乳头腺癌切除率最高, 湖南省人民医院1990-2008年收治十二指肠乳头腺癌538例, 切除率达98%. 1例十二指肠乳头腺癌肿块直径达6 cm×5 cm×4 cm, 顺利予以切除, 未予输血. 胰管结石Type Ⅰ并长期反复胰腺炎, 施行胰头十二指肠切除十分艰难. 湖南省人民医院1990-2008年收治胰管结石Type Ⅰ共38例, 施行胰头十二指肠切除, 平均手术时间7.2 h, 最长的1例达16 h. 胰腺钩突的癌瘤手术难度大. 医源性

■背景资料
1935年, Whipple创造胰头十二指肠切除术. 80多年来, 由于现代影像技术的发展和应用, 外科手术技术的飞跃进步, 使胰头十二指肠切除术得到长足发展. 胰头十二指肠切除术逐年增加. 这一腹内最复杂的手术, 已逐步在各级医院开展, 但并发症仍不时发生, 引起人们高度关注.

■同行评议者
王凤山, 教授, 中国医科大学附属第一医院肝胆外科; 杨维良, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科; 程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

■研发前沿
如何在术前评估胰头十二指肠切除的难度和可能性, 避免阴性剖腹探查, 已是当今人们关注的热点.

远段胆管损伤并发胰周感染, 瘘管道形成.

4 术前影像学检查

术前影像学检查对评估胰头十二指肠切除术的可能性十分重要. 目前检查的手段很多, 如B超、CT、MRCP、核磁共振血管成像等, 但目前临床使用最多的还是CT.

4.1 肿瘤的大小 一般说, 胰头肿瘤的直径大于6 cm切除的可能性小, 这不是绝对的, 笔者曾给1例70岁的胰头肿瘤直径11 cm的患者成功地进行了胰头十二指肠切除术. 肿瘤小不等于都可以切除, 如肿瘤直径虽然只有3 cm, 但位于胰腺钩突包绕肠系膜上静脉或门静脉时, 常难以切除.

4.2 肠系膜上静脉、门静脉的变化 (1)血管断面的改变. 增强CT表现为血管腔狭窄和血管形状的异常, 形似阿米巴滋养体, 笔者称之为血管阿米巴征, 常难以切除. (2)血管受累的长度. 通过薄层扫描CT能较准确地估算受累血管的长度. 一般地说, 受累血管的长度越长, 手术难度越大. (3)受累血管的位置. 一般说, 受累血管位于门静脉、肠系膜上静脉与脾静脉汇合处, 手术难度大. (4)门静脉、肠系膜上静脉周的脂肪间隙(或称脂肪环)消失, 说明血管受累, 周围粘连致密. (5)血管行径. 在正常的情况下, 门静脉、肠系膜上静脉呈直线相连, 但由于肿瘤或炎症的粘连致使血管行径发生改变, 这种改变越大, 手术越难. 由于胰钩突的肿瘤、肠系膜上静脉、门静脉被挤压推移向前, 呈前后弓状, 亦可压迫推移靠近腹主动脉, 呈后前弓状, 后者难以处理; 由于胰头的肿块的压迫致使门静脉、肠系膜上静脉向左侧移位, 致使肠系膜上静脉与门静脉呈直角相交, 或呈蛇形, 以致在过“三关”时易损伤肠系膜上静脉、门静脉或脾静脉, 甚至终止手术. (6)肠系膜上静脉外科干消失, 或肠系膜上静脉、胰系膜下静脉、结肠中静脉共同汇合后与脾静脉合流, 致使通过胰头沟困难、出血,甚至手术无法进行.

4.3 动脉的变异 通过核磁共振血管成像, 常能提供肠系膜上动脉、肝右动脉、胃十二指肠动脉的变异的变异, 给胰十二指肠切除术增加很多困难. (1)肝右动脉源于肠系膜上动脉, 走行于总胆管右侧, 在离断胰腺纤维板时, 易损伤肝右动脉. (2)肠系膜上动脉异位于肠系膜上静脉右后侧, 在断离胰钩突纤维板时, 易损伤肠系膜上动脉, 致整个肠缺血. (3)胃十二指肠动脉源于肠系膜上动脉, 移行成肝固有动脉. 胃十二指肠动脉穿行于胰头实质内, 其发生率约为0.4%(3/718), 手术十分困难. 笔者曾先后遇这种病例3例, 每次仅游离胃十二指肠动脉, 历时1.5 h, 而且出血多.

4.4 肝转移及淋巴结转移 肝转移多已失去胰头十二指肠切除机会. 肠系膜根部、腹腔动脉干以及腹主动脉旁淋巴结转移, 多已失去胰头十二指肠切除的价值.

5 发展专科的外科技术, 提高胰头十二指肠切除率

手术切除的难和易, 没有一个公认的标准, 各个医生、各个医院手术切除率不一[3-5], 各个医生、各个医院不同阶段切除率不一样, 随着专科手术技术的发展、进步, 切除率相适应提高. 湖南省人民医院外科1976年胰头十二指肠切除仅3例, 切除率仅15%左右, 到2008年切除率达92%. 胰头十二指肠切除术主要是肠系膜上静脉、门静脉的显露和消化系的重建两个步骤, 影响切除率的关键在前者.

5.1 游离胰头十二指肠 握其于术者“手中”, 是显露、剥离肠系膜上静脉、门静脉的安全基础,可以说是进行胰头十二指肠切除术的“安全阀”.

5.2 胰颈以下的肠系膜上静脉显露 显露胰颈以下的肠系膜上静脉的途径有5条[6], 经右路是捷径.

5.3 胰颈内肠系膜上静脉的显露 切开肠系膜上静脉血管鞘, 由下向上逆行, 对准肝门方向分离. 切开门静脉鞘, 由上向下顺行对准肠系膜上静脉方向分离. 在较为困难时, 可以“四边法”切开胰颈上半显现门静脉后, 再在直视下显露肠系膜上静脉.

5.4 胃十二指肠动脉的显露 (1)大多数情况下, 循肝固有动脉右下方“顺藤摸瓜”, 直接于其起始部显露、结扎、切断胃十二指肠动脉, 这是条捷径; (2)经胰颈的上缘与胃十二指肠动脉间的三角区, 紧贴胃十二指肠动脉搏动处作仔细分离; (3)以直角弯钳于门静脉前紧贴胃十二指肠动脉后壁, 对准胰颈的上缘, 仔细分离; (4)辨清肝固有动脉、门静脉、胰颈上缘, 扪清胃十二指肠动脉搏动处,“四边法”[7]予以缝扎、切断; (5)少数胃十二指肠动脉变异不清, 或局部粘连, 解剖不清时, 亦可先断胰颈后, 再离断胃十二指肠动脉.

5.5 门静脉的显露 大多数情况下, 离断肝总管或胆总管上段, 剔除肝十二指肠韧带右侧淋巴结, 显露胃十二指肠上动脉以上的门静脉; 从下向

上逆行对准肝门分离; 从上向下顺行对准肠系膜上静脉分离;“四边法”逐步切断胰颈下半, 直视下仔细逐步切除胰头上半段, 显露门静脉. 在十分困难的情况下, 先切除胰头十二指肠大块标本后作如下处理: (1)作好门静脉、肠系膜上静脉、脾静脉“三套带”[8], 使局部成无血区, 切除残存胰头颈组织, 显露门静脉、肠系膜上静脉. (2)以心耳钳钳夹门静脉或肠系膜上静脉右半侧, 再削除残留的胰组织, 显露门静脉或肠系膜上静脉.

5.6 十分困难的情况下, 先切除胰头十二指肠大块标本后作如下处理 (1)作好门静脉、肠系膜上静脉、脾静脉“三套带”[8], 使局部成无血区, 切除残存胰头颈组织, 显露门静脉、肠系膜上静脉. (2)以心耳钳钳夹门静脉或肠系膜上静脉右半侧, 再削除残留的胰组织, 显露门静脉或肠系膜上静脉.

5.7 胰头沟显露胰颈处的肠系膜上静脉、门静脉情况下, 如何切除胰头十二指肠 这种情况多见于胰头良性病变的胰头十二指肠切除, 如胰管结石TypeⅠ、胰腺炎等, 其手术的策略是“化整为零”. 具体方法是先切除胰头十二指肠大块标本, 再清除残存的胰头、胰颈组织. 手术时, 应注意以下几点: (1)先看清门静脉、肠系膜上静脉右侧缘; (2)术者手握住胰头十二指肠; (3)以电凝或“四边法”距门静脉、肠系膜上静脉右缘联线右侧1 cm, 逐层断离胰头; (4)直视下逐步“蚂蚁啃骨头”般清除残存的胰腺组织.

■**同行评价**
本文结合自己的经验, 论述了胰头十二指肠切除的难度和可能性, 内容详实, 有独到之处, 是一篇优秀的作品.

6 参考文献

1 吴金术, 刘初平, 易为民, 杨平洲, 刘翔峰, 龚伟智. 11年间胰十二指肠切除术196例经验. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 701-702
2 彭淑牖, 刘颖斌. 胰、十二指肠切除方法. 肝胆胰外科杂志 2004; 16: 237-238
3 张群华, 倪泉兴. 努力推进胰腺癌规范治疗. 中华医学杂志 2007; 87: 1086-1087
4 戴存才, 苗毅, 刘训良, 徐泽宽, 钱祝银, 蒋奎荣, 吴峻立, 奚春华. 专业组与非专业组胰十二指肠切除之比较. 中华肝胆外科杂志 2005; 11: 665-667
5 Iqbal N, Lovegrove RE, Tilney HS, Abraham AT, Bhattacharya S, Tekkis PP, Kocher HM. A comparison of pancreaticoduodenectomy with pylorus preserving pancreaticoduodenectomy: a meta-analysis of 2822 patients. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 1237-1245
6 吴金术. 吴金术肝胆胰外科. 第1版. 长沙: 中南工业大学出版社, 2003: 484-490
7 吴金术. 临床胆石病学. 第1版. 长沙: 湖南科技出版社, 1998: 431-436
8 彭淑牖, 洪德飞, 许斌, 严力锋, 王建伟, 刘颖斌, 李江涛, 钱浩然, 牟一平, 蔡秀军. 简易胰门三头控制技术在困难型胰十二指肠切除术中的应用. 中华外科杂志 2007; 45: 1466-1468

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志英文摘要要求

本刊讯 本刊英文摘要包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致. 具体格式要求如下: (1)题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致; (2)作者 署名一般不超过8人. 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”; (3)单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China; (4)基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801; (5)通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com; (6)收稿及修回日期 格式如: Received: Revised: . (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 444-448
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

IRAK-M短发夹RNA对RAW264.7细胞内毒素耐受性的抑制作用

李旭宏, 陈先锋, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平

■背景资料
内毒素又名脂多糖, 是G⁻细菌最重要的致病物质, 能激活单核-巨噬细胞系统并引起大量炎症介质释放, 导致全身过度炎症反应及器官损害. 内毒素耐受是生物在长期进化过程中形成的一种保守的负反馈调节机制, 能避免机体对脂多糖刺激的持续过度反应.

李旭宏, 重庆三峡中心医院肝胆外科 重庆市 404000
陈先锋, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 重庆市 400010
李旭宏, 2002级重庆医科大学外科博士, 主要从事感染信号转导机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30471696, No. 30500473
作者贡献分布: 本课题由刘作金与龚建平设计; 研究过程由李旭宏, 陈先锋, 游海波, 刘海忠及刘作金操作完成; 数据分析及论文写作由李旭宏完成.
通讯作者: 龚建平, 400010, 重庆市渝中区临江路74号, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科. gongjianping11@hotmail.com
电话: 023-63036701
收稿日期: 2008-12-09 修回日期: 2009-01-16
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Inhibitory effect of short hairpin RNA targeting IRAK-M gene for endotoxin tolerance in RAW264.7 cells

Xu-Hong Li, Xian-Feng Chen, Hai-Bo You, Hai-Zhong Liu, Zuo-Jin Liu, Jian-Ping Gong

Xu-Hong Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Chongqing Three Gorge Central Hospital, Chongqing 404000, China
Xian-Feng Chen, Hai-Bo You, Hai-Zhong Liu, Zuo-Jin Liu, Jian-Ping Gong, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30471696, No. 30500473
Correspondence to: Dr. Jian-Ping Gong, Department of Hepatobiliary Surgery, Second Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, 74 Linjiang Road, Yuzhong District, Chongqing 400010, China. gongjianping11@hotmail.com
Received: 2008-12-09 Revised: 2009-01-16
Accepted: 2009-01-19 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To explore the role of IRAK-M in the development of endotoxin tolerance by silencing the gene of interleukin-1 receptor associated kinase-M (IRAK-M) in RAW264.7 cells by the specific short hairpin RNA (shRNA).

METHODS: The recombinant plasmids expressing effective shRNA (pshIRAK-M-A) or invalidated shRNA (pshIRAK-M-B) targeting IRAK-M gene were constructed and were transfected into RAW264.7 cells. Cells were stimulated by 100 μg/L LPS with or without 10 μg/L LPS pretreatment. At 3 h after LPS stimulation, the TNF-α level in culture medium was measured using ELISA, the expression of TNF-α mRNA was detected using RT-PCR, the expression of IRAK-M protein was detected by Western blotting and the activation of NF-κB was detected by electrophoretic mobility shift assay (EMSA).

RESULTS: The gene expression of IRAK-M in RAW264.7 cells was reduced about 83% by pshIRAK-M-A transfection. pshIRAK-M-B transfection hardly inhibited IRAK-M gene expression. At 3 h after 100 μg/L LPS stimulation, the TNF-α level in culture medium, the TNF-α mRNA expression and the NF-κB activity in cells had no significant difference between two kinds of transfected cells without LPS pretreatment. Two kinds of transfected cells both showed obviously attenuated response to 100 μg/L LPS stimulation after LPS pretreatment ($P < 0.05$), but this response was more intense in cells transfected by pshIRAK-M-A than in cells transfected by pshIRAK-M-B ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The inhibition of IRAK-M gene expression results in the attenuation of endotoxin tolerance in RAW264.7 cells, and IRAK-M plays an important role in the development of endotoxin tolerance.

Key Words: RAW264.7 cells; Endotoxin tolerance; Interleukin-1 receptor associated kinase-M; Electrophoretic mobility shift assay

Li XH, Chen XF, You HB, Liu HZ, Liu ZJ, Gong JP. Inhibitory effect of short hairpin RNA targeting IRAK-M gene for endotoxin tolerance in RAW264.7 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 444-448

摘要

目的: 观察白介素-1受体相关激酶-M(IRAK-M)基因沉寂后RAW264.7细胞内毒素耐受性的改变, 进而探讨IRAK-M在内毒素耐受形成中的作用.

■同行评议者
李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

方法: 构建表达IRAK-M短发夹RNA(shRNA)的阳性重组质粒(pshIRAK-M-A)和阴性重组质粒(pshIRAK-M-B), 转染RAW264.7(小鼠单核巨噬细胞系)细胞; 各组细胞经10 μg/L脂多糖(LPS)预处理24 h后(或直接)用100 μg/L LPS刺激; 3 h后, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测培养液中TNF-α水平, 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测细胞中的TNF-α mRNA表达水平, 蛋白印迹法(Western blotting)检测细胞中IRAK-M蛋白的表达, 凝胶电迁移率分析法(EMSA)检测细胞中NF-κB的活性.

结果: pshIRAK-M-A对IRAK-M蛋白表达抑制率为83%左右, pshIRAK-M-B对IRAK-M蛋白表达无明显抑制作用; 两种转染细胞在用100 μg/L LPS直接刺激后, 其培养液中TNF-α水平、细胞内TNF-α mRNA表达及NF-κB活性无显著性差异; 两种转染细胞对LPS的再次应答均明显弱于初次应答细胞(P<0.05), 但pshIRAK-M-A转染组细胞对LPS的再次应答明显强于pshIRAK-M-B转染组细胞(P<0.05).

结论: IRAK-M表达受抑导致细胞内毒素耐受性减弱, IRAK-M在内毒素耐受形成中起重要作用.

关键词: RAW264.7细胞; 内毒素耐受; 白介素-1受体相关激酶-M; 凝胶电迁移率分析法

李旭宏, 陈先锋, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平, IRAK-M短发夹RNA对RAW264.7细胞内毒素耐受性的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 444-448
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/444.asp

0 引言

内毒素是G⁻细菌细胞壁上的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)成分, 能激活单核-巨噬细胞系统(mononuclear phagocytic system, MPS), 引起TNF-α等大量炎症介质释放, 导致全身过度炎症反应[1-3]. 针对内毒素性损害, 生物在长期进化过程中形成了一种内源性保护机制, 即内毒素耐受(endotoxin tolerance). 所谓内毒素耐受是指: 机体或单核-巨噬细胞受LPS初次刺激后, 对LPS的再次刺激呈低反应性[4-5]. 尽管该现象已被发现多年, 其形成机制仍有待明确. 近来有研究表明[6-8], 白介素-1受体相关激酶-M(interleukin-1 receptor associated kinase-M, RAK-M)可能参与内毒素耐受的形成, 但还需进一步证实. 本研究通过构建表达IRAK-M短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)的重组质粒, 并转染RAW264.7细胞, 观察细胞内毒素耐受性的改变, 从而阐明IRAK-M在内毒素耐受形成中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 RAW264.7细胞株购自中国科学院上海细胞生物研究所; JM109菌株及表达载体质粒pGenesil-1由重庆医科大学肝病研究所唐琳博士惠赠; 脂多糖(*E.coli*. O111:B4)购自美国Sigma公司; DMEM培养基及特级胎牛血清购自美国Hyclone公司; 兔抗IRAK-M多克隆抗体购自美国AnaSpec公司; 小鼠TNF-α ELISA试剂盒及Western blot检测试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司; 质粒抽提试剂盒WizardR PureFection Plasmid DNA Purification System购自美国Promega公司; 转染试剂盒Lipofectamine 2000为美国invitrogen公司产品; T4 DNA连接酶、限制性内切酶*Bam*HⅠ、*Hin*dⅢ、*Xal*Ⅰ及RT-PCR试剂盒为TaKaRa公司产品; NF-κB双链寡脱氧核苷酸探针由上海生工合成; 短发夹RNA所需寡核苷酸序列合成及测序由上海鼎安生物科技有限公司完成.

1.2 方法

1.2.1 重组表达载体的构建: (1)shRNA的设计及合成: 获取GenBank中小鼠IRAK-M基因cDNA序列(AJ440757), 经Dharmacon公司siRNA设计软件设计出RNAi靶序列, 并通过BLAST检索其特异性; 根据载体pGenesil-1的酶切位点, 合成针对IRAK-M编码区285-303 bp的DNA片段; 阳性序列(A)正义链为: 5'-*TCA ACG AGC TAT CCA CTT A*-3', 反义链为: 5'-*TAA GTG GAT AGC TCG TTG A*-3'; 阴性序列(B)正义链为: 5'-*TCA ACG AGC TAT CCA CTA T*-3', 反义链为: 5'-*ATA GTG GAT AGC TCG TTG* A-3'; 茎环结构为9个与IRAK-M不互补的非同源碱基(TTCAAGACG), 末端终止子为TTTTTT, 在合成DNA片段末端设计*Bam*H Ⅰ和*Hin*d Ⅲ酶切位点, 合成IRAK-M的DNA片段如下: *Bam*HⅠ+Sense+Loop+Antisense+终止信号+*Hin*d Ⅲ. 将合成的DNA片段及其带有相同酶切位点的互补序列分别溶于灭菌水中, 浓度为100 μmol/L, 每对互补链各取1 μL, 加入退火缓冲液, 95℃加热5 min后, 冷却至室温, 使之形成双链DNA片段. (2)质粒重组: pGenesil-1以*Bam*HⅠ和*Hin*d Ⅲ双酶切, 经琼脂糖凝胶电泳证实酶切完全并回收, 用T4 DNA连接酶将双链DNA片段与回收的线

■研发前沿
近来的研究表明, 白介素1受体相关激酶-M(IRAK-M)对脂多糖信号通路起负性调节作用, 可能参与内毒素耐受的形成机制.

■相关报道
IRAK-M主要在单核-巨噬细胞中表达, 尽管有文献报道IRAK-M可能参与内毒素耐受形成, 但也研究得出不同的结论.

■创新盘点
本研究利用IRAK-M短发夹RNA抑制小鼠单核巨噬细胞系RAW264.7细胞的IRAK-M基因表达, 深入研究了IRAK-M与内毒素耐受的关系.

性化载体进行连接, 即得重组表达载体. (3)重组表达载体的扩增及鉴定: 将重组质粒转化JM109感受态细菌后, 接种于含卡那霉素的LB琼脂糖平板, 挑取单菌落放入含卡那霉素的LB液体培养基中振荡扩增; 用Promega公司质粒抽提试剂盒WizardR PureFection Plasmid DNA Purification System提取重组质粒; 重组质粒通过*Bam*HⅠ、*Hin*d Ⅲ及*Xal*Ⅰ酶切鉴定后选出阳性克隆, 经测序进一步证实重组表达载体构建成功.

1.2.2 细胞转染及实验分组: (1)细胞转染: 将RAW264.7细胞以10^8/L的密度接种至24孔培养板中; 48 h后, 细胞融合达80%-90%, 换用不含抗菌素的DMEM培养基培养过夜; 按说明书分别进行pshIRAK-M-A和pshIRAK-M-B转染; 24 h后, 在荧光显微镜下观察见胞质内有大量绿色荧光蛋白(EGFP)表达, 转染率达85%左右, 符合实验需要. (2)实验分组及处理: 转染细胞分组前处理: 分别用pshIRAK-M-A和pshIRAK-M-B转染RAW264.7细胞, 转染48 h后用1.25 g/L胰酶和0.1 mol/L EDTA消化细胞, 调整细胞浓度为10^8/L, 接种至24孔培养板, 每孔1 mL, 常规培育12 h. IRAK-M蛋白表达检测: 实验分为pshIRAK-M-A转染组, pshIRAK-M-B转染组及非转染组; 各组细胞先经10 μg/L LPS预处理24 h后, 再用100 μg/L LPS刺激3 h. 其他指标检测: 两种转染细胞各自分为非耐受组和耐受组; 非耐受组细胞常规培养24 h后, 用100 μg/L LPS刺激3 h; 耐受组细胞先经10 μg/L LPS预处理24 h后, 再用100 μg/L LPS刺激3 h.

1.2.3 指标检测: (1)培养液中TNF-α含量: 各组分别在相应时间收集培养上清液, 于-70℃保存备用; 采用武汉博士德生物技术有限公司的小鼠TNF-α ELISA试剂盒检测, 具体方法参见试剂盒说明书. (2)细胞中TNF-α的mRNA表达: 采用美国Life Technologies公司的TRIzol试剂盒提取Kupffer细胞总RNA; 用TaKaRa公司两步法逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒检测细胞中的mRNA表达; PCR引物由上海鼎安生物科技有限公司设计并合成. TNF-α引物: 上游5'-TCT ACT GAA CTT CGG GGT GA-3', 下游5'-AGT AGA CCT GCC CGG ACT C-3', 扩增产物大小为542 bp; 内参照β-actin引物: 上游5'-CAT TGT GAT GGA CTC CGG AG-3', 下游5'-ATA GTG ATG ACC TGG CCG TC-3', 扩增产物大小为300 bp. PCR条件为: 94℃ 45 s, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min, 30个循环, 72℃延伸5 min. 扩增产物经15 g/L琼脂糖凝胶电泳后, 采用Gel Doc 2000凝胶成像系统成像进行结果分析, 结果以相对吸光度值 (R*A*)×面积(mm^2)表示. mRNA相对含量 = (目的基因条带R*A*×mm^2) /(β-actin条带R*A*×mm^2). (3) EMSA检测细胞中NF-κB活性: 提取细胞核蛋白; 用[γ-32P]ATP标记NF-κB双链寡脱氧核苷酸探针(P1: 5'-AGT TGA GGG GAC TTT CCC AGG C-3'; P2: 5'-GCC TGG GAA AGT CCC CTC AAC T-3', 上海生工合成); 标记探针与核蛋白进行结合反应; 结合反应产物经70 g/L非解离聚丙烯酰胺凝胶电泳; 凝胶经固定及真空干燥后, 于-70℃放射自显影48 h; 采用Gel Doc 2000凝胶成像系统成像进行结果分析, NF-κB活性以相对吸光度值(R*A*)×面积(mm^2)表示. (4)Western blot检测细胞中IRAK-M蛋白表达: 提取胞质蛋白并定量; 将蛋白经100 g/L SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离并电转印至硝酸纤维素(NC)膜; 将NC膜用含50 g/L脱脂奶粉的PBS-Tween液室温封闭1 h; 洗涤后, 与兔抗IRAK-M多克隆抗体溶液在37℃孵育2 h; 洗涤后, 再与辣根过氧化酶标记的羊抗兔IgG在37℃孵育1 h; 洗涤后, NC膜用二氨基联苯胺显色. 用Gel Doc 2000凝胶成像系统进行结果分析, 蛋白含量以相对吸光度值(R*A*)×面积(mm^2) 表示.

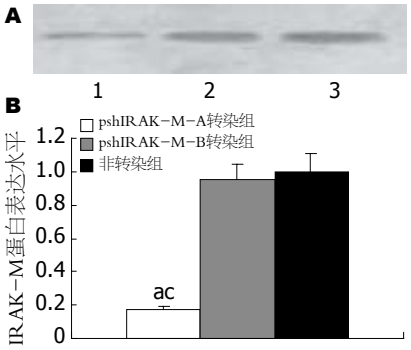


图 1 RAW264.7细胞中的IRAK-M蛋白表达. A: Western blot检测; 1: pshIRAK-M-A转染组; 2: pshIRAK-M-B转染组; 3: 非转染组; B: 半定量分析结果(n = 3); ^aP<0.05 *vs* pshIRAK-M-B转染组; ^cP<0.05 *vs* 非转染组.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 组间比较采用SPSS10.0软件进行方差分析, P<0.05表示差异有显著性.

2 结果

2.1 重组质粒对IRAK-M蛋白表达的抑制作用

Western blot及其半定量分析显示, pshIRAK-

■应用要点
本研究证实IRAK-M对内毒素耐受的形成起重要作用, 为内毒素血症的临床治疗提供了潜在的干预靶点.

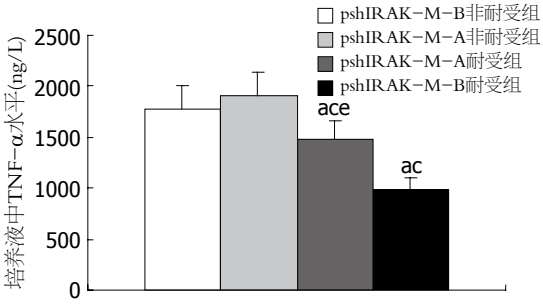


图 2 LPS刺激3 h后培养液中的TNF-α水平(n = 6). [a]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-B非耐受组; [c]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-A非耐受组; [e]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-B耐受组.

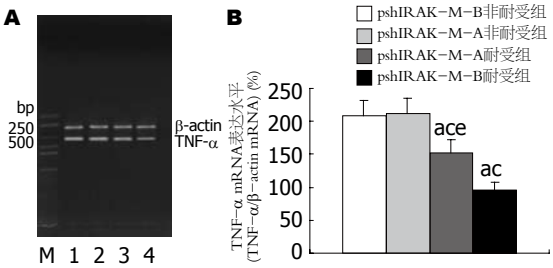


图 3 各组细胞中TNF-α mRNA的表达. A: RT-PCR检测结果; 1: pshIRAK-M-B非耐受组; 2: pshIRAK-M-A非耐受组; 3: pshIRAK-M-A耐受组; 4: pshIRAK-M-B耐受组; B: TNF-α mRNA相对含量(n = 3); [a]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-B非耐受组; [c]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-A非耐受组; [e]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-B耐受组.

M-A对IRAK-M蛋白表达的抑制率为83%左右, 而pshIRAK-M-B则对IRAK-M蛋白表达无明显抑制作用, 两者间有显著性差异(P<0.05, 图1).

2.2 培养液中的TNF-α含量 两组非耐受细胞在LPS刺激3 h后, 其培养液中的TNF-α水平无显著性差异(P>0.05). 两组耐受细胞在LPS刺激3 h后, 其培养液中的TNF-α水平均明显低于非耐受组细胞(P<0.05); 其中, pshIRAK-M-B组的TNF-α水平又明显低于pshIRAK-M-A组(P<0.05, 图2) .

2.3 细胞中的TNF-α mRNA表达 pshIRAK-M-A和pshIRAK-M-B两组非耐受细胞在LPS刺激3 h后, 细胞中TNF-α mRNA的表达水平相近(P>0.05). 两组耐受细胞在LPS刺激相同时间后, 细胞中的TNF-α mRNA表达水平分别为其非耐受细胞的72%和46%(P<0.05), pshIRAK-M-B组的表达水平明显低于pshIRAK-M-A组(P<0.05, 图3).

2.4 细胞中的NF-κB活性 pshIRAK-M-A和pshIRAK-M-B两组非耐受细胞在LPS刺激3 h后, 细胞中的NF-κB活性无显著性差异(P>0.05). 两组耐受细胞在LPS刺激相同时间后, 细胞中的NF-κB活性分别为其非耐受组细胞的63%和37%(P<0.05), pshIRAK-M-B组的NF-κB活性显著低于pshIRAK-M-A组(P<0.05, 图4) .

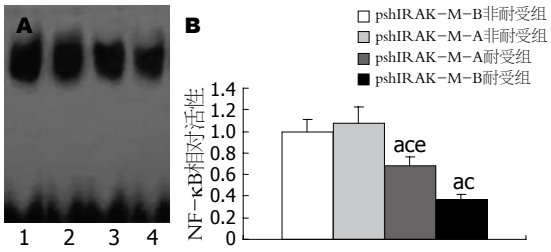


图 4 各组细胞中的NF-κB活性. A: EMSA检测结果; 1: pshIRAK-M-B非耐受组; 2: pshIRAK-M-A非耐受组; 3: pshIRAK-M-A耐受组; 4: pshIRAK-M-B耐受组; B: 相对吸光度值(n = 3); [a]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-B非耐受组, [c]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-A非耐受组; [e]P<0.05 *vs* pshIRAK-M-B耐受组.

3 讨论

内毒素是G$^-$细菌细胞壁上的LPS成分, 也是G$^-$细菌最主要的致病物质. 通过激活单核-巨噬细胞系统, LPS能诱导大量炎症介质释放, 引起全身过度炎症反应, 从而造成机体损害[1-3]. 然而, 生物在长期进化过程中形成了内毒素耐受这种保护机制, 能抑制机体或细胞对LPS刺激产生持续过度的炎症应答, 从而对机体具有保护作用. 所谓内毒素耐受是指: 机体或单核-巨噬细胞经LPS初次刺激后, 对LPS的再次刺激呈低反应性[4-5]. 尽管内毒素耐受这一现象已被发现多年, 但对其发生机制至今仍未完全明确. 最近有研究表明, RAK-M主要在单核-巨噬细胞中表达, 对LPS信号通路起负性调节作用, 可能与内毒素耐受的形成有关[6-8]. 但也有研究发现, 通过转基因手段使IRAK缺陷型细胞表达IRAK-M后, 能在一定程度上恢复细胞对LPS的应答[9-10]. 因此, IRAK-M与内毒素耐受的关系还有待进一步阐明. RNA干扰(RNAi)机制主要是通过细胞内的Dicer酶将外源性dsRNA切割成21-23 nt的小干扰性RNA(short interfering RNA, siRNA), 后者介导与之同源的靶mRNA发生特异性降解, 从而阻断目的基因的表达[11-13]. 本研究利用转录载体pGenesil-1构建了能在哺乳动物细胞中产生针对IRAK-M的短发夹RNA(shRNA)的阳性重组质粒(pshIRAK-M-A)及阴性重组质粒(pshIRAK-M-B), 并得到限制性内切酶筛选和测序证实, 且能有效转染小鼠来源的巨噬细胞株RAW264.7细胞. pshIRAK-M-A对RAW264.7细胞IRAK-M基因表达的抑制强度为83%左右, 而pshIRAK-M-B对RAW264.7细胞的IRAK-M基因表达无抑制作用. 在此基础上, 本实验用pshIRAK-M-A沉寂RAW264.7细胞的IRAK-M基因, 观察细胞内毒素耐受性的改变, pshIRAK-M-B转染则作为

■名词解释
内毒素耐受: 指机体或单核-巨噬细胞受脂多糖初次刺激后, 对脂多糖的再次刺激呈低反应性.

■同行评价
本文做了大量的实验研究工作, 试图从基因层面探讨细胞内毒素的耐受性, 立题比较新颖, 实验设计思路清晰严谨, 学术价值较好.

阴性对照.

我们的研究发现, 经两种质粒转染的非耐受细胞受100 μg/L LPS刺激3 h后, 细胞中NF-κB活化、TNF-α mRNA表达以及培养液中的TNF-α水平均无显著性差异, 表明抑制IRAK-M基因表达对LPS初次刺激诱导的细胞炎症应答无明显影响, 其原因可能与细胞在对LPS初次应答时IRAK-M表达水平过低有关. 尽管如此, RNAi对RAW264.7细胞内毒素耐受性的影响却显而易见. 经pshIRAK-M-A转染的耐受细胞受100 μg/L LPS刺激3 h后, 细胞中NF-κB活性、TNF-α mRNA表达以及培养液中的TNF-α水平明显高于pshIRAK-M-B转染组, 表明抑制IRAK-M基因表达可减弱细胞的内毒素耐受性, 从而证实IRAK-M对内毒素耐受形成起重要作用. 值得注意的是, 经pshIRAK-M-A转染的耐受细胞对LPS的应答仍明显低于非耐受细胞, 表明RNAi并未完全消除LPS诱导的内毒素耐受现象. 对此, 我们考虑有以下两个原因: (1)RNAi并未能完全抑制IRAK-M的基因表达; (2)除IRAK-M之外, 内毒素耐受还有其它机制参与. 总之, 我们认为IRAK-M在内毒素耐受的形成中起重要作用, 其具体作用机制还有待深入研究.

4 参考文献

1 Li L, Pan J, Yu Y. Development of sorbent therapy for multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Biomed Mater* 2007; 2: R12-R16

2 Chiao CW, Lee SS, Wu CC, Su MJ. Thaliporphine increases survival rate and attenuates multiple organ injury in LPS-induced endotoxaemia. *Naunyn Schmied ebergs Arch Pharmacol* 2005; 371: 34-43

3 Martins JO, Ferracini M, Ravanelli N, Landgraf RG, Jancar S. Insulin inhibits LPS-induced signaling pathways in alveolar macrophages. *Cell Physiol Biochem* 2008; 21: 297-304

4 West MA, Koons A. Endotoxin tolerance in sepsis: concentration-dependent augmentation or inhibition of LPS-stimulated macrophage TNF secretion by LPS pretreatment. *J Trauma* 2008; 65: 893-898; discussion 898-900

5 Fan H, Cook JA. Molecular mechanisms of endotoxin tolerance. *J Endotoxin Res* 2004; 10: 71-84

6 Tazi KA, Quioc JJ, Saada V, Bezeaud A, Lebrec D, Moreau R. Upregulation of TNF-alpha production signaling pathways in monocytes from patients with advanced cirrhosis: possible role of Akt and IRAK-M. *J Hepatol* 2006; 45: 280-289

7 del Fresno C, Soler-Rangel L, Soares-Schanoski A, Gómez-Piña V, González-León MC, Gómez-García L, Mendoza-Barberá E, Rodríguez-Rojas A, García F, Fuentes-Prior P, Arnalich F, López-Collazo E. Inflammatory responses associated with acute coronary syndrome up-regulate IRAK-M and induce endotoxin tolerance in circulating monocytes. *J Endotoxin Res* 2007; 13: 39-52

8 Liu ZJ, Yan LN, Li XH, Xu FL, Chen XF, You HB, Gong JP. Up-regulation of IRAK-M is essential for endotoxin tolerance induced by a low dose of lipopolysaccharide in Kupffer cells. *J Surg Res* 2008; 150: 34-39

9 Rosati O, Martin MU. Identification and characterization of murine IRAK-M. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 1472-1477

10 Wesche H, Gao X, Li X, Kirschning CJ, Stark GR, Cao Z. IRAK-M is a novel member of the Pelle/interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family. *J Biol Chem* 1999; 274: 19403-19410

11 Parker GS, Maity TS, Bass BL. dsRNA binding properties of RDE-4 and TRBP reflect their distinct roles in RNAi. *J Mol Biol* 2008; 384: 967-979

12 Collingwood MA, Rose SD, Huang L, Hillier C, Amarzguioui M, Wiiger MT, Soifer HS, Rossi JJ, Behlke MA. Chemical modification patterns compatible with high potency dicer-substrate small interfering RNAs. *Oligonucleotides* 2008; 18: 187-200

13 Du Z, Lee JK, Tjhen R, Stroud RM, James TL. Structural and biochemical insights into the dicing mechanism of mouse Dicer: a conserved lysine is critical for dsRNA cleavage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2391-2396

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志 2007年影响因子0.568

本刊讯 2007年世界华人消化杂志的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28中期刊的第5位. 2007年世界华人消化杂志的影响因子为0.568, 内科医学类28中期刊的第15位. 即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54. (编辑: 程剑侠 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 449-453
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

槐耳清膏联合化疗栓塞对兔VX2肝癌肝功能、VEGF及MVD的影响

任建庄, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 夏向文, 赵 辉, 段旭华

任建庄, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 夏向文, 赵辉, 段旭华, 华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科 湖北省武汉市 430022
任建庄, 博士, 副主任医师, 主要从事肝癌的介入治疗研究.
作者贡献分布: 任建庄与郑传胜对此文所作贡献均等; 此课题由郑传胜, 冯敢生, 梁惠民及任建庄设计; 研究过程由任建庄, 郑传胜及夏向文完成; 数据分析由任建庄, 赵辉及段旭华完成; 论文写作由任建庄与郑传胜完成.
通讯作者: 郑传胜, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科. hqzcsxh@sina.com
电话: 027-85726807/85726432
收稿日期: 2008-11-15 修回日期: 2009-01-11
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Effect of Huaier extract combined with chemoembolization on the expression of VEGF, MVD and hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma

Jian-Zhuang Ren, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Hui-Min Liang, Xiang-Wen Xia, Hui Zhao, Xu-Hua Duan

Jian-Zhuang Ren, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Hui-Min Liang, Xiang-Wen Xia, Hui Zhao, Xu-Hua Duan, Department of Radiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Correspondence to: Chuan-Sheng Zheng, Department of Radiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. hqzcsxh@sina.com
Received: 2008-11-15 Revised: 2009-01-11
Accepted: 2009-01-19 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effect of Huaier extract combined with transcatheterized arterial chemoembolization on the expression of VEGF and MVD and hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma.

METHODS: Thirty six rabbits with experimental liver cancer diagnosed by MRI were randomly divided into 3 groups. The rabbits in group A (control group)were infused with 0.2 mL/kg physiological saline via the hepatic artery, group B (TACE group) were infused with lipiodol 0.2 mL/kg+MMC 0.5 mg/kg via the hepatic artery while group C(TACE + administration with huaier extract)were given by oral administration with 500 mg/(kg•d) Huaier extract after TACE. The levels of AST and ALT in serum were respectively tested 1 day before operation, 3 days, 7 days and 14 days after operation. Two weeks after operation, the rabbits were sacrificed and the tumors were taken out. Immunohistochemical staining was performed to detect the expression and localization of factor Ⅷ and VEGF. The MVD was calculated by counting the factor Ⅷ positive endothelial cells.

RESULTS: There was no significant difference of rabbits' serum AST and ALT among 3 groups 1 day before operation. However, 3 and 7 days after operation, there was significant difference of rabbits' serum AST and ALT among 3 groups (F = 28.411, 55.537, both P < 0.05; F = 8.565, 6.401, both P < 0.05), and there was significant difference between group B and group C (P < 0.05). The MVD and the positive express of VEGF were the lowest in group C, the highest in group B. There was significant difference among 3 groups (F = 5.22, P < 0.05; χ^2 =7.247, P < 0.05), and there was significant difference between group B and group C (P < 0.05).

CONCLUSION: The Huaier extract can improve the hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma after TACE, which works on hepatocarcinoma through diminishing the expression of VEGF and inhibiting the angiogenesis of tumor.

Key Words: Huaier extract; Hepatocarcinoma; Chemoembolization; Rabbit VX2 tumor; Vascular endothelial growth factor; Microvessel density

Ren JZ, Zheng CS, Feng GS, Liang HM, Xia XW, Zhao H, Duan XH. Effect of Huaier extract combined with chemoembolization on the expression of VEGF, MVD and hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 449-453

摘要

目的: 观察槐耳清膏联合经肝动脉化疗栓塞

■**背景资料**
原发性肝癌发现时大部分已不能手术切除, 经导管肝动脉化疗栓塞目前已成为治疗不能手术切除肝癌的主要手段之一, 但TACE的远期疗效仍不理想, 其重要原因为TACE后患者肝功能损伤, 肿瘤新生血管形成等原因使TACE后病灶内残存的肿瘤细胞得以继续生长和转移. 中医药在肝癌的治疗中发挥着不可替代的作用, 中西医结合治疗已成为肝癌治疗的一种重要手段.

■**同行评议者**
刘宝瑞, 教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心; 韩新巍, 教授, 河南省郑州大学第一附属医院放射科

■研发前沿
近年来人们用中成药槐耳颗粒冲剂作为TACE的辅助治疗, 取得了明显的临床疗效, 但其作用机制尚不十分清楚.

对兔VX2肝癌肝功能、VEGF及MVD的影响.

方法: 将36只MRI证实已成功接种VX2肝癌的荷瘤兔随机分为3组, 开腹经肝动脉穿刺分别给予不同处理: A组为生理盐水对照组, 经肝动脉注入0.2 mL/kg体质量生理盐水; B组为TACE组, 经肝动脉注入超液态碘化油0.2 mL/kg+丝裂霉素0.5mg/kg体质量乳剂; C组为TACE+槐耳清膏灌服组, TACE方法同B组, 同时术后每天灌服槐耳清膏500 mg/kg体质量. 介入治疗前1 d及治疗后3、7、14 d抽血检测血清的ALT和AST. 术后2 wk用免疫组织化学方法检测各组肿瘤细胞Ⅷ因子及VEGF的表达情况, 对Ⅷ因子染色阳性血管内皮细胞进行MVD计数.

结果: 介入治疗前1 d, 3组动物ALT、AST水平差异无显著性; 介入治疗后3和7 d, 3组动物ALT和AST水平相比差异有统计学意义(F = 28.411, 55.537, 均P<0.05; F = 8.565, 6.401, 均P<0.05), C组与B组相比差异有统计学意义(P<0.05). 3组动物MVD值和VEGF的表达强度以C组最低, B组最高, 3组相比差异有统计学意义(F = 5.22, P<0.05; χ^2 = 7.247, P<0.05), C组与B组相比差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 槐耳清膏可以改善动物TACE术后的肝功能, 并可通过减少VEGF表达, 抑制肿瘤血管生成达到治疗肝癌的目的.

关键词: 槐耳清膏; 肝癌; 化疗栓塞; 兔VX2肿瘤; 血管内皮生长因子; 微血管密度

任建庄, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 夏向文, 赵辉, 段旭华. 槐耳清膏联合化疗栓塞对兔VX2肝癌肝功能、VEGF及MVD的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 449-453
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/449.asp

0 引言

原发性肝癌早期施行手术切除仍是目前首选的、最有效的治疗方法. 但肝癌发现时大部分已不能手术切除, 经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)目前已成为治疗不能手术切除肝癌的主要手段之一[1], 但TACE的远期疗效仍不理想, 其重要原因为TACE后患者肝功能损伤, 肿瘤新生血管形成等原因使TACE后病灶内残存的肿瘤细胞得以继续生长和转移. 为了增加TACE的疗效, 近年来人们用中成药槐耳颗粒冲剂(其有效成分为槐耳清膏)作为TACE的辅助治疗, 取得了明显的临床疗效[2], 但其作用机制尚不十分清楚. 本实验通过槐耳清膏联合TACE对兔VX2肝癌肝功能、残存肿瘤组织内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及微血管密度(microvessel density, MVD)的影响, 探讨槐耳清膏的抗癌机制.

1 材料和方法

1.1 材料 新西兰大白兔36只, 雌雄不限, 体质量2300±150 g, 由华中科技大学同济医学院动物实验中心提供. 兔VX2瘤株由华中科技大学附属同济医院肝胆外科提供. 槐耳清膏由江苏启东盖天力制药有限公司提供, 临用时将槐耳清膏溶于生理盐水内, 配制成100 g/L溶液备用. 本实验所用的VEGF和Ⅷ因子单克隆抗体均购自武汉博士德公司; 一抗工作液浓度: VEGF和Ⅷ因子均为1∶100. Supervision™二步法(通用型)免疫组化检测试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 实验动物模型分组及治疗方法: VX2肝癌模型的建立及手术方式参照文献[3]进行. 把36只MRI证实的VX2肝癌模型随机分为A、B、C组, 每组12只. 在DSA床上开腹, 暴露肝门区的肝动脉, 用动脉夹暂时夹闭肝右动脉, 在肝固有动脉用自制的细针穿刺, 观察到回血后手推造影, 观察肿瘤染色情况, 然后分别进行相应处理. A组为生理盐水对照组: 经肝动脉缓慢注入0.2 mL/kg体质量生理盐水; B组为单纯TACE组: 经肝动脉注入超液态碘化油0.2 mL/kg+丝裂霉素0.5 mg/kg体质量乳剂; C组为TACE+槐耳清膏灌服组: TACE方法同B组, 同时术后每天灌服槐耳清膏500 mg/kg体质量. 2 wk后处死所有动物, 取出肿瘤标本用40 g/L甲醛溶液固定.

1.2.2 肝功能检查: 介入治疗前1 d及治疗后3、7和14 d分别抽血检测血清的丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST).

1.2.3 免疫组化: 采用Supervision™二步法, DAB/H_2O_2显色. 取原固定的组织标本, 常规石蜡包埋, 制成厚度为4 μm的切片, 按试剂盒说明书的方法和步骤行VEGF及Ⅷ因子免疫组织化学染色.

1.2.4 免疫组织化学结果判定: VEGF染色阳性细胞为肿瘤细胞胞质内有棕黄色颗粒状染色, 其VEGF半定量判定标准参照Park *et al*[4]的方法: 每张切片先在低倍镜下(40倍)全面观察, 选定VEGF表达最强处, 在400倍镜下计数3个视野的

表 1 兔VX2肝癌介入治疗前后肝功能变化 (U/L, mean ± SD)

分组	治疗前1 d		治疗后3 d		治疗后7 d		治疗后14 d	
	ALT	AST	ALT	AST	ALT	AST	ALT	AST
A组	35.33 ± 8.62	48.08 ± 12.01	39.33 ± 12.58	53.08 ± 14.84	47.25 ± 13.68	60.92 ± 18.18	58.00 ± 21.31	74.25 ± 25.11
B组	33.08 ± 9.41	46.58 ± 13.89	132.33 ± 38.13	165.41 ± 27.05	77.83 ± 22.24	91.42 ± 25.55	49.50 ± 15.90	66.08 ± 24.31
C组	36.08 ± 10.26	49.33 ± 10.05	105.67 ± 31.44	139.83 ± 35.98	56.67 ± 18.68	66.41 ± 22.42	38.75 ± 16.72	55.00 ± 16.05
*F*值	0.327	0.156	28.411	55.537	8.565	6.401	3.395	2.271
*P*值	0.723	0.856	0.000	0.000	0.001	0.004	0.046	0.119

细胞, 阳性染色细胞<5%为阴性(-), 5%-15%为弱阳性(+), 15%-50%为阳性(++), >50%为强阳性(+++). Ⅷ因子染色阳性血管内皮细胞胞质呈棕黄色; MVD计数采用Weidner *et al*[5]的方法, 首先低倍镜(40倍)观察选择瘤巢内及瘤巢周围微血管密度最高区域, 即血管“热点”区, 再在400倍视野下计数微血管数目, 记录5个视野, 取其平均值作为MVD值; 镜下每个孤立可分的棕黄色血管内皮细胞或内皮细胞簇均作为一个可计数的微血管.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件. 对3组动物的MVD值和TACE前后肝功能变化采用方差分析, 再用LSD法进行组间两两比较. 对3组动物的VEGF表达强度组间比较采用χ^2检验. $P<0.05$差异有统计学意义.

2 结果

2.1 TACE前后肝功能变化 介入治疗前1 d, 3组动物的ALT和AST水平差异无显著性($P>0.05$). 介入治疗后3、7、14 d, A组动物血清的ALT和AST逐渐升高, B组与C组动物血清的ALT和AST先明显升高, 然后逐渐下降. 术后3、7 d, 3组动物ALT和AST水平相比差异有统计学意义($P<0.05$), C组与B组相比差异有统计学意义($P<0.05$). 术后14 d C组与B组的ALT和AST水平相比差异无统计学意义($P>0.05$, 表1).

2.2 TACE后的MVD值及VEGF表达的监测结果 VEGF阳性细胞在靠近肿瘤的边缘区域、坏死组织的周围、TACE后残余肿瘤的周边及新形成的瘤巢中表达较强, 成弥散或灶状分布. Ⅷ因子染色阳性血管内皮细胞分布不均, 在VEGF阳性的瘤巢中及TACE后较厚的瘤周纤维间隔内表达较为集中. 3组MVD值C组最低, B组最高, 3组相比差异有统计学意义($P<0.05$), C组与B组相比差异有统计学意义($P<0.05$, 图1); 3组VEGF的表达强度C组最低, B组最高, 3组相比差异有统计学意义($P<0.05$), C组与B组相比差异有统计学意义($P<0.05$, 图1, 表2).

表 2 兔VX2肝癌介入治疗后的MVD值及VEGF的表达 (n = 12)

分组	MVD计数	VEGF表达				
		强阳性	阳性	弱阳性	总阳性	阳性率(%)
A组	54.68 ± 21.36	2	3	1	6	50.00
B组	75.29 ± 23.27	5	4	2	11	1.67
C组	45.95 ± 23.80	1	2	2	5	41.67

三组间比较MVD计数, F = 5.22, P = 0.011, VEGF表达阳性χ^2 = 7.247, P = 0.027.

3 讨论

原发性肝癌发病隐匿, 早期多无临床症状; 肝癌出现了典型症状, 诊断并不困难, 但往往已非早期; 故临床发现的肝癌多已为晚期, 死亡率较高. 早期诊断, 早期治疗, 根据不同病情进行综合治疗, 是提高肝癌疗效的关键. 虽然TACE可以提高患者的生存时间和生活质量, 但总体疗效并不乐观, 为此, 在如何提高TACE的疗效方面人们进行了大量研究, 取得了令人满意的结果[6].

中医药在肝癌的治疗中发挥着不可替代的作用, 中西医结合治疗已成为肝癌治疗的一种重要手段, 目前人们对中医药治疗肝癌的机制已有深入研究[7-8]. 槐耳是我国民间重要的药用真菌, 中药名为槐栓菌. 他味苦辛, 性平无毒, 有治风、破血、益力的功效, 民间多用于治疗癌症及炎症. 槐耳清膏是槐耳菌质经热水提取, 其主要成分为多糖蛋白, 现已证实多糖蛋白是槐耳菌质抗癌和增加免疫功能的主要有效成分, 他由六种单糖(含量为41.53%)和18种氨基酸(含量为12.93%)组成. 目前已有以槐耳菌质为主药加工而成的槐耳颗粒冲剂用于临床, 其具有扶正固本, 增强免疫力的功效; 适用于正气虚弱, 淤血阻滞, 原发性肝癌不宜手术和化疗者辅助治疗用药; 有改善肝区疼痛、腹胀、乏力

■**相关报道**
在众多的促血管生成因子中, 对VEGF的研究最为深入, VEGF是目前发现刺激肿瘤血管生长最重要而直接的因子, 在肝癌的发生、发展及预后中具有极其重要的地位. 恶性肿瘤的血管生成与肿瘤的发生、恶性程度、生长转移和患者预后有密切关系, 肿瘤血管生成的数量可通过测定MVD进行评估, MVD可作为量化血管生成程度的指标, 测量肿瘤组织中的MVD有助于判断其浸润及转移的潜能.

■应用要点
本研究通过槐耳清膏联合TACE对兔VX2肝癌肝功能、残存肿瘤组织内血管内皮生长因子及微血管密度的影响, 发现槐耳清膏可以改善动物TACE术后的肝功能, 减少残存肿瘤组织内VEGF表达, 抑制肿瘤血管生成. 槐耳清膏对肝癌有治疗作用.

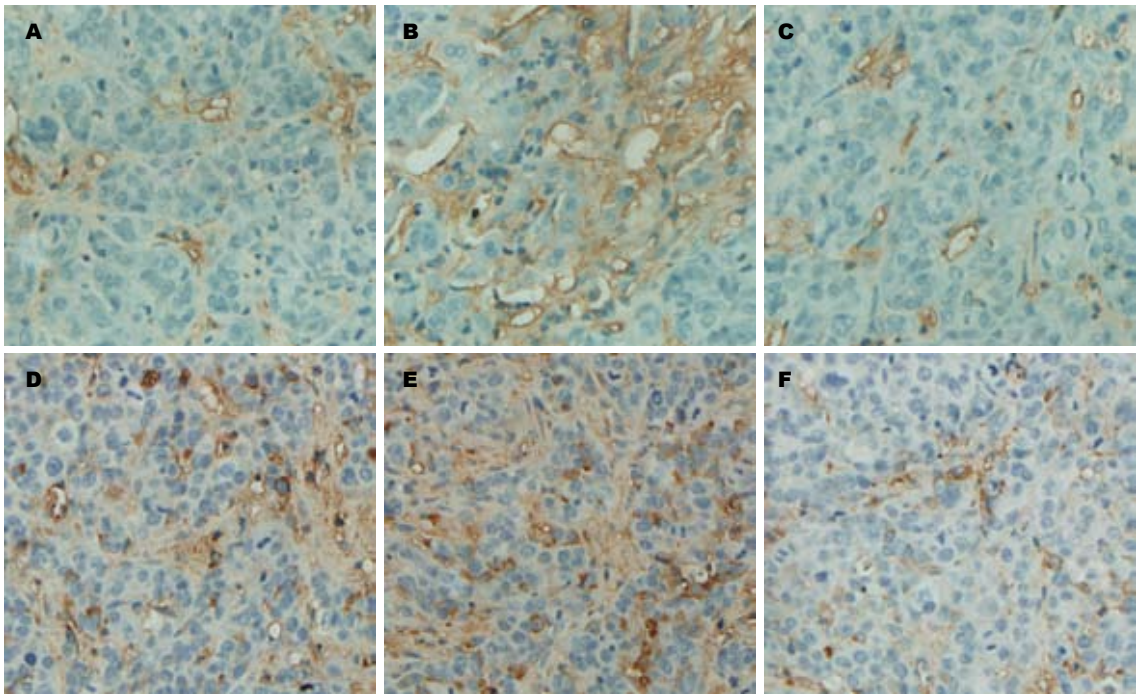


图 1 TACE后的MVD值及VEGF表达的监测结果(免疫组化染色×400). A: A组Ⅷ因子阳性血管内皮细胞; B: B组Ⅷ因子阳性血管内皮细胞; C: C组Ⅷ因子阳性血管内皮细胞; D: A组VEGF阳性细胞; E: B组VEGF阳性细胞; F: C组VEGF阳性细胞.

等症状的作用, 在肝癌的治疗中取得了明显疗效, 是一种较理想的抗癌新药. 目前通过对槐耳清膏进行研究发现其抗肿瘤机制主要为: 抑制肿瘤血管内皮细胞增殖, 阻碍肿瘤血管生成; 诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖; 防癌, 抑癌作用.

肝脏是人体含酶最丰富的器官, 有些酶(如ALT、AST)存在于肝细胞内, 当肝细胞损伤时释放入血流, 使血清内这些酶活性升高, 所以, 血清内这些酶的变化能反映肝脏的病理状态. 在临床患者TACE术后, 由于化疗药的毒副作用及栓塞损伤肝脏, 患者常有肝功能异常和免疫功能下降, 服用槐耳颗粒冲剂后, 患者的临床症状和肝功能恢复较快, 但由于临床肝癌患者的病理类型、肝硬化基础及治疗方法的个体差异等因素不同, 对槐耳清膏的疗效无法得出有力的结论, 只能是一些经验上的总结. 本试验通过对VX2肝癌TACE后检查肝功能发现: 术后3、7 d, C组肝功能(ALT和AST)恢复较快, 与B组相比差异有统计学意义(P<0.05), 显示槐耳清膏可以改善TACE后的肝功能.

肿瘤有诱导血管生成的能力, 肿瘤的血管生成受血管生成因子的调节. 肿瘤细胞本身及炎细胞能产生血管生成因子, 诱导新生血管的生成. 肿瘤新生血管生成在肿瘤的进展中起着重要作用[9]. 血管内皮细胞和成纤维细胞表面有血管生成因子受体, 血管生成因子与其受体结合后, 可促进血管内皮细胞分裂和毛细血管出芽生长, 在肿瘤新生血管生成中发挥重要的作用[10]. 在众多的促血管生成因子中, 对VEGF的研究最为深入, VEGF是目前发现刺激肿瘤血管生长最重要而直接的因子, 在肝癌的发生、发展及预后中具有极其重要的地位. 恶性肿瘤的血管生成与肿瘤的发生、恶性程度、生长转移和患者预后有密切关系, 肿瘤血管生成的数量可通过测定MVD进行评估, MVD可作为量化血管生成程度的指标[11], 测量肿瘤组织中的MVD有助于判断其浸润及转移的潜能. TACE除引起肿瘤缺血、缺氧坏死外, 还可上调促血管生成因子的表达[12], 导致肿瘤新生血管的生成、侧支循环的建立等使残存肿瘤继续生长. 因此, 抑制肿瘤血管生成也是一个重要的抗癌治疗策略. 本实验结果显示: TACE后C组VEGF表达最低、MVD计数最少, 与B组相比, 差异有显著性(P<0.05), 表明槐耳清膏可通过减少VEGF表达, 抑制肿瘤血管生成达到抗肿瘤治疗的目的.

4 参考文献

1 O'Suilleabhain CB, Poon RT, Yong JL, Ooi GC, Tso WK, Fan ST. Factors predictive of 5-year survival after transarterial chemoembolization for inoperable hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2003; 90: 325-331

2 郭添胜, 黄福喜, 曹小龙. 槐耳颗粒联合介入治疗

原发性肝癌的疗效观察. 实用医学杂志 2005; 16: 1846-1848
3 周承凯, 梁惠民, 李欣, 柳曦. 实验兔VX2肝肿瘤模型制作及动脉插管技术探讨. 介入放射学杂志 2006; 15: 101-104
4 Park YN, Kim YB, Yang KM, Park C. Increased expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the early stage of multistep hepatocarcinogenesis. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1061-1065
5 Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324: 1-8
6 方建林, 郑传胜, 冯敢生, 陶红芳, 王勇, 任建庄. 全反式维甲酸对Walker-256肝癌细胞分化及凋亡的诱导作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2929-2934
7 骆丹, 叶丽红. 中药治疗肝癌在实验研究领域的发展现状及趋势. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2964-2968
8 李东涛, 孙桂芝, 裴迎霞, 祁鑫, 李杰, 李富玉, 李军艳, 许彦来, 陈美南. 益气活血软坚解毒方含药血清诱导人肝癌细胞系Bel-7402细胞凋亡过程中部分凋亡调控基因变化. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3443-3449
9 Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005; 438: 967-974
10 Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-248
11 Hasan J, Byers R, Jayson GC. Intra-tumoural microvessel density in human solid tumours. *Br J Cancer* 2002; 86: 1566-1577
12 Pradeep CR, Sunila ES, Kuttan G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in tumor angiogenesis and malignancies. *Integr Cancer Ther* 2005; 4: 315-321

■同行评价
本文通过观察槐耳清膏联合经肝动脉化疗栓塞对兔VX2肝癌肝功能、VEGF及MVD的影响, 研究了中药槐耳清膏对动物TACE术后的肝功能改善作用. 文章设计思路清晰, 结果客观, 具有较好的学术价值.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志名词术语标准

本刊讯 本刊名词术语一律标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD_{50}, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写. (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 454-458
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

酵母双杂交技术筛选人胰腺细胞中HCV 1b NS3结合蛋白基因

胡传翠, 张锦前, 王 琦, 李国力, 李朝品, 成 军

■背景资料
慢性丙型肝炎也是一种代谢性疾病, 代谢异常是HCV致病机制的重要组成部分. HCV基因组全长约9.6 kb, 编码一个多聚蛋白, 根据不同功能可分为结构蛋白和非结构蛋白. 其中, 非结构蛋白3(NS3)主要具有丝氨酸蛋白酶功能, 而丝氨酸蛋白酶在人体代谢方面起着极其重要的作用.

胡传翠, 李朝品, 皖南医学院人体寄生虫教研室 安徽省芜湖市 241001
张锦前, 王琦, 李国力, 成军, 北京地坛医院传染病研究所 北京市 100015
胡传翠, 2006级硕士研究生, 主要从事感染性疾病方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30600524
作者贡献分布: 此课题由张锦前设计; 研究过程由胡传翠, 张锦前, 王琦及李国力操作完成; 数据分析由胡传翠, 张锦前, 王琦及李国力完成; 本论文写作由胡传翠, 张锦前, 李朝品及成军完成; 本论文由李朝品指导完成.
通讯作者: 成军, 100015, 北京市朝阳区京顺东街8号, 北京地坛医院传染病研究所. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-84322006
收稿日期: 2008-12-16 修回日期: 2009-01-04
接受日期: 2009-01-05 在线出版日期: 2009-02-18

Screening of proteins binding to HCV 1b NS3 protein from human pancreas cDNA library by yeast two-hybrid system

Chuan-Cui Hu, Jin-Qian Zhang, Qi Wang, Guo-Li Li, Chao-Pin Li, Jun Cheng

Chuan-Cui Hu, Chao-Pin Li, Department of Parasitology, Wannan Medical College, Wuhu 241000, Anhui Province, China
Jin-Qian Zhang, Qi Wang, Guo-Li Li, Jun Cheng, the Institue of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100015, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30600524
Correspondence to: Dr. Jun Cheng, the Institue of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, 8 Shundong Street, Chaoyang District, Beijing 100015, China. cj@genetherapy.com.cn
Received: 2008-12-16 Revised: 2009-01-04
Accepted: 2009-01-05 Published online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To screen proteins in pancreas cDNA library interacting with HCV 1b nonstructural protein NS3 and to study the biological functions of binding proteins.

METHODS: The pancreas cDNA library was amplified, purified and evaluated, and then the purified library plasmids were transformed into yeast strain Y187. The reconstructed plasmid pGBKT7-E1 was transformed into yeast strain AH109 and screened on the nutrient deficiency medium SD/-Trp. The transformed AH109 was mated with Y187 containing the library plasmid. The diploid yeast cells were plated on nutrient deficiency medium SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade and SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade containing X-α-gal for selection. The plasmids in diploid yeast cells were extracted and electrotransformed into E.coli DH5α. The plasmids in DH5α were extracted, sequenced and analyzed using bioinformatic methods.

RESULTS: The human pancreas cDNA library and bait plasmid (pGBKT7-NS3) were constructed successfully. The reconstructed bait plasmid was transformed into yeast cells AH109 successfully. 11 proteins interacting with HCV NS3 were screened.

CONCLUSION: These results show that HCV NS3 protein may be related with metabolism of glucose and lipid.

Key Words: Non-structure protein 3; Hepatitis C virus; Pancreas cDNA library; Yeast two-hybrid

Hu CC, Zhang JQ, Wang Q, Li GL, Li CP, Cheng J. Screening of proteins binding to HCV 1b NS3 protein from human pancreas cDNA library by yeast two-hybrid system. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 454-458

摘要

目的: 应用酵母双杂交技术筛选人胰腺cDNA文库中与HCV 1b亚型非结构蛋白NS3相互作用的结合蛋白的编码基因, 为进一步研究HCV影响糖、脂代谢机制奠定实验基础.

方法: 扩增人胰腺cDNA文库并纯化鉴定, 纯化后的文库质粒转化酵母菌Y187; 构建诱饵质粒PGBKT7-NS3并转化酵母菌AH109, 在色氨酸缺陷型培养基(SD/-Trp)上筛选阳性菌落. 应用酵母双杂交系统3将阳性重组AH109菌株与重组酵母菌株Y187进行配合, 在四缺培养基(SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade)和铺有X-α-gal的四缺培养基上进行筛选, 提取蓝色酵母菌落质粒, 电转化大肠埃希菌DH5α后提取质粒测序, 对测序结果进行序列比对和分析.

■同行评议者
管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医学教研室; 李淑德, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

结果: 成功构建人胰腺cDNA文库和pGBKT7-NS3重组质粒; 将pGBKT7-NS3质粒转化AH109酵母菌株后, 并从人胰腺cDNA文库中筛选出11种与HCV NS3蛋白相结合的蛋白基因.

结论: 筛选出的与HCV NS3蛋白结合的胰腺蛋白基因中, 部分与2型糖尿病、肝脏脂肪变性密切相关.

关键词: 非结构蛋白3; 丙型肝炎病毒; 人胰腺cDNA文库; 酵母双杂交

胡传翠, 张锦前, 王琦, 李国力, 李朝品, 成军. 酵母双杂交技术筛选人胰腺细胞中HCV 1b NS3结合蛋白基因. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 454-458
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/454.asp

0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的感染已呈全球流行趋势, 据WHO报道, 全球约有1.7亿感染者(感染率约3%), 在我国约有4100万感染者(感染率为3.2%), 其中主要以1b亚型感染为主[1-2]. HCV患者易转变为慢性感染过程, 可出现肝脏慢性炎症坏死、脂肪病变及纤维化, 部分患者可发展为肝硬化甚至肝细胞癌. 目前已有研究表明, 肝脏脂肪变性是慢性丙型肝炎的发病机制之一, 这充分提示我们, 慢性丙型肝炎也是一种代谢性疾病[3], 代谢异常是HCV致病机制的重要组成部分. 而且近年来, 流行病学调查表明HCV慢性感染常伴有糖、脂肪代谢性疾病, 并已经证实HCV慢性感染与糖尿病和脂肪肝等代谢性疾病的发生密切相关[4-5], 但确切机制尚不明确.

HCV基因组全长约9.6 kb, 编码一个多聚蛋白, 根据不同功能可分为结构蛋白和非结构蛋白. 其中, 非结构蛋白3(non-structure protein 3, NS3)主要具有丝氨酸蛋白酶功能, 而丝氨酸蛋白酶在人体代谢方面起着极其重要的作用. 因此本文中, 我们应用酵母双杂交技术筛选人胰腺细胞cDNA文库中的HCV 1b亚型NS3的结合蛋白基因, 以便为进一步研究HCV慢性感染影响糖、脂类代谢的分子生物学机制提供一定的思路和方向.

1 材料和方法

1.1 材料 酵母双杂交系统试剂盒包括人类胰腺cDNA文库、pGADT7-AD克隆载体、pGBKT7-BD克隆载体、pGADT7-T对照质粒、pGBKT7-53对照质粒、pGBKT7诱饵质粒、酵母菌株AH109、酵母菌株Y187, 购自Clontech公司. 限制性核酸内切酶购自TaKaRa(大连)公司. Taq酶、T4 DNA连接酶购于Promega公司. 质粒pCon1 SG-Neo和大肠埃希杆菌(DH5α)为本室保存. 胰蛋白胨、酵母提取物为OXOID公司产品, X-α-Gal、酵母YPD培养基、酵母YPDAgar培养基、SD/-Trp、SD/-Leu、SD/-Trp/-Leu、SD/-Trp/-Leu/-His以及SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade培养基均购自Clontech公司. 鲑精DNA(DNA, from herring sperm)、半硫酸腺苷、醋酸锂均购自Sigma公司. 引物合成及DNA测序由奥科公司完成.

1.2 方法

1.2.1 酵母胰腺cDNA文库的构建: 按Clontech公司的说明书对文库进行扩增, 用Qiagen公司的操作手册(Qiagen plasmid Maxi kit)对文库进行纯化. 取纯化的文库质粒转化*E.coli* DH5α感受态细胞, 随机挑取6个单克隆提取质粒, *Eco*RⅠ、*Xho*Ⅰ双酶切鉴定cDNA文库的多样性. 然后将该文库转化酵母, 制备酵母胰腺cDNA文库. 提取新鲜生长的Y187酵母菌落(直径>2 mm)接种于150 mL YPDA液体培养基中, 30℃振摇至A_{600}>1.5时, 把该培养物转摇至850 mL YPDA液体培养基中, 30℃振摇至A_{600} = 0.5左右. 以醋酸锂法将文库质粒(0.25 mg)转化入酵母细胞Y187进行文库转化, 然后将转化物铺SD/-Leu板50块, 30℃倒置孵育7 d. 同时将转化产物按1∶10, 1∶10^2, 1∶1×10^4, 1∶1×10^6, 1∶1×10^8分别铺于SD/-Leu培养基上检验转化效率.

1.2.2 诱饵质粒的构建及鉴定: 根据GenBank中HCV 1b NS3基因序列(GI: 20 384 690), 在编码区的上游和下游设计合成一对特异性引物. 正链引物为5'-CCGGAATTCGCGCCCATCACGGCCTACGCCCAACAGACG-3', 负链引物为5'-CGCGGATCCTGTGACGACCTCCAGGTCAGCCGACATGC-3', 引物两端分别引入*Eco*RⅠ、*Bam*HⅠ酶切位点. 以质粒pCon1 SG-Neo为模板, 用上述引物进行PCR扩增. PCR反应参数如下: 94℃预变性5 min; 94℃变性40 s, 63℃退火40 s, 72℃延伸90 s, 共35个循环; 72℃延伸10 min. 10 g/L琼脂糖凝胶电泳鉴定PCR产物, 玻璃奶回收. 将回收的目的基因片段与pGBKT7载体16℃连接过夜, 转化DH5α感受态细胞, 铺于卡那霉素LB琼脂平板上进行抗生素筛选. 12 h后, 挑数个克隆分别进行菌落PCR. 对PCR阳性的克隆进行活化培养, 碱裂解法提取质粒DNA, 用*Eco*RⅠ、*Bam*HⅠ内切酶进行双酶切验证. 证明目的基因片段已插入pGBKT7载体中, 阳性克

■研发前沿
流行病学调查表明HCV慢性感染常伴有糖、脂肪代谢性疾病, 并已经证实HCV慢性感染与糖尿病和脂肪肝等代谢性疾病的发生密切相关, 但确切机制尚不明确.

■相关报道
王琳 *et al*运用酵母双杂交技术证实HCV核心蛋白可以与肝细胞中的载脂蛋白Apo-A1结合, 他们的结合可能会影响Apo-A1的结构以及其脂质转运的功能, 进而影响脂类的代谢过程.

隆送奥科生物公司测序. 醋酸锂法将重组质粒pGBKT7-HCV 1b NS3转入酵母菌株AH109. 转化后铺板于SD/-Trp固体培养基进行筛选, 对直径>2 mm的菌落随机挑取进行菌落PCR鉴定.

1.2.3 诱饵与胰腺文库的酵母配合: 挑取新鲜生长的经菌落PCR鉴定正确的AH109酵母菌落(直径>2 mm)接种于SD/-Trp液体培养基中, 30℃振摇至A_{600}为0.8-1.0时, 离心并重悬于50 mL 2×YPDA培养基中, 与4 mL含胰腺文库的酵母细胞于30℃ 30-45 r/min配合24 h. 观察到三叶草状的二倍体细胞后, 将其离心并重悬于10 mL 0.25×YPDA培养基中, 然后铺SD/-Trp/-Leu/-His平板和SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade平板各25块, 置30℃孵箱培养. 同时将配合产物按1∶10, 1∶100, 1∶1000分别铺于SD/-Trp/-Leu、SD/-Trp、SD/-Leu培养基上检验配合效率. 生长16 d后把直径>2 mm的菌落划线于铺有X-α-Gal的SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade培养基上, 在此培养基上生长且变成蓝色的为阳性菌落.

1.2.4 阳性质粒的分析: 于SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade液体培养基上培养挑取的阳性菌落, 30℃ 250 r/min振摇5 d后用酸化玻璃珠法提取酵母质粒. 电穿孔法将提取的质粒转化大肠杆菌并于含有氨苄青霉素的LB平板上培养, 所获得菌落质粒行*Bgl*Ⅱ酶切鉴定后测序, 测序后与GenBank中的生物信息进行对照分析.

2 结果

2.1 酵母胰腺cDNA文库的构建 经测定, 待转化的胰腺cDNA文库滴度在4×10^7左右, 纯化后的的质粒DNA浓度约在0.34 g/L. 用*Eco*RⅠ, *Xho*Ⅰ双酶切鉴定cDNA文库的多样性(图1). 结果显示插入片断大小不一, 说明文库具有良好的多样性. 经转化效率的检验, 确定文库细胞计数大于1×10^9细胞/L, 证明胰腺cDNA文库转化成功.

2.2 诱饵质粒的构建及鉴定 以质粒pCon1 SG-Neo为模板, 经过PCR扩增获得预期的1893 bp的基因片段, 且无非特异性扩增现象(图2A). HCV 1b NS3的PCR扩增产物连接至pGBKT7载体相应的酶切位点上, *Eco*RⅠ、*Bam*HⅠ双酶切鉴定正确后, 经测序鉴定表明诱饵质粒pGBKT7-HCV 1b NS3构建成功(图2B).

2.3 pGBKT7-HCV 1b NS3质粒转化AH109酵母菌株 用醋酸锂法转化酵母细胞后在缺陷型SD/-Trp培养基上筛选生长. 培养4 d后, 挑取菌落进行PCR扩增HCV 1b NS3基因, 结果显示转化成功(图3).

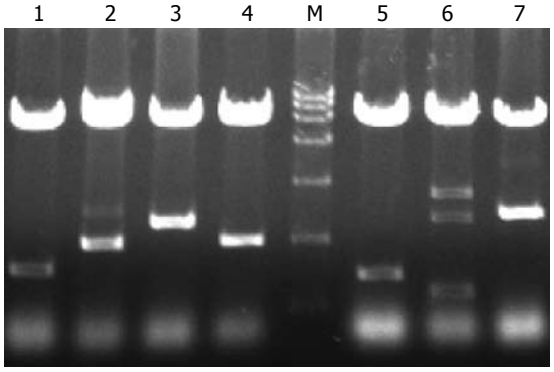


图 1 胰腺cDNA文库*Eco*RⅠ/*Xho*Ⅰ双酶切分析. M: DNA Marker; Lane1−7: 随机挑取菌落, 提取质粒后*Eco*RⅠ和*Xho*Ⅰ双酶切.

2.4 部分筛选阳性质粒的鉴定 筛选获得的阳性克隆用酸化玻璃珠法提取酵母质粒, 琼脂糖凝胶电泳后可见明显质粒带(图4A). pACT2载体上含有的两个*Bgl*Ⅱ酶切位点分别位于多克隆位点两侧, 故使用该内切酶消化将释放出所筛选到的胰腺文库的基因片段. 图4B所示*Bgl*Ⅱ酶切、琼脂糖凝胶电泳后的不同大小胰腺cDNA文库片段.

2.5 cDNA测序与同源性分析初步结果 挑选23个克隆测序后, 与GenBank数据库进行BLAST同源序列比对, 如表1所示.

3 讨论

自1989年发现HCV以来, 人们就通过研究发现, HCV感染除引起肝脏损害并与肝细胞癌有相关性外, 还与肝外组织的损害表现密切相关, 其中一个最主要的表现就是代谢性疾病[6-8]. 代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是多种病态组合现象的一个名称, 其主要特征是肥胖、糖代谢紊乱和高血压, 主要病理生理基础是胰岛素抵抗(insulin resistance, IR). 国内外的大量研究表明, 慢性丙型肝炎病毒感染患者常伴糖、脂代谢紊乱, 很可能与IR有关, 而糖、脂代谢紊乱又加重IR, 三者关系密切复杂. 因此IR亦可能是肝炎病毒感染相关的代谢性疾病发病机制的中心环节. 研究还发现, IR是肝纤维化进展的相关因素, 并影响HCV抗病毒治疗的疗效[9-10], 另外, 糖尿病可能增加肝炎病毒致癌的作用[11].

HCV与脂蛋白、载脂蛋白等之间的结合和相互作用可能是干扰肝细胞中脂肪代谢正常通路, 引起HCV慢性感染肝脂肪变的机制之一. 早在1992年, Thomssen *et al*[12]就发现含有HCV RNA的病毒颗粒密度差别显著, 且与血清

■创新盘点
应用经典的验证蛋白质-蛋白质相互作用的酵母双杂交方法, 首次在胰腺细胞cDNA文库中筛选出HCV NS3结合蛋白

表 1 阳性克隆与GenBank同源序列比较

序号	已知的同源序列编码蛋白基因	GenBank序号	相同克隆数	同源性(%)
1	人类胰凝乳蛋白酶原B1	NM 001906.4	2	100
2	人类羧肽酶A1	NM 001868.1	2	95
3	人类胰凝乳蛋白酶原B2	NM 001025200.3	1	94
4	人类胰蛋白酶2	NM 002769.2	1	98
5	人类羧肽酶B1	NM 001871.2	7	99
6	Homo sapiens chromosome 12 genomic contig alternat assembly	NW 001838052.1	1	94
7	人类淀粉酶α2B	NM 020978.3	1	98
8	人类胰脂肪酶	NM 000936.2	1	99
9	人类v-Ki-ras2鼠Kirsten肉瘤病毒致癌基因同源物	NM 033360.2	2	99
10	人类弹性蛋白酶2A	NM 033440.1	4	100
11	人类弹性蛋白酶3A	NM 005747.3	1	98

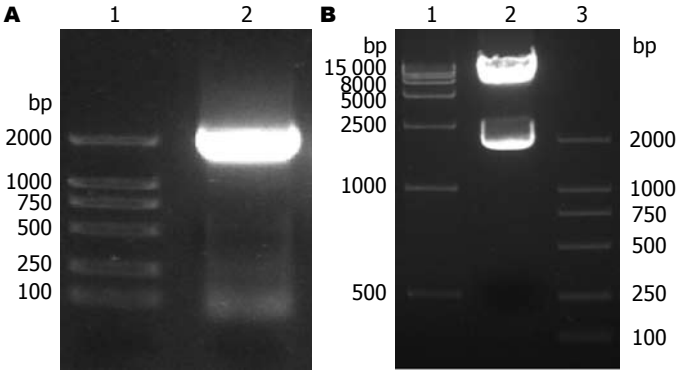


图 2 诱饵质粒pGBKT7-HCV 1b NS3的构建. A: PCR产物电泳图: Lane1: DNA Marker; Lane2: 扩增的HCV 1b NS3片段; B: pGBKT7-HCV 1b NS3 *Eco*RⅠ、*Bam*HⅠ酶切分析: Lane1、3: DNA Marker; Lane2: 重组质粒pGBKT7-HCV 1b NS3.

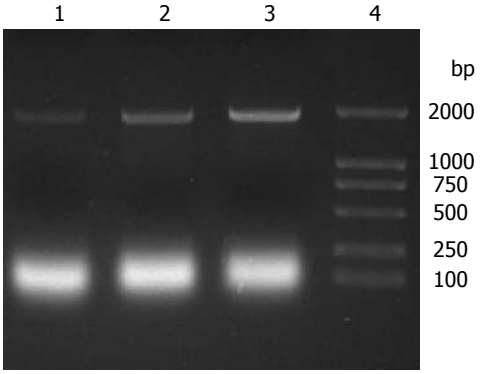


图 3 PGBKT7-E1的PCR鉴定. 1-3: PCR产物; 4: DNA Marker.

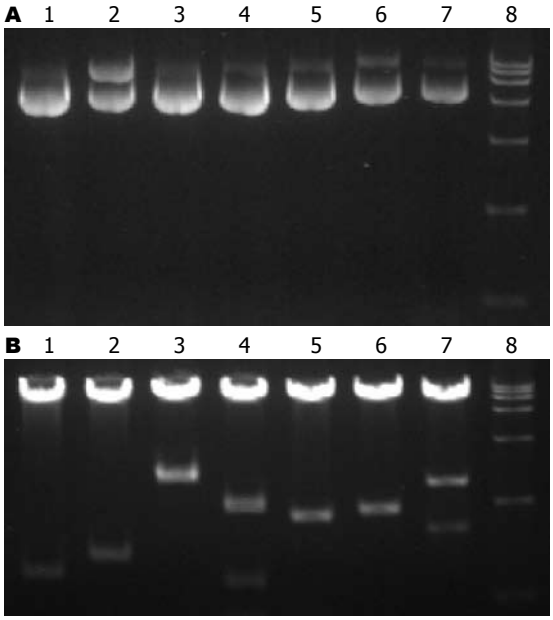


图 4 部分真阳性文库质粒鉴定图. A: 部分真阳性文库质粒带图: 1-7: 真阳性质粒带图; 8: DNA Marker; B: 部分真阳性文库质粒*Bgl*Ⅱ酶切分析: 1-7: 真阳性质粒*Bgl*Ⅱ酶切后; 8: DNA Marker.

中的β脂蛋白有关. 1995年人们[13]注意到慢性丙型肝炎患者及感染了HCV的大猩猩肝活检标本中, 脂肪变性是其一大特征. 从而认识到丙型肝炎病毒可能干扰了肝脏的脂肪代谢. 王琳*et al*[14]运用酵母双杂交技术证实HCV核心蛋白可以与肝细胞中的载脂蛋白Apo-A1结合, 他们的结合可能会影响Apo-A1的结构以及其脂质转运的功能, 进而影响脂类的代谢过程. 同时建立了HCV结构蛋白的转基因小鼠模型, 发现小

■同行评价
本研究设计严整，思路清晰，文字表达合理，具有较强的创新性、较高的学术价值与较强的临床指导意义.

鼠肝脏有典型的脂肪变病理改变，再次证实了HCV感染与代谢性疾病的密切关系[15]. 但是，关于HCV引起代谢性疾病的分子生物学机制还有许多环节没有阐明. 考虑到HCV NS3的丝氨酸蛋白酶功能，同时介于我国HCV感染以1b型为多的实际情况，我们选择以HCV 1b NS3为诱饵蛋白，应用酵母双杂交系统3从正常人胰腺细胞cDNA文库中筛选与其存在相互作用的蛋白基因，寻找其中与糖、脂类代谢相关的蛋白基因，为相关的机制研究奠定基础.

本实验中将胰腺细胞cDNA文库质粒扩增后成功转化酵母菌株Y187，构建成功酵母胰腺细胞cDNA文库，以备进一步更广泛的酵母双杂交筛选工作使用. 本研究所成功构建了pGBKT7-HCV NS3诱饵质粒并在酵母菌株AH109中表达出HCV NS3蛋白，并进一步与前述构建好的酵母胰腺细胞cDNA文库进行配合后，筛选出可能与HCV NS3蛋白存在相互作用的已知胰腺细胞蛋白基因11种. 这些蛋白以参与三大物质消化、吸收的酶类为主，其中参与糖、脂类代谢的酶主要有弹性蛋白酶、胰蛋白酶(原)、胰脂肪酶和胰淀粉酶等. 弹性蛋白酶可以影响脂质代谢、降低胆固醇、增强肝中脂肪分解并能抑制动脉硬化，此外还可抑制糖尿病发展[16]；胰蛋白酶可以引起胰腺其他酶类物质的分泌；胰脂肪酶主要通过分解食物中的甘油三酯参与对食物脂肪的消化和吸收；胰淀粉酶通过对淀粉的分解消化影响糖代谢.

另外在本实验中，我们还发现人类v-Ki-ras2鼠Kirsten肉瘤病毒致癌基因同源物(KRAS)蛋白也可以与HCV NS3蛋白相互作用，KRAS在人类正常组织的增殖、分化和衰亡中有着非常重要的作用. 研究表明，KRAS是活性最强的癌基因之一，其突变株与17%-25%的人类肿瘤有关. 可能是由于这些激活的RAS突变株可以通过降低内在GTP酶活性和增强对GTP酶激活蛋白的抗性，导致RAS大量聚集在活化GTP结合的部位[17]. 这可能为HCV感染导致肝细胞肿瘤的发病机制提供了研究方向.

通过前述的实验研究，我们推测HCV NS3可能与胰腺细胞中的蛋白结合后进一步导致IR和糖、脂类代谢异常，最终发展为2型糖尿病、脂肪肝、MS等代谢性疾病. 我们此次应用经典的验证蛋白质-蛋白质相互作用的酵母双杂交方法，首次在胰腺细胞cDNA文库中筛选出HCV NS3结合蛋白，为研究慢性丙型肝炎患者易出现糖、脂代谢异常及伴发代谢性疾病的机制提供了研究依据和方向，为临床工作中相关疾病的预防及诊治提供了新的思路.

4 参考文献

1 陈云茹，刘敏，陈天艳，张树林. 丙型肝炎病毒核心蛋白引发肝脂肪变性及其分子学机制. 国际流行病学传染病学杂志 2006; 33: 327-329

2 Demetriou VL, van de Vijver DA, Kostrikis LG. Molecular epidemiology of hepatitis C infection in Cyprus: evidence of polyphyletic infection. *J Med Virol* 2009; 81: 238-248

3 Koike K. Hepatitis C as a metabolic disease: Implication for the pathogenesis of NASH. *Hepatol Res* 2005; 33: 145-150

4 Jármay K, Karácsony G, Nagy A, Schaff Z. Changes in lipid metabolism in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6422-6428

5 Wang CS, Wang ST, Yao WJ, Chang TT, Chou P. Hepatitis C virus infection and the development of type 2 diabetes in a community-based longitudinal study. *Am J Epidemiol* 2007; 166: 196-203

6 Aksõz K, Unsal B, Kirci A, Alper E, Buyraç Z, Aslan F, Cekiç C, Cengiz O, Ozcan Ari F, Akpinar Z. The relationship between chronic HCV infection and the level of plasma adiponectin. *Turk J Gastroenterol* 2008; 19: 254-257

7 Rafiq N, Younossi ZM. Interaction of metabolic syndrome, nonalcoholic fatty liver disease and chronic hepatitis C. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 207-215

8 Slama L, Le Camus C, Serfaty L, Pialoux G, Capeau J, Gharakhanian S. Metabolic disorders and chronic viral disease: The case of HIV and HCV. *Diabetes Metab* 2008 Nov 28. *[Epub ahead of print]*

9 Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607

10 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 125-128

11 Locarnini S. Molecular pathogenesis of viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 546-548

12 Thomssen R, Bonk S, Propfe C, Heermann KH, Köchel HG, Uy A. Association of hepatitis C virus in human sera with beta-lipoprotein. *Med Microbiol Immunol* 1992; 181: 293-300

13 Goodman ZD, Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 70-81

14 王琳，李克，成军，陆荫英，张健. 丙型肝炎病毒核心蛋白与载脂蛋白A1结合的研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1018-1021

15 成军，任进余，李莉，陆志檬，李克，洪源，陆荫英，王刚，刘妍，张玲霞，陈菊梅. 丙型肝炎病毒结构基因转基因小鼠引起肝脏脂肪变. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1022-1026

16 Thongboonkerd V, Barati MT, McLeish KR, Benarafa C, Remold-O'Donnell E, Zheng S, Rovin BH, Pierce WM, Epstein PN, Klein JB. Alterations in the renal elastin-elastase system in type 1 diabetic nephropathy identified by proteomic analysis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 650-662

17 Kranenburg O. The KRAS oncogene: past, present, and future. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1756: 81-82

编辑 史景红 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 459-463
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

*c-myc*反义寡核苷酸对结肠癌HT-29细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响

邵国利, 吴爱国, 焦得闯, 纪术峰

邵国利, 吴爱国, 焦得闯, 纪术峰, 南方医科大学附属珠江医院普通外科 广东省广州市 510282
邵国利, 南方医科大学附属珠江医院普通外科在读硕士, 主要从事大肠癌基因治疗研究.
广东省科技计划基金资助项目, No. 2005B31201011
作者贡献分布: 吴爱国与邵国利对此文所作贡献均等; 此课题由吴爱国指导设计; 研究过程由邵国利, 焦得闯及纪术峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由纪术峰提供; 数据分析由邵国利焦得闯完成; 本论文写作由邵国利完成.
通讯作者: 吴爱国, 510282, 广东省广州市工业大道中253号, 南方医科大学附属珠江医院普通外科. wagtyz@sina.com
电话: 020-61643207 传真: 020-61643207
收稿日期: 2008-12-10 修回日期: 2009-01-12
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Effect of *c-myc* antisense oligodeoxynucleotides on proliferation, apoptosis and chemosensitivity of colorectal cancer cell line HT-29

Guo-Li Shao, Ai-Guo Wu, De-Chuang Jiao, Shu-Feng Ji

Guo-Li Shao, Ai-Guo Wu, De-Chuang Jiao, Shu-Feng Ji, Department of General Surgery, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China
Supported by: the Science Technology Plan Fund of Guangdong Province, No. 2005B31201011
Correspondence to: Ai-Guo Wu, Department of General Surgery, Zhujiang Hospital of South Medical University, 253 Guangzhou Industrial Avenue, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China. wagtyz@sina.com
Received: 2008-12-10 Revised: 2009-01-12
Accepted: 2009-01-19 Published online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of *c-myc* antisense oligodeoxynucleotides (ASODN) on the proliferation, apoptosis and chemosensitivity to human colorectal cancer cell line HT-29 *in vitro*.

METHODS: *c-myc* ASODN and scrambled oligodeoxynueleotide (SODN) were transfected with lipofectamine™ 2000 into human colorectal cancer cell line HT-29. The expression of *c-myc* mRNA and protein in human colorectal cancer cell line HT-29 was detected by semi quantitive reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively. The effects of the *c-myc* ASODN on the proliferation and sensitivity to oxaliplatin of HT-29 cell line were studied by MTT assay and flow cytometry (FCM).

RESULTS: The expression of *c-myc* mRNA level in HT-29 was down-regulated remarkably between the antisense group and control group (0.464 ± 0.029 *vs* 0.974 ± 0.027, 0.945 ± 0.012, both $P < 0.01$). Protein expression of *c-myc* in HT-29 cells was confirmed and it was clear that specific band on PVDF membrane in ASODN group was significantly weakened than those in control groups; MTT and FCM showed the proliferation of HT-29 transfected with *c-myc* ASODN was retarded obviously in contrast to control groups after 48 hours' transfection ($P < 0.05$). Compared with the control groups after 72 hours' transfection, the percentage of the survival cells significantly decreased in the presence of both oxaliplatin and *c-myc* ASODNs ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The *c-myc* ASODN can inhibit *c-myc* expression and inhibit the proliferation of colonic cancer HT-29 cells. Combination of c-myc ASODN and oxaliplatin might improve the treatment outcome of colorectal carcinoma. *c-myc* may be a potential target of gene therapy for human colorectal cancer.

Key Words: *c-myc*; Antisense oligodeoxynucleotides; Antisense therapy; HT-29 cells; Colorectal cancer

Shao GL, Wu AG, Jiao DC, Ji SF. Effect of *c-myc* antisense oligodeoxynucleotides on proliferation, apoptosis and chemosensitivity of colorectal cancer cell line HT-29. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 459-463

摘要

目的: 研究体外*c-myc*反义寡核苷酸(ASODN)对人结肠癌HT-29细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响.

方法: 利用脂质体Lipofectamine™2000介导将*c-myc* ASODN转染入大肠癌HT-29细胞中, 逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)、Western

■背景资料
*c-myc*基因是*myc*基因家族的成员之一, 主要通过扩增和染色体易位重排的方式激活, 具有转化细胞的能力, 在调节细胞生长、分化及恶性转化中发挥作用, *c-myc*也是细胞凋亡的潜在诱导因子, 与肿瘤耐药的形成有密切关系.

■同行评议者
周士胜, 教授, 大连大学医学院医学研究中心

■研发前沿
目前肿瘤基因治疗的研究热点主要是有效靶基因的选择、如何提高药物的靶向性、载体的选择和制备等几个方面.

blot方法检测*c-myc*基因mRNA及蛋白的表达, MTT、流式细胞仪(FCM)检测*c-myc* ASODN对人结肠癌HT-29细胞增殖抑制及其对奥沙利铂敏感性影响.

结果: 转染*c-myc* ASODN后, HT-29细胞内*c-myc* mRNA水平显著降低(0.464±0.029 *vs* 0.974±0.027, 0.945±0.012, 均$P<0.01$). 在HT-29细胞中存在分子质量62 kDa的特异性条带, 与*c-myc*分子质量相符, ASODN组在PVDF膜上的特异性条带明显弱于对照组; MTT结果显示转染*c-myc* ASODN 48 h后的HT-29细胞的增殖速度较对照组细胞明显减慢. FCM显示*c-myc* ASODN转染后72 h后, 奥沙利铂+*c-myc* ASODN组细胞凋亡率显著高于对照组($P<0.05$).

结论: 体外*c-myc* ASODN可抑制*c-myc* mRNA及蛋白的表达, 阻断*c-myc*可抑制HT-29细胞增殖并增强其对奥沙利铂的敏感性, 可能为大肠癌的基因治疗提供新的靶点.

关键词: *c-myc*; **反义寡核苷酸**; **反义治疗**; HT-29**细胞**; **大肠癌**

邵国利, 吴爱国, 焦得闯, 纪术峰. *c-myc*反义寡核苷酸对结肠癌HT-29细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 459-463
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/459.asp

0 引言

大肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在我国的发病率以4.2%的平均速度递增[1]. 目前的治疗方法以手术切除为主, 辅以化疗等综合治疗, 但化疗最大的障碍是肿瘤细胞的多耐药性, 使得化疗效果明显低于其他肿瘤[2]. 近年来经细胞凋亡机制的研究证实, 抗细胞凋亡因子在肿瘤细胞的生长及耐药性产生中起着重要作用[3]. *c-myc*的表达活性与细胞生长、分裂速度密切相关, 而且也是细胞凋亡的潜在诱导因子[4]. 反义寡核苷酸(antisense oligonucleartides, ASODN)技术, 是用一段人工合成的能与RNA或DNA互补结合的寡核苷酸链抑制基因的表达, 国内外已经有利用*c-myc* ASODN对大肠癌[5-8]、乳腺癌等的相关研究, 且反义寡核苷酸有增强化疗敏感性的作用[9-10], 本研究利用脂质体介导法将*c-myc* ASODN转染人结肠癌HT-29细胞系, 观察其对*c-myc* mRNA、蛋白以及细胞增殖和凋亡的影响, 并将ASODN与奥沙利铂等化疗药物同时应用于大肠癌细胞, 实现抑制大肠癌细胞增殖和扩散, 促进其凋亡的目的. 因此, 反义寡核苷酸抑制增殖及对化疗的增敏是肿瘤治疗研究的重要课题.

1 材料和方法

1.1 材料 人大肠癌HT-29细胞株由广东省人民医院细胞室惠赠; RPMI 1640购自Gibico公司. RT-PCR试剂盒I购自晶美生物工程有限公司; 小鼠抗人mAb及羊抗小鼠IgG为Santa Cruz公司产品; Lipofectamine™2000购自Invitrogen公司; Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自Biovision公司; 利用Primer3在线引物设计软件设计引物, 上游引物5'-ATCAAGCGCTTCGAGCAGAA-3', 下游引物5'-TGGTCGGTCTTTCAGGTCAAT-3'; 针对*c-myc*基因第2、3外显子序列, 设计反义、正义、错配寡核苷酸链. 反义链序列为: 5'-AACGTTGAGGGGCAT-3', 正义链序列为: 5'-ATGCCCCTCAACGTT-3'; 错配链序列为5'-TACGGGGTTGAGCAA-3'; 两端经硫代修饰. 引物合成、DNA测序及*c-myc* ASODN的合成均由上海生工完成.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、脂质体转染及实验分组: HT-29细胞在37℃, 50 mL/L CO_2, 含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养基中(含青霉素和链霉素浓度均为1×10^5 U/L)培养, 所有实验均取对数生长期细胞, 用无血清培养基洗涤细胞3次, 按Lipofectamine™2000说明书进行转染. *c-myc* ASODN转染浓度设定: 400、800、1200 nmol/L, 转染时间24、48、72、96 h, 对照组错配寡核苷酸终浓度为800 nmol/L.

1.2.2 RT-PCR检测*c-myc* mRNA表达: 按TRIzol试剂说明书步骤提取总RNA, 检测RNA质量及测浓度后, 按照逆转录试剂盒说明合成cDNA, 取2 μg逆转录产物进行PCR扩增. 反应条件为: 94℃变性3 min; 94℃ 30 s, 60.6℃ 30 s, 72℃ 30 s, 36个循环; 72℃延伸3 min. 以GAPDH做内参照, 扩增产物以20 g/L琼脂糖凝胶电泳观察拍照, 凝胶图像分析系统扫描各电泳条带的灰度值, 以*c-myc*/GAPDH的比值代表*c-myc* mRNA的半定量水平.

1.2.3 Western blot检测*c-myc*蛋白的表达: 将各对照组、实验组细胞培养48、72 h后, 收集6×10^6个细胞, PBS漂洗3次后按文献[8]的方法提取总蛋白进行检测: Bradford法测定蛋白浓度, 常规SDS电泳、封闭、加入抗体、漂洗、发光、X线暗室曝光、显影定影. 以BioRad图像分析系统进行图像分析, 用蛋白条带的平均光强度值表示*c-myc*蛋白表达的相对强度.

1.2.4 MTT法检测人结肠癌细胞系HT-29增殖抑制率: 采用96孔板, 细胞经2.5 g/L的胰酶消化后每孔植入1×10^4个细胞, 培养24 h, 转染结束后继续培养24、48、72、96 h后终止培养, 终止反应时加入1 g/L MTT 20 μL, 继续培养4 h终止, 弃去培养液, 每孔加入150 μL DMSO, 震荡10 min. 在酶联免疫检测仪(波长490 nm)上测定各孔吸光值(A). 按公式抑制率(%) = $(1-A_{实验}/A_{对照})\times100\%$计算细胞生长抑制率, 以时间为横轴, 吸光度为纵轴绘制生长抑制曲线.

1.2.5 Annexin V-FITC/PI双染色法流式细胞仪(FCM)测定转染细胞凋亡: HT-29细胞经1200 nmol/L *c-myc* ASODN作用后, 用2.5 g/L胰酶消化收集各组细胞, 冷PBS洗涤2次, 1×Annexin V缓冲液悬浮细胞, 调整细胞浓度为1×10^9/L, 取100 μL细胞悬液加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL PI, 混匀, 于暗处室温孵育15 min. 每管加入400 μL 1×Annexin V缓冲液, 过滤后在1 h内进行流式细胞仪检测. 实验重复5次[6].

1.2.6 *c-myc*反义寡核苷酸对大肠癌细胞化疗敏感性的影响: 取HT-29细胞株接种于24孔培养板上, 每孔接种5×10^4细胞. 设组: 奥沙利铂组、奥沙利铂+低浓度ASODN组及奥沙利铂+高浓度ASODN组. 每组设3个平行组, 贴壁生长至50%-60%亚混合状态时, 分别加入浓度为400、800、1200 nmol/L ASODN, 24 h后弃上清液, 加入奥沙利铂与培养液配成的以血浆峰浓度(PPC)的1/10 PPC为终浓度的化疗药物作用体系[12], 再培养24 h, (奥沙利铂的血浆峰浓度是10 mg/L). 温育24 h, 加入10 μL MTT(5 g/L), 4 h后小心移出上清液, 加入二甲亚砜100 μL, 震荡溶解, 490 nm测A值, 算生长抑制率.

统计学处理 所有数据均用mean±SD表示, 精确到两位小数, 采用SPSS13.0软件进行单因素方差分析, $P<0.05$为差异有显著性.

2 结果

2.1 转染*c-myc* ASODN对HT-29细胞*c-myc*基因mRNA的影响 脂质体对照组、SODN组和ASODN组成功扩增出相应目的基因的PCR产物, 条带与Marker比较证实扩增的目的片段大小完全吻合. 电泳条带经凝胶电泳图像扫描仪扫描, 测各条带的灰度值, 经同一标本的GAPDH条带的灰度值校正后进行比较. ADODN组(0.464±0.029)对HT-29细胞*c-myc* mRNA的表达有明显的抑制作用, 与脂质体对照组(0.974±0.027)和SODN组(0.945±0.012)比较有统计学意义($P<0.01$). 脂质体对照组与SODN组之间无显著差异($P>0.05$, 图1).

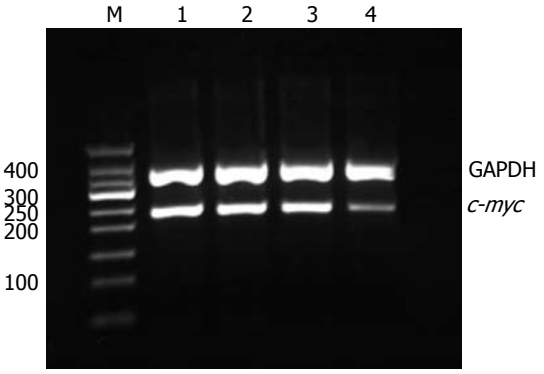


图 1 各组细胞中*c-myc* mRNA水平的表达. 1: 未转染组; 2: 正义寡核苷酸组; 3: 错配寡核苷酸组; 4: 反义寡核苷酸组; M: DNA marker.

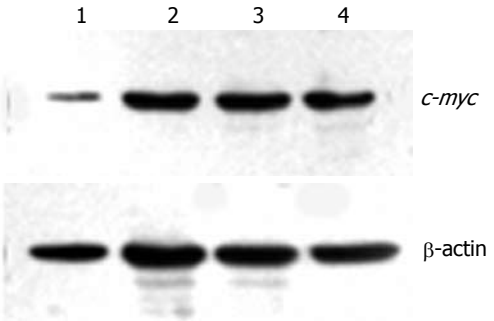


图 2 转染*c-myc* ASODN后*c-myc*蛋白的表达. 1: 反义寡核苷酸组; 2: 正义寡核苷酸组; 3: 错配寡核苷酸组; 4: 未转染组.

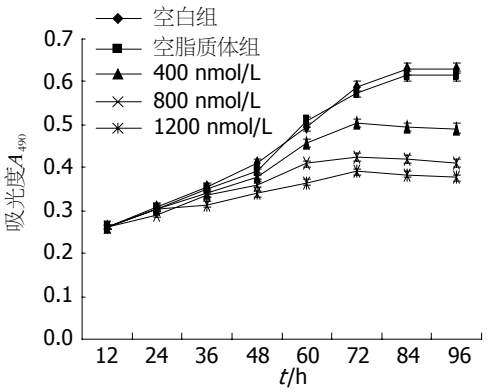


图 3 转染反义*c-myc* ASODN后对HT-29细胞生长抑制.

2.2 转染*c-myc* ASODN对HT-29细胞*c-myc*基因蛋白表达的影响 Western blot显示转染反义*c-myc* ASODN后蛋白质表达水平也比未转染组、正义组、错配组显著下降, 相对吸光度值显示下降了57%, 而正义组、错配组在蛋白表达水平与未转染组差异均无统计学意义(图2).

2.3 转染*c-myc* ASODN对HT-29细胞增殖的抑

■相关报道

Pastorino *et al*研究表明, 将*c-myc*反义寡核苷酸转染到恶性黑素瘤细胞内, 可特异性地抑制*c-myc*的表达, 抑制肿瘤细胞的生长, 促进肿瘤细胞的凋亡.

■创新盘点

本文将*c-myc* ASODN利用脂质体转染到HT-29细胞中，探讨*c-myc* ASODN对HT-29细胞增、凋亡的影响，并将反义核酸技术和化疗有机结合在一起，使化疗药物更充分发挥其抗癌作用.

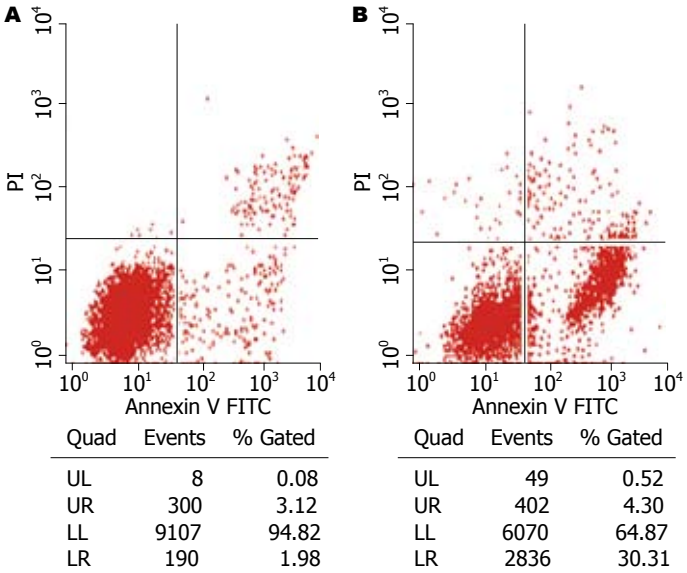


图 4 HT-29细胞凋亡分析. A: 未转染对照组; B: 转染*c-myc*反义寡核苷酸组.

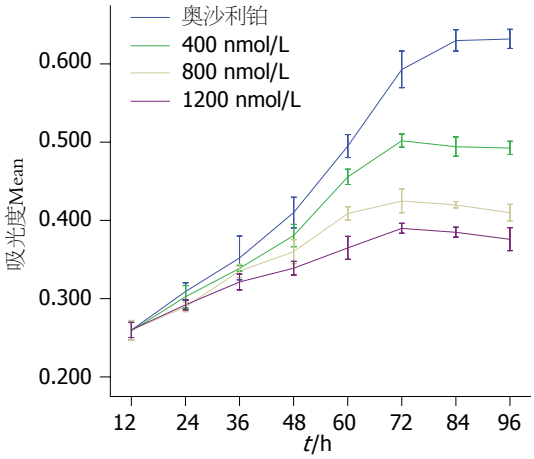


图 5 奥沙利铂对转染不同浓度反义*c-myc*寡核苷酸后HT-29细胞增殖的影响.

制 MTT法测定结果显示，转染*c-myc* ASODN组HT-29细胞增殖速度明显减慢，与对照组比较差异有统计学意义，转染空白脂质体组与未转染组相比差异无统计学意义. 结果证明*c-myc*表达水平的下降可以导致细胞增殖速度明显减慢(图3).

2.4 流式细胞仪分析各组细胞转染后凋亡情况 HT-29细胞经*c-myc* ASODN处理后，凋亡率为30.31%，与未转染对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$，图4).

2.5 *c-myc*反义寡核苷酸对奥沙利铂化疗敏感性的影响 奥沙利铂+*c-myc*反义核酸对HT-29大肠癌细胞具有明显的抑制作用，抑制率高达43%，ASODN高浓度组明显高于单独奥沙利铂组和奥沙利铂+低浓度ASODN组，差异有统计学意义($P<0.05$，图5).

3 讨论

*c-myc*基因是*myc*基因家族的成员之一，属核内转录因子，定位于人类第8号染色体q24.1，*c-myc*基因主要通过扩增和染色体易位重排的方式激活，与某些组织肿瘤的发生、发展和演变转归有重要关系. 刘庭波 *et al*[11]研究证实*c-myc*基因不但参与细胞的增殖分化和凋亡过程，而且与肿瘤的形成和演进有关. *c-myc*基因可刺激细胞增生，并且与突变型P53一起在肿瘤发生中协同发挥作用[12]. *c-myc*癌基因属核蛋白基因，具有转化细胞的能力，并具有与染色体DNA结合的特性，在调节细胞生长、分化及恶性转化中发挥作用[13]. 在不同的人体肿瘤细胞系中已发现*c-myc*扩增，在人结肠癌细胞系中也观察到*c-myc*基因的扩增，近年来经细胞凋亡机制的研究证实，抗细胞凋亡因子在肿瘤细胞的生长及耐药性产生中起着重要作用[3]. *c-myc*也是细胞凋亡的潜在诱导因子，与肿瘤耐药的形成有密切关系. 国内外已经有利用*c-myc* ASODN对心血管疾病、大肠癌[6,14]、乳腺癌、骨肉瘤、卵巢癌、肝癌、肺癌、肾癌等的相关研究，但是对结直肠癌的相关研究还比较少. 王桂龙 *et al*[15]研究表明，反义*c-myc*寡核苷酸可抑制骨肉瘤MG-63细胞的增殖，并能促进细胞的凋亡. 于如同 *et al*[16]研究发现，*c-myc*反义寡核苷酸可明显抑制鼠脑胶质瘤的生长，并能下调VEGF，使肿瘤血管生成减少或停滞，肿瘤细胞凋亡，这可能是*c-myc* ASODN抑制肿瘤生长的机制之一.

本研究应用反义核酸技术，成功设计并合成*c-myc*反义寡核苷酸序列，采用脂质体介导将*c-myc* ASODN转染HT-29细胞，用于探讨*c-myc* ASODN用于治疗大肠癌的可能性，同时为进一步研究*c-myc*在大肠癌中的作用奠定了实验基

础. 结果显示*c-myc* ASODN能明显下调*c-myc* mRNA及蛋白的表达水平, 这可能与以下原因有关: (1)抑制基因转录、加工、RNA的翻译; (2)诱导RNA酶H介导的RNA降解作用, 这可能是反义抑制作用的最主要的机制, 与Russo *et al*[5]得出的结论相符. 同时将*c-myc* ASODN转染入HT-29细胞后, 抑制人结肠癌HT-29细胞的增殖并诱导细胞凋亡.

目前对反义核酸技术的研究已进入一个新的高潮, 反义核酸技术是癌症治疗的生物学工具, 利用反义寡核苷酸抑制异常表达的靶基因可以有效抑制癌细胞的增殖[19]. 反义治疗的优点[17]: (1)靶点明确; (2)可用于治疗传统药物不能治愈的基因疾病; (3)反义治疗更为安全有效, 不良反应少; (4)费用低廉. 能灵活地联合多种化学修饰, 调节药学性质, 而不影响疾病相关基因的相互作用, 可以针对一些新靶点分子设计一点反义寡核苷酸来观察其抗肿瘤生长及转移的作用, 还可以将其与化疗药物联合应用, 研究去增效减毒的作用, 将ASODN与5-FU、奥沙利铂等化疗药物同时应用于大肠癌细胞, 这就使两种抗肿瘤机制有机结合, 实现抑制大肠癌细胞增殖和扩散, 促进其凋亡的目的, 孙迎春 *et al*[9]的研究表明*c-myc* ASODN可通过下调卵巢癌*c-myc*的表达, 逆转卵巢癌对DDP耐药, 提高其对DDP的敏感性. Nita *et al*[10]应用针对Bcl-xL的ASODN能提高结肠癌对5-FU化疗的敏感性. 本研究将ASODN和化疗药物有机结合, 研究发现转染*c-myc* ASODN后, *c-myc* mRNA表达显著降低, 相对积分吸光度值显示下降了50.4%, 且*c-myc* ASODN能够提高结直肠癌对奥沙利铂化疗的敏感性, 对细胞的抑制率高达53%. 反义治疗因其具有高特异性, 在肿瘤治疗学研究中颇受重视, 经不断改进和完善, 已逐步进入临床, 并将显示出辉煌的应用前景[18].

4 参考文献

1 万德森, 陈功. 结直肠癌的流行病学及其危险因素研究近况. 实用癌症杂志 2000; 15: 220-222

2 李啸峰, 迟宝荣, 马琳. 大肠癌多药耐药研究进展. 吉林大学学报(医学版) 2003; 29: 700-702

3 Notarbartolo M, Cervello M, Dusonchet L, Cusimano A, D'Alessandro N. Resistance to diverse apoptotic triggers in multidrug resistant HL60 cells and its possible relationship to the expression of P-glycoprotein, Fas and of the novel anti-apoptosis factors IAP (inhibitory of apoptosis proteins). *Cancer Lett* 2002; 180: 91-101

4 Eskelinen MJ, Haglund UH. Prognosis of human pancreatic adenocarcinoma: review of clinical and histopathological variables and possible uses of new molecular methods. *Eur J Surg* 1999; 165: 292-306

5 Russo P, Arzani D, Trombino S, Falugi C. c-myc down-regulation induces apoptosis in human cancer cell lines exposed to RPR-115135 (C31H29NO4), a non-peptidomimetic farnesyltransferase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304: 37-47

6 Zheng JG, Tan TZ. Antisense imaging of colon cancer-bearing nude mice with liposome-entrapped 99m-technetium-labeled antisense oligonucleotides of c-myc mRNA. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2563-2566

7 Devi GR, Beer TM, Corless CL, Arora V, Weller DL, Iversen PL. In vivo bioavailability and pharmacokinetics of a c-MYC antisense phosphorodiamidate morpholino oligomer, AVI-4126, in solid tumors. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 3930-3938

8 Ruffels J, Griffin M, Dickenson JM. Activation of ERK1/2, JNK and PKB by hydrogen peroxide in human SH-SY5Y neuroblastoma cells: role of ERK1/2 in H2O2-induced cell death. *Eur J Pharmacol* 2004; 483: 163-173

9 孙迎春, 张晓慧, 张爱荣, 陈官萍, 付建武. c-myc反义寡核苷酸对卵巢癌细胞COC1/DDP顺铂耐药的逆转作用. 中国肿瘤生物治疗杂志 2007; 14: 269-274

10 Nita ME, Ono-Nita SK, Tsuno N, Tominaga O, Takenoue T, Sunami E, Kitayama J, Nakamura Y, Nagawa H. Bcl-X(L) antisense sensitizes human colon cancer cell line to 5-fluorouracil. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 825-832

11 刘庭波, 吕联煌. 反义脱氧寡核苷酸诱导HL-60细胞分化及对c-myc基因表达的影响. 福建医科大学学报 2001; 35: 237-239

12 Jiang XH, Wong BC, Yuen ST, Jiang SH, Cho CH, Lai KC, Lin MC, Kung HF, Lam SK. Arsenic trioxide induces apoptosis in human gastric cancer cells through up-regulation of p53 and activation of caspase-3. *Int J Cancer* 2001; 91: 173-179

13 Chana JS, Grover R, Tulley P, Lohrer H, Sanders R, Grobbelaar AO, Wilson GD. The c-myc oncogene: use of a biological prognostic marker as a potential target for gene therapy in melanoma. *Br J Plast Surg* 2002; 55: 623-627

14 Nieminen AI, Partanen JI, Hau A, Klefstrom J. c-Myc primed mitochondria determine cellular sensitivity to TRAIL-induced apoptosis. *EMBO J* 2007; 26: 1055-1067

15 王桂龙, 向阳, 胡军, 尹培荣, 吴承龙, 张骏, 李鹏. 反义c-myc寡核苷酸对骨肉瘤MG-63细胞增殖和凋亡的影响. 中国骨肿瘤骨病 2007; 6: 14-17

16 于如同, 白永文, 高文昌. c-myc反义寡核苷酸对鼠脑胶质瘤生长及VEGF表达的影响. 中华神经外科杂志 2005; 21: 127

17 王举, 王磊, 王有德. 反义核酸与疾病治疗研究进展. 生物医学工程学杂志 2006; 23: 230-234

18 陈金亮, 胡英, 高建青, 梁文权. 反义寡核苷酸和小分子干扰RNA作为端粒酶抑制剂的研究进展. 国外医学·药学分册 2006; 33: 161-163

19 Abaza MS, Al-Attiyah RJ, Al-Saffar AM, Al-Sawan SM, Moussa NM. Antisense oligodeoxynucleotide directed against c-myb has anticancer activity and potentiates the antiproliferative effect of conventional anticancer drugs acting by different mechanisms in human colorectal cancer cells. *Tumour Biol* 2003; 24: 241-257

■同行评价

本文主题明确, 思路清晰, 方法可靠, 但创新性略有不足.

编辑 李军亮 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 464-469
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床研究 CLINICAL RESEARCH

多层螺旋CT灌注成像技术对肝硬化储备功能的评估

刘剑仑, 苏丹柯, 杨华伟, 许宇彪, 王彩红, 李 强, 韦长元

■背景资料
肝功能衰竭是肝癌术后近期死亡的最重要因素, 寻求反映肝储备功能的敏感检测方法, 术前正确评估肝癌患者的肝储备功能、预测肝脏对手术创伤的耐受性和肝脏最大安全切除量对减少术后肝功能衰竭的发生和降低死亡率有重要意义.

刘剑仑, 杨华伟, 许宇彪, 韦长元, 广西医科大学附属肿瘤医院外科 广西壮族自治区南宁市 530021
苏丹柯, 王彩红, 李强, 广西医科大学附属肿瘤医院影像诊断中心 广西壮族自治区南宁市 530021
刘剑仑, 医学硕士, 教授, 主任医师, 主要从事肿瘤外科工作.
广西科学研究与技术开发计划项目基金资助项目, No. 桂科攻0143051
作者贡献分布: 刘剑仑对此文作主要贡献; 此课题由刘剑仑, 苏丹柯, 杨华伟, 许宇彪, 王彩红, 李强及韦长元设计; 研究过程由刘剑仑, 苏丹柯, 杨华伟, 许宇彪, 王彩红及李强操作完成; 数据分析由苏丹柯, 王彩红, 李强及韦长元完成; 本论文写作由刘剑仑与杨华伟完成.
通讯作者: 刘剑仑, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学附属肿瘤医院外科. jianlunliu@hotmail.com
电话: 0771-5308621
收稿日期: 2008-12-10 修回日期: 2009-01-12
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Evaluation of liver reserve function with multi-slice spiral CT perfusion imaging

Jian-Lun Liu, Dan-Ke Su, Hua-Wei Yang, Yu-Biao Xu, Cai-Hong Wang, Qiang Li, Chang-Yuan Wei

Jian-Lun Liu, Hua-Wei Yang, Yu-Biao Xu, Chang-Yuan Wei, Department of Surgery, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Dan-Ke Su, Cai-Hong Wang, Qiang Li, Department of imaging Diagnosis Center, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Science and Technical Development Committee Program of Guangxi, No. gkg 0143051
Correspondence to: Jian-Lun Liu, Department of Surgery, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. jianlunliu@hotmail.com
Received: 2008-12-10 Revised: 2009-01-12
Accepted: 2009-01-19 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To measure and assess the features of hepatic hemodynamics in patients with hepatocirrhosis using multi-slice spiral CT (MSCT), and to investigate the value in determining reserve function in liver cirrhosis with CT perfusion imaging.

METHODS: A total of 32 patients with varying liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma were classified into three groups based on CT morphologic classification: 17 were classified as light liver cirrhosis group, 8 as moderate group and 7 as severe group. The parameters of CT perfusion including BF, BV, MTT, HAF, IRF To, PVP and A/V were analyzed by the CT perfusion 3 software package (GE) with deconvolution method, and the correlations of CT perfusion parameters, CT morphologic classification and Child-pugh's hepatic functional classification were analyzed.

RESULTS: There were significantly statistical difference and correlation of CT morphologic classification of hepatocirrhosis and BF, BV, IRF To, PVP, MTT, HAF, A/V ratio (r = -0.848, -0.801, -0.652, -0.864, 0.612, 0.822, 0.824, all P < 0.05), and the CT morphologic classification of hepatocirrhosis degree was positively correlated with Child-Pugh classification (r = 0.877, P = 0.001). Based on canonical discriminate function, 90.6% were correctly classified by hepatic perfusion parameters, while according to ROC curve, the CT perfusion parameters of BF, BV and PVP in judging Child-pugh's hepatic functional classification were 90.6%, 87.5% and 93.8%, respectively.

CONCLUSION: Hepatic perfusion imaging with MSCT should be valuable to evaluate the cirrhosis degree and hepatic functional reserve in patients with hepatocellular carcinoma.

Key Words: Perfusion imaging; Tomography; X-ray computed tomography; Liver reserve function

Liu JL, Su DK, Yang HW, Xu YB, Wang CH, Li Q, Wei CY. Evaluation of liver reserve function with multi-slice spiral CT perfusion imaging. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 464-469

摘要

目的: 探讨肝脏多层螺旋CT(multi-slice spiral CT, MSCT)灌注成像技术评估肝硬化储备功能的临床应用价值.

方法: CT动态灌注扫描技术, 对32例肝癌伴有不同程度肝硬化之肝脏的肝血流量(BF)、血容量(BV)、平均通过时间(MTT)、肝动脉

■同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

分数(HAF)、对比剂到达时间(IRF To)、门静脉灌注量(PVP)和肝动脉门静脉灌注比率(A/V)等进行研究, 并根据CT形态学分级将肝硬化分为轻、中、重三组(轻度组17例、中度组8例、重度组7例), 研究其CT灌注参数与肝硬化CT形态学分级、肝功能Child-Pugh分级三者间的相关性. 典则判别函数分析CT灌注参数对Child-Pugh分级的判别效果, 绘制灌注参数ROC曲线并计算曲线下面积, 界定肝脏灌注参数判断Child-Pugh分级的临界值.

结果: 肝硬化CT形态学分级与BF、BV、IRF To、PVP、MTT、HAF、A/V有显著的统计学差异及相关性(r = -0.848、-0.801、-0.652、-0.864, 0.612, 0.822, 0.824, 均P<0.05); CT肝硬化形态学三分级与Child-Pugh分级呈显著正相关(r = 0.877, P = 0.001); 典则判别函数和ROC分析显示, 肝脏灌注参数对Child-Pugh分级的判别符合率为90.6%, BF、BV、PVP、判断Child-Pugh分级符合率分别为90.6、87.5、93.8%.

结论: 肝脏CT灌注成像可作为评估肝癌患者肝硬化严重程度和肝储备功能的重要影像学指标.

关键词: 肝脏灌注成像; 体层摄影术; X线计算机; 肝脏储备功能

刘剑仑, 苏丹柯, 杨华伟, 许宇彪, 王彩红, 李强, 韦长元. 多层螺旋CT灌注成像技术对肝硬化储备功能的评估. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 464-469

http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/464.asp

0 引言

原发性肝癌是最常见的肝脏恶性肿瘤, 由于原发性肝癌常伴有不同程度肝硬化影响了肝脏的储备功能, 易发生术后肝功能衰竭, 限制了肝脏切除范围[1]. 肝癌肝硬化程度及肝储备功能的正确评估, 对预测手术风险、制定合理的治疗方案具有重要的意义. 本研究运用多层螺旋CT灌注成像技术对32例原发性肝癌伴肝硬化患者进行研究, 探讨其对评估肝癌患者肝硬化程度和肝储备功能的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-06/2006-12肝癌伴肝硬化患者32例, 其中男27例, 女5例, 年龄28-67(中位年龄46)岁. 所有患者均经临床、实验室、影像学或/和肝脏穿刺活检证实为肝硬化及肝细胞性肝癌, 且证实无门脉瘤栓且无肿瘤压迫和侵犯肝内主要血管, 无心脏病史. 肝功能Child-Pugh分级: A级17例, B级9例, C级6例. 根据肝硬化CT形态学分级方法, 将患者肝硬化程度分为轻、中、重度三级[2], 其中轻度17例、中度8例、重度7例.

1.2 方法

1.2.1 操作步骤: GE Lightspeed Ultra型8排螺旋CT机. 检查前准备与常规肝脏CT增强扫描相同, 仰卧位, 上腹部宽腹带加压, 抑制腹式呼吸, 减少呼吸运动对图像造成的伪影, 嘱患者保持胸式平静呼吸. 选择第一肝门(包括腹主动脉、门脉主干及其分支)相邻4层为靶层面, 层厚5 mm. 高压注射器肘前iv非离子型对比剂碘海醇50 mL(300 mg I/mL), 流率4.5 mL/s, 注射5 s后, 快速动态扫描, 持续时间50 s, 采集图像200帧; 其后以2 s为间隔轴扫, 获图像80帧; 上述共扫描110 s, 获280帧5 mm图像, 重建140帧10 mm图像.

1.2.2 图像及数据处理: 图像传送到AW4.2工作站, GE CT Perfusion 3去卷积模肝脏灌注软件进行数据处理, 处理阈值-9-120HU. 腹主动脉和门静脉分别被确定为输入动脉和输入静脉感兴趣区(region of interest, ROI), 避开大血管以避免部分容积效应. 靶层面肝右叶、左内及左外叶各取 3 个尽量大的ROI, 取其平均值, 计算血流量(BF)、血容量(BV)、平均通过时间(MTT)、肝动脉分数(HAF)、对比剂到达时间(IRF To)等参数. 并根据肝脏病变评价要求, 计算肝动脉灌注量(HAP)、门静脉灌注量(PVP), 肝动脉与门静脉灌注比率(A/V). 其计算公式为: HAP = BF×HAF; PVP = BF×(1-HAF); A/V = HAP/PVP.

统计学处理 应用SPSS11.5统计软件行χ^2检验、方差分析、Spearman等级相关性分析、ROC分析及Fisher线性判别分析, 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 正常肝脏与肝硬化灌注函数图比较 正常肝脏与肝硬化MSCT灌注函数图比较, 正常肝脏BF、BV灌注函数图与肝硬化BF、BV灌注函数图比较, 肝硬化肝脏血流量明显高减少; 而正常肝脏HAF灌注函数图与肝硬化HAF灌注函数图相比, 肝硬化肝脏呈明显高灌注(图1).

2.2 不同程度肝硬化CT灌注参数比较 除HAP外, 不同程度肝硬化BF、BV、MTT、HAF、IRF To、PVP及A/V平均值之间差异均有显著性意义(P<0.05), 并随着肝硬化程度的加重, BF、

■研发前沿
多层面螺旋CT的日益普及, CT作为一项准确的非侵入性影像学技术, 通过对肝脏CT灌注成像技术可测定血流灌注参数, 使肝脏影像学表现与肝脏功能改变有机地结合. 国内外对肝脏CT灌注的研究屡见不鲜, 但对肝硬化肝脏形态学、肝血流动力学与肝功能改变三者之间的关系缺乏研究, 以用于评估肝脏储备功能.

■相关报道
形态学改变是功能学改变的基础, 功能学改变反映形态学的改变. 目前Child-Pugh分级仍是公认评价肝储备功能的有效方法, 但黄志强 *et al*认为Child肝功能分级只是反映肝功能生化指标的分级, 并非临床上评价肝储备功能的"金标准", 此分级法过于粗略, 不能完全反映肝脏的储备功能, 目前需要找到一个更加准确, 便捷方法评价肝储备功能, 而肝脏CT灌注扫描因能兼顾形态学和功能学则可能有望成为连接两者的桥梁性工具.

■创新盘点

本研究分析肝脏MSCT灌注参数、形态学分级、肝功能Child-pugh分级三者之间的相关性, 分析CT灌注参数评估肝脏储备功能的可行性, 实现通过从形态学和功能学角度对患者肝脏储备功能进行评估, 为肝癌患者选择恰当的治疗方式提供依据.

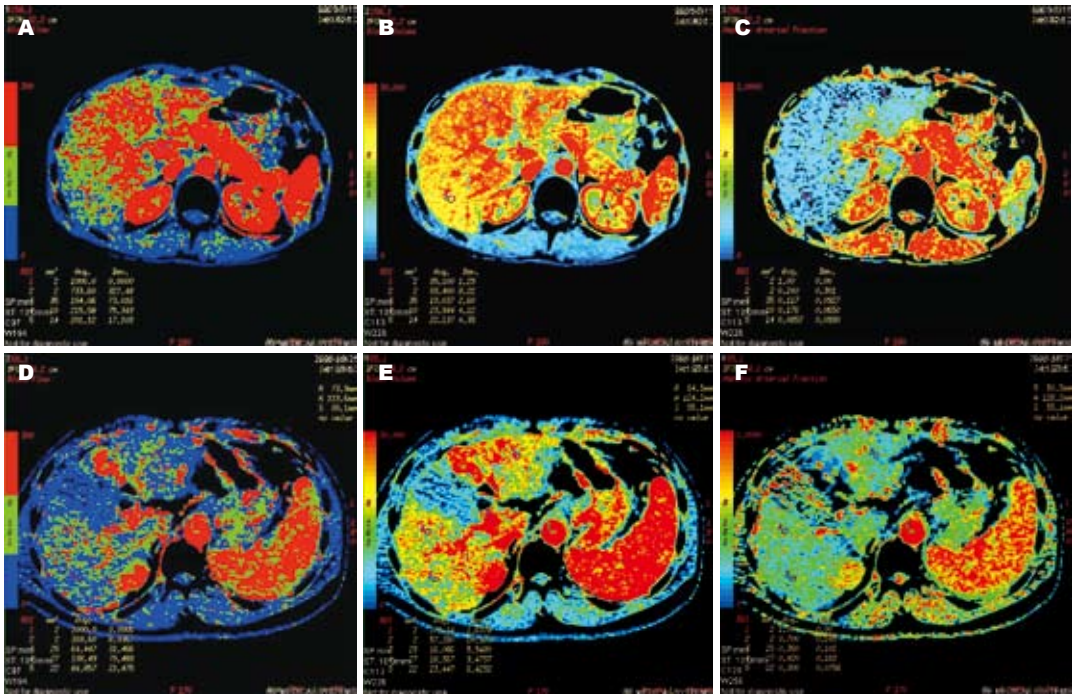


图 1 正常肝脏与肝硬化灌注函数图. A: 正常肝BF函数; B: 正常肝BV函数; C: 正常肝HAF函数; D: 肝硬化BF函数; E: 肝硬化BV函数; F: 肝硬化HAF函数. 正常肝较硬化肝呈明显高灌注表现(红绿色成分较多), 肝硬化较正常肝呈相对高灌注表现(红绿色成分较多).

表 1 肝癌伴肝硬化患者肝脏CT灌注参数

肝脏灌注值	轻度肝硬化	中度肝硬化	重度肝硬化	*F*值	*P*值
BF[mL/(min · 100 g)]	138.12 ± 25.39	98.47 ± 17.18	68.02 ± 14.95	28.084	<0.05
BV(mL/100 g)	15.98 ± 2.54	12.50 ± 2.18	9.34 ± 0.74	24.122	<0.05
MTT(s)	9.30 ± 2.07	10.95 ± 1.53	12.52 ± 1.10	8.586	<0.05
HAF	0.21 ± 0.05	0.29 ± 0.04	0.40 ± 0.08	27.926	<0.05
IRF To(s)	5.32 ± 1.98	3.52 ± 1.63	1.99 ± 0.90	9.917	<0.05
HAP[mL/(min · 100 g)]	29.34 ± 9.61	28.46 ± 6.06	26.19 ± 2.32	0.396	>0.05
PVP[mL/(min · 100 g)]	108.81 ± 20.67	70.01 ± 13.22	41.83 ± 14.25	49.930	<0.05
A/V	0.27 ± 0.08	0.41 ± 0.07	0.69 ± 0.24	15.988	<0.05

表 2 CT形态学分级与肝功能Child-Pugh分级的关系 (*n*)

Child-pugh分级	CT形态学分级			合计
	轻度	中度	重度	
A级	16	1	0	17
B级	1	6	1	8
C级	0	2	5	7
合计	17	9	6	32

BV、IRF To及PVP呈逐渐递减趋势, 而MTT、HAF及A/V呈逐渐递增趋势(表1).

2.3 CT灌注参数与CT形态学分级的相关性 Spearman等级相关分析显示, 肝硬化CT形态学分级与BF、BV、IRF To、PVP呈显著负相关, 相关系数*r*为-0.848、-0.801、-0.652、-0.864, *P* = 0.001; 与MTT、HAF、A/V呈显著正相关, 相关系数0.612、0.822、0.824, *P* = 0.001; 与HAP无相关关系(*P* = 0.513).

2.4 Child-pugh分级与CT形态学分级的相关性 Spearman等级相关分析显示, 患者肝功能Child-pugh分级与肝硬化CT形态学分级显著正相关, *r* = 0.877, *P* = 0.001(表2).

2.5 CT灌注参数与Child-pugh分级的判别分析 CT灌注参数BF、BV、MTT、HAF、IRF To、HAP、PVP、A/V作为预报变量X_i(i = 1-8), 分类变量Y为Child-pugh分级(Child-pugh A、B、C分别赋值1、2、3), 判别函数模式为$D=K_0+K_iX_i$, 首先采用全模型法将所有预报变量X_i同时进入判别方程, 建立判别

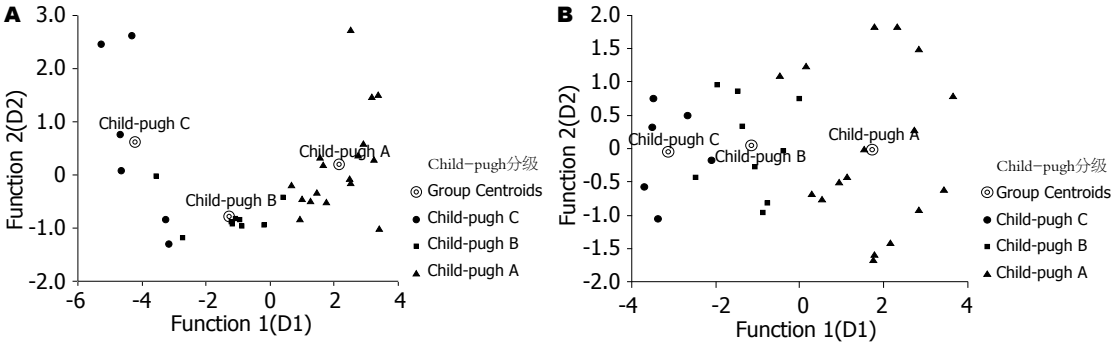


图 2 CT灌注参数对Child-pugh分级的判别分析. A: 全模型法; B: 逐步选择法.

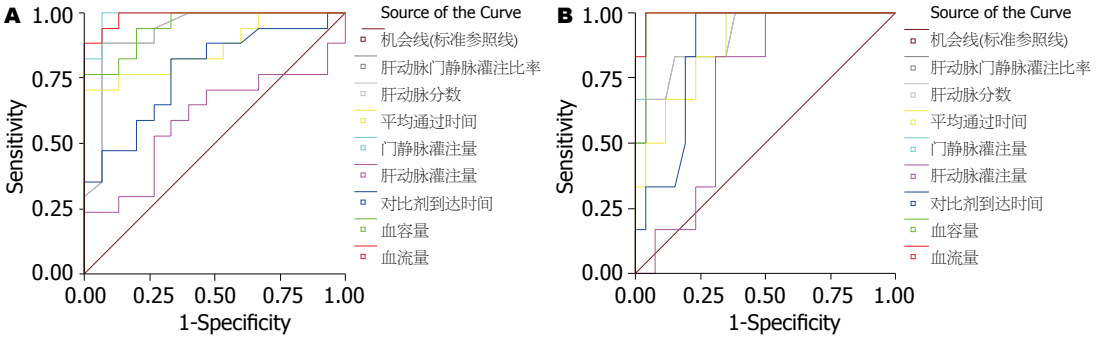


图 3 CT灌注参数判断肝脏储备功能的ROC曲线. A: Child-pugh A的ROC曲线; B: Child-pugh Cde ROC曲线.

表 3 肝脏灌注参数判断Child-pugh分级的ROC曲线的统计特征

参数	判断Child-pugh A ROC曲线下面积				判断Child-pugh C ROC曲线下面积			
	AUC	标准误	95%CI	*P*值	AUC	标准误	95%CI	*P*值
BF	0.988	0.013	(0.962, 1.014)	0.000	0.994	0.010	(0.973, 1.014)	0.000
BV	0.949	0.034	(0.882, 1.016)	0.000	0.981	0.022	(0.938, 1.024)	0.000
MTT	0.867	0.065	(0.740, 0.993)	0.000	0.878	0.067	(0.746, 1.010)	0.004
HAF	0.927	0.050	(0.830, 1.025)	0.000	0.910	0.063	(0.788, 1.033)	0.002
IRF To	0.775	0.083	(0.612, 0.937)	0.008	0.862	0.066	(0.734, 0.991)	0.006
HAP	0.592	0.104	(0.389, 0.795)	0.375	0.712	0.091	(0.533, 0.890)	0.111
PVP	0.988	0.014	(0.960, 1.016)	0.000	0.987	0.016	(0.955, 1.019)	0.000
A/V	0.927	0.050	(0.830, 1.025)	0.000	0.907	0.065	(0.780, 1.034)	0.002

函数, 标化判别函数为$D_1 = -0.087X_1+0.483X_2-0.440X_3-2.218X_4+0.338X_5+1.108X_6+1.217X_8$, $D_2 = 2.063X_1+0.242X_2+0.008X_3+3.007X_4+0.140X_5-2.961X_6-0.586X_8$; 非标化判别函数为$D_1 = -0.004X_1+0.225X_2-0.262X_3-35.461X_4+0.179X_5+0.146X_6+8.435X_8+1.539$, $D_2 = 0.102X1+0.113X_2+0.005X_3+48.092X_4+0.074X_5-0.389X_6-4.060X_8-13.826$. 判别分类图见图2A, 判别符合率为90.6%. 然后采用逐步选择法筛选出变量MTT(X_3)、PVP(X_7)入选判别函数, 标化判别函数$D_1 = -0.561X_3+ 0.910X_7$, $D_2 = 0.840X_3+0.439X_7$; 非标化判别函数$D_1 = -0.334X_3+0.053X_7-0.967$, $D_2 = 0.5X_3+0.025X_7-7.358$, 判别分类图如图2B, 判别符合率为90.6%.

2.6 CT灌注参数判断肝脏储备功能的ROC曲线 以肝脏各灌注参数定义为检验变量, 肝功能Child-pugh分级定义为状态变量, 首先将肝功能Child-pugh A级定义为阳性事件, 以“1”表示, 肝功能Child-pugh B、C级均以“0”表示; 然后将肝功能Child-pugh C级定义为阳性事件, 以“1”表示, 肝功能Child-pugh A、B级均以“0”表示, SPSS11.5统计软件绘制受试者工作特征曲线(ROC Curve)(图3)并计算ROC曲线下面积AUC(表3), 将灵敏度+特异度最大即最靠近ROC曲线左上方的点确定为临界点, 选取ROC曲线下面积大于0.9的参数BF、BV、HAF、

■名词解释
ROC曲线: 受试者工作曲线, 基本原理是通过判定点(cutoff point/cutoff value)的移动, 获得多对灵敏度(sensitivity)和误判率(1-Specificity(特异度)), 以灵敏度为纵轴, 以误判率为横轴, 连接各点绘制曲线, 然后计算曲线下的面积, 面积越大, 判定价值越高.

■同行评价
该研究目的明确, 方法科学合理, 结果可信度高, 具有较好的学术和实用价值.

表 4 肝功能Child-pugh A、B、C的肝脏CT灌注参数范围

参数	Child-pugh A	Child-pugh B	Child-pugh C	一致率 (%)	*P*值
BF	>114.765	82.020-114.765	<82.020	90.6	0.238
BV	>14.855	10.020-14.855	>10.020	87.5	0.113
HAF	<0.255	0.255-0.310	>0.310	78.1	0.011
PVP	>80.353	57.508-80.353	<57.508	93.8	0.492
A/V	<0.342	0.342-0.450	>0.450	75.0	0.005

PVP、A/V, 初步界定肝功能Child-pugh分级各级别参数范围并计算一致率(表4).

3 讨论

肝脏的血流量是维持肝脏正常功能的重要因素, 血流灌注的减少, 可引起血流与肝细胞间的交换减少并最终导致肝脏功能的损害, 因此肝脏血流动力学参数是判断其功能的重要指标[3-4]. 本研究结果显示, 肝硬化CT形态学分级与主要CT灌注参数(BF、BV、MTT、HAF、IRF To、PVP)显著相关, 主要CT灌注参数在轻、中、重度肝硬化组间存在显著统计学差异, 表明随着肝硬化严重程度的增加, 肝脏的血管阻力增加, 门静脉压力增高引起门静脉灌注量显著降低, 而肝动脉的缓冲效应低下[5], 不足以代偿门静脉灌注的减少, 致使肝总灌注量下降. 本研究发现, 肝硬化时肝脏血流灌注的变化与疾病严重程度相关, 随着肝硬化程度的增加, BF、BV、HAP及PVP均下降, 与文献报道一致[6-8]. 由于正常肝脏血液供应的70%-80%都来自于门静脉, 因此门静脉供血的降低势必导致血流灌注的明显减少, 从而使血流与肝细胞间的交换明显减少, 并最终导致肝脏功能损害程度的加重[9]. 目前对肝脏储备功能的评价缺乏兼顾形态和功能两方面定量指标, 而且肝硬化病情分度目前国内亦无统一标准. 本研究根据CT形态学改变将肝硬化划分为轻、中、重度三级, 并同时与Child-Pugh分级进行相关性分析, 结果表明, 肝功能Child-pugh分级与肝硬化CT形态学分级显著相关(r = 0.891, P = 0.001). 说明肝脏CT灌注不仅能够反映肝硬化病变的程度, 而且对肝脏的储备功能可进行有效评估[10].

我们进一步通过判别分析建立肝脏CT灌注参数对Child-pugh分级的判别函数以评估肝脏CT灌注参数评价肝脏储备功能的价值. 首先采用全模型法将所有预报变量同时进入判别方程, 建立典则判别函数, 本组病例判别函数的判别符合率为90.6%, 说明肝脏灌注参数对肝功能Child-pugh分级错判率较低(9.4%). 我们进一步采用逐步选择法筛选出MTT、PVP为判断Child-pugh分级的有效参数, 判别函数判别符合率为90.6%, 与全模型法结果一致, 由于该函数仅涉及两个灌注参数, 较全模型法建立的判别函数应用更方便且不增加错判率, 因而有更好的应用价值.

我们通过计算ROC曲线下面积(area under the curve, AUC), 进一步比较肝脏CT灌注参数与Child-pugh分级在判断肝硬化肝脏储备功能方面价值. 本研究表明, BF、BV、HAF、PVP、A/V在判断Child-pugh的ROC曲线下面积均大于0.9, 判断准确性较高, 而MTT、IRF To曲线下面积介于0.7-0.9之间, 判断价值中等. 根据选择最佳的诊断界限值, 选取上述判断准确性较高的指标即ROC曲线下面积大于0.9的参数BF、BV、HAF、PVP、A/V, 初步界定Child-pugh分级各级别参数范围并计算一致率, BF、BV、PVP与Child-pugh分级无统计学差异(P>0.05), 两者具有较好的一致率, 一致率分别为90.6%、87.5%、93.8%, 可作为判定肝硬化严重程度及肝储备功能的可靠指标.

总之, 通过本研究, 我们认为肝脏CT灌注成像在判断肝硬化肝脏储备功能方面能够兼顾形态和功能二者, 且具有客观、定量的优点, 因此有可能成为肝硬化肝脏储备功能有效的评估手段, 值得临床进一步研究.

4 参考文献

1 Llovet JM, Schwartz M, Mazzaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 181-200

2 王彩红, 苏丹柯, 刘剑仑, 谢东, 李强, 黄伟丽. 多层螺旋CT灌注对肝癌病人肝硬化分级及肝储备功能评价的研究. 实用放射学杂志 2008; 24: 197-200

3 Blomley MJ, Coulden R, Dawson P, Kormano M, Donlan P, Bufkin C, Lipton MJ. Liver perfusion studied with ultrafast CT. *J Comput Assist Tomogr* 1995; 19: 424-433

4 Miles KA, Griffiths MR. Perfusion CT: a worthwhile enhancement? *Br J Radiol* 2003; 76: 220-231

5 Tsushima Y, Blomley JK, Kusano S, Endo K. The portal component of hepatic perfusion measured by dynamic CT: an indicator of hepatic parenchymal damage. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1632-1638

6 李家平, 杨建勇, 江利, 陈伟. 运用CT动态灌注成像技术测定肝脏血流量的临床研究. 临床放射学杂志 2004; 23: 130-134

7 Nakashige A, Horiguchi J, Tamura A, Asahara T, Shimamoto F, Ito K. Quantitative measurement of hepatic portal perfusion by multidetector row CT

with compensation for respiratory misregistration. *Br J Radiol* 2004; 77: 728-734
8 Li X, Benjamin IS, Alexander B. The relationship between intrahepatic portal systemic shunts and microsphere induced portal hypertension in the rat liver. *Gut* 1998; 42: 276-282
9 Chen G, Ma DQ, He W, Zhang BF, Zhao LQ. Computed tomography perfusion in evaluating the therapeutic effect of transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5738-5743
10 Tian JL, Zhang JS. Hepatic perfusion disorders: etiopathogenesis and related diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3265-3270

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2007年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	19	44	−0.98	0.059	44	−0.89
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	4431	1	3.46	0.745	10	0.38
G803	肝脏	467	28	−0.53	0.537	17	−0.01
G938	国际呼吸杂志	521	25	−0.48	0.386	32	−0.29
G415	国际内分泌代谢杂志	654	20	−0.34	0.520	19	−0.04
G939	国际脑血管病杂志	662	19	−0.33	0.480	22	−0.11
G501	临床肝胆病杂志	497	26	−0.50	0.318	36	−0.41
G291	临床骨科杂志	689	18	−0.31	0.455	25	−0.16
G658	临床荟萃	1169	13	0.18	0.233	40	−0.57
G257	临床内科杂志	651	21	−0.35	0.367	34	−0.32
G855	临床消化病杂志	292	36	−0.71	0.394	30	−0.27
G261	临床心血管病杂志	866	17	−0.13	0.474	24	−0.12
G293	临床血液学杂志	341	34	−0.66	0.347	35	−0.36
G491	岭南心血管病杂志	157	41	−0.84	0.110	43	−0.79
G662	内科急危重症杂志	276	37	−0.72	0.318	36	−0.41
G746	实用肝脏病杂志	297	35	−0.70	1.100	3	1.04
G190	**世界华人消化杂志**	**2353**	**5**	**1.37**	**0.568**	**15**	**0.05**
G800	胃肠病学	376	33	−0.62	0.372	33	−0.31
G326	胃肠病学和肝病学杂志	468	27	−0.53	0.399	29	−0.26
G451	现代消化及介入诊疗	84	43	−0.92	0.230	41	−0.58
G083	心肺血管病杂志	214	40	−0.78	0.206	42	−0.62
G419	心血管病学进展	467	28	−0.53	0.419	27	−0.23
G260	心脏杂志	523	24	−0.47	0.392	31	−0.28
G610	胰腺病学	223	38	−0.78	0.282	38	−0.48
G234	中国动脉硬化杂志	869	16	−0.13	0.521	18	−0.04
G422	中国脑血管病杂志	223	38	−0.78	0.503	21	−0.07
G267	中国实用内科杂志	2121	7	1.13	0.601	13	0.11
G211	中国糖尿病杂志	1284	11	0.29	0.931	7	0.72
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	616	23	−0.38	0.599	14	0.11
G633	中国血液净化	449	31	−0.55	0.478	23	−0.12
G119	中国循环杂志	643	22	−0.35	0.411	28	−0.24
G231	中华肝脏病杂志	2746	4	1.76	1.056	4	0.95
G235	中华高血压杂志	982	15	−0.01	0.757	9	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	143	42	−0.86	0.235	39	−0.57
G876	中华老年心脑血管病杂志	465	30	−0.53	0.431	26	−0.20
G150	中华老年医学杂志	1010	14	0.02	0.510	20	−0.06
G155	中华内分泌代谢杂志	1548	9	0.56	1.032	5	0.91
G156	中华内科杂志	3238	3	2.26	0.847	8	0.57
G161	中华肾脏病杂志	1477	10	0.49	1.018	6	0.88
G285	中华消化内镜杂志	1271	12	0.28	0.607	12	0.12
G168	中华消化杂志	2249	6	1.26	1.123	2	1.08
G892	中华心率失常学杂志	384	32	−0.61	0.568	15	0.05
G170	中华心血管病杂志	3705	2	2.73	1.217	1	1.25
G172	中华血液学杂志	1632	8	0.64	0.633	11	0.17
	平均值	994			0.541		

以上数据摘自《中国科技期刊引证报告》(2008年版). 科学技术文献出版社, 160−161.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 470
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

胰头十二指肠切除术研究进展

吴金术, 彭 创, 钟德珏, 李汉贤, 陈道瑾, 成 伟, 王群伟, 刘 威, 余子建, 戴小明

编者按 1935年, Whipple创造胰头十二指肠切除术. 80多年来, 由于现代影像技术的发展和应用, 外科手术技术的飞跃进步, 使胰头十二指肠切除术得到长足发展. 胰头十二指肠切除术逐年增加. 这一腹内最复杂的手术, 已逐步在各级医院开展, 但并发症仍不时发生, 引起人们高度关注. 在这里, 我们组织了部分专家, 把这方面的最新经验, 成果让大家分享, 以期减少并发症, 增加手术安全性, 促使胰头十二指肠手术技术向更高水平发展.

1 血管变异与胰头十二指肠切除…… 471
2 胰十二指肠切除术中的胰颈与纤维板的切断…… 473
3 胰十二指肠切除术消化道重建方法的争议和评价…… 476
4 胰十二指肠切除术的出血和止血…… 482
5 扩大的胰头十二指肠切除术…… 485
6 胰腺癌扩大根治手术与血管骨骼化问题探讨…… 490

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 471-472
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

血管变异与胰头十二指肠切除

彭 创, 吴金术

彭创, 吴金术, 湖南省人民医院肝胆科 湖南省长沙市 410005
通讯作者: 吴金术, 410005, 湖南省长沙市, 湖南省人民医院肝胆科. jinshu_wu@126.com
收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2009-02-10
接受日期: 2009-02-10 在线出版日期: 2009-02-18

Vascular variant and pancreatoduodenectomy

Chuang Peng, Jin-Shu Wu

Chuang Peng, Jin-Shu Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, China
Correspondence to: Jin-Shu Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, China. jinshu_wu@126.com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-10
Accepted: 2009-02-10 Published online: 2009-02-18

Abstract
Pancreatoduodenectomy has been one of the most complicate operations in general surgery. Over the past decade, with an increasing number of pancreaticoduodenectomy cases, people have gained an in-depth understanding of blood vessel variation gradually. The aim of this study is to introduce some vascular variants we discovered in the course of pancreatoduodenectomy.

Key Words: Pancreatoduodenectomy; Vascular; Variant

Peng C, Wu JS. Vascular variant and pancreatoduodenectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 471-472

摘要
胰头十二指肠切除术是普通外科最复杂的手术之一. 近年来, 随着胰头十二指肠切除术的增多, 对其血管变异认识逐渐深入. 本文介绍一些我们在手术中遇到的血管变异和处理经验.

关键词: 胰头十二指肠切除; 血管; 变异

彭创, 吴金术. 血管变异与胰头十二指肠切除. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 471-472
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/471.asp

0 引言
在外科手术中, 胰十二指肠根治性切除术所涉及的手术创面巨大, 与邻近血管关系复杂, 操作难度较高. 在操作过程中, 如何避免医源性血管损伤是每个外科医生所关心的. 胰十二指肠切除术中医源性血管损伤具有突发性和隐匿性等特点, 给手术者带来巨大心理压力, 处理不当可导致灾难性后果, 应引起高度重视[1]. 随着胰头十二指肠切除术的增多, 对其血管变异认识逐渐深入. 常见的血管变异分为门静脉系统变异和动脉变异二类.

1 门静脉系统的变异
主要指门静脉、肠系膜静脉的变异. 常见有以下几种情况: (1)门静脉、肠系膜上静脉形状、行径的改变, 一般说, 门静脉、肠系膜上静脉相连成1字状. 但当胰头的肿块较大, 将门静脉和肠系膜上静脉向左推移而成弓形, 术中易穿通门静脉, 致大出血. 钩突巨大肿瘤, 可将门静脉、肠系膜上静脉向左前方推移(图1A). (2)肠系膜下静脉汇入肠系膜上静脉. 绝大多数肠系膜下静脉汇入脾静脉[2-3], 但有少数病例肠系膜下静脉汇入肠系膜上静脉(图1B). (3)肠系膜上静脉无外科干. 多数肠系膜上静脉外科干长约3 cm, 但少数病例肠系膜上静脉无外科干, 由多条静脉支合拢至外科干, 局部呈"萝卜须"状(图1C). (4)胰头静脉支直接入门静脉、肠系膜上静脉的右侧, 而门静脉、肠系膜上静脉前壁常无血管汇入, 约有1%-3%患者的胰颈静脉支直接汇入门静脉的前方, 因此在沟通胰颈与门静脉、肠系膜上静脉的间隙时, 易将此静脉撕裂而引起出血. (5)肠系膜上静脉、门静脉炎性狭窄, 慢性胰腺炎、胰头胰管结石患者, 由于长期反复炎症、纤维增生, 致使肠系膜上静脉、门静脉纤维狭窄, 与胰腺粘连融合, 使手术十分困难, 甚至放弃手术.

■背景资料
胰十二指肠根治性切除术所涉及的手术创面巨大, 与邻近血管关系复杂, 操作难度较高. 胰十二指肠切除术中医源性血管损伤具有突发性和隐匿性等特点, 给手术者带来巨大心理压力, 处理不当可导致灾难性后果, 应引起高度重视. 随着胰头十二指肠切除术的增多, 对其血管变异认识逐渐深入.

■同行评议者
王凤山, 教授, 中国医科大学附属第一医院肝胆外科; 杨维良, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科; 程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

■同行评价
本文介绍了与胰头十二指肠切除术相关的血管变异，文章简明扼要、条理清晰，内容具体实用，对实施胰头十二指肠切除术有参考价值.

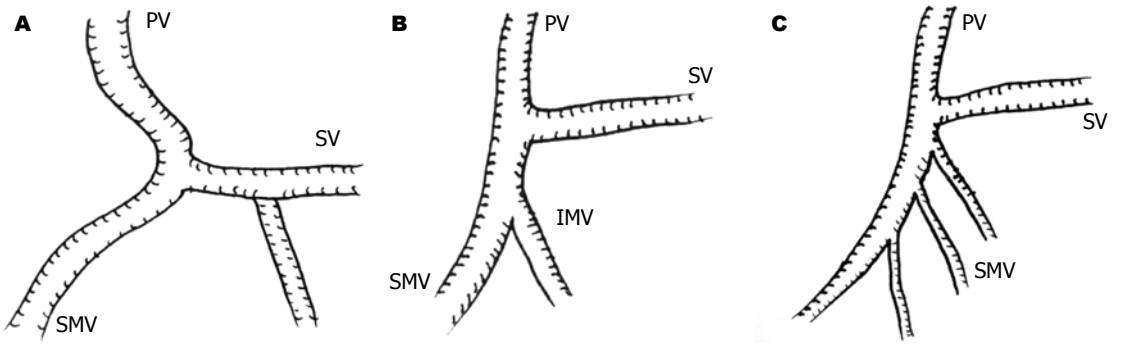


图 1 门静脉系统的变异. A: 门静脉、肠系膜上静脉形状、行径的改变; B: 肠系膜下静脉汇入肠系膜上静脉; C: 肠系膜上静脉无外科干. PV: 门静脉; SV: 脾静脉; SMV: 肠系膜上静脉; IMV: 肠系膜下静脉.

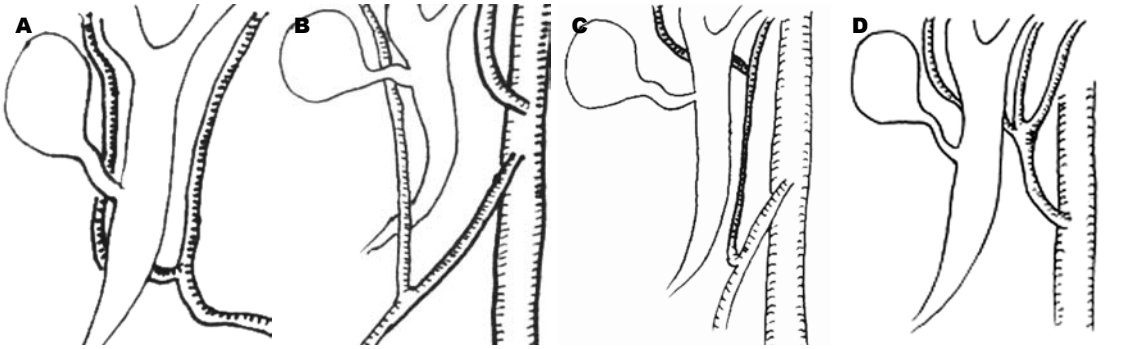


图 2 动脉变异. A: 肝右动脉伴胆总管、肝总管右侧入肝; B: 肝右动脉发自肠系膜上动脉; C: 肝固有动脉发自肠系膜上动脉; D: 肝中动脉、肝左外动脉低位分开.

2 动脉变异

动脉变异发生率很高，有时甚至使之难以辨认、寻觅，常见的情况如下: (1)肝右动脉的变异: 肝右动脉发自肝固有动脉，行经胆总管的后方，伴胆总管、肝总管右侧入肝. 游离胆总管、肝总管时易将其与肝十二指肠韧带的淋巴结一并结扎、切断，甚至移除(图2A). 肝右动脉发自肠系膜上动脉，行经胆总管、肝十二指肠韧带右方，与胆总管、肝总管伴行(图2B). 肝固有动脉发自肠系膜上动脉经胰腺实质穿出与胆总管、肝总管左侧伴行，于肝总管后发出肝右动脉，入肝(图2C). (2)肝中动脉、肝左外动脉低位分开，绝大多数病例肝固有动脉分为肝左、肝右动脉分别入右肝. 但本组也遇到肝中动脉、肝左外动脉低位分开，分别入左肝内叶、左肝外叶. 作肝十二指肠韧带脉络化时，易将肝中动脉结扎、切断(图2D). (3)肠系膜上动脉移位于肠系膜上静脉的右侧，绝大多数肠系膜上动脉在肠系膜上静脉的左侧伴行，但有约15%的患者肠系膜肠系膜上动脉走行在肠系膜上静脉的右后方，因此离断胰腺纤维板时易将其损伤、甚至结扎、切断，致小肠立即缺血变黑. 本组遇到3例均经拆线吻合后未发生肠坏死. (4)胃十二指肠动脉被肿大淋巴结及炎性疤痕组织包裹、覆盖，致使显露胃十二指肠动脉十分困难，此情况可采用以下方法处理: 先横断胆总管显现门静脉，于门静脉前方、胰上缘沟通游离胃十二指肠动脉; 横断胆总管显现门静脉，断胰颈显现其后方的门静脉、肠系膜上静脉，孤立胃十二指肠动脉，予以切断.

3 参考文献

1 彭承宏, 程东峰, 沈柏用, 杨卫平, 陶宗元, 丁家增, 李宏为. 胰十二指肠切除术中医源性动脉损伤的处理和预防. 中国实用外科杂志 2005; 25: 540-542
2 刘兴国, 冉凌, 吴涛, 丁自海, 钟世镇. 腹腔镜胰十二指肠切除术中肠系膜上血管的应用解剖. 中国临床解剖学杂志 2007; 25: 172-175
3 李国新, 丁自海, 张策, 余江, 黄祥成, 钟世镇. 腹腔镜下肠系膜下血管的临床解剖学. 解剖学杂志 2006; 29: 624-626

编辑 李军亮 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 473-475
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

胰十二指肠切除术中的胰颈与纤维板的切断

钟德玠

钟德玠, 中南大学湘雅二医院肝胆外科 湖南省长沙市 410011
通讯作者: 钟德玠, 主任医师, 教授, 研究生导师, 410011, 湖南省长沙市人民路156号, 中南大学湘雅二医院肝胆外科.
zhdewu@sina.com
电话: 0731-5293359
收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2009-02-10
接受日期: 2009-02-10 在线出版日期: 2009-02-18

Dissection of pancreatic neck and fiberboard in pancreatoduodenectomy

De-Wu Zhong

De-Wu Zhong, Department of Hepatobiliary Surgery, the Xiangya Second Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China
Correspondence to: De-Wu Zhong, Department of Hepatobiliary Surgery, the Xiangya Second Hospital, Central South University, 156 Renmin Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. zhdewu@sina.com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-10
Accepted: 2009-02-10 Published online: 2009-02-18

Abstract
Decision of pancreatoduodenectomy rests upon detection. Key to this process is detection and assessment of pancreatic neck and fiberboard. Successful dissection of pancreatic neck and fiberboard decided upon directly the success as well as the results, especially for patients with pancreatic head carcinoma. This article introduces the methods, techniques in dealing with difficulties present in pancreatoduodenectomy.

Key Words: Pancreatoduodenectomy; Pancreatic neck; Fiberboard

Zhong DW. Dissection of pancreatic neck and fiberboard in pancreatoduodenectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 473-475

摘要
胰十二指肠切除术能否进行在于探查, 关键在对胰颈与纤维板的探查和判定; 胰颈与纤维板的切除, 直接决定该手术能否成功以及疗效, 特别对胰头癌患者, 尤为重要. 本文详尽介绍胰颈与纤维板切除的方法、技巧和各种困难情况的处理.

关键词: 胰十二指肠切除术; 胰颈; 纤维板

钟德玠. 胰十二指肠切除术中的胰颈与纤维板的切断. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 473-475
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/473.asp

0 引言
胰十二指肠切除术能否进行在于探查, 关键在对胰颈与纤维板的探查和判定; 胰颈与纤维板的切除, 直接决定该手术能否成功以及疗效, 特别对胰头癌患者, 尤为重要. 胰头肿瘤能否切除, 主要取决于是否能解剖和保护肠系膜上静脉和门静脉, 这是胰十二指肠切除术的关键, 只要能解剖和保护肠系膜上静脉和门静脉, 胰十二指肠切除术就会成功实施.

经过探查后, 决定可行胰十二指肠切除术, 即进入切除阶段. 切断胃体, 切除胆囊, 横断胆总管和上部空肠后, 进入胰十二指肠切除术切除阶段最关键, 也是最困难的时刻, 容易损伤门静脉, 肠系膜上静脉, 甚至肠系膜上动脉.

1 断胰颈
已判定胰颈与纤维板可切除后, 胰腺切除的范围取决于病变的性质和范围. 对于良性病变和壶腹癌, 胰腺切除线在肠系膜上静脉走行的前面, 即胰颈处切断. 胰头癌应根据癌肿的大小、浸润范围和淋巴结转移情况来决定. 一般在肠系膜上静脉左侧切断胰腺. 为防止切缘有残癌, 应在胰尾侧胰腺断端行快速病理检查. 由于肠系膜上静脉前方为无血管区, 可在胰颈后方放置大血管钳1把, 以保护肠系膜上静脉. 断胰颈前, 为减少出血, 于预定切断线的胰头侧用7号丝线结扎或“8”字缝扎; 尾侧的上、下缘, 各用4号线缝扎, 以阻断胰腺的横行血管. 然后将胰腺楔形或斜形横向切断. 95%的病例胰管在胰颈的中上1/3交界处的背侧, 切断胰腺时, 要边切断胰腺, 边注意胰管, 尽量剥离胰管达0.3-0.5 cm

■背景资料
胰颈与纤维板的切除, 直接决定该手术能否成功以及疗效, 特别对胰头癌患者, 尤为重要. 胰头肿瘤能否切除, 主要取决于是否能解剖和保护肠系膜上静脉和门静脉, 这是胰十二指肠切除术的关键, 只要能解剖和保护肠系膜上静脉和门静脉, 胰十二指肠切除术就会成功实施.

■同行评议者
王凤山, 教授, 中国医科大学附属第一医院肝胆外科; 杨维良, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科; 程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

■研发前沿
胰十二指肠切除术能否进行在于探查，经过探查后，决定可行胰十二指肠切除术，即进入切除阶段. 切断胃体，切除胆囊，横断胆总管和上部空肠后，进入胰十二指肠切除术切除阶段最关键，也是最困难的时刻.

长再切断胰管, 以便于插入胰腺导管, 用2-0丝线缝一根牵引线, 以便于随后寻找和处理. 胰腺导管以选用导尿管(剪侧孔)为好. 粗大的胰管不要急于插入导管. 免妨碍术野, 以胰颈与纤维板切除后插入为宜. 胰腺的导管插入的深度一般为5-10 cm. 用可吸收线在胰管上缝合一针并固定之. 胰腺切断后, 断面用丝线缝扎止血. 尾侧胰腺断端要游离2-3 cm以利于胰腺空肠吻合; 此处胰腺背部有多条小静脉回流到脾静脉, 应逐一结扎并切断. 胰腺上的止血用缝合须用不吸收缝线. 肠线在胰酶的作用下过早降解, 可致继发性出血及胰漏.

卜献民 *et al*[1]介绍显露肠系膜上静脉和门静脉的解剖技巧: 有以下几种途径: (1)前路法: 直接在胰颈下缘分层解剖, 由浅入深, 肠系膜上静脉的位置较固定,容易显露, 较瘦的患者就更容易; (2)循胃网膜右静脉游离: 循胃网膜右静脉, 向肠系膜根部游离, 当靠近肠系膜上静脉时, 可见横结肠右静脉支汇入胃网膜右静脉, 形成Henle干; 于汇合点以远切断胃网膜右静脉, 保留横结肠右静脉支, 此处距肠系膜上静脉不到1 cm, 易于显露肠系膜上静脉; (3)侧路法: 将胰头掀起, 沿十二指肠水平段向肠系膜根部方向游离, 肠系膜上静脉主干就位于肠系膜根部的右侧缘, 显露肠系膜上静脉主干, 再沿肠系膜上静脉向上向胰腺下缘游离, 即可显露胰颈下缘的肠系膜上静脉; (4)上路法: 在肝十二指肠韧带骨骼化处理的基础上, 清除第8组淋巴结, 将胃右动脉和胃十二指肠动脉切断, 再将肝总动脉向上牵拉, 可显露胰腺上方的门静脉主干, 用小直角钳沿门静脉前方小心向下探查, 胰门间隙内多无血管分支, 可显露门静脉和肠系膜上静脉; (5)切断胰腺显露法: 在显露困难的情况下, 经门静脉前方分开胰门间隙有很大难度, 此时可用电刀小心切开胰颈部, 由浅入深, 待胰颈后方仅残留一薄层胰腺组织时, 较容易用小直角钳通过胰门间隙, 全部切开胰颈, 显露门静脉和肠系膜上静脉; 直视下较容易保护门静脉和肠系膜上静脉; (6)胰头癌侵及胰颈: 如胰头癌已侵及胰颈时, 也可距肿块左侧2 cm处, 从正常的胰体部先横断胰腺, 显露脾静脉, 再牵拉胰腺的近侧断端, 直视下沿脾静脉前方, 向右侧游离, 进一步显露门静脉和肠系膜上静脉, 切除胰头; (7)认真辨认肠系膜上静脉位置: 情况复杂, 无法辨认肠系膜上静脉的确切位置, 此时可经小肠系膜根部显露肠系膜上静脉; 在较瘦患者, 可清楚看清肠系膜上静脉, 尤其当门静脉和肠系膜上静脉受压时, 肠系膜静脉血管常充盈扩张, 容易寻找在较肥胖患者, 于系膜根部横行剪开浆膜, 小心解剖可显露肠系膜上静脉, 再沿此静脉向胰腺下缘游离, 有助于暴露肠系膜上静脉主干. 上述前4种方法属常规方法, 在壶腹部肿瘤未明显累及门静脉和肠系膜上静脉情况下均可完成手术; 当胰头癌肿块较大或者胰钩突部肿瘤发现较晚, 门静脉和肠系膜上静脉受累难于显露时, 可采用4-7方法. 在手术中, 上述多种显露门静脉和肠系膜上静脉的方法可联合应用.

2 断纤维板

切除胰腺钩突有两种途径: 一种自上而下; 另一种为自下而上. 自下而上途径需先游离上段空肠及Treitz韧带, 将上段空肠拉至结肠上区, 再行胰钩突切除术.

将胃远端和胰头翻向右侧, 肠系膜上静脉和门静脉完全显露; 引流胰头和钩突部的血液的静脉多汇合至肠系膜上静脉和门静脉右侧壁及后壁, 主要有管径较粗的胰上和胰下静脉, 另外尚有数目不等的细小静脉支; 轻轻推开肠系膜上静脉右侧壁及后壁, 此处可见有多条小静脉汇入肠系膜上静脉, 仔细一一结扎并切断, 以免损伤肠系膜上静脉, 发生大出血. 结扎和切断这些静脉支时需要轻巧和耐心, 多可在两根细丝线结扎之间切断, 若遇分离出的静脉干较短时, 在肠系膜上静脉和门静脉端用4-0的无创伤血管缝线穿过其外鞘膜后结扎. 此处的血管壁薄; 忌用血管钳钳夹, 极易撕裂肠系膜上静脉和门静脉. 一般用蚊式钳将其与周围组织分开后, 引过两根细丝线结扎后切断. 遇到有肠系膜上静脉和门静脉上出血, 可用手指轻压止血, 然后用5-0的无创伤血管缝线缝合止血, 不可盲目钳夹. 切勿用电刀电凝处理, 以免术后大出血. 此处的静脉分支处理完毕后, 肠系膜上静脉和门静脉便可与胰头和钩突部分离.

将胃远端、胰头、十二指肠、空肠上端向右侧牵引, 用拉钩将门静脉和肠系膜上静脉轻轻拉向左侧, 即可显露肠系膜上动脉. 为了能完全地切除钩突部, 一般沿肠系膜上动脉的前方纵向剪开其纤维鞘膜; 略加分离, 便可将钩突部系膜分离清楚, 由肠系膜上动脉向胰头、十二指肠的纤维脂肪膜内有淋巴、神经纤维和胰十二指肠下动脉及静脉的分支构成钩突部系膜, 胰头和十二指肠由此系膜与身体相连. 然后左手的四指

在后触摸肠系膜上动脉的博动和走向, 拇指在前牵开胰腺钩突部并感觉肠系膜下动脉所在, 最好能切开肠系膜上动脉外的纤维鞘膜, 以清楚显示动脉的血管分支, 加以结扎并切断. 在胰腺实质以外, 逐步由上而下地钳夹、切断、结扎肠系膜上动脉与胰腺间的联系, 胰十二指肠下动脉则单独结扎、切断, 有时也可分别结扎其前分支和后分支, 最后结扎、切断胰十二指肠下静脉和处理上端空肠系膜, 切除整块组织. 这样操作, 钩突的切除既彻底又安全. 要特别注意保护肠系膜上动脉, 一旦损伤, 要立即修补, 否则会导致小肠大范围坏死, 后果极为严重.

有时由于局部连较多或因渗血, 肠系膜上动脉得不到良好的显露和分离, 此时, 可向胰头及十二指肠施加牵引之下, 沿肠系膜上动脉之方向在胰腺钩突部系膜上, 逐步切断及结扎钩突部系膜的神经、血管、纤维, 使残留的胰腺组织减少至最低限度. 钩突部系膜切断处最易在术中术后发生出血, 因其位置深, 常被门静脉和小肠系膜所遮盖, 不易发现. 因此在标本移除后, 应吸尽术野的血液和血凝块, 将门静脉和小肠系膜牵起, 仔细检查钩突部系膜的断端有无渗血或活动的小出血点, 将其一一缝扎止血. 也有主张在切除钩突部系膜时, 可离开肠系膜上动脉稍远一些, 钳夹切断时可以保留少许胰腺组织, 以缩短手术时间. 但该方法所遗留的胰腺组织可能在术后发生坏死、出血, 同时也影响胰头癌切除的彻底性, 最好不用于胰头癌. 胰头癌行胰十二指肠切除术时, 我们主张应将胰腺钩突完整切除, 以防癌残留. 同时彻底清扫肠系膜上动、静脉周围的淋巴结, 使之骨骼化.

■**同行评价**
本文作者结合自身经验叙述了胰十二指肠切除术中的胰颈与纤维板切断的具体方法、步骤, 有临床参考价值.

3 参考文献

1 卜献民, 戴显伟, 徐进. 胰头十二指肠切除术的手术技巧. 消化外科 2006; 5: 135-136

2 彭淑牖, 钱浩然. 困难的胰十二指肠切除术. 中国普外基础与临床杂志 2006; 13: 496-497

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志数字用法标准

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 本刊论文中数字作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定:分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿位伯数字不移行! (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 476-481
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

胰十二指肠切除术消化道重建方法的争议和评价

李汉贤

■背景资料
半个多世纪以来，众多胰十二指肠切除术消化道重建的方法被推出应用于临床，但对他们的作用和效果评价一直处于矛盾和争议中，困惑着临床外科医生. 本文总结21世纪最新成果，对临床上有争议的问题进行综合对比分析，试图对胰十二指肠切除术消化道重建的几种主要方法作出初步评价.

李汉贤，南华大学附属第一医院肿瘤外科 湖南省衡阳市 421001
通讯作者：李汉贤，421001，湖南省衡阳市船山路69号，南华大学附属第一医院肿瘤外科. li-surgon@qq.com
电话：0734-8279036
收稿日期：2008-11-24 修回日期：2009-02-08
接受日期：2009-02-09 在线出版日期：2009-02-18

Controversies and appraisals about gastrointestinal reconstruction in pancreatoduodenectomy

Han-Xian Li

Han-Xian Li, Department of Oncosurgery, the First Affiliated Hospital, Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Correspondence to: Han-Xian Li, Department of Oncosurgery, the First Affiliated Hospital, Nanhua University, 69 Chuanshan Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. li-surgon@qq.com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-08
Accepted: 2009-02-09 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract
Gastrointestinal reconstruction has been considered to be closely related to postoperative morbidity, mortality and quality of life of the patients who undergo pancreatoduodenectomy (PD). For more than half a century, the scholars all around the world have offered numerous operative modifications and new procedures to improve the alimentary reconstruction for PD, but the effect and appraisal of these methods have always been controversial. In recent years many large prospective randomized controlled trials have been reported and the questions above have been re-studied based on the meta-analysis, which enables us to have a correct understanding about these questions for the first time. This article summarized newest research findings, and carried out the synthesis contrast analysis of the main methods of digestive canal reconstruction for PD such as pancreaticojejunostomy (PJ) versus pancreaticogastrostomy (PG), the child type or Roux-en-Y technique, pylorus-preserving pancreatoduodenectomy (PPPD) and the classic Whipple procedure (WPD), duct-to- mucosa anastomosis versus end-to-end invaginated PD, etc. The objective effects of these commonly clinically used procedures are discussed in this paper.

Key Words: Pancreatoduodenectomy; Gastrointestinal reconstruction; Pancreas head carcinoma; Carcinoma of ampulla

Li HX. Controversies and appraisals about gastrointestinal reconstruction in pancreatoduodenectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 476-481

摘要
胰十二指肠切除术消化道重建的方法一直被认为与患者术后并发症、死亡率及生活质量密切相关. 半个多世纪以来，各国学者围绕消化道重建提出了众多的手术改进和新方法. 但长期以来，对这些术式的效果评价一直处于矛盾和争议中. 近年，多个大样本的前瞻性临床随机研究结果见著报告，不少学者对这些问题重新进行了科学的荟萃分析，使我们对长期有争议的一些问题首次能有个正确认识. 本文综述最新研究成果，对胰十二指肠切除消化道重建的主要术式，诸如胰肠吻合和胰胃吻合、胰肠Roux-en-Y式吻合与Child吻合、保留幽门胰十二指肠切除术与传统Whipple术、胰管对肠黏膜吻合与胰肠套入法吻合等，进行了综合对比分析，对目前临床上这些常用术式的客观作用和效果作出了初步评价.

关键词：胰十二指肠切除术；消化道重建；胰头癌；壶腹部癌

李汉贤. 胰十二指肠切除术消化道重建方法的争议和评价. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 476-481
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/476.asp

■同行评议者
王凤山，教授，中国医科大学附属第一医院肝胆外科；杨维良，教授，哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科；程树群，教授，中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

0 引言
胰十二指肠切除术(pancreatoduodenectomy, PD)消化道重建的方法与患者术后并发症、死亡率及生活质量密切相关. 半个多世纪来，各国学者围绕消化道重建提出了众多的手术改进和新方法. 但长期以来，这些改进和方法的研究多是分

散和回顾性的, 其结果一直处于矛盾和争议中, 困惑着临床外科医生. 21世纪以来, 不少学者对这些问题重新进行了科学的荟萃分析或前瞻性的研究, 多个大样本的前瞻性临床随机研究结果亦见著报告. 本文总结21世纪最新成果, 对临床上有争议的问题进行对比分析, 试图对胰十二指肠切除消化道重建的几种主要方法作出初步评价, 供临床外科医生参考. 下面分两个方面探讨胰十二指肠切除术消化道重建术式: 一为关于消化道连续性重建的方法, 二为胰残端处理或吻合的方法.

1 胰腺与消化道连续性重建的方法

1.1 胰肠吻合(pancreaticojejunostomy, PJ)与Child法 PD起自1935年Whipple的二步法胰十二指肠切除, 1941年他又报道了一次胰头十二指肠切除术, 并总结发表了41例PD经验, 他切除后的消化道重建方法为胆、胰、胃和空肠吻合的顺序, 称作Whipple法. 1944年Child将空肠断端上提首先和胰腺断端吻合, 再在其下方行胆管空肠端侧吻合及胃空肠端侧吻合, 这种吻合方法称之为Child法. Child法胆汁刺激胰腺的机会较少, 食物反流引起胆管炎的机会也少, 一直是PD术经典的消化道重建方式. 但长期以来PD术的胰瘘和死亡率高, 被认为和PJ或Child法有关, 于是各种改进的方法得以推出, 大有取代PJ之势, 长久争议不休. 近年随着手术技术和围手术期处理的进步, PD的手术并发症和死亡率已降低, 死亡率已在5%以下, Child法仍为PJ的经典术式. 各种改进术式和新方法也常是与Child术作比较研究.

1.2 胰肠Roux-en-Y式吻合 文献上这类改良有两种不同方法, 一是将胰肠、胆肠与胃肠吻合分开两个袢走行, 从而避免或减少了胆汁反流性胃炎、胃肠吻合口溃疡、胆道逆行感染和倾倒综合征的发生, 进而改善了术后的消化吸收功能和营养状况[1]. 另一是将胰肠与胆肠、胃肠吻合口分开, 避免胆汁流经胰吻合口激活胰液. 如Papadimitriou *et al*[2]回顾了105例采用失功能的空肠袢与胰腺残端吻合的患者, 术后都没有出现胰瘘. 随后Jover *et al*[3]使用同样方法进行PD术前瞻性研究, 结果80例患者发生胰漏或胰瘘为20%, 认为使用失功能空肠袢行胰吻合是一安全有效的方法. Wayne *et al*[4]为减少PD术后胃排空延迟, 设计了不分离Roux-en-Y(undivided Roux-en-Y)术式, 即为在Child法胃的空肠输入和输出袢之间加做Broun's吻合, 结果15例患者无一出现胃排空延迟. Roux-en-Y术式除用于传统PD, 还常用于胰头、十二指肠部分切除的患者[5]. 这些改良降低了发病率和死亡率, 使 PD术更安全. 但是这些研究都尚未将该方法与传统的重建方式进行比较, 缺乏PD术后使用Roux-en-Y法进行胰肠吻合的前瞻随机对比研究.

1.3 保留幽门胰十二指肠切除术(pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy, PPPD) 1943年Watson首次完成PPPD用于治疗壶腹周围癌, 但直到1978年Traverso *et al*[6]报告后才引起学者的重视. PPPD可以减少手术创伤, 保全完整胃的储存和消化功能, 能防止碱性反流发生. 对其质疑的问题是缩小手术可能影响肿瘤根治性, 并发现PPPD术后胃排空延迟明显增多. 于是, 近年该术式与传统Whipple胰十二指肠切除(WPD)的对比研究较多, 多数学者得出的结果是两者术后效果相似. Lin *et al*[7]报告36例小样本的临床前瞻性随机研究, 相同医生主术WPD与PPPD治疗胰头癌, 其手术时间、失血量、手术死亡和远期生存均无差异, 但PPPD的术后胃排空延迟比WPD多见, 且有3例随机分到PPPD组的患者因十二指肠有侵犯而改行WPD术. Moldovanu *et al*[8]回顾性137例研究, 结果PPPD术比较省时, 但术后需干预治疗的比率比WPD高(30.6% *vs* 15%); 而平均失血量、术后并发症(PPPD 46.8% *vs* WPD 39.2%)、术后胃潴留及生活质量方面两组相似; 术后死亡率于PPPD为14.5%, WPD为10.1%; 中位生存期PPPD组为42.42 mo, WPD组为46.78 mo, 均无统计学意义. Karanicolas *et al*[9]荟萃分析574例患者, PPPD比传统手术快72 min, 减少失血284 mL, 其他围手术期和远期结果没有统计学差异. 胃潴留曾是PPPD术令人困惑的问题, 他延长住院时间, 影响营养和中期生活质量. 为此, Ohtsuka *et al*[10]对此进行了观察, 发现多数PPPD后的胃潴留可以逐渐恢复, 约6 mo可以达术前水平, 而胰腺功能恢复则需要1年时间; 但有些患者反而逐渐恶化, 取决于术前胰腺的状况和胰腺再建的方式, 但采用Billroth-Ⅰ或Billroth-Ⅱ式的优劣点尚未最后清楚.

1.4 胰胃吻合术(pancreaticogastrostomy, PG) 胰胃吻合和胰肠吻合孰是孰非是多年争论不休的问题. PG是为克服传统PJ术后胰瘘发生率高而提出, 认为胰和胃紧贴便于吻合, 胃壁厚而柔软, 胃腔宽大利于胰残端套入, 且胃酸可防止胰酶激活, 故能有效预防胰瘘发生. 此术式由Waugh *et al*于1946年首次施行, 近20年来受到

■**研发前沿**
目前, 胰十二指肠切除仍是唯一有可能治愈壶腹周围癌的手段. 然而, 由于该手术并发症和死亡率高, 术后消化和营养功能不满意, 长期生存率很低. 因而该术式长期成为外科医生关注的焦点, 也是外科领域最具有挑战性的手术之一.

■相关报道
2006年Nakao *et al*回顾性155例PJ和58例PG的研究结果为，胰瘘发生率在PJ为12.2%，PG为20.7%，两组没有统计学差异. 2007年Wente *et al*荟萃分析3个随机对比试验(RCT)，结果是在所有术后并发症、胰瘘、腹内积液和死亡率方面，PG组和PJ组都没有差异.

推崇有较多的报道. 有学者总结连续施行的160例胰胃吻合术，胰瘘发生率为2%-5%. Mason收集1946-1997采用这种手术方式的文献，在813例患者中胰瘘的发生率为4%. McKay *et al*[11]曾收集1990年以来11个临床观察报告，结果显示PG的胰瘘发生率比PJ低，总并发症和死亡率也是PG为低. Fang *et al*[12]报告1992-2005年377例PD，死亡率、并发症发生率和胰瘘发生率在PJ为8.9%、56.4%和17.6%，而PG为2.1%、33.9%和3.7%. 一度众多学者认为在预防胰瘘方面PG比PJ为优. 然而，我们对近年的临床随机研究总结，却没能证明PG比PJ更优秀. 1995年Yeo *et al*报道了一项比较PG和PJ的前瞻性随机研究，发现在胰瘘率上两种方法并无显著差异. JohnHopkins医院于1993-05/1995-11进行了一项大样本前瞻性研究，结果显示PG和PJ两者术后胰瘘率相当，分别为11.1%(8/72)和12.3%(9/73). 2005年Bassi *et al*[13]报告151例的临床随机研究，显示PG和PJ的术后总并发症和胰瘘发生率都没有差异. Duffas *et al*[14]报告149例的两组单盲随机对比试验获得和前者相同的结果. 而Schmidt *et al*[15]研究PG和PJ术后的远期生活质量和功能，结果PG术后患者的胃反流、疼痛和腹部不适比术前好转，而两组的总生活质量没有差异，两组术后胰腺内、外分泌功能受损的程度也相似. 2006年Nakao *et al*[16]回顾性155例PJ和58例PG的研究结果为，胰瘘发生率在PJ为12.2%，PG为20.7%，两组没有统计学差异. 2007年Wente *et al*[17]荟萃分析3个随机对比试验(RCT)，结果是在所有术后并发症、胰瘘、腹内积液和死亡率方面，PG组和PJ组都没有差异. 而分析13个非随机临床试验观察(OCSs)，显示PG比PJ可降低胰瘘和死亡率. 他认为OCSs的结果可能是受作者偏见的影响. Fang *et al*[18]研究两者的远期疗效，发现两者术后发生胰内外分泌功能不足、胃排空时间、营养状况和影像学所见均无统计学差异.

2 胰肠残端处理及吻合方法的改进

PD术后胰腺残端的处理方法与术后的胰瘘发生率和长期胰腺功能的保全密切相关. 为了预防术后胰瘘，提高术后生存质量，已有种类繁多的胰-消化道吻合方法应用于临床，争论的焦点主要有是否胰管吻合、吻合的部位、类型、方法及是否放置支撑管.

2.1 全胰切除与胰管结扎栓塞 全胰切除后彻底地杜绝了胰腺的内、外分泌功能，从理论上解决了胰瘘的问题，但实际上术后的并发症和死亡率很高，曾有报告[19]为59%和14%. 患者的消化功能障碍和糖尿病将严重影响患者的生活质量，作为预防胰瘘的方法已被废弃，目前仅为少数因病灶原因有适应证者施行全胰切除. 同理胰管结扎和胰管栓塞也因对胰腺外分泌功能的影响，并且不能真正防止胰瘘而摒弃. 以上本已是基本解决的问题，但近年仍有学者在这方面作了进一步研究. Nomikos *et al*[20]新近报道连续实施胰管栓塞9例，发生胰瘘4例，但于14-58 d愈合而没进一步的并发症，未出现急性胰腺炎和胰腺功能不足. Farsi *et al*[21]回顾性研究胰肠吻合与胰管封闭两组各22例，结果胰管封闭组并发症、死亡和胰瘘发生率均较高，同样胰外分泌障碍和糖尿病发生率较高. 认为胰管封闭仅酌情用于质脆和小胰管的胰腺残端.

2.2 胰管对肠黏膜吻合与胰肠套入法 目前，胰腺与消化道吻合、胰液引流已是众多学者所倡导的预防胰瘘的主要方式. 胰腺空肠吻合是PD术后经典的重建方式，其原理同样适合胰胃吻合. 吻合方式有端端吻合和端侧吻合，胰管对空肠黏膜吻合或套入式吻合之分. 在20世纪，比较胰管黏膜吻合和套入式吻合的研究，并没有发现两者在胰瘘率上的不同. Marcus *et al*发现在胰管扩张和胰腺纤维化的低危患者中，胰管黏膜吻合的胰瘘率较低，而在胰管较小胰腺实质较软的高危患者中，端端套入式吻合更安全. 李汉贤[22]曾总结用端端或端侧的胰管对空肠吻合加套入吻合的连续102例未发生胰瘘. 至于何种吻合方式更优越，最终需要前瞻性的随机实验来证明. 在近年报告的前瞻性随机的研究说明，胰管黏膜吻合比起套入式吻合有更低的胰瘘率，并且能较好保证胰管长期通畅. Cheng *et al*[23]对连续295例PD术前瞻性研究认为，端端胰肠吻合后的并发症比端侧吻合的多. 鉴于PD术后远期生存者多出现胰腺外分泌功能不足，Nordback *et al*[24]对26例平均生存52 mo的一组胰肠套入法患者进行研究，全组均有不同程度的胰外分泌功能不足，并证明其发生原因与原发疾病及吻合口不通畅有关. Murakami *et al*[25]报道连续150例PD采用胰管对黏膜吻合(140例PG，10例PJ)无死亡，吻合口瘘为7%. Hayashibe *et al*[26]采用改良的胰管对黏膜的PJ法行55例PD术，早期并发症为9.1%，胰瘘为0. 四边法胰肠吻合是胰管黏膜吻合的一种具体操作技术，即在时钟12、3、6、9点处，以细血管缝合线将胰管

与空肠黏膜间断缝合4针, 以达到胰管和空肠黏膜严密对合, 吻合口内置支架, 前、后空肠壁浆膜与胰腺残端做端侧间断吻合以包埋胰腺残端. 邵永孚 *et al*[27]曾报告使用该法63例, 无1例发生胰瘘.

2.3 间断缝合与连续缝合 以往胰肠吻合多采用间断缝合, 但Tsuji *et al*研究发现, 连续性胰管黏膜吻合比起套入式吻合和间断胰管黏膜吻合的胰瘘发生率明显降低. Lee *et al*[28]报告1组由1个外科医生主术的PD, 采用二层胰肠端侧吻合, 内层胰管对黏膜吻合, 而外层采用胰实质对肠浆膜的间断(133例)和连续(170例)缝合的对比, 结果间断缝合和连续缝合发生胰瘘分别为11%和6%(P = 0.102), 而严重胰瘘的比率为2%和0(P = 0.026). Kim *et al*[29]报告用上述同样的外层连续缝合的方法未发生胰瘘.

2.4 胰管支架外引流可以降低胰瘘 大多数学者主张在主胰管置细长硅胶管, 经肠及腹壁引出体外, 待胰消化道吻合完全愈合后拔出. Okamoto *et al*报道了用胰管支撑管做外引流, 而不行胰管空肠黏膜吻合, 该方法运用于162例患者, 胰瘘率为3%, 无死亡患者. Winter *et al*[30]报告238例PJ置管和不置管的前瞻性随机研究, 结果发现无论是质软还是质硬的胰腺, PD术后胰管内置管和未置管的患者胰瘘发生率无统计学差异. 认为术中胰管内置管不能降低胰瘘发生率及其严重性. Imaizumi *et al*[31]研究认为采用胰管对黏膜的胰肠吻合后, 胰管支架管就没有必要. 新近Poon *et al*[32]设计并完成120例的前瞻性随机对比研究, 均采用胰管对黏膜的胰肠端侧吻合, 每组各60例. 结果放置胰管支架外引流与不置胰管外引流患者的胰瘘发生率为6.7%和20%(P = 0.032), 无支架组有2例死于胰瘘. 显示了支架引流有降低胰瘘的作用.

2.5 捆绑式胰肠吻合术 1996年以来Peng *et al*[33]首创了捆绑式胰肠吻合术(binding pancreaticojejunostomy), 可使空肠浆肌层鞘被捆绑愈着于其内包裹的胰残端, 能密封两者之间的间隙, 故能有效预防胰漏. 自1996-2003年, 他们在227例患者中采用该方法, 无1例发生胰瘘. 随后, Peng *et al*[34]又报告总共217例的捆绑法与传统胰肠吻合的随机对比研究, 结果111例传统手术发生胰瘘8例, 总并发症41例((36.9%), 死亡7例(6.3%), 平均住院时间22.4 d; 106例捆绑法未出现胰瘘, 总并发症26例(24.5%), 死亡3例(2.8%), 平均住院时间18.4 d; 以上均有显著统计学差异. Bai *et al*[35]用小猪实验对比观察胰肠套入吻合、胰管肠黏膜吻合与捆绑式胰肠吻合3种方法的效果, 8 wk后显示套入吻合组动物体重增长慢, 胰管内压增高, 胰造影显示主胰管迂曲扩张, 吻合部位呈现不同程度阻塞甚至闭锁, 胰残端部位为大量瘢痕纤维组织所的取代. 而胰管对黏膜吻合和捆绑法动物体重增长和胰管内压相似, 胰分泌量、胰液流量及碳酸氢卟浓度均高于套入组, 造影胰管通畅, 组织学示肠黏膜已与胰管呈连续相互愈合. 作者结论认为胰管对肠黏膜吻合是维持吻合口通畅的最佳选择, 捆绑法同样能保持解剖通畅和胰腺外分泌功能.

■应用要点
目前尚无一种对所有患者完全满意的消化道重建方法, 外科医生应根据自己经验、患者具体情况和各术式的特点来选择重建方法.

3 评论与预测

目前, 胰十二指肠切除仍是唯一有可能治愈壶腹周围癌的手段. 然而, 由于该手术并发症和死亡率高, 术后消化和营养功能不满意, 长期生存率很低. 因而该术式长期成为外科医生关注的焦点, 也是外科领域最具有挑战性的手术之一.

从以上诸多研究成果可以看出, 近年PD术已取得了长足的进步, 许许多多的改进术式丰富了PD手术, 降低了并发症, 延长了生存期, 提高了生活质量. 大量科学的研究结果使我们对以前有争议的一些问题首次能有个初步正确的认识, 对外科医生临床决策取舍、提高手术质量有一定帮助.

首先我们现在可以认为, 几种主要的消化道连续性重建的方法, 包括胰肠吻合、胰胃吻合和保留幽门的术式, 其效果是没有差异的, 但他们仍具有各自的特点和适应证.

Child胰肠吻合仍是经典的消化道重建方法, 继续被广泛使用, 其发生胰瘘高的问题已经手术技术的进步而得到降低, 甚至不少大样本的胰瘘率为0, 与其他重建方式没有差异. Roux-en-Y式吻合是针对Child法的改进, 两种分流方法可分别防止对胃和胰的反流, 取得相应的效果, 理论上也能解释. 该术式不扩大手术规模, 但略增加手术时间, 随着现时手术技术的提高, 可酌情应用于临床. 但该术式的效果尚需进一步前瞻性对比试验确定.

PPPD术具有保胃容量和幽门功能的特点, 同时减少手术创伤. 但注意他应是适用于壶腹周围良性病变或相对较早期的恶性肿瘤, 如果幽门和十二指肠近端疑有肿瘤侵犯, 应放弃该

■同行评价
本文总结最新有关文献, 对胰十二指肠切除术消化道重建的几种主要方法进行了深入的比较评价, 特别是对困扰外科医生的胰肠吻合问题进行了重点评论, 并提出了作者的观点, 对临床外科医生有较高的参考价值.

术式. 另PPPD时仍需注意清扫幽门上下淋巴结. 至于临床上发现他引起胃排空延迟的问题, 已有前瞻性随机研究证明与WPD是一样的, 且可在日后得到恢复. 故可选择对本术式有适应证的患者采用.

PG是一种较好的消化道重建术式, 因胃腔宽大、胃胰接近便于吻合, 但最终研究结果没能证实他比PJ更优秀. PG改变了消化道连续的顺序, 且胰胃吻合口长期浸泡于胃酸中, 是否影响吻合口的长远通畅, 尚待今后进一步研究. 目前尚无一种对所有患者完全满意的消化道重建方法, 外科医生应根据自己经验、患者具体情况和各术式的特点来选择重建方法.

其次关于胰腺残端的处理和吻合具体方法, 为预防胰瘘的全胰切除已废止. 尽管胰管结扎和栓塞仍有认为可酌情用于质脆和小胰管的胰残端, 但对此类情况现已有更好的方法可以使用, 因有较高的并发症胰管结扎和栓塞也应废止.

胰管对空肠黏膜的吻合方法已经众多学者证实为一种优秀的吻合技术, 得到了一致优良的结果, 其在降低吻合口瘘方面起很大作用, 并能保持吻合口长期通畅, 改善术后胰腺的外分泌功能和患者生活质量, 是目前值得推荐的吻合方法. 如果技术上允许, 使用连续缝合可能比间断缝合为好. 至于胰肠端端套入式吻合, 仅考虑对胰腺小、质地软和胰管细不便行胰管黏膜吻合而容易套入的患者使用. 胰管内置支架外引流已经众多学者认为是预防胰瘘的有效措施, 但近期的前瞻性随机对比研究却有了两种不同的结果, 鉴于多数医生多年的经验, 且胰管支架放置只是一简单操作, 建议不要轻易放弃而继续使用.

捆绑式胰肠吻合术是近年区别于上述原理的独特设计, 其能严密封闭胰肠间的间隙, 故能有效预防胰瘘, 已有大量临床实践证实其可靠性, 特别对于质软和胰管小的胰残端有其优越性, 值得临床推广. 该术式的缚线是否对胰管有轻微的束缚, 且没行胰管黏膜吻合, 尽管已有动物实验证明其通畅性与胰管对黏膜吻合一样, 但其胰管开口长期的通畅仍需临床进一步研究证实.

4 结论

我们现在可以认为, 几种主要的消化道连续性重建的方法, 包括胰肠吻合、胰胃吻合和保留幽门的术式, 其并发症发生率和死亡率是没有差异的, 但他们仍具有各自的特点和适应证. 胰管对空肠黏膜的吻合方法已经众多学者证实为一种优秀的吻合技术, 是目前值得推荐的吻合方法. 从众多的文献报道我们还可以看到, 使用同一种方法在不同文献会有不同或相反的结果, 这除研究方法和研究对象不同外, 医生手术技巧还起重要作用. 关于PD术后的消化道重建, 各种争议仍未完结, 目前学者们唯一达成一致意见的是, 无论采取何种消化道重建方式, 重要的在于手术医生要技术熟练, 认真、细致、准确地做好手术是防止并发症的关键.

5 参考文献

1 文军, 沈文律, 杨少华, 陈少逸, 郭国湖, 林李波. 胰十二指肠切除术消化道重建方式的探讨. 中国医师进修杂志 2006; 29: 24-26

2 Papadimitriou JD, Fotopoulos AC, Smyrniotis B, Prahalias AA, Kostopanagiotou G, Papadimitriou LJ. Subtotal pancreatoduodenectomy: use of a defunctionalized loop for pancreatic stump drainage. *Arch Surg* 1999; 134: 135-139

3 Jover JM, Carabias A, Fuerte S, Ríos R, Ortega I, Limones M. [Results of defunctionalized jejunal loop after pancreaticoduodenectomy] *Cir Esp* 2006; 80: 373-377

4 Wayne MG, Jorge IA, Cooperman AM. Alternative reconstruction after pancreaticoduodenectomy. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 9

5 Kawamoto M, Konomi H, Kobayashi K, Shimizu S, Yamaguchi K, Tanaka M. Type of gastrointestinal reconstruction affects postoperative recovery after pancreatic head resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 336-343

6 Traverso LW, Longmire WP Jr. Preservation of the pylorus in pancreaticoduodenectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 146: 959-962

7 Lin PW, Shan YS, Lin YJ, Hung CJ. Pancreaticoduodenectomy for pancreatic head cancer: PPPD versus Whipple procedure. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1601-1604

8 Moldovanu R, Grecu F, Târcoveanu E, Scripcariu V, Georgescu S, Burcoveanu C, Niculescu D, Dănilă N, Andriescu L, Bradea C, Bulat C,Chifan M, Dăscălescu C, Grigorovici A, Lăzescu D, Pădureanu S, Stoian M, Ferariu D, Crumpei F, Tuţuianu B, Pleşa C, Dragomir C. [Pancreaticoduodenectomy with or without pylorus preservation: a retrospective analysis of 137 patients] *Chirurgia* (Bucur) 2007; 102: 651-664

9 Karanicolas PJ, Davies E, Kunz R, Briel M, Koka HP, Payne DM, Smith SE, Hsu HP, Lin PW, Bloechle C, Paquet KJ, Guyatt GH. The pylorus: take it or leave it? Systematic review and meta-analysis of pylorus-preserving versus standard whipple pancreaticoduodenectomy for pancreatic or periampullary cancer. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 1825-1834

10 Ohtsuka T, Tanaka M, Miyazaki K. Gastrointestinal function and quality of life after pylorus-preserving pancreatoduodenectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 218-224

11 Dixon E, Fingerhut A, Bassi C, Sutherland F,

McKay A. Meta-analysis of pancreaticojejunostomy versus pancreaticogastrostomy reconstruction after pancreaticoduodenectomy: authors' comment (*Br J Surg* 2006; 93: 929-936). *Br J Surg* 2006; 93: 1435
12 Fang WL, Shyr YM, Su CH, Chen TH, Wu CW, Lui WY. Comparison between pancreaticojejunostomy and pancreaticogastrostomy after pancreaticoduodenectomy. *J Formos Med Assoc* 2007; 106: 717-727
13 Bassi C, Falconi M, Molinari E, Salvia R, Butturini G, Sartori N, Mantovani W, Pederzoli P. Reconstruction by pancreaticojejunostomy versus pancreaticogastrostomy following pancreatectomy: results of a comparative study. *Ann Surg* 2005; 242: 767-771, discussion 771-773
14 Duffas JP, Suc B, Msika S, Fourtanier G, Muscari F, Hay JM, Fingerhut A, Millat B, Radovanowic A, Fagniez PL. A controlled randomized multicenter trial of pancreatogastrostomy or pancreatojejunostomy after pancreatoduodenectomy. *Am J Surg* 2005; 189: 720-729
15 Johnson CD, Howse F, Fitzsimmons D, Harris S, Pickering R, George SL. Quality of life after pancreatectomy. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 750-751
16 Nakao A, Fujii T, Sugimoto H, Kaneko T, Takeda S, Inoue S, Nomoto S, Kanazumi N. Is pancreaticogastrostomy safer than pancreaticojejunostomy? *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 202-206
17 Wente MN, Shrikhande SV, Müller MW, Diener MK, Seiler CM, Friess H, Büchler MW. Pancreaticojejunostomy versus pancreaticogastrostomy: systematic review and meta-analysis. *Am J Surg* 2007; 193: 171-183
18 Fang WL, Su CH, Shyr YM, Chen TH, Lee RC, Tai LC, Wu CW, Lui WY. Functional and morphological changes in pancreatic remnant after pancreaticoduodenectomy. *Pancreas* 2007; 35: 361-365
19 Wise L, Pizzimbono C, Dehner LP. Periampullary cancer. A clinicopathologic study of sixty-two patients. *Am J Surg* 1976; 131: 141-148
20 Nomikos IN, Farmakis N, Zizi A, Perrakis N, Datsis C, Vamvakopoulos NC. Reevaluating pancreatic duct ligation in Whipple procedure. *J BUON* 2007; 12: 535-538
21 Farsi M, Boffi B, Cantafio S, Miranda E, Bencini L, Moretti R. [Treatment of the pancreatic stump after pancreaticoduodenectomy. Wirsung duct occlusion versus pancreaticojejunostomy] *Minerva Chir* 2007; 62: 225-233
22 李汉贤. 胰十二指肠切除术预防胰瘘的临床研究(附102例Whipple术无胰瘘报告). 中国现代手术学杂志 2000; 4: 135-136
23 Cheng Q, Zhang B, Zhang Y, Jiang X, Zhang B, Yi B, Luo X, Wu M. Predictive factors for complications after pancreaticoduodenectomy. *J Surg Res* 2007; 139: 22-29
24 Nordback I, Parviainen M, Piironen A, Räty S, Sand J. Obstructed pancreaticojejunostomy partly explains exocrine insufficiency after pancreatic head resection. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 263-270
25 Murakami Y, Uemura K, Hayashidani Y, Sudo T, Hashimoto Y, Nakagawa N, Ohge H, Sueda T. No mortality after 150 consecutive pancreatoduodenctomies with duct-to-mucosa pancreaticogastrostomy. *J Surg Oncol* 2008; 97: 205-209
26 Hayashibe A, Kameyama M. The clinical results of duct-to-mucosa pancreaticojejunostomy after pancreaticoduodenectomy in consecutive 55 cases. *Pancreas* 2007; 35: 273-275
27 邵永孚, 单毅, 毕建军, 赵东兵. 四点法胰管空肠粘膜吻合法在胰十二指肠切除术中的应用价值. 中华普通外科杂志 2000; 15: 510
28 Lee SE, Yang SH, Jang JY, Kim SW. Pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy: a comparison between the two pancreaticojejunostomy methods for approximating the pancreatic parenchyma to the jejunal seromuscular layer: interrupted vs continuous stitches. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5351-5356
29 Kim KH, Lee HJ, Lee YJ, Park KM, Hwang S, Ahn CS, Moon DB, Ha TY, Song GW, Kim DS, Moon KM, Jung DH, Kim BS, Lee SG. Effect of a single layer continuous suture between pancreatic parenchyma and jejunum after duct-to-mucosa anastomosis in pancreaticoduodenectomy: a single surgeon's experiences. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1368-1372
30 Winter JM, Cameron JL, Campbell KA, Chang DC, Riall TS, Schulick RD, Choti MA, Coleman J, Hodgin MB, Sauter PK, Sonnenday CJ, Wolfgang CL, Marohn MR, Yeo CJ. Does pancreatic duct stenting decrease the rate of pancreatic fistula following pancreaticoduodenectomy? Results of a prospective randomized trial. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 1280-1290; discussion 1290
31 Imaizumi T, Hatori T, Tobita K, Fukuda A, Takasaki K, Makuuchi H. Pancreaticojejunostomy using duct-to-mucosa anastomosis without a stenting tube. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 194-201
32 Poon RT, Fan ST, Lo CM, Ng KK, Yuen WK, Yeung C, Wong J. External drainage of pancreatic duct with a stent to reduce leakage rate of pancreaticojejunostomy after pancreaticoduodenectomy: a prospective randomized trial. *Ann Surg* 2007; 246: 425-433; discussion 433-435
33 Peng S, Wang J, Li J, Mou Y, Liu Y, Cai X. Binding pancreaticojejunostomy - a safe and reliable anastomosis procedure. *HPB* (Oxford) 2004; 6: 154-160
34 Peng SY, Wang JW, Lau WY, Cai XJ, Mou YP, Liu YB, Li JT. Conventional versus binding pancreaticojejunostomy after pancreatic-oduodenectomy: a prospective randomized trial. *Ann Surg* 2007; 245: 692-698
35 Bai MD, Rong LQ, Wang LC, Xu H, Fan RF, Wang P, Chen XP, Shi LB, Peng SY. Experimental study on operative methods of pancreaticojejunostomy with reference to anastomotic patency and postoperative pancreatic exocrine function. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 441-447

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 482-484
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

胰十二指肠切除术的出血和止血

陈道瑾, 成 伟

■背景资料
胰十二指肠切除术切除范围广、创伤大、时间长、出血多、对患者打击大, 如何顺利地完成胰十二指肠切除术和保证围手术期安全一直是医家重视的课题. 影响胰十二指肠切除术成败的因素中, 出血和止血无疑是关键的一环.

陈道瑾, 中南大学湘雅三医院普通外科 湖南省长沙市 410000
成伟, 湖南省人民医院肝胆外科 湖南省长沙市 410005
通讯作者: 成伟, 410005, 湖南省长沙市解放路, 湖南省人民医院肝胆外科. 97240_cw@163. com
电话: 0731-2278153
收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2009-02-08
接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-02-18

Hemorrhage and hemostasis of pancreatoduodenectomy

Dao-Jin Chen, Wei Cheng

Dao-Jin Chen, Department of General Surgery, the Xiangya Third Hospital of Central South University, Changsha 410000, Hunan Province, China
Wei Cheng, Department of Hepatobiliary, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan Province, China
Correspondence to: Wei Cheng, Department of Hepatobiliary, Hunan Provincial People's hospital, Jiefang Road, Changsha 410005, Hunan Province,
China. 97240_cw@163. com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-08
Accepted: 2009-02-09 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract
Hemorrhage and hemostasis are always key issues of pancreatoduodenectomy. To find out the causes responsible for bleeding, how to prevent bleeding, and how to stop bleeding, is the goal which surgeons pursue continuously. In the article we focus on hemorrhage and hemostasis of pancreatoduodenectomy, discuss the risk factors for bleeding, key points of diagnosis and treatment of hemorrhage, and surgical techniques to stop bleeding.

Key Words: Pancreatoduodenectomy; Hemorrhage; Hemostasis; Complications

Chen DJ, Cheng W. Hemorrhage and hemostasis of pancreatoduodenectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 482-484

摘要
出血和止血是影响胰十二指肠切除术成败的关键问题之一. 明确出血原因, 做好预防出血准备, 有效止血, 一直是医家孜孜追求的目标. 本文着眼于胰十二指肠切除术的出血和止血问题, 就出血的危险因素; 出血诊断和治疗的关键问题; 止血的手术技巧等作一探讨, 以期对临床有所借鉴.

关键词: 胰十二指肠切除术; 出血; 止血; 并发症

陈道瑾, 成伟. 胰十二指肠切除术的出血和止血. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 482-484
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/482.asp

■同行评议者
王凤山, 教授, 中国医科大学附属第一医院肝胆外科; 杨维良, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科; 程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

0 引言
自从1935年Whipple报告3例分两期行胰十二指肠切除术治疗壶腹部癌以来, 胰十二指肠切除术已经逐渐成为腹部外科的常见术式之一. 胰十二指肠切除术切除范围广、创伤大、时间长、出血多、对患者打击大, 如何顺利地完成胰十二指肠切除术和保证围手术期安全一直是医家重视的课题. 影响胰十二指肠切除术成败的因素中, 出血和止血无疑是关键的一环. 本文就胰十二指肠切除术围手术期的出血和止血问题作一讨论.

1 术前准备, 预防出血
1.1 术前影像学评估 术中的严重出血往往与大血管形态、血管与肿瘤关系、血管变异有关. 有效充分的术前评估和术前准备有利于术者准确把握手术指征和顺利安全地完成关键部位的操作. 术前高质量的影像学评估, 包括MRI和CT对胰十二指肠切除术的可行性评估具有十分重要的作用. 仔细阅片, 可以了解肿块的大小、位置, 尤其需要重视的是肿块与腹主动脉、下腔静脉、腹腔干、肠系膜上动脉、肠系膜上静脉、门静脉的关系. 正常情况下, 胰腺与门静脉和肠系膜上静脉的间隙清楚, 由于胰头部肿块与肠系膜上动脉、肠系膜上静脉、门静脉的关系密切, 要想切除肿块, 必须了解这些血管的情况. 肿块在病程进展过程中首先与这些血管的脂肪层接触(表现为影像学上的脂肪层消失), 进一步累及血管, 最后包裹整个血管. 如肿块只是与肠系膜

上静脉和门静脉之间的脂肪层消失, 说明并没有侵及血管壁, 手术可以较安全施行; 如少部分累及血管壁, 手术可能存在出血的风险, 需要引起术者的警惕; 如包裹血管壁, 说明手术切除的可能性小, 强行进行肿块切除可能导致血管损伤大出血, 影响手术的安全进行, 最终可能需要进行血管置换. 门静脉和肠系膜上静脉的血管形态正常状况下呈圆形或卵圆形, 由于胰头部肿块的浸润、压迫、推移或癌栓形成, 可以发生形态改变而呈现不规则形状, 类似阿米巴滋养体样, 此时多提示胰十二指肠切除术难以施行[1]. 此外, 影像学资料还可以给我们提示门静脉和肠系膜上静脉内是否有栓子存在, 根据影像学资料我们可以决定是否可行取栓术或人造血管置换术.

1.2 *改善凝血功能* 需要行胰十二指肠切除的壶腹周围病变患者, 常常出现较为严重的高胆红素血症和肝功能损害, 由此引起的凝血功能障碍是术中创面出血、术后胃肠道出血和腹腔内出血的主要原因之一[2]. 因此有学者提出术前退黄处理, 包括PTCD、ENBD、胆囊造瘘等措施, 待到胆红素降低后再行手术治疗较为安全. 但是对于这种观点历来争论颇多, 反对意见认为术前退黄处理可能增加感染、胆漏的机会[3], 而且会因为二期手术错失对进展很快的恶性肿瘤的切除机会. 笔者认为: 除非患者出现急性梗阻性化脓性胆管炎或血清胆红素过高(>340 μmol/L), 一般不要轻易在术前放置胆道引流. 此外, 长期应用阿司匹林的患者应该停用2 wk以上再行手术治疗; 术前补充新鲜血浆、凝血因子等支持治疗和维生素K1的补充对于术中及术后出血风险的改善能够起到关键性作用.

2 术中出血的防治

2.1 *门静脉和肠系膜上静脉出血* 门静脉和肠系膜上静脉是壶腹周围肿块最常见侵犯的血管, 加上病灶周围炎症的影响, 局部解剖结构往往不甚清晰, 血管位置和形态常常发生改变. 在游离的过程中甚易损伤血管而造成大出血. 预防的要点在于根据术前阅片了解肿块可能紧邻或侵犯血管的部位来掌握分离的平面; 打开血管鞘, 在血管鞘内游离可以让解剖平面更为清晰, 避免血管损伤. 若分破血管, 应头脑冷静, 左手立即于胰头的前、后按压, 临时控制出血, 或握住胰头部. 应用心耳钳或血管艾丽丝钳夹破口, 心耳钳钳夹肠系膜上静脉的远端; 捏压门静脉、脾静脉; 吸净手术野积血, 直视下以5-0或6-0 proline线修补, 连续缝合关闭破口, 在大多数情况下能止血. 必要时作肠系膜上静脉、门静脉切除, 人造血管置换. 在游离过程中若发现肿块已侵犯门静脉或肠系膜上静脉壁但侵犯范围较小, 可以将侵犯部位上下门静脉和肠系膜上静脉稍加游离后连同肿块做血管壁部分切除再修补, 或者切除一部分血管后做静脉端端吻合; 如果肿块侵犯范围较大、患者一般情况较差, 不必强求完整切除肿块. 可沿血管走行方向在肿块内游离, 残留于血管壁的肿瘤组织可采用无水酒精注射或^{125}I粒子置入等方法处理, 避免因分破血管造成大出血.

2.2 *门静脉和肠系膜上静脉分支出血* 门静脉、肠系膜上静脉与胰腺钩突、胰头部的处理是胰十二指肠切除术的关键, 也是危险步骤. 尤其是胰腺钩突和胰头部一般有5-8支汇入肠系膜上静脉和门静脉的小分支, 这些分支血管管径仅为1-2 mm, 壁薄, 在游离或钳夹时容易将其撕裂而造成出血. 特别是当门静脉、肠系膜上静脉与胰腺有紧密黏连, 或者钩突部肿瘤浸润静脉壁, 以及钩突部汇入肠系膜上静脉的小静脉因变异而汇入肠系膜上静脉前壁时, 更容易损伤而出血. 预防的要点在于处理钩突和胰头部时, 应该将胰头握持在术者手中, 手指能够从后面将胰头部向前顶起, 在术者的手中进行分离和解剖. 对小血管的处理可用较尖的血管钳在肠系膜上静脉和门静脉的血管鞘内进行游离, 先带线结扎血管后再用尖刀挑断, 避免因钳夹撕裂或滑脱造成出血. 有条件的单位可以选择一次性切割闭合器处理该处血管, 可减少手术时间和术中术后出血可能[4]. 若已发生出血, 术者握持胰头的手指向上顶起门静脉和肠系膜上静脉, 控制出血, 吸干净术野, 用3-0或更细小的血管缝合针线缝扎出血点, 大多能止血.

2.3 *肠系膜上动脉出血* 在游离切断胰腺纤维板时, 如果肿块与肠系膜上动脉紧邻或包绕, 或切断平面过于靠左侧, 则容易损伤肠系膜上动脉. 预防的要点在于处理钩突部时, 左手握住胰头, 指尖在后顶住肠系膜上动脉, 避免切断胰腺纤维板时损伤该动脉, 造成大出血. 扪清肠系膜上动脉, 打开其血管鞘, 在直视下进行游离, 可减少肠系膜上动脉的损伤. 如果发生肠系膜上动脉损伤, 首先控制局部出血, 采用血管艾丽丝钳钳夹止血, 清理术野, 游离出破口附近肠系膜上动脉, 损伤上下端用动脉夹夹闭, 6-0 proline线修补. 必要时切除部分血管后端端吻合[5], 亦可使

■*研发前沿*
出血和止血是影响胰十二指肠切除术成败的关键问题之一. 明确出血原因, 做好预防出血准备, 有效止血, 一直是医家孜孜追求的目标.

■同行评价
本文就胰十二指肠切除术的术中出血和术后出血的预防和处理进行了论述, 结合自身经验重点强调预防出血, 介绍了术中出血的具体处理方法, 尤其是对胰腺钩突和胰头部的处理提供了笔者的宝贵经验, 对临床医生有一定参考意义.

用人造血管进行补救. 肠系膜上动脉损伤处理困难, 一旦处理不当易造成肠管坏死, 预后较差, 因此, 预防远重于治疗.

2.4 胃十二指肠动脉出血 在切断胃十二指肠动脉时, 其断端应残留0.5 cm以上, 双重结扎或者缝扎法处理断端, 若发生断端出血, 应将其游离后缝扎.

3 术后出血及止血

3.1 术后腹腔内出血 术后腹腔内出血多发生于早期(1 wk以内), 原因以机体凝血机制差致创面渗血和血管结扎不牢脱落出血为多. 胰十二指肠切除术患者往往存在梗阻性黄疸及肝功能损害, 凝血功能低下, 加上手术时间长、术中出血较多, 凝血因子损耗, 容易出现术后创面渗血. 因此提倡术前和术后1 wk常规补充维生素K1, 术后适当应用止血药和新鲜血浆. 术后早期腹腔血管出血多见于胃十二指肠动脉残端、胃右动脉或胰十二指肠下动脉残端结扎线滑脱所致. 预防这种情况的术后出血要求术中处理这些血管应予以双重结扎或缝扎, 断端适当留长一些. 术后早期腹腔大出血, 多能从腹腔引流管观察到. 但也有部分患者突然出现休克, 而腹腔引流量较少甚至没有, 遇到这种情况, 应考虑到休克是腹腔内出血引起, 出血的血管可能就是这些动脉. 在补充血容量的同时, 应紧急手术探查止血, 可望挽救患者生命, 也可以经皮动脉导管造影确认后行栓塞治疗[6].

手术1 wk以后腹腔内出血多由于胰漏、胆漏、胃空肠吻合口漏引起腹腔感染、组织坏死导致血管溃破而引起. 受侵蚀血管可以有胃十二指肠动脉残端、脾动脉、肝动脉、肠系膜上动脉、腹腔干等. 一旦发生, 应该紧急手术, 结扎或缝扎出血动脉, 清除坏死组织, 妥善处理吻合口瘘, 必要时可行全胰切除术. 除手术外, 动脉造影后选择性动脉栓塞也不失为一条理想的处理途径, 近来通过这种方式处理的病例逐渐增多. 本并发症病死率高, 应强调预防.

3.2 术后胃肠道出血 术后早期胃肠道出血一般来自胃黏膜和三个吻合口, 以胰肠吻合口和胃肠吻合口出血的几率最高. 出血的原因为胃肠道黏膜下止血不彻底或凝血功能异常, 根据肠腔(桥袢)内引流管和胃管的引流物性质和量可以做出诊断. 术后1 wk左右的出血多认为是应激性溃疡出血, 表现为黑便或血便, 甚少呕血和腹痛, 出血量可达1000-3000 mL. 目前认为梗阻性黄疸患者胃黏膜防御功能下降是产生胃黏膜病变的主要原因, 即使用维生素K1治疗后也常常无效. 术前黄疸愈深, 持续时间愈长, 并发胃黏膜病变机会愈大. 同时由于胰十二指肠创伤大, 患者应激程度高, 也增加了应激性溃疡的发生机会.

预防术后胃肠道出血的方法在于精细手术操作, 规范确切止血, 术前术后7-10 d内应用质子泵抑制剂保护胃黏膜, 改善肝功能, 适当补充凝血因子. 一旦发生急性胃黏膜病变出血或吻合口溃疡出血, 应补充血容量, 应用止血药, 加大质子泵抑制剂剂量, 应用生长抑素类药物, 并用含去甲肾上腺素液洗胃, 争取行胃镜检查, 以明确出血部位并行内镜止血, 一般不行手术治疗. 对出血量大或止血后再次出血患者应行手术探查. 注意行胃镜检查止血时, 应警惕来自由于吻合口漏致腹腔感染血管溃破的腹腔内出血, 如果疏忽将可能因延误治疗而导致死亡.

4 参考文献

1 吴金术, 田秉璋, 杨尽晖. CT记分对胰头癌可切除性及其难度预测的价值. 中国普通外科杂志 2004; 13: 438-440

2 Srivastava S, Sikora SS, Kumar A, Saxena R, Kapoor VK. Outcome following pancreaticoduodenectomy in patients undergoing preoperative biliary drainage. *Dig Surg* 2001; 18: 381-387

3 Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, Pitt HA, Lillemoe KD. Do preoperative biliary stents increase postpancreaticoduodenectomy complications? *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 258-267; discussion 267-268

4 Povoski SP. Novel applications of Endo GIA linear staplers during pancreaticoduodenectomy and total pancreatectomy. *Am J Surg* 2001; 182: 77-80

5 彭承宏, 程东峰, 沈柏用, 杨卫平, 陶宗元; 丁家增, 李宏为. 胰十二指肠切除术中医源性动脉损伤的处理和预防(附5例报告). 中国实用外科杂志 2005; 25: 540-542

6 Machida H, Kojima K, Nakaya Y, Ido K, Hiramatsu K. [Transcatheter arterial embolization for massive abdominal bleeding in post-pancreatoduodenectomy--first report] *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 1990; 91: 705-712

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 485-489
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

扩大的胰头十二指肠切除术

王群伟, 刘 威

王群伟, 刘威, 中南大学湘雅二医院普通外科 湖南省长沙市 410011
作者贡献分布: 王群伟与刘威对此文所作贡献两均等; 本论文写作由王群伟与刘威完成.
通讯作者: 王群伟, 410011, 湖南省人民路139号, 中南大学湘雅二医院普外科. liuwei0217@gmail.com
电话: 0731-5295121
收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2009-02-08
接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-02-18

Extended pancreatoduonectomy

Qun-Wei Wang, Wei Liu

Qun-Wei Wang, Wei Liu, Department of General Surgery, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China
Correspondence to: Qun-Wei Wang, Department of General Surgery, the Second Xiangya Hospital, Central South University, 139 Renmin Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. liuwei0217@gmail.com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-08
Accepted: 2009-02-09 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract
Pancreatoduodenectomy remains a conventional procedure for pancreatic head cancer, however, it has been associated with high incidence of recurrence and low survival rate due to the specific characteristics of biological behavior of pancreatic head cancer, leading to the introduction of extended pancreatoduodenectomy with an attempt to improve the curative resection rate. With the latest literature review, this article presents the evidence for extended pancreatoduodenectomy from a pathological and anatomical point of view, and also described the standardized procedures, indications, and risk of extended pancreaticoduodenectomy for lymphadenectomy, neural clearance and combined vascular resection. Extended pancreatoduodenectomy for pancreatic head cancer significantly improves resection rate but doesn't increase surgical risk.

Key Words: Extended pancreatoduodenectomy; Pancreatic head cancer; Surgery

Wang QW, Liu W. Extended pancreaticoduonectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 485-489

摘要
胰头十二指肠切除手术一直是胰头癌切除的经典术式, 但生物学特性导致胰头癌手术切除率低以及手术后复发率高, 生存率低, 在此基础上出现了以提高根治切除率为目的的扩大胰头十二指肠切除手术. 本文结合最新文献阐述了扩大胰头十二指肠切除的病理生理基础, 标准化手术范围, 并结合自身经验阐述了扩大胰头十二指肠切除术进行淋巴结清扫、神经丛廓清、以及血管联合切除的适应证、手术技术和手术风险, 明确了通过细致的手术解剖, 扩大的胰头十二指肠切除并未增加手术风险同时显著提高了胰头癌的切除率.

关键词: 扩大的胰头十二指肠切除手术; 胰头癌; 外科手术

王群伟, 刘威. 扩大的胰头十二指肠切除术. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 485-489
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/485.asp

■背景资料
至今各种扩大的胰头十二指肠切除术在全世界范围内开展了近40年, 作为侵袭性大, 风险性高, 并发症多的手术方式, 其对胰头癌的治疗效果仍存在较大争议, 扩大胰头十二指肠切除的适应症以及标准化术式未得到统一的认识. 本文将回顾国内外的相关文献, 结合自身经验, 对扩大的胰头十二指肠切除术进行讨论.

0 引言
自1935年Whipple成功施行胰头十二指肠切除手术(pancreatoduodenectomy, PD)以来, PD一直是胰头癌的经典术式, 但生物学特性导致胰头癌手术切除率低以及手术后复发率高, 总体5年生存率低. 在此基础上出现了各种扩大的胰头癌切除术, 例如1973年Fortner报道的区域性胰腺切除术(RP), 以及在此基础上出现了以提高根治切除为目的的扩大胰头十二指肠切除手术, 全胰切除术等. 至今各种扩大的胰头十二指肠切除术在全世界范围内开展了近40年, 作为侵袭性大, 风险性高, 并发症多的手术方式, 其对胰头癌的治疗效果仍存在较大争议, 扩大胰头十二指肠切除的适应证以及标准化术式未得到统一的认识. 本文将回顾国内外的相关文献, 结合自身经验, 对扩大的胰头十二指肠切除术进行讨论.

1 扩大的胰头十二指肠切除的病理生理基础
大量研究证实, 胰腺癌主要来源于连接中心腺泡

■同行评议者
王凤山, 教授, 中国医科大学附属第一医院肝胆外科; 杨维良, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科; 程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

■研发前沿
尽管扩大的胰头十二指肠切除在理论上可以提高胰头癌的生存率, 但经过30余年的临床研究和实践, 各个单位的研究结果仍然存在很大的差异, 这与手术方式、术后综合治疗等未统一可能有关.

细胞的间介导管, 多为导管细胞腺癌, 其恶性程度高, 侵袭性强, 有多中心起源, 早期围管浸润胰内胆管并沿神经血管束转移, 早期发生淋巴转移以及胰腺外神经丛浸润. 同时胰腺位于腹膜后, 毗邻重要的脏器和血管, 与胃, 十二指肠, 横结肠, 以及肠系膜血管, 腹腔干, 下腔静脉和腹主动脉相邻, 胰头癌容易发生血管的侵犯导致局部和远处转移. 而传统的胰头十二指肠切除仅行胰头十二指肠前后, 胰头上下, 幽门上下的淋巴结清扫. 而肝十二指肠韧带内的淋巴结, 肝总动脉及腹腔动脉周围的淋巴结均不进行手术清扫, 导致这些部位癌残留, 同时没有涉及到胰头周围重要血管的切除, 导致手术切除率降低. 扩大的胰头十二指肠切除针对胰头癌的淋巴, 神经和血管侵犯的特征, 在手术方式上比传统的胰头十二指肠切除手术增加了扩大范围的淋巴结清扫和腹膜后神经丛的切除, 以及联合胰腺周围重要血管的切除重建, 以达到切缘阴性的根治性切除.

2 扩大的胰头十二指肠切除的类型

在不同的文献报道中扩大的胰头十二指肠切除曾出现过多种名称和手术方式, 这些差异使不同单位的研究结果无法进行比较分析. 笼统上的扩大胰头十二指肠切除范围包括肝总管以下的胆囊、胆道及周围淋巴结、肝总动脉右下方的软组织及淋巴结, 腹腔动脉干周围淋巴结, 胰腺切缘在腹腔动脉或腹主动脉左缘, 腹膜后广泛淋巴结廓清, 胰头神经丛、肠系膜上动脉周围神经丛, 腹膜神经丛完全廓清以及积极的合并门静脉切除. 1999年在意大利举行胰腺癌扩大手术专题会议上达成了共识, 根据淋巴结清扫的范围, 胰头癌的手术方式分为: 标准胰头十二指肠切除, 根治性胰头十二指肠切除以及扩大根治性胰头十二指肠切除三种类型[1]. 其具体手术方式的区别见表1.

3 扩大胰头十二指肠切除中淋巴结和神经丛的清扫

胰头癌淋巴结转移具早期发生的特点, 直径为2 cm的小肿瘤就可有30%到50%的病例淋巴结有转移. 转移的方向是胰头前上下组有20%-25%的转移, 胰头后上下组有30%-40%, 而肝门及肝总动脉, 肠系膜根部及腹主动脉旁淋巴结的转移达60%[2].

在这次胰头十二指肠切除手术的分类中, 强调了SMA周围淋巴结清扫的重要性. 结合我们的经验, SMA周围淋巴结清扫需要一定的手术技巧. 当胰腺横断后, 可将SMV拉向右侧显露SMA, 沿其长轴切开血管鞘膜, 直视下从SMA根部开始进行淋巴结清扫, 在向下解剖的过程中, 正确辨认出胰十二指肠下动脉, 在切断该动脉时一并将SMA右侧的a, b, c, d四亚组淋巴结整块切除, 由于在此位置常见第一支空肠动脉发出, 在术中应注意避免损伤. 另外一种解剖入路可以先充分游离SMV与胰腺钩突的间隙, 此处常有少数小静脉从钩突发出后直接进入SMV, 由于这些静脉短而壁薄, 术中进行钳夹后切断时容易被撕破而出血, 我们通常采用细丝线绕套过血管后直接结扎靠SMV一侧后切断, 通过仔细的解剖游离, SMV可以完全与钩突分开而牵向左侧, 满意的暴露出SMA, 再进行SMA淋巴结的清扫. 这种解剖入路的优点在于, 可以充分显露出钩突直至SMA右缘, 使所谓的钩突系膜也能得到完整切除. 而从钩突系膜处进行完整切除减少了局部残留癌症的可能性, 同时基本消除了术后残余钩突组织发生胰漏和出血的机会.

针对腹主动脉旁淋巴结的清扫(第16组), 包括自肝下至肾前筋膜及软组织清除, 腹主动脉及下腔静脉血管鞘及周围软组织, 淋巴结的清除. 严律南[3]报道在37例进行腹主动脉旁淋巴结清扫的病例中, 有31例发现在腹主动脉或下腔静脉旁发现肿大的淋巴结, 其中12例组织学证实有癌细胞转移, 证明了扩大淋巴结清扫的必要性.

根据标准和扩大胰头十二指肠切除的定义, 在腹膜后的清扫中, 采用传统的Kocher手法紧贴胰头和十二指肠进行的游离无法得到足够的腹膜后阴性切缘, 应该进行右肾前方Gerota筋膜的切除, 我们体会通过Gerota筋膜的切除向左侧一并进行下腔静脉和腹主动脉前方的淋巴脂肪清扫, 而下腔静脉和腹主动脉间的淋巴脂肪组织在切断胰腺并移除标本后, 直视下进行清扫更为安全和便利.

在清扫淋巴结的同时, 针对性的进行神经丛的切除能提高切缘阴性率. 胰周神经丛包括胰头丛, 腹腔丛, SMA周围神经丛, 肝十二指肠韧带内神经丛, 主动脉丛以及脾丛. 文献报道胰头神经丛浸润发生率为53.5%-90.0%, 是独立于淋巴结转移的预后因素. 但由于完全廓清SMA周围神经丛会导致术后出现顽固性腹泻和营养吸收障碍, 严重影响患者生活质量. 目前较为接

表 1 各种胰头十二指肠切除术淋巴清扫范围

标准胰头十二指肠切除	根治胰头十二指肠切除	超根治胰头十二指肠切除
胰头和十二指肠周围的淋巴清扫	在标准术式加上肝动脉的骨骼化, 位于起始部和胰十二指肠下动脉间的肠系膜上动脉的骨骼化, 腹腔干的骨骼化, 腹主动脉和下腔静脉的前壁和侧壁的骨骼化, Gerota筋膜的清扫	在根治术基础上加上自膈肌脚到髂动脉分叉间的腹主动脉前方的淋巴脂肪清扫
清扫的淋巴结包括第12, 13, 14a, 14b, 17a, 17b组	清扫的淋巴结在标准术式加上第 8, 9, 14, 16a2, 16b1组	清扫的淋巴结在根治术基础上加上所有16组淋巴结, 并清扫包括十二指肠右侧3 cm至左肾门, 肝下至髂动脉分叉间区域间的淋巴脂肪组织

■相关报道
在国内, 仅见张怡杰 *et al*进行了一项关于扩大胰头十二指肠切除的前瞻性对照研究, 他们发现进行广泛淋巴廓清组的1, 3, 5年生存率分别为70.8%, 31.4%, 20.9%, 显著高于标准胰头十二指肠切除组.

受的观点是仅清扫SMA右半的神经结缔组织, 而对于肝十二指肠韧带神经丛和胰头丛, 由于两者受侵犯的几率较高, 应该在清扫12组淋巴结和进行Gerota筋膜和腹膜后清扫时一并彻底切除.

4 扩大胰头十二指肠切除中血管的联合切除

胰头癌侵犯血管的发生率较高, 可达40%左右, 通常认为恶性肿瘤导致血管受累意味着肿瘤已经失去了根治切除的机会, 但是有研究证实胰腺肿瘤侵犯肠系膜上静脉和门静脉并不是预后差的组织学指标[4], 胰头癌侵犯门静脉并不一定是侵袭性强的表现, 而可能与肿瘤的位置有关, 当肿瘤的部位靠近血管, 如钩突部肿瘤, 肿块容易直接浸润或挤压门静脉, 这种浸润属于肿瘤的局部生长特征, 通过扩大手术范围, 可以达到切缘阴性的根治切除效果, 这为开展联合血管切除的胰头十二指肠切除手术提供了重要理论依据. Takahashi *et al*[5]报道如肿瘤的侵犯深度局限在血管外膜和中层, 积极的手术可以使患者受益, 使胰头癌的切除率从20%提高至46%. Nakao *et al*[6]曾检查89例合并门静脉切除的胰腺标本, 发现镜下有45%没有肿瘤浸润门静脉的证据, 联合门静脉切除这样积极的手术方式是有可能使这些患者受益的. 但是我们认为必须强调联合血管切除首要目的仍是根治性, 否则联合血管切除是无益的, 目前较公认的观点是肿瘤局部直接蔓延至PV或SMV的受侵长度<4 cm, SMV小肠侧可游离的主干的长度>1 cm, 肿瘤没有侵犯血管内膜或血管内无肿块者, 在其他条件允许根治性切除的情况下, 可以考虑进行联合血管的切除. 目前关于血管切除重建的扩大胰头十二指肠切除术的RCT研究极少, Lygidakis *et al*[7]通过前瞻性研究发现联合门静脉和肠系膜上静脉的扩大胰头十二指肠切除可以提高伴血管侵犯的进展期胰腺癌的生存率, 但其研究样本偏少. 其余大量的回顾性研究均提示联合大血管切除仅能提高1或2年生存率, 5年生存率难以提高. 随着血管外科技术的提高以及在胰腺外科医生中的普及, 门静脉或肠系膜上静脉切除重建在技术上已经没有太大难度, 国内外关于手术并发症及死亡率的研究发现, 联合门静脉或肠系膜上静脉切除没有增加手术的风险. 在本单位进行的一系列20余例PV或SMV切除吻合或人造血管重建中, 未观察到并发症的增加. 较公认的观点是SMV的切除长度小于4 cm可以进行直接吻合, 当血管吻合张力较大时可以通过离断肝脏镰状韧带, 将肝脏向下推移, 以及下方将肠系膜向上托起的方法减轻吻合过程中的张力. 吻合方式我们多采用两点法, 进行内膜对内膜的外翻缝合, 打结时预留扩展环(growth factor). 术中阻断门静脉回流的时间一般不超过20 min, 如小肠及系膜水肿较明显, 术中术后可给与甘露醇和地塞米松减轻门静脉阻断对小肠的损害, 人造血管移植的病例, 术后通过皮下注射给与小剂量肝素(速避凝)能降低血栓形成的机会. 因此我们认为对于日本胰腺学会胰腺癌分期标准的2, 3期的血管侵犯, 可以进行联合切除, 以提高切除率和改善术后生存.

5 扩大胰头十二指肠切除的效果

扩大切除的目的是期望提高胰头癌手术切除的远期生存率, 在肯定提高胰头癌手术切除率以及近期疗效的基础上, 其远期疗效仍然存在争论. 有文献报道扩大胰头十二指肠切除能改善胰头癌患者的远期预后, 但均为回顾性研究, 缺乏随机对照研究的支持. 目前, 在关于胰腺癌扩大切除的RCT研究中, 最有影响力的是来自John Hopkins的Yeo *et al*[8-12]和Winter *et al*[13]发表的系列文献, 他于1996-04/2001-06进行了多中心的

■同行评价
本文对扩大的胰头十二指肠切除术国内外的相关文献进行了综述, 并结合自身经验进行了讨论, 文献复习较全, 内容丰富, 有一定的说服力, 对临床医生有很好的参考价值.

大样本RCT研究, 分别在研究的早期、中期、和远期陆续发表了相关数据和结果, 在总样本量为299例的壶腹周围癌中, 162例胰腺癌随机分为标准PD组80例, 根治PD组82例, 结果发现两组在手术并发症, 死亡率和术后生活质量方面没有显著差异, 从技术上证明扩大切除是安全可行的. 1, 3, 5年生存率两组分别是75%, 34%, 13%和73%, 38%, 29%, 无论是术后1年、3年、还是5年均没有显著性差异; 平均生存时间SPD组是20 mo, RPD组是22 mo, 同样没有显著性差异. 而术后淋巴结阳性的亚组分别为66例和64例, 其1, 3, 5年生存率分别为73%, 26%, 10%和69%, 33%和24%, 两者没有显著差异. 同样美国的Farnell *et al*[14]于1997-2003年间进行74例胰腺癌的RCT研究, 病例分为标准PD组(n = 39)和根治性PD组(n = 35), 经过3年的随访, 发现两组的生存率没有显著性差异. 而日本学者根据其推崇的腹膜后廓清术标准, 认为欧美开展的RPD范围不够, 没有广泛的进行腹膜后及腹主动脉周围淋巴结清扫, 没有进行胰头神经丛, SMA周围神经丛及腹主动脉周围神经丛的完全清除, 在其进行的回顾性研究资料分析中, 扩大的胰头十二指肠切除术可以改善胰头癌的远期生存率. 但是在Nimura *et al*进行了一项多中心随机对照研究, 2000-03/2003-05, 日本14个胰腺癌中心将101例胰头癌随机分组, 51例行标准胰头十二指肠切除, 50例行扩大的腹膜后廓清术, 结果显示两组在平均手术时间、术中失切除血量、切除的淋巴结数目和术后腹泻发生率上有差异, 但两组的死亡率, 术后生活质量以及1, 2, 3年生存率没有显著性差异, 继而推论, 对可切除的胰腺癌清扫腹主动脉旁淋巴结对改善预后无益处, 2006年该作者在日本外科学会杂志上发表了后续研究结果, 即单纯想通过扩大手术范围来提高胰头癌的远期生存率是不可取的, 建议手术范围特别是淋巴结清扫要适可而止[15]. 今年该作者与前面提到的的Farnell *et al*共同发表了文章[16], 对包括424例的4项CRT结果分析并结合一项荟萃分析结果, 得出结论, 认为扩大的PD中切除大的淋巴结数目显著多于标准PD组, 两组的死亡率和并发症发病率无显著差异, 扩大PD组中术后早期的腹泻明显, 但是在生存率上两组没有差别. 最近的一篇关于扩大胰头十二指肠切除的荟萃分析[17]通过严格的筛选, 选取8篇关于CRT的文献, 对400余例扩大胰头十二指肠切除术分析, 提示扩大胰头十二指肠切除术与标准胰头十二指肠切除相比, 没有显著改善生存情况, 因此建议, 对胰腺癌而言, 推荐的手术方式是标准的胰头十二指肠切除, 扩大的胰头十二指肠切除仅仅用于进行手术方式的临床随机对照中作为研究用途而选用. Kennedy *et al*[18]通过总结分析在Johns Hopkins医院进行的280的CRT, 得出结论扩大的胰头十二指肠切除手术并没有显著改善远期生存. 而在国内, 仅见张怡杰 *et al*[19]进行了一项关于扩大胰头十二指肠切除的前瞻性对照研究, 他们发现进行广泛淋巴廓清组的1, 3, 5年生存率分别为70.8%, 31.4%, 20.9%, 显著高于标准胰头十二指肠切除组. 其他的回顾性研究则在扩大胰头十二指肠切除能提高近期生存率, 以及未增加手术并发症发生率和死亡率上达到共识. 本单位自2000年后陆续进行扩大胰头十二指肠切除术, 根据目前的随访结果, 近期(1, 2, 3年)的生存率较以前开展的标准胰头十二指肠切除有所提高, 同时证实扩大的胰头十二指肠切除未增加手术并发症, 在技术上是安全可行的.

6 结论

尽管扩大的胰头十二指肠切除在理论上可以提高胰头癌的生存率, 但经过30余年的临床研究和实践, 各个单位的研究结果仍然存在很大的差异, 这与手术方式、术后综合治疗等未统一可能有关. 目前而言, 结合国内外现状以及自身经验, 我们认为对直径>2 cm的胰头癌, 在标准胰头十二指肠切除的基础上应该适当扩大切除清扫的范围, 对于未累及到血管内膜的PV或SMV侵犯, 在手术条件允许的情况下, 可以进行联合血管的切除, 以期提高切除率和疗效, 同时针对扩大的胰头十二指肠切除手术在国内应开展多中心协作的CRT研究, 为临床进一步应用提供依据. 随着恶性肿瘤是一种全身性疾病等观念的提出, 单纯的扩大手术切除范围能否提高治愈率是值得我们重新思考的问题, 攻克胰腺癌的难题, 仍然任重而道远.

7 参考文献

1 Pedrazzoli S, Beger HG, Obertop H, Andrén-Sandberg A, Fernández-Cruz L, Henne-Bruns D, Lüttges J, Neoptolemos JP. A surgical and pathological based classification of resective treatment of pancreatic cancer. Summary of an international workshop on surgical procedures in pancreatic cancer. *Dig Surg* 1999; 16: 337-345
2 钟守先, 赵玉沛. 论胰头癌根治术. 中华外科杂志 2005; 43: 137-139
3 严律南. 胰头癌扩大切除利弊的探讨. 中华肝胆外科

杂志 2002; 8: 533-535
4 Aramaki M, Matsumoto T, Etoh T, Ishio T, Himeno Y, Sasaki A, Yada K, Kawano K, Kitano S. Clinical significance of combined pancreas and portal vein resection in surgery for pancreatic adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 263-266
5 Takahashi S, Ogata Y, Tsuzuki T. Combined resection of the pancreas and portal vein for pancreatic cancer. *Br J Surg* 1994; 81: 1190-1193
6 Nakao A, Harada A, Nonami T, Kaneko T, Inoue S, Takagi H. Clinical significance of portal invasion by pancreatic head carcinoma. *Surgery* 1995; 117: 50-55
7 Lygidakis NJ, Singh G, Bardaxoglou E, Dedemadi G, Sgourakis G, Nestoridis J, Malliotakis A, Pedonomou M, Solomou EK, Safioleas M, Alamani M, Grigorakos L, Merikas EM. Mono-bloc total spleno-pancreaticoduodenectomy for pancreatic head carcinoma with portal-mesenteric venous invasion. A prospective randomized study. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 427-433
8 Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sohn TA, Campbell KA, Sauter PK, Coleman J, Abrams RA, Hruban RH. Pancreaticoduodenectomy with or without distal gastrectomy and extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma, part 2: randomized controlled trial evaluating survival, morbidity, and mortality. *Ann Surg* 2002; 236: 355-366; discussion 366-368
9 Yeo CJ. The Johns Hopkins experience with pancreaticoduodenectomy with or without extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 231-232
10 Yeo CJ, Cameron JL, Sohn TA, Coleman J, Sauter PK, Hruban RH, Pitt HA, Lillemoe KD. Pancreaticoduodenectomy with or without extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma: comparison of morbidity and mortality and short-term outcome. *Ann Surg* 1999; 229: 613-622; discussion 622-624
11 Yeo CJ, Sohn TA, Cameron JL, Hruban RH, Lillemoe KD, Pitt HA. Periampullary adenocarcinoma: analysis of 5-year survivors. *Ann Surg* 1998; 227: 821-831
12 Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sitzmann JV, Hruban RH, Goodman SN, Dooley WC, Coleman J, Pitt HA. Pancreaticoduodenectomy for cancer of the head of the pancreas. 201 patients. *Ann Surg* 1995; 221: 721-731; discussion 731-733
13 Winter JM, Cameron JL, Campbell KA, Arnold MA, Chang DC, Coleman J, Hodgin MB, Sauter PK, Hruban RH, Riall TS, Schulick RD, Choti MA, Lillemoe KD, Yeo CJ. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: A single-institution experience. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 1199-1210; discussion 1210-1211
14 Farnell MB, Pearson RK, Sarr MG, DiMagno EP, Burgart LJ, Dahl TR, Foster N, Sargent DJ. A prospective randomized trial comparing standard pancreatoduodenectomy with pancreatoduodenectomy with extended lymphadenectomy in resectable pancreatic head adenocarcinoma. *Surgery* 2005; 138: 618-628; discussion 628-630
15 Nimura Y. [Treatment of pancreatic cancer--surgical point of view] *Gan To Kagaku Ryoho* 2007; 34: 993-996
16 Farnell MB, Aranha GV, Nimura Y, Michelassi F. The role of extended lymphadenectomy for adenocarcinoma of the head of the pancreas: strength of the evidence. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 651-656
17 Michalski CW, Kleeff J, Wente MN, Diener MK, Büchler MW, Friess H. Systematic review and meta-analysis of standard and extended lymphadenectomy in pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *Br J Surg* 2007; 94: 265-273
18 Kennedy EP, Yeo CJ. Pancreaticoduodenectomy with extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma. *Surg Oncol Clin N Am* 2007; 16: 157-176
19 张怡杰, 胡先贵, 唐岩, 刘瑞, 胡志浩, 金钢, 邵成浩. 区域淋巴结廓清在胰十二指肠切除术中的临床意义. 中华外科杂志 2003; 41: 324-327

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志中文摘要要求

本刊讯 本刊中文摘要必须在350字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值). (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 490-494
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

焦点论坛 TOPIC HIGHLIGHT

胰腺癌扩大根治手术与血管骨骼化问题探讨

余子建, 戴小明

■背景资料
由于胰腺癌不易早期发现, 大多数患者首次临床诊断或手术时已发生淋巴结和神经丛侵犯转移, 甚至小到1-2 cm的肿瘤就已发生胰腺周围淋巴组织转移. 胰腺手术切除的效果和预后差是长期困扰人们的世界难题, 胰腺癌患者实施根治术后即使没有发现淋巴转移, 5年生存率最高也只有25%左右, 而术后复发和远处转移又大大缩短了患者的生命. 正因为如此, 外科医师一直在尝试创建或改良出包括血管骨骼化在内的手术方案, 试图提高手术患者的5年生存率. 本文对国内外就胰腺癌根治手术及血管骨骼化问题的技术发展和手术效果进行综述讨论.

余子建, 戴小明, 南华大学附属第一医院普通外科, 湖南省衡阳市 421001
通讯作者: 余子建, 421001, 湖南省衡阳市, 南华大学附属第一医院普通外科. zijianhy@vip.sina.com
收稿日期: 2008-11-24 修回日期: 2009-02-10
接受日期: 2009-02-10 在线出版日期: 2009-02-18

An exploration of the extended lymph node dissection and skeletonization of the vasculature for pancreatic adenocarcinoma

Zi-Jian Yu, Xiao-Ming Dai

Zi-Jian Yu, Xiao-Ming Dai, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Nan-Hua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Correspondence to: Zi-Jian Yu, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Nan-Hua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. zijianhy@vip.sina.com
Received: 2008-11-24 Revised: 2009-02-10
Accepted: 2009-02-10 Published online: 2009-02-18

Abstract
About 50%-90% of patients with pancreas carcinoma are found to have metastatic tumors when diagnosis is confirmed. The metastasis routes include via circulation system, lymph-node, and invasion to solar nerve plexus which usually occurs in 70% of patients. Pancreatoduodenectomy (PD) is the routine operation performed for pancreas carcinoma. There is also operation plan suggesting the resection of the nerve plexus and soft tissue distributing along the artery vessels, and the nerve fiber bat around the pancreas. This operation is also named as skeletonization of the vasculature. There have been different point-views from different surgery groups, on whether the extended lymphadenectomy (ELND) can extend the survival length and improve life quality of patients or not. However, ELND is considered to be possible to prolong the survival time for the patients with positive nodal metastasis.

Key Words: Pancreas carcinoma; Pancreatoduodenectomy; Skeletonization of the vasculature; Lymph node dissection

Yu ZJ, Dai XM. An exploration of the extended lymph node dissection and skeletonization of the vasculature for pancreatic adenocarcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 490-494

摘要
胰腺癌确诊时大约有50%-90%患者的肿瘤已发生转移, 除通过血液循环向远处如肺部转移、淋巴结转移外, 胰腺癌腹腔神经丛侵犯转移发生率也高达70%. 胰腺癌的主要治疗措施是根治性胰十二指肠切除术, 也有的手术方案还建议切除胰腺周围沿动脉血管分布的神经丛和其他软组织, 全部切除胰周区域的神经纤维板, 即所谓的血管骨骼化. 目前关于扩大淋巴结清扫术是否能提高患者生存期的认识尚不一致, 但是对选择的合适患者如淋巴结阳性者应当考虑实施扩大淋巴结清扫术, 这有可能延长淋巴结阳性患者的生存期.

关键词: 胰腺癌; 胰十二指肠切除术; 血管骨骼化; 淋巴结清扫

余子建, 戴小明. 胰腺癌扩大根治手术与血管骨骼化问题探讨. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 490-494
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/490.asp

0 引言
胰腺腺癌是最常见的分泌上皮胰腺肿瘤, 占恶性胰腺肿瘤中的80%以上, 而80%-90%肿瘤是位于胰头, 是致死率最高的恶性肿瘤之一. 至今, 胰腺癌的唯一有效治疗方法是外科手术治疗, 胰腺十二指肠切除术又称为Whipple手术是胰腺癌的传统手术策略. 由于胰腺癌不易早期发现, 大多数患者首次临床诊断或手术时已发生淋巴结和神经丛侵犯转移, 甚至小到1-2 cm的肿瘤就已发生胰腺周围淋巴组织转移. 胰腺手术切除的效果和预后差是长期困扰人们的世界难题, 胰腺癌患者实施根治术后即使没有发现淋巴转移, 5年生存率最高也只有25%左右, 而术后复发和远处转移又大大缩短了患者的生命. 正因为

■同行评议者
王凤山, 教授, 中国医科大学附属第一医院肝胆外科; 杨维良, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外三科; 程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

如此, 外科医师一直在尝试创建或改良出包括血管骨骼化在内的手术方案, 试图提高手术患者的5年生存率. 本文对国内外就胰腺癌根治手术及血管骨骼化问题的技术发展和手术效果进行综述讨论.

1 胰腺癌的转移途径与手术血管骨骼化基础

恶性肿瘤的转移与否直接影响手术后的生存率. 根据一系列的临床研究报道, 有50%-90%的胰腺癌患者手术时已发生转移, 甚至小于1-2 cm的所谓早期胰腺癌就已向胰腺周围软组织转移、并有30%-50%肿瘤已向周围甚至远端淋巴结转移[1-3].

胰腺癌除通过血液循环向远处如肺部转移外, 淋巴结转移也是胰腺癌转移的重要途径, 而且转移程度和分布直接影响疾病的预后. 胰腺周边有丰富的淋巴组织, 根据日本胆管外科学会针对远端胆管癌症管理总结提出的淋巴结分组法, 胰腺周围有多个淋巴结分布区域: 幽门上端、幽门下端、胃左动脉、肝总动脉、腹腔干、脾动脉、肝十二指肠韧带、胰十二指肠后部、肠系膜上动脉、中结肠动脉、腹主动脉、胰十二指肠前部[4]. 日本胰腺学会(Japan pancreas society, JPS)对胰腺癌淋巴结转移分类考虑非常细致, 其分类模式是以胰腺淋巴生理流向的解剖学为基础, 按淋巴结所在区域位置分组或分站、引流途径的阳性淋巴结分期, 比较准确地反映了淋巴结转移的实际情况[5]. 按JPS 1996年第1版分类法对胰腺相关淋巴结分站, 如腹腔干、肝总及肝固有动脉、结肠中动脉根部、肠系膜上动脉起始部、腹主动脉周围淋巴结均属第2站.

另有两种分类法相对简单, 但缺乏对肿瘤淋巴结转移途径和状况的描述. 美国癌症联合委员会(AJCC)采用的N分期将将淋巴结转移分为阴性(N_0)、局部转移(N_1)和多个区域淋巴结转移(anyN). 癌症控制国际联盟(UICC)只简单将淋巴结转移分为阴性(N_0)和阳性(N_1). 通常情况下, 外科组对胰腺癌手术切下来的标本需要快送病理检查, 确定淋巴结数目和部位分布, 作为预后判断的重要依据. 一旦在手术切除标本中发现有任何淋巴结转移灶, 就被考虑为淋巴结阳性.

腹腔干和肠系膜上动脉等部位覆盖了丰富的神经丛, 腹腔丛是最大的内脏神经丛, 沿着腹腔神经丛播散转移是胰腺癌细胞侵犯转移的另一条重要途径. 胰腺癌向神经丛侵犯转移是生理结构和病理基础是癌细胞突破胰腺包膜后沿着神经纤维束的神经纤维鞘浸润播散, 一旦突破神经束膜就可在膜外形成转移病灶. 一系列的报道显示, 胰腺癌神经丛侵犯转移发生率达70%[6-7]. 神经丛转移最频发的部位是脾神经丛, 另外约20%左右的患者有腹腔干和肠系膜上动脉周围神经丛侵犯[8]. 值得注意的是, 胰腺癌的腹腔神经丛的侵犯转移是癌细胞向腹膜后侵犯的基础, 同样也是手术肿瘤残留和术后复发的重要原因.

由于胰腺癌有多个浸润转移途径和转移率高发, 因此, 实施胰腺癌的根治性胰十二指肠切除术要求切除胰腺周围沿动脉血管分布的神经丛和其他软组织, 即胰周区域的神经纤维板的全部切除, 也就是所谓的血管骨骼化(skeletonization of the vasculature).

2 胰腺癌根治手术的发展与血管骨骼化范围

胰十二指肠切除术(pancreatoduodenectomy, PD)又称为Whipple手术是胰头癌的标准手术方案. 传统Whipple手术包括切除胃窦、十二指肠的整个4部分、一小段近端空肠、远侧总胆管和胰头. 由于胰腺癌有很高的淋巴结转移率, PD手术还需要进行淋巴结清扫, 并进一步发展成扩大淋巴结清扫术(extended lymph node dissection, ELND). 标准PD淋巴结清扫术(PD-SL)通常包含切除胆囊、下端胆总管、胰头、十二指肠、远端胃, 以及根除的软组织包括与下端胆管、幽门、胰头前和后表面相关联的淋巴结. 在经验丰富的治疗中心, PD手术死亡率约0.7%-3%, 并发症发生率约36%-41%. 由于标准PD-SL手术的预后仍然比较差, 许多外科医生试图采用更广泛的根治性切除术来改善手术患者的生存率. Fortner首创了胰腺癌扩大根治术的治疗策略, 该手术方案包括切除胰腺连同胆总管、胆囊、远端胃、十二指肠、脾、横结肠系膜连同中结肠静脉丛、从膈膜到肠系膜下动脉起始端解剖位置的腹膜后淋巴结, 以及从肾门到主动脉的外侧淋巴结. 门静脉、肝总动脉、腹腔动脉、肠系膜上动脉被骨骼化. 实施这种手术有不包含(0型)和包含(1型)门静脉切除[9-10]. 在很少情况下, 还包括肝动脉或肠系膜上动脉(2型)切除, 主要是适用于癌组织范围很大的患者. Fortner *et al*报告了56例手术结果, 术后死亡率8.9%, 并发症发生率82%. 当时这种“区域型胰腺切除术”实际5年生存率为14%. <2.5

■**研发前沿**
对所有胰腺癌患者而言, ELND手术并没有明显改善长期生存率, ELND手术似乎没有体现出人们所期望的价值, 而且血管骨骼化有可能增加术后并发症的发生率.

■相关报道
日本胰腺学会(JPS)对胰腺癌淋巴结转移分类考虑非常细致, 其分类模式是以胰腺淋巴生理流向的解剖学为基础, 按淋巴结所在区域位置分组或分站、引流途径的阳性淋巴结分期, 比较准确地反映了淋巴结转移的实际情况.

cm肿瘤的患者5年生存率更高(33%)[11].

Ishikawa *et al*报道的手术淋巴清扫范围上界线为膈顶、下界线为肠系膜下动脉起始部、右侧到右肾门、左侧至腹主动脉左侧2-3 cm, 肠系膜上动脉完全骨髓化[12]. Nagakawa *et al*报道腹膜后淋巴清扫范围自膈顶至髂动脉分叉部, 两侧至肾上腺、腹腔干和肠系膜上动脉周围淋巴结和神经组织全部清除[13]. 欧美主张的清扫范围不如日本的广泛, 如Johns Hopkins医院报道的扩大根治性淋巴清扫范围为右肾门致腹主动脉左缘, 上界线为膈顶, 下至肠系膜下动脉起始处, 不清扫腹腔干, 肠系膜上动脉亦未完全显露[14-15]. Pedrazzoli *et al*认为对胰头癌而言, 如手术过程中不实施肝总动脉、肠系膜上动脉完全骨髓化则不能称为根治性手术, 仅为姑息手术[16].

概括起来, 扩大根治性胰腺切除术范围包括: (1)全部胰腺切除术, (2)更大范围淋巴结、神经丛软组织切除, (3)门腔血管/肠系膜血管切除.

3 胰十二指肠切除并ELND的实际意义

在胰腺癌尚缺乏更有效的治疗措施的情况下, 进行淋巴结清扫的根治性胰十二指肠切除术在一定程度上提高了胰腺癌术后的生存率. 人们又期望通过ELND来进一步提高生存率. 日本专家通过对手术后的回顾性非随机研究认为, 胰腺癌患者实施ELND可能会有利于提高长期存活率[3,12,17].

但有一些随机前瞻性研究得出不同的结论. Pedrazzoli *et al*总结了多中心研究的81例患者的资料, 其中40例实施了标准淋巴清扫术(SL/PD), 41例实施ELND. 无1例患者接受术后辅助治疗. SL/PD组和ELND组切除淋巴结的数量分别为13.3±8.3和19.8±15.1. 两组间的死亡率、手术时间、输血需求、住院时间以及总的存活率无统计学差别. 不过作者指出, 淋巴结阳性的患者实施ELND可能会有更长的生存期[18].

Farnell *et al*比较了40例实施标准淋巴清扫术(SL/PD), 39例实施扩大淋巴清扫术, 切除淋巴结的数量中位数分别为15和36. 两组患者均接受了5-FU化疗和外照射放疗. 经过一个4年中位数的随访调查, 1年、3年和5年生存率分别是: PD组71%、25%和16.5%; ELND组82%、41%和16.4%. 两组间的并发症发病率和死亡率无统计学差别[19].

德国小组报道了一个非随机前瞻性研究, 比较了胰腺癌ELND和标准PD的术后结果. 70例ELND, 21例PD, 标准淋巴清扫PD术的范围比其他更为广泛些, 包括位于肝十二指肠韧带、腹腔干及脾动脉、肾静脉和腔静脉的腹腔侧的全部淋巴结. ELND术除切除了上述部位淋巴结外, 还包括清除沿着肠系膜上动脉以及肠系膜下动脉与膈膜之间的主动脉所有软组织, 所清除的淋巴结(中位数24)多余SL术(中位数14). ELND手术患者中12%的主动脉淋巴结或近肾淋巴结为阳性, 主动脉旁淋巴结阳性4例、所有患者的区域性淋巴结阳性. 每组患者接受保留幽门PD术或远端胃切除术. 无一例患者接受术后化疗. 结论是两组之间的术后死亡率无明显差别, 76% ELND患者术后一年经历了一定程度胃肠动力障碍、经常性腹泻. ELND并没有带来存活率的优势. 生活质量分析得出了矛盾的结果. ELND患者术后24 mo内生理功能评分更高, 但是腹泻评分更差. 这个研究的缺陷主要是非随机分组、PD组病例数少, 所有患者未做术后化疗, 采用的肠肠吻合术不相一致[20-22].

Johns Hopkins的研究组进行了一个大规模的前瞻性随机性研究, 比较ELND与SL手术, 共有294例壶腹周围腺癌, 其中胰腺癌167例, ELND组83例、SL组84例. SL组患者优先选择保留幽门手术, ELND组患者实施30%-40%远端胃切除. SL组中整个肝十二指肠韧带和肝总动脉区域未被切除. ELND组切除的上缘是门静脉, 而非膈肌或腹腔干, 切除的左侧边缘是腹主动脉, 而不是左肾门. 此外, 清扫大约一半肠系膜动脉周边的淋巴和神经组织. ELND清除淋巴结的数量中位值是28.5, 高于其他报道和SL手术组. ELND组有16%(13/83)的患者的远端腹膜后淋巴结阳性, 全部患者的局部区域淋巴结阳性. 两组患者的术后死亡率无统计学差别. ELND组并发症总发生率43%, 显著高于SL组(29%); 接受远端胃切除患者, ELND组的并发症发生率为16%, 显著高于SL组(6%). 经过一个5.3年中位数的随访调查, 1年和5年生存率分别是: PD组75%和13%, ELND组73%和29%. 作者报告指出此差别没有统计学上显著性意义, 并将5年生存率差异归因于PD组中21%患者有边缘阳性切除、而ELND组只有5%, 而并非ELND手术本身的结果. 淋巴结阳性患者生存率的中位值, ELND组18 mo, 与SL组(19 mo)无差别. 淋巴结阴性患者的生存率也无差别, 中位值分别为44 mo和43 mo[14-15].

美国Büchler *et al*的随机前瞻性研究包括有72名胰腺癌患者, 手术随机分组, 标准淋巴结清扫(SL)组38名、BLND组34名. BLND组手术切除范围广, 从两侧肾门的腹膜后软组织被清除, 肝十二指肠韧带被骨骼化直至肝门. 从腹腔干到肠系膜下动脉的腹主动脉旁淋巴结被清除, 肝动脉、腹腔干和肠系膜上动脉周围手术切除. 此手术清扫更多的淋巴结, 中位数为36个. 所有患者远端胃切除. 两组的死亡率无统计学差异, BLND组趋向更严重的并发症. 两组患者住院时间相同(11 d). 整个患者的生存期无统计学显著差异. 胰腺十二指肠切除术后4 mo, BLND手术组患者大便失禁和腹泻发生率分别为53%和42%, 高于SL手术组(分别为9%和8%). 术后8 mo, BLND组患者大便失禁和腹泻发生率恢复到SL组同等水平. 作者认为, 腹泻的原因可能是腹腔干和肠系膜上动脉周围切除, 导致神经丛功能紊乱. 这个研究强调, 手术的标准化, 统一标本检测, 排除非胰腺癌诊断患者. 事实上大于75%的患者进行了手术后辅助化疗.

意大利多中心研究报告, 81个胰腺癌病例随机分组, SL组40例、ELND组41例. 术后患者未接受辅助性化疗. ELND手术方案与美国Büchler *et al*的研究报道相近, 不同之处是手术上缘扩展到膈裂孔. 其结果是两组患者总的生存期无差异. 后来的分析结果显示, 淋巴结阳性患者实施ELND手术的生存期中位数是18 mo, 好于SL手术(11 mo). 作者的结论是对选择的合适患者应当考虑实施ELND手术, 因为有可能延长淋巴结阳性患者的生存期[18].

来自日本的一个多中心随机前瞻性临床研究, 评价了ELND的根治性胰十二指肠吻合术与SL术. 共有101个病例, ELND组50例, SL组51例. ELND手术方案类同意大利的研究报告, 两组清扫淋巴结数均值分别是40个和13个. ELND组手术后腹泻发生率更高, 两组术后死亡率相当. 3年全部存活率和无疾病存活率两组间没有统计学差别[24].

4 结论

综合目前已有的前瞻性研究报告, 对所有胰腺癌患者而言, ELND手术并没有明显改善长期生存率, ELND手术似乎没有体现出人们所期望的价值, 而且血管骨骼化有可能增加术后并发症的发生率.

5 参考文献

1 Cubilla AL, Fortner J, Fitzgerald PJ. Lymph node involvement in carcinoma of the head of the pancreas area. *Cancer* 1978; 41: 880-887

2 Birk D, Fortnagel G, Formentini A, Beger HG. Small carcinoma of the pancreas. Factors of prognostic relevance. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1998; 5: 450-454

3 Satake K, Nishiwaki H, Yokomatsu H, Kawazoe Y, Kim K, Haku A, Umeyama K, Miyazaki I. Surgical curability and prognosis for standard versus extended resection for T1 carcinoma of the pancreas. *Surg Gynecol Obstet* 1992; 175: 259-265

4 Japanese Society of Biliary Surgery. General rules for surgical and pathological studies on cancer of the biliary tract. 4th ed. Tokyo, Japan: Kanehara Shuppan; 1997: 45-46

5 Japan Pancreas Society. Classification of pancreatic carcinoma. Kanehara Press, Tokyo, 1996: 32-33

6 Noto M, Miwa K, Kitagawa H, Kayahara M, Takamura H, Shimizu K, Ohta T. Pancreas head carcinoma: frequency of invasion to soft tissue adherent to the superior mesenteric artery. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 1056-1061

7 Kaneko T, Nakao A, Inoue S, Nomoto S, Nagasaka T, Nakashima N, Harada A, Nonami T, Takagi H. Extrapancreatic nerve plexus invasion by carcinoma of the head of the pancreas. Diagnosis with intraportal endovascular ultrasonography. *Int J Pancreatol* 1996; 19: 1-7

8 Kayahara M, Nagakawa T, Futagami F, Kitagawa H, Ohta T, Miyazaki I. Lymphatic flow and neural plexus invasion associated with carcinoma of the body and tail of the pancreas. *Cancer* 1996; 78: 2485-2491

9 Fortner JG. Regional resection of cancer of the pancreas: a new surgical approach. *Surgery* 1973; 73: 307-320

10 Fortner JG, Kim DK, Cubilla A, Turnbull A, Pahnke LD, Shils ME. Regional pancreatectomy: en bloc pancreatic, portal vein and lymph node resection. *Ann Surg* 1977; 186: 42-50

11 Fortner JG, Klimstra DS, Senie RT, Maclean BJ. Tumor size is the primary prognosticator for pancreatic cancer after regional pancreatectomy. *Ann Surg* 1996; 223: 147-153

12 Ishikawa O, Ohhigashi H, Sasaki Y, Kabuto T, Fukuda I, Furukawa H, Imaoka S, Iwanaga T. Practical usefulness of lymphatic and connective tissue clearance for the carcinoma of the pancreas head. *Ann Surg* 1988; 208: 215-220

13 Nagakawa T, Nagamori M, Futakami F, Tsukioka Y, Kayahara M, Ohta T, Ueno K, Miyazaki I. Results of extensive surgery for pancreatic carcinoma. *Cancer* 1996; 77: 640-645

14 Yeo CJ, Cameron JL, Sohn TA, Coleman J, Sauter PK, Hruban RH, Pitt HA, Lillemoe KD. Pancreaticoduodenectomy with or without extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma: comparison of morbidity and mortality and short-term outcome. *Ann Surg* 1999; 229: 613-622; discussion 622-624

15 Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sohn TA, Campbell KA, Sauter PK, Coleman J, Abrams RA, Hruban RH. Pancreaticoduodenectomy with or without distal gastrectomy and extended retroperitoneal lymphadenectomy for periampullary adenocarcinoma, part 2: randomized controlled trial evaluating survival, morbidity, and mortality. *Ann Surg* 2002; 236: 355-366; discussion

■同行评价

本文综述评价了胰腺癌实施胰十二指肠切除术, 进行扩大的淋巴结清扫术与进行标准的淋巴结清扫术的方法、意义, 论述条理清楚, 临床参考价值较大.

366-368
16 Pedrazzoli S, Michelassi F. Extent of lymphadenectomy in the surgical treatment of adenocarcinoma of the head of the pancreas. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 229-230
17 Kayahara M, Nagakawa T, Ueno K, Ohta T, Tsukioka Y, Miyazaki I. Surgical strategy for carcinoma of the pancreas head area based on clinicopathologic analysis of nodal involvement and plexus invasion. *Surgery* 1995; 117: 616-623
18 Pedrazzoli S, DiCarlo V, Dionigi R, Mosca F, Pederzoli P, Pasquali C, Klöppel G, Dhaene K, Michelassi F. Standard versus extended lymphadenectomy associated with pancreatoduodenectomy in the surgical treatment of adenocarcinoma of the head of the pancreas: a multicenter, prospective, randomized study. Lymphadenectomy Study Group. *Ann Surg* 1998; 228: 508-517
19 Farnell MB, Pearson RK, Sarr MG, DiMagno EP, Burgart LJ, Dahl TR, Foster N, Sargent DJ. A prospective randomized trial comparing standard pancreatoduodenectomy with pancreatoduodenectomy with extended lymphadenectomy in resectable pancreatic head adenocarcinoma. *Surgery* 2005; 138: 618-628; discussion 628-630
20 Schniewind B, Bestmann B, Henne-Bruns D, Faendrich F, Kremer B, Kuechler T. Quality of life after pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreatic head. *Br J Surg* 2006; 93: 1099-1107
21 Kremer B, Vogel I, Lüttges J, Klöppel G, Henne-Bruns D. Surgical possibilities for pancreatic cancer: extended resection. *Ann Oncol* 1999; 10 Suppl 4: 252-256
22 Henne-Bruns D, Vogel I, Lüttges J, Klöppel G, Kremer B. Surgery for ductal adenocarcinoma of the pancreatic head: staging, complications, and survival after regional versus extended lymphadenectomy. *World J Surg* 2000; 24: 595-601; discussion 601-602
23 Büchler MW, Wagner M, Schmied BM, Uhl W, Friess H, Z'graggen K. Changes in morbidity after pancreatic resection: toward the end of completion pancreatectomy. *Arch Surg* 2003; 138: 1310-1314; discussion 1315
24 Nimura Y, Nagino M, Kato H, Miyagawa S, Yamaguchi A, Kinoshita T, Takao S, Takada T, Miyazaki K, Ishiyama S, Shimada H, Kawarada Y, Takeda H, Sagota K, Yasui K. Regional versus extended lymph node dissection in radical pancreatoduodenectomy for pancreatic cancer: A multicenter, randomized controlled trial. *HPB Off J Int Hepato Pancreato Biliary Assoc* 2004; 6 (suppl 1): 2

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang *et al*”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣 *et al*[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp)和*World Journal of Gastroenterology*(http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号 ; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页. (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 495-499
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

文献综述 REVIEW

TFF3与胃癌关系研究进展

许鸿志, 任建林

许鸿志, 任建林, 福建医科大学教学医院 厦门大学附属中山医院消化内科 福建省厦门市 361004
作者贡献分布: 文献收集、综述写作由许鸿志完成; 综述由任建林审校.
通讯作者: 任建林, 361004, 福建省厦门市, 厦门大学附属中山医院消化内科, 厦门大学消化病研究所. jianlinr@msn.com
电话: 0592-2993170 传真: 0592-2993170
收稿日期: 2008-12-28 修回日期: 2009-01-08
接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-18

Advance in relationship between TFF3 and gastric cancer

Hong-Zhi Xu, Jian-Lin Ren

Hong-Zhi Xu, Jian-Lin Ren, Department of Gastroenterology, Teaching Hospital of Fujian Medical University, Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian Province, China
Correspondence to: Jian-Lin Ren, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University, Digestive Disease Institute of Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian Province, China. jianlinr@msn.com
Received: 2008-12-28 Revised: 2009-01-08
Accepted: 2009-01-12 Published online: 2009-02-18

Abstract
Trefoil factor family (TFF) consists of three members, including TFF1, TFF2 and TFF3. TFF has such functions as maintaining gut mucosal integrity, promoting epithelial cell restitution, as well as cell signal transduction, modulating apoptosis and enhancing invasion. Therefore, TFF plays crucial roles in the process of inflammation and tumorigenesis. Researches recently have indicated that TFF3 plays an important role in gastric cancer, especially in intestinal gastric carcinoma.

Key Words: Trefoil factor family; Trefoil factor family 3; Gastric cancer

Xu HZ, Ren JL. Advance in relationship between TFF3 and gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 495-499

摘要
三叶因子家族包括乳癌相关肽(TFF1)、解痉多肽(TFF2)和肠三叶因子(TFF3). 三叶因子主要功能是维持胃肠道黏膜的完整性和促进损伤上皮修复, 此外还具有细胞信号转导, 调节细胞凋亡和促进肿瘤侵袭的功能, 从而在炎症和肿瘤过程中都起到了重要作用. 近年来的研究表明, TFF3与胃癌, 尤其是肠型胃癌关系密切.

关键词: 三叶因子家族; 肠三叶因子; 胃癌

许鸿志, 任建林. TFF3与胃癌关系研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 495-499
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/495.asp

■**背景资料**
TFF3是一个重要的消化系黏膜保护细胞因子, 在膜保护与上皮重建、细胞增殖与凋亡, 肿瘤的侵袭方面发挥着重要作用. 近年来研究表明, TFF3与胃癌关系密切, 并可能作为胃癌的独立预后因子之一. 但对于TFF3在胃癌发生中作用机制及相关信号转导通路研究仍待进一步阐明.

0 引言
三叶因子家族(trefoil factor family, TFF)是一群主要由胃肠道黏液细胞分泌的小分子多肽. 1991年Suemori *et al*[1]从大鼠空肠发现了TFF3. 目前公认TFF3由59个氨基酸组成, 分子中含有7个半胱氨酸残基, 其中有6个半胱氨酸残基由3个分子内二硫键相互连接, 使整个肽链扭曲形成一个三叶草状结构(P结构域). 这种三叶草形结构使TFF3具有抗蛋白酶水解、酸消化及耐热特性, 因而能在消化系复杂的环境中保持生物活性. TFF3在正常胃黏膜组织不表达或少量表达, 但在发生胃癌时, 其表达明显增加[2-3], 提示TFF3与胃癌的发生、发展有可能关系密切. 近年来三叶因子与胃癌的关系已成为研究热点之一, 本文将对TFF3的生物学功能、与胃癌的关系及其相关分子机制的研究进展作一介绍.

1 TFF3的结构、分布与功能
1.1 TFF3的基因定位及表达 编码人TFF3的基因定位在染色体21q22.3, 与TFF家族中另外2个成员一起按TFF1, TFF2, TFF3的顺序首尾相连, 接受共同的基因调控[4]. 人TFF3基因的cDNA全长为222 bp, 共编码73个氨基酸, 前14个氨基酸为信号肽, 后59个氨基酸为成熟肽. 在生理情况下, TFF3主要表达于小肠和大肠杯状细胞表达, 在正常胰腺、唾液腺、泪腺、前列腺、乳腺、子宫、呼吸道、下丘脑和垂体等也有表达[3]. 有研

■**同行评议者**
王晓艳, 副教授, 湖南长沙中南大学湘雅三医院消化内科

■研发前沿
TFF3目前研究热点集中于: (1)TFF3调节基因及信号转导通路; (2)TFF3结合蛋白及受体; (3)TFF3在胃癌及其他肿瘤发生、侵袭中的作用机制.

究表明: TFF与MUC共同表达于黏膜表面组织中, 其中TFF3与MUC2共同由小肠的杯状细胞所分泌[5].

1.2 TFF3的主要生物学功能

1.2.1 TFF3对胃肠黏膜的保护: 目前研究认为TFF对胃肠黏膜可能的保护机制为: 形成并稳定黏膜屏障; 调控黏膜上皮分化; 调节免疫反应和促进胃肠黏膜重建. 体外及体内研究均提示TFF3在保护肠道黏膜的完整性、促进肠黏膜损伤后的重建中起重要作用. NSAIDs药物、酒精以及应激导致的胃黏膜损伤均能因外源性TFF2和TFF3的应用而减轻[6-7]. Mashimo *et al*[8]研究发现, 给予硫酸右旋糖酐钠(DSS)的野生型小鼠中, 只有10%出现血样腹泻, 大多数未出现明显症状, 而60%的TFF3缺陷小鼠出现明显的血性腹泻至死亡; 此外给予重组的TFF3可使缺陷小鼠的重建功能恢复, 说明TFF3在促进消化系黏膜上皮重建中起到重要作用. 进一步研究发现TFF3促进上皮细胞修复的机制可能与他促进上皮细胞迁移有关.

1.2.2 TFF3与细胞增殖和分化: 关于TFF3在细胞周期进程作用的研究资料不多, 已报道的研究中, 内源性与外源性TFF3在影响细胞增殖的作用可能存在差异. Kanai *et al*[9]研究发现, TFF3能抑制细胞外信号调节激酶(ERK)和促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)的部分通道, 表明TFF3可能具有抗增殖作用, 可抑制肿瘤的发生发展. Uchino *et al*[10]发现TTF3稳定转染的结肠癌细胞系LoVo和SW837中, 细胞在体外生长或嫁接动物后的体内生长明显减慢, 而这一效应与EGF诱导的MAPK/ERK磷酸化及活性抑制相伴随. 与此相反, 有文献报道内源性TFF3促进了细胞的增殖作用[11]. 此外, 通过RNAi技术使内源性TFF3表达抑制后, 胃癌细胞系SNU-1的细胞倍增时间延长[12], 也说明TFF3可能有促进细胞增殖作用.

1.2.3 TFF3与细胞凋亡: 细胞获得性的抗凋亡作用是肿瘤发生、发展中的重要步骤. Chan *et al*[12]发现反义TFF3能显著增强阿霉素诱导的细胞凋亡. Taupin *et al*[14]研究认为内源性TFF3表达能使人结肠癌细胞系抵抗血清饥饿和C2-神经酰胺诱导的细胞凋亡, 这一作用依赖于磷脂酰肌醇-3-羟基激酶(PI3K)活性; 同时, 该研究发现TFF3能阻断P53依赖性及非P53依赖性的失巢凋亡现象, 而这可能是TFF3能促进胃肠道上皮细胞迁移的机制之一. 也有研究认为TFF3能激活Akt/PKB途径介导的抗凋亡作用[13]. 虽然目前多数的研究倾向于认为TFF3具有抗凋亡作用, 但是Marchbank *et al*[15]研究发现转基因小鼠空肠中TFF3的异位表达并不能改变吲哚美辛介导的空肠上皮细胞凋亡作用. 因此, TFF3在细胞凋亡的调控中存在串话的可能性.

2 TFF3与胃癌的关系

生理状态下TFF3在胃黏膜上皮很少甚至不表达, 而在胃黏膜肠上皮化生及胃癌组织高表达, 提示TFF3可能与胃黏膜上皮肠化及胃癌过程有关.

2.1 TFF3与胃黏膜肠上皮化生 肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)是一种常见的胃黏膜上皮癌前病理改变[16]. Rios-Castellanos *et al*[17]对1984-1988年Oxfordshire地区胃癌患者的研究表明, 52%的胃癌与IM有关, 当对IM发生的部位进行分析后发现, 83%的胃窦癌和24%的贲门癌与IM有关. Taupin *et al*[18]研究发现胃上皮细胞中TFF3表达上调同时伴有TFF1表达下调先于肠上皮化生出现, 提示TFF3表达上调可能是IM的先发环节. Leung *et al*[2]对胃癌标本及其周围IM组织的研究表明: 在胃黏膜发生IM的杯状细胞及肿瘤细胞的细胞质及细胞核中均有TFF3表达; 且在黏液性腺癌可见胞质中粗大的棕黄色TFF3颗粒, 在非黏液性腺癌中很少见TFF3染色, 偶尔可见胞质的顶端有少量染色; 在吸收细胞及潘氏细胞中未见TFF3染色. 同源结构域蛋白CDX2在肠上皮细胞发生及分化中起关键作用, Shimada *et al*[19]发现在COS-7和AGS细胞系中, CDX2瞬时过表达能使TFF3报告基因表达显著上调, CDX2表达载体稳转的AGS细胞系中也检测到了内源性TFF3 mRNA的表达上调, 这一发现提示CDX2对肠上皮细胞以及可能在胃肠上皮化生细胞中TFF3表达起重要作用. 另外, Giraud *et al*[16]研究发现TFF3在从Ⅰ型到Ⅲ型IM的上皮细胞中表达逐渐降低, 这也提示TFF3胃癌前期病变有关.

2.2 TFF3与胃癌 根据Lauren分型, 胃癌分为肠型和弥漫型胃癌两种. 肠型胃癌经历了正常胃黏膜、肠上皮化生到异型增生再到肠型胃癌的多步骤、多阶段逐渐发展的过程. Dhar *et al*[20]报道TFF3阴性的进展期胃癌的5年无病生存率为91.3%, 而TFF3阳性患者的5年无病生存率仅为42.8%, 其中女性中TFF3阴性的进展期胃癌与早期胃癌的生存期大致相当, 提示TFF3表达阳性是胃癌预后不良的独立性预测因子. Leung

et al[2]研究发现胃中有25%的肠化生非癌组织表达TFF3, 而62%的胃癌组织及24%的临近组织有TFF3的表达, 表明TFF3阳性表达与胃癌密切相关.此外, Yamachika *et al*[21]对209例胃癌标本进行免疫组化研究及随访, 发现TFF3在55%的胃癌标本表达, 与胃癌的生长方式及淋巴转移相关, 且通过多变量资料分析发现TFF3表达与预后呈相关性, 其阳性表达患者预后较差, 这一点与肿瘤分期无关; 同时研究者观察到胃癌标本中TFF3表达存在性别差异, 女性(65%)明显高于男性(48%)($P<0.05$), 推测胃癌组织中TFF3的表达表达可能与性别有关. Kirikoshi *et al*[22]研究发现, TFF1, TFF2在胃黏膜发生癌变过程表达逐渐降低, 而TFF3在此过程中表达逐渐升高, 且TFF3在KATO-Ⅲ, MKN-45两个分化较差的胃癌细胞系中表达, 表明可能与胃癌的分化程度有关. 因此, TFF3可能在胃癌的发生中起到促进作用, 并且与胃癌的分级、预后密切相关.

3 TFF3与胃癌相关因子之间的相互作用

TFF3在胃癌发生、转移中的机制目前尚不明确, 目前研究认为TFF3可能与以下信号途径关系密切.

3.1 TFF3与STATs 信号转导和转录激活因子家族(signal transducers and activators of transcription, STATs)具有强烈的抑制细胞凋亡, 促进细胞增殖的作用, 参与了人类恶性肿瘤的发生、发展和演进过程, 其中以STAT3尤为活跃. 研究显示STAT3在人体多种肿瘤中通过过表达和组成性激活(constitutive activation)而显示出潜在的致瘤性, 如: 白血病、黑色素瘤、头颈部鳞状细胞癌、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌和消化系肿瘤[23-24]. Emami *et al*[25]发现TFF3的促浸润活性受Src/Rho依赖信号途径调控, 而STAT3则由Src/RhoA途径激活[26], 这提示STAT3可能参与了TFF3信号途径. Rivat *et al*[27]研究发现TFF3和VEGF均能使STAT3α和STAT3β第705位的酪氨酸发生磷酸化从而激活STAT3信号途径; 使用RNAi技术、STAT3α/STAT3β的磷酸化抑制剂(葫芦素)或STAT3抑制肽来阻断STAT3信号途径, 均能消除TFF3或VEGF165诱导的细胞浸润和无胸腺小鼠异体移植肿瘤的生长; 而TFF1则不能激活STAT3信号途径. 推测TFF3和肿瘤血管生长调节因子VEGF165能通过STAT3途径显示出有效的促进浸润能力.

3.2 TFF3与CDX2基因 CDX2基因又称果蝇相关同源异型框转录因子, 迄今越来越多的研究发现, CDX2基因的异常表达与胃黏膜肠上皮化生和异型增生以及胃癌的发生密切相关[28]. Shimada *et al*[19]报道CDX2基因过表达可以使COS-7和AGS细胞系中MUC2和TFF3报告基因表达上调, 而TFF1和TFF2报告基因表达仅轻度上调. 同样在稳定表达CDX2的AGS细胞系中, 内源性的MUC2和TFF3 mRNA表达也明显上调. 可见TFF3表达和CDX2存在密切关系, 进一步推测TFF3与CDX2可能共同在胃黏膜上皮细胞发生IM以及胃癌方面发挥作用. 凝胶电泳迁移实验和报告基因分析显示, 人TFF3启动子上至少存在两个CDX结合位点, 且可能位于启动子上游-63 bp处.

3.3 TFF3与EGFR 表皮生长因子受体(Epithelial growth factor receptors, EGFR)过表达和自分泌激活是多种人类实体肿瘤生长和转移的关键环节. 高滴度TFF3能诱导EGFR磷酸化, 而EGFR磷酸化是Ras及MAPK依赖性的TFF表达交叉调节的必要步骤[29]. 重组人TFF3能使HT29/B6细胞系中E-cadherin表达下调, 同时伴有α-catenin和β-catenin的表达下调, 从而发挥促进细胞迁移作用, 而这一作用可能与EGFR酪氨酸磷酸化相耦联[30]. Dürer *et al*[31]研究发现TFF3与EGF介导的细胞迁移的模式并不相同, 包括刮擦损伤边缘的细胞形态及迁移细胞之间的间隙等, 提示TFF3介导的细胞迁移可能存在EGFR磷酸化途径之外的其他信号途径. Rodrigues *et al*[32]也发现, 以EGFR酪氨酸激酶抑制剂或缺乏EGFR胞内段的显性负相突变体处理后的细胞系中, TFF1和TFF2诱导的细胞侵袭明显受抑, 而TFF3则有可能通过其他信号途径而继续发挥作用. 可见EGFR磷酸化途径是TFF3介导的细胞迁移的重要但非唯一途径, TFF3促进肿瘤侵袭的机制也有待进一步阐明.

3.4 TFF3与NF-κB NF-κB是一种可诱导性转录因子, 他是由P50、P52、P65、RelB和c-Rel五个亚单位中其中两个构成的二聚体蛋白, 在肠上皮细胞中P50/P65是其显性表达基因. NF-κB基因激活后, 不仅可使某些炎症因子和细胞存活基因表达上调, 而且可以使NF-κB依赖性的NF-κB信号负性调节因子(如: IκBα、Bcl-3、A20、NO、前列腺素E2)表达上调, 从而参与炎症反应和抗凋亡过程. Chen *et al*[33]研究发现TFF3能诱导激活NF-κB, 而进一步能阻断NF-κB信号途径的细胞凋亡以及细胞迁移过程中的失巢凋亡现

■相关报道
Kirikoshi *et al*研究发现, TFF1, TFF2在胃黏膜发生癌变过程表达逐渐降低, 而TFF3在此过程中表达逐渐升高, 且TFF3在KATO-Ⅲ, MKN-45两个分化较差的胃癌细胞系中表达, 表明可能与胃癌的分化程度有关.

■同行评价
本文内容新颖，论述全面，语言流畅，具有一定的可读性.

象. Loncar *et al*研究发现TNF-α可通过NF-κB信号途径使HT26细胞系中TFF3表达下调，并进一步证实TFF3基因启动子上游存在NF-κB的结合位点[34-35]. NF-κB信号途径可能在TFF3诱导的抗凋亡及肿瘤细胞迁移中发挥重要作用，但具体机制有待进一步阐明.

3.5 其他 TFF3能促进小鼠成纤维细胞的迁移和侵袭过程，这一效应伴随β-catenin和金属蛋白酶9(metalloproteinase-9, MMP9)表达增强及E-cadherin和金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)表达下调，提示TFF3可能通过提高细胞的侵袭力及影响侵袭相关基因的活性而具有潜在恶性行为能力[36]. NO是一种内皮细胞生长因子，在炎症和肿瘤血管的形成中发挥重要作用，而TFF3通过诱导NO合酶(iNOS/NOS2)参与了NO的合成[30]，这一途径是否在TFF3促进肿瘤侵袭中发挥作用尚待进一步研究证实.

4 结论

TFF3是胃肠道黏膜中一个重要的细胞因子，在胃肠道黏膜的保护与上皮重建、细胞增殖与凋亡，肿瘤的侵袭方面发挥重要作用. TFF3与胃癌关系密切，并可能作为胃癌的独立预后因子之一. 目前对TFF3在胃黏膜上皮细胞发生肠上皮化生、异型增生及胃癌中的表达虽有一定研究，但对TFF3在胃癌发生、发展中的作用机制及相关信号转导通路仍需要更深入的研究和探索.

5 参考文献

1 Suemori S, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Identification and characterization of rat intestinal trefoil factor: tissue- and cell-specific member of the trefoil protein family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 11017-11021

2 Leung WK, Yu J, Chan FK, To KF, Chan MW, Ebert MP, Ng EK, Chung SC, Malfertheiner P, Sung JJ. Expression of trefoil peptides (TFF1, TFF2, and TFF3) in gastric carcinomas, intestinal metaplasia, and non-neoplastic gastric tissues. *J Pathol* 2002; 197: 582-588

3 Madsen J, Nielsen O, Tornøe I, Thim L, Holmskov U. Tissue localization of human trefoil factors 1, 2, and 3. *J Histochem Cytochem* 2007; 55: 505-513

4 Regalo G, Wright NA, Machado JC. Trefoil factors: from ulceration to neoplasia. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 2910-2915

5 Wright NA, Poulsom R, Stamp G, Van Noorden S, Sarraf C, Elia G, Ahnen D, Jeffery R, Longcroft J, Pike C. Trefoil peptide gene expression in gastrointestinal epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1993; 104: 12-20

6 Tanaka S, Podolsky DK, Engel E, Guth PH, Kaunitz JD. Human spasmolytic polypeptide decreases proton permeation through gastric mucus in vivo and in vitro. *Am J Physiol* 1997; 272: G1473-G1480

7 McKenzie C, Marchbank T, Playford RJ, Otto W, Thim L, Parsons ME. Pancreatic spasmolytic polypeptide protects the gastric mucosa but does not inhibit acid secretion or motility. *Am J Physiol* 1997; 273: G112-G117

8 Mashimo H, Wu DC, Podolsky DK, Fishman MC. Impaired defense of intestinal mucosa in mice lacking intestinal trefoil factor. *Science* 1996; 274: 262-265

9 Kanai M, Mullen C, Podolsky DK. Intestinal trefoil factor induces inactivation of extracellular signal-regulated protein kinase in intestinal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 178-182

10 Uchino H, Kataoka H, Itoh H, Hamasuna R, Koono M. Overexpression of intestinal trefoil factor in human colon carcinoma cells reduces cellular growth in vitro and in vivo. *Gastroenterology* 2000; 118: 60-69

11 Perry JK, Kannan N, Grandison PM, Mitchell MD, Lobie PE. Are trefoil factors oncogenic? *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19: 74-81

12 Chan MW, Chan VY, Leung WK, Chan KK, To KF, Sung JJ, Chan FK. Anti-sense trefoil factor family-3 (intestinal trefoil factor) inhibits cell growth and induces chemosensitivity to adriamycin in human gastric cancer cells. *Life Sci* 2005; 76: 2581-2592

13 Taupin D, Podolsky DK. Trefoil factors: initiators of mucosal healing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 721-732

14 Taupin DR, Kinoshita K, Podolsky DK. Intestinal trefoil factor confers colonic epithelial resistance to apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 799-804

15 Marchbank T, Cox HM, Goodlad RA, Giraud AS, Moss SF, Poulsom R, Wright NA, Jankowski J, Playford RJ. Effect of ectopic expression of rat trefoil factor family 3 (intestinal trefoil factor) in the jejunum of transgenic mice. *J Biol Chem* 2001; 276: 24088-24096

16 Giraud AS. Metaplasia as a premalignant pathology in the stomach. *Gastroenterology* 2007; 132: 2053-2056

17 Rios-Castellanos E, Sitas F, Shepherd NA, Jewell DP. Changing pattern of gastric cancer in Oxfordshire. *Gut* 1992; 33: 1312-1317

18 Taupin D, Pedersen J, Familari M, Cook G, Yeomans N, Giraud AS. Augmented intestinal trefoil factor (TFF3) and loss of pS2 (TFF1) expression precedes metaplastic differentiation of gastric epithelium. *Lab Invest* 2001; 81: 397-408

19 Shimada T, Koike T, Yamagata M, Yoneda M, Hiraishi H. Regulation of TFF3 expression by homeodomain protein CDX2. *Regul Pept* 2007; 140: 81-87

20 Dhar DK, Wang TC, Tabara H, Tonomoto Y, Maruyama R, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Expression of trefoil factor family members correlates with patient prognosis and neoangiogenesis. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6472-6478

21 Yamachika T, Werther JL, Bodian C, Babyatsky M, Tatematsu M, Yamamura Y, Chen A, Itzkowitz S. Intestinal trefoil factor: a marker of poor prognosis in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1092-1099

22 Kirikoshi H, Katoh M. Expression of TFF1, TFF2 and TFF3 in gastric cancer. *Int J Oncol* 2002; 21: 655-659

23 Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in

oncogenesis. *Oncogene* 2000; 19: 2474-2488
24 Ma XT, Wang S, Ye YJ, Du RY, Cui ZR, Somsouk M. Constitutive activation of Stat3 signaling pathway in human colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1569-1573
25 Emami S, Le Floch N, Bruyneel E, Thim L, May F, Westley B, Rio M, Mareel M, Gespach C. Induction of scattering and cellular invasion by trefoil peptides in src- and RhoA-transformed kidney and colonic epithelial cells. *FASEB J* 2001; 15: 351-361
26 Turkson J, Bowman T, Garcia R, Caldenhoven E, De Groot RP, Jove R. Stat3 activation by Src induces specific gene regulation and is required for cell transformation. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 2545-2552
27 Rivat C, Rodrigues S, Bruyneel E, Piétu G, Robert A, Redeuilh G, Bracke M, Gespach C, Attoub S. Implication of STAT3 signaling in human colonic cancer cells during intestinal trefoil factor 3 (TFF3) -- and vascular endothelial growth factor-mediated cellular invasion and tumor growth. *Cancer Res* 2005; 65: 195-202
28 Li MK, Folpe AL. CDX-2, a new marker for adenocarcinoma of gastrointestinal origin. *Adv Anat Pathol* 2004; 11: 101-105
29 Tan XD, Liu QP, Hsueh W, Chen YH, Chang H, Gonzalez-Crussi F. Intestinal trefoil factor binds to intestinal epithelial cells and induces nitric oxide production: priming and enhancing effects of mucin. *Biochem J* 1999; 338 (Pt 3): 745-751
30 Meyer zum Büschenfelde D, Hoschützky H, Tauber R, Huber O. Molecular mechanisms involved in TFF3 peptide-mediated modulation of the E-cadherin/catenin cell adhesion complex. *Peptides* 2004; 25: 873-883
31 Dürer U, Hartig R, Bang S, Thim L, Hoffmann W. TFF3 and EGF induce different migration patterns of intestinal epithelial cells in vitro and trigger increased internalization of E-cadherin. *Cell Physiol Biochem* 2007; 20: 329-346
32 Rodrigues S, Attoub S, Nguyen QD, Bruyneel E, Rodrigue CM, Westley BR, May FE, Thim L, Mareel M, Emami S, Gespach C. Selective abrogation of the proinvasive activity of the trefoil peptides pS2 and spasmolytic polypeptide by disruption of the EGF receptor signaling pathways in kidney and colonic cancer cells. *Oncogene* 2003; 22: 4488-4497
33 Chen YH, Lu Y, De Plaen IG, Wang LY, Tan XD. Transcription factor NF-kappaB signals antianoikic function of trefoil factor 3 on intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274: 576-582
34 Loncar MB, Al-azzeh ED, Sommer PS, Marinovic M, Schmehl K, Kruschewski M, Blin N, Stohwasser R, Gött P, Kayademir T. Tumour necrosis factor alpha and nuclear factor kappaB inhibit transcription of human TFF3 encoding a gastrointestinal healing peptide. *Gut* 2003; 52: 1297-1303
35 Baus-Loncar M, Al-azzeh ED, Romanska H, Lalani el-N, Stamp GW, Blin N, Kayademir T. Transcriptional control of TFF3 (intestinal trefoil factor) via promoter binding sites for the nuclear factor kappaB and C/EBPbeta. *Peptides* 2004; 25: 849-854
36 Chan VY, Chan MW, Leung WK, Leung PS, Sung JJ, Chan FK. Intestinal trefoil factor promotes invasion in non-tumorigenic Rat-2 fibroblast cell. *Regul Pept* 2005; 127: 87-94

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志标点符号用法

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体. (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 500-503
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

研究快报 RAPID COMMUNICATION

姜黄素固体分散体对酒精性肝损伤大鼠氧化应激的影响

韩 刚, 姚国贤, 原海忠, 董 月

韩刚, 原海忠, 董月, 华北煤炭医学院药学系 河北省唐山市 063000
姚国贤, 丰润区人民医院药剂科 河北省唐山市 064000
中国煤矿尘肺治疗基金资助项目, No. 2006-11
作者贡献分布: 韩刚与姚国贤对此文所作的贡献均等; 此课题由韩刚与姚国贤设计; 研究过程由姚国贤与原海忠操作完成; 数据处理由董月完成; 本文写作由韩刚完成.
通讯作者: 韩刚, 063000, 河北省唐山市, 华北煤炭医学院药学系. tsyxhg@163.com
电话: 0315-3726303
收稿日期: 2008-12-28 修回日期: 2009-01-20
接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-02-18

■背景资料
姜黄素是从姜科植物姜黄(*curcuma longa* L.)的根茎中提取的有效成分, 具有抗炎、抗氧化、清除自由基、降血脂、抗癌等多种药理作用. 姜黄素对肝损伤的保护作用已有报道, 但姜黄素难溶于水, 生物利用度低, 不能充分发挥其药理活性. 固体分散技术可以提高难溶药物的溶解度, 从而提高其生物利用度.

Effects of curcumin solid dispersion on oxidative stress of alcoholic hepatic injury in rats

Gang Han, Guo-Xian Yao, Hai-Zhong Yuan, Yue Dong

Gang Han, Hai-Zhong Yuan, Yue Dong, Pharmaceutical Science, North China Coal Medical University, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Guo-Xian Yao, Department of Pharmacy, Fengrun People's Hospital Tangshan 064000, Hebei Province, China
Supported by: the China Coal Miner Pneumoconiosis Treatment Foundation, No. 2006-11
Correspondence to: Gang Han, Pharmaceutical Science, North China Coal Medical University, Tangshan 063000, Hebei Province, China. tsyxhg@163.com
Received: 2008-12-28 Revised: 2009-01-20
Accepted: 2009-02-09 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To prepare curcumin solid dispersion and to investigate the effects of curcumin solid dispersion on oxidative stress of alcoholic hepatic injury in rats.

METHODS: Fifty Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups (n = 10): control group, model group, Bifendate group and two curcumin solid dispersion treatment (100, 200 mg/kg, respectively) groups. The SD rats were administrated with liquor and fat emulsion for 6 weeks to establish the alcoholic hepatic injury model, at the same time the rats were administrated Bifendate and curcumin solid dispersion. The content of alanine aminotransferase (ALT), asparate aminotransferase (AST) in serum and the activity or content of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehtyde (MDA) in liver were measured to evaluate hepatic injury and oxidative stress.

RESULTS: Compared with control group, the value of liver weight/body weight was significantly increased (3.74 ± 0.38 *vs* 2.25 ± 0.13; P < 0.01); the serum ALT and AST were significantly increased (76.24 ± 9.14 *vs* 30.13 ± 4.99; 98.85 ± 10.50 *vs* 39.02 ± 6.79; P < 0.01) but the activity of SOD was significantly decreased (395.39 ± 28.26 *vs* 258.18 ± 22.18, P < 0.01) and the content of MDA was significantly increased (27.00 ± 1.08 *vs* 12.31 ± 1.26, P < 0.01) in the model group. However, in comparison with those in model group, the serum AST and ALT were significantly decreased (Bifendate 29.01 ± 9.24, 41.69 ± 3.67; Low dose 55.92 ± 5.49, 57.17 ± 10.88; High dose 40.94 ± 4.54, 52.59 ± 10.17) in the two treatment groups. For low dose and high dose curcumin solid dispersion groups, activity of SOD was significantly increased (Low dose 340.50 ± 36.26, High dose 365.20 ± 36.18, P < 0.01) and content of MDA was significantly decreased (Low dose 15.76 ± 0.68, High dose 13.19 ± 0.72, P < 0.01) in liver, but there was no significant change in Bifendate group.

CONCLUSION: The curcumin solid dispersion protects alcoholic hepatic injury and reduces oxidative stress in rats.

Key Words: Curcumin; Solid dispersion; Alcohol; Hepatic injury; Oxidative stress

Han G, Yao GX, Yuan HZ, Dong Y. Effects of curcumin solid dispersion on oxidative stress of alcoholic hepatic injury in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 500-503

摘要

目的: 探讨姜黄素固体分散体对酒精性肝损伤大鼠氧化应激的影响.

方法: 将50只SD大鼠随机分为5组: 对照组、模型组、联苯双酯阳性药物组(100 mg/kg)、姜黄素固体分散体低、高剂量组(100、200

■同行评议者
管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医学教研室

mg/kg), 每组10只. 除对照组给予等量生理盐水外, 其余灌胃给予白酒与脂肪混合乳剂建立酒精性肝损伤模型, 造模的同时给予联苯双酯, 姜黄素固体分散体等药物干预. 给药6 wk后, 测定大鼠血清中ALT, AST活性, 测定肝组织中MDA含量, SOD活性, 用以评价肝损伤程度及氧化应激反应程度.

结果: 与对照组比较, 模型组大鼠肝质量/体质量值显著升高(3.74±0.38 *vs* 2.25±0.13, $P<0.01$); 血清中ALT, AST水平显著升高(76.24±9.14 *vs* 30.13±4.99, 98.85±10.50 *vs* 39.02±6.79, 均$P<0.01$); 肝组织中SOD活性显著降低(395.39±28.26 *vs* 258.18±22.18, $P<0.01$); MDA含量显著升高(27.00±1.08 *vs* 12.31±1.26, $P<0.01$). 与模型组比较, 各治疗组血清AST, ALT水平(AST: 29.01±9.24, 55.92±5.49, 40.94±4.54; ALT: 41.69±3.67, 57.17±10.88, 52.59±10.17)均显著降低($P<0.01$). 给予姜黄素固体分散体低、高剂量组肝组织中SOD活性显著升高(340.50±36.26, 365.20±36.18, 均$P<0.01$), 而MDA含量明显下降(15.76±0.68, 13.19±0.72, 均$P<0.01$), 而Bifendate组无显著性变化.

结论: 姜黄素固体分散体对酒精诱导大鼠肝损伤具有保护作用, 并能降低肝损伤大鼠氧化应激反应.

关键词: 姜黄素; 固体分散体; 酒精; 肝损伤; 氧化应激

韩刚, 姚国贤, 原海忠, 董月. 姜黄素固体分散体对酒精性肝损伤大鼠氧化应激的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 500-503

http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/500.asp

0 引言

近年来, 酒精在我国消费人群中的摄入量不断增加, 与酒精有关的各种疾病也急剧上升. 酒精是一种能引起细胞内氧化应激的物质, 酒精在肝脏中代谢过量时, 肝细胞就会产生过量的自由基, 导致肝损伤[1]. 寻找抑制酒精性肝损伤和抑制氧化应激反应的药物日益受到人们的关注[2-3].

姜黄素是从姜科植物姜黄(*curcuma longa* L.)的根茎中提取的有效成分, 具有抗炎、抗氧化、清除自由基、降血脂、抗癌等多种药理作用[4]. 姜黄素对肝损伤的保护作用已有报道[5-6], 但姜黄素难溶于水, 生物利用度低, 不能充分发挥其药理活性. 固体分散技术可以提高难溶药物的溶解度, 从而提高其生物利用度[7]. 本实验以聚乙烯吡咯烷酮为载体制备了姜黄素固体分散体, 研究姜黄素固体分散体对酒精所致肝损伤大鼠氧化应激的影响.

■应用要点
姜黄素固体分散体降血脂、抗氧化作用显著优于姜黄素. 进一步进行毒理学、药效学研究, 姜黄素聚乙烯吡咯烷酮固体分散体有望开发成新一代降血脂新药.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠; 姜黄素、胆固醇、丙二醇、聚乙烯吡咯烷酮(K30): 北京化学试剂公司; 56度白酒: 北京红星二锅头酒厂; 联苯双酯滴丸、丙基硫氧嘧啶: 浙江医药股份有限公司; 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒:南京建成生物工程研究所.

1.2 方法

1.2.1 动物分组与给药: SD大鼠50只, 适应性喂养1 wk后, 随机分为5组(每组10只), 对照组、酒精性肝损伤模型组、联苯双酯阳性药物对照组、姜黄素固体分散体低剂量组、姜黄素固体分散体高剂量组. 对照组灌胃给予10 mL/kg生理盐水, 其余4组给予白酒与脂肪混合乳剂10 mL/kg, 连续ig 6 wk, 造模的同时给药干预, 给药剂量分别为: 联苯双酯组100 mg/kg、姜黄素固体分散体高、低剂量组分别为200 mg/kg、100 mg/kg. 固体分散体给药剂量均换算成纯姜黄素的质量.

1.2.2 姜黄素固体分散体的制备: 采用溶剂法制备姜黄素固体分散体, 将姜黄素和聚乙烯吡咯烷酮按质量比1∶4比例溶于适量无水乙醇中, 超声消泡后转入旋转蒸发仪中70℃除去乙醇, 得姜黄素固体分散体[8].

1.2.3 白酒与脂肪混合乳剂的制备: 猪油50 g, 胆固醇10 g, 胆酸钠3.3 g, 丙基硫氧嘧啶0.1 g, 丙二醇15 mL, 吐温-80适量, 蒸馏水20 mL, 配制成均匀乳剂, 取上述乳剂与白酒按体积比3∶2混匀, 形成乳白色奶状乳剂, 即为白酒与脂肪混合乳剂[9-10].

1.2.4 测定指标: 末次ig后禁食15 h, 大鼠称质量, 颈动脉取血, 3000 r/min离心15 min, 得血清. 摘取肝脏, 滤纸吸干, 称质量, 计算肝质量/体质量. 取肝左叶, 用生理盐水制成100 g/L的肝组织匀浆. 按试剂盒要求检测各项指标.

统计学处理 所有实验数据均采用SPSS11.5软件进行处理, 数据用mean±SD表示, 各组均数间比较采用单因素方差分析.

2 结果

2.1 姜黄素固体分散体对肝质量/体质量的影响

■名词解释
固体分散体: 是将固体药物高度分散在固体(基质)中形成的体系. 通常是将一种难溶性药物以分子、微晶或无定形状态, 分散在水溶性载体材料中; 也可将可溶性药物分散在难溶性载体材料中.

表 1 固体分散体对大鼠肝质量/体质量的影响 (mean ± SD, n = 10)

分组	剂量 (mg/kg)	体质量 (g)	肝质量 (g)	肝质量/体质量(%)
对照组	–	328.00 ± 61.72	8.32 ± 0.19	2.25 ± 0.13
模型组	–	257.00 ± 13.45	8.74 ± 1.66	3.74 ± 0.38[b]
联苯双酯组	100	248.65 ± 42.61	8.59 ± 1.35	2.80 ± 0.31[d]
低剂量组	100	249.70 ± 28.49	7.67 ± 0.84	2.82 ± 0.27[d]
高剂量组	200	269.33 ± 16.80	8.02 ± 0.44	2.37 ± 0.19[d]

[b]P<0.01 *vs* 对照组; [d]P<0.01 *vs* 模型组.

表 2 固体分散体对大鼠血清ALT、AST的影响 (mean ± SD, n = 10)

分组	剂量 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
对照组	–	39.02 ± 6.79	30.13 ± 4.99
模型组	–	98.85 ± 10.50[b]	76.24 ± 9.14[b]
联苯双酯组	100	41.69 ± 3.67[d]	29.01 ± 9.24[d]
低剂量组	100	57.17 ± 10.88[d]	55.92 ± 5.49[d]
高剂量组	200	52.59 ± 10.17[df]	40.94 ± 4.54[df]

[b]P<0.01 *vs* 对照组; [d]P<0.01 *vs* 模型组; [f]P<0.01 *vs* 联苯双酯组.

与对照组比较, 模型组肝质量/体质量显著升高(P<0.01). 与模型组比较, 联苯双酯组肝质量/体质量明显降低(P<0.01), 姜黄素固体分散体高、低剂量组肝质量/体质量显著降低(P<0.01), 其中以高剂量组最为明显. 结果见表1.

2.2 姜黄素固体分散体对大鼠血清ALT和AST活性的影响 与对照组比较, 模型组ALT、AST显著升高(P<0.01); 与模型组比较, 联苯双酯组、姜黄素固体分散体高、低剂量组ALT、AST活性显著降低(P<0.01), 姜黄素固体分散体高剂量组与联苯双酯组比较, 有显著性差异, 联苯双酯组对ALT、AST活性的降低更显著. 结果见表2.

2.3 姜黄素固体分散体对大鼠肝组织中SOD活性和MDA含量的影响 与对照组相比, 模型对照组SOD活性明显降低(P<0.01), MDA含量明显升高(P<0.01). 与模型对照组比较, 联苯双酯组SOD活性和MDA含量无显著性差异(P>0.05), 说明, 联苯双酯对酒精性肝损伤引起的氧化应激无显著性的影响. 姜黄素固体分散体高、低剂量组SOD活性明显升高(P<0.01), MDA含量明显降低(P<0.01), 因此姜黄素固体分散体可提高大鼠抗氧化能力, 抑制酒精性肝损伤大鼠的氧化应激反应. 结果见表3.

表 3 固体分散体对大鼠肝组织中SOD活性和MDA含量的影响 (mean ± SD, n = 10)

分组	剂量 (mg/kg)	SOD (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
对照组	–	395.39 ± 28.26	12.31 ± 1.26
模型组	–	258.18 ± 22.18[b]	27.00 ± 1.08[b]
联苯双酯组	100	274.86 ± 27.20	26.50 ± 0.52
低剂量组	100	340.50 ± 36.26[d]	15.76 ± 0.68[d]
高剂量组	200	365.20 ± 36.18[df]	13.19 ± 0.72[df]

[b]P<0.01 *vs* 对照组; [d]P<0.01 *vs* 模型组; [f]P<0.01 *vs* 联苯双酯组.

3 讨论

氧化应激是指机体内氧化与抗氧化作用失衡, 倾向于氧化, 产生大量氧化中间产物. 酒精经胃肠道黏膜迅速吸收进入血液, 经肝脏代谢成为毒性很强的乙醛[11]. 乙醛进入血液, 通过黄嘌呤氧化酶转变成为超氧化物, 导致脂质过氧化, 破坏细胞膜, 导致肝损伤. 酒精还能诱导肝脏P450酶活性增高, 在肝脏代谢过程中产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS), 引发脂质过氧化[12], 破坏肝细胞的结构和功能. 研究表明, 抗氧化剂可以减缓氧化应激带来的危害. 姜黄素是良好的自由基清除剂, 但其不溶于水, 在体内不易被吸收, 将姜黄素制成固体分散体增大了姜黄素的溶解度, 提高了生物利用度, 使其更好地发挥药效.

实验结果显示, 给予白酒与脂肪混合乳剂的大鼠6 wk后, 血清中ALT, AST活性升高, 说明酒精可以诱导大鼠肝损伤; 肝脏中SOD活性下降, MDA含量升高, 说明大鼠体内出现氧化应激反应[13].

大鼠给予联苯双酯、姜黄素固体分散体药物干预后, 大鼠血清中ALT、AST活性明显降低, 说明联苯双酯、姜黄素固体分散体对酒精性肝损伤有保护作用.

大鼠给予姜黄素固体分散体药物干预后, 肝脏中SOD活性升高, MDA含量下降, 而与模型组比较, 给予联苯双酯组大鼠肝组织中SOD活性和MDA含量没有显著性差异. 说明姜黄素固体分散体对酒精诱导的大鼠肝损伤产生的氧化应激反应起到了抑制作用, 而联苯双酯没有这种抑制作用.

随着人们饮食结构的变化长期过量饮酒引起机体产生氧化应激反应, 造成机体损伤. 这种长时间的氧化应激状态可诱发多种疾病, 引起胰岛功能受损[14]或造成肝损伤等[15]. 姜黄素虽然

有保肝作用, 但由于姜黄素难溶于水体内不易吸收, 生物利用度低. 以聚乙烯吡咯烷酮为载体将姜黄素制成固体分散体增大了姜黄素的溶解度. 实验结果显示姜黄素固体分散体对酒精性肝损伤有较好的防治作用.

4 参考文献

1 吴娜, 蔡光明, 何群. 氧化应激与肝脏损伤. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3310-3315
2 周晓蓉, 龚作炯, 袁光金, 张频. 绿茶多酚对实验性酒精性肝损伤大鼠的治疗作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 50-56
3 Srivastava A, Shivanandappa T. Hepatoprotective effect of the aqueous extract of the roots of Decalepis hamiltonii against ethanol-induced oxidative stress in rats. *Hepatol Res* 2006; 35: 267-275
4 汪海慧, 成杨. 姜黄素的药理作用的研究进展. 上海中医药大学学报 2007; 21: 73-76
5 Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A, Thomas P, Dannenberg AJ. Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF-kappa B-dependent genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: G321-G327
6 刘永刚, 陈厚昌, 蒋毅萍. 姜黄素对小鼠实验性肝损伤的保护作用. 中国中药杂志 2003; 28: 756-758
7 韩刚, 张永, 孙广利, 于永明. 姜黄素滴丸的制备及体外溶出研究. 中成药 2006; 28: 1832-1833
8 韩刚, 王传胜, 张永, 金光灿. 固体分散体提高姜黄素溶出度的研究. 中国中药杂志 2007; 32: 637-638
9 李舒丹, 厉有名, 虞朝晖. 大鼠慢性酒精性肝损伤观察. 中国公共卫生 2004; 20: 195-196
10 冯志强, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 漆楚波, 郭洁, 李海霞. 大鼠急性酒精性脂肪肝造模方法的改进. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1189-1192
11 Dey A, Cederbaum AI. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 2006; 43: S63-S74
12 Irshad M, Chaudhuri PS, Joshi YK. Superoxide dismutase and total anti-oxidant levels in various forms of liver diseases. *Hepatol Res* 2002; 23: 178-184
13 Masalkar PD, Abhang SA. Oxidative stress and antioxidant status in patients with alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta* 2005; 355: 61-65
14 孙秀发. 酒精与糖尿病的关系. 世界华人消化杂志 2005; 13: 290-293
15 陈晓超, 刘树滔, 陈躬瑞, 饶平凡. 酒精性肝炎的治疗进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1130-1136

■同行评价
本研究结果证明了姜黄素固体分散体能有效地解决姜黄素在机体内的吸收与利用, 其研究方法具有一定的创新性.

编辑 史景红 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第二十一次全国中西医结合消化学术会议征文通知

本刊讯 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会决定于2009-07-23/26在南宁市召开第二十一次全国中西医结合消化系统疾病学术会议, 并同时举办全国中西医结合消化疾病(重点为功能性胃肠病、炎症性肠病和消化内镜新技术临床应用演示)新技术新理论继续教育学习班. 学习班招收对象: 中西医结合、中医或西医的消化专业医师、科研人员、研究生等. 参加学习班者授予国家级1类继续教育学分; 大会论文报告者另授继续教育学分6分.

1 征稿内容

功能性胃肠病、炎症性肠病中西医结合基础与临床治疗研究; 幽门螺杆菌相关疾病的中西医结合基础与治疗研究; 脂肪肝、慢性肝炎与肝硬化等常见肝病的中西医结合基础与临床研究; 消化系肿瘤中西医结合诊疗; 脾胃学说及其临床应用; 其他消化系统疾病(包括食管、胃、肝、胆、胰腺等疾病)的基础研究、临床研究与实践等.

2 征稿要求

请注明作者姓名、单位、详细通讯地址、邮编. 稿件请附800字论文摘要, 尽可能以电子信件的形式将稿件传送, 截稿日期: 2009-06-30.

3 联系方式

袁海锋, 朱永苹, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号广西中医学院瑞康医院, 电话: 0771-2188107; 13597004049; 13077766271, 传真: 0771-2411156, rkxhnk@sina.com或czs.xiaohua@163.com

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 504-507
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

无症状贲门松弛患者酸反流食管动力检测及意义

张定国, 崔 毅

■背景资料
胃食管反流病(GERD)、食管裂孔疝(HH)、Barrett食管(BE)贲门较正常人松弛, 贲门松弛程度与酸严重程度相关. 临床操作过程中, 经常会发现许多患者内镜下并无食管炎、HH或BE表现, 但贲门明显松弛, 不能包绕镜身, 甚至贲门内径达到2倍镜身或以上, 这部分患者主要症状大多是上腹部不适或隐痛等消化不良症状, 少有明显的反流症状, 如烧心、反酸等.

张定国, 深圳市人民医院消化内科 广东省深圳市 518020
崔毅, 中山大学附属第一医院内镜中心 广东省广州市 510080
作者贡献分布: 张定国与崔毅对此文所作贡献均等; 此课题由崔毅与张定国设计; 研究过程由崔毅与张定国操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由崔毅提供; 数据分析由张定国完成; 本论文写作由张定国完成.
通讯作者: 崔毅, 510080, 广东省广州市, 中山大学附属第一医院内镜中心. zdg8012@yahoo.com.cn
电话: 020-87755766-8155
收稿日期: 2008-12-15 修回日期: 2009-01-16
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Detection of acid reflux and esophageal motor function for asymptomatic patulous cardia patients and its significance

Ding-Guo Zhang, Yi Cui

Ding-Guo Zhang, Department of Gastroenterology, Shenzhen Municipal People's Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China
Yi Cui, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
Correspondence to: Yi Cui, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. zdg8012@yahoo.com.cn
Received: 2008-12-15 Revised: 2009-01-16
Accepted: 2009-01-19 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To explore the impact of dilated cardia on gastric-esophageal acid reflux and esophageal motor function.

METHODS: Twenty-five patients with patulous cardia without any obvious reflux symptoms and 10 asymptomatic healthy volunteers as controls underwent 24 h ambulatory esophageal pH monitoring and esophageal manometry simultaneously. In order to observe gastroesophageal reflux, configuration of the cardia and to exclude hiatal hernia, the patients were previously given a barium meal.

RESULTS: All parameters about 24 h esophageal monitoring were greater in patulous cardia group than in control group. However, only the total time of esophageal acid exposure (pH < 4) and DeMeester score were significantly higher in patulous cardia group than in control group (38.44 ± 50.89 min *vs* 10.60 ± 7.75 min, 11.98 ± 14.84 *vs* 5.06 ± 3.19, both $P < 0.05$). More patulous cardia patients presented pathologic reflux than controls (28% *vs* 0%, $P < 0.05$). There were, however, no significant differences between two groups in esophageal sphincter esophageal manometry readings, including LES resting pressure, length, amplitude of the contractile waves of distal and proximal esophagus, peristalsis velocity in the middle-lower part of esophagus and the success rate of wet swallowing.

CONCLUSION: Pathological acid reflux occurres more often in patulous cardia patients than healthy ones. Some patients with patulous cardia and pathological acid reflux are asymptomatic.

Key Words: Esophageal motor function; Gastric-esophageal acid reflux; pH monitoring; Sphincter dysfunction

Zhang DG, Cui Y. Detection of acid reflux and esophageal motor function for asymptomatic patulous cardia patients and its significance. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 504-507

摘要

目的: 探讨无反流症状贲门松弛对胃食管酸反流及食管动力的影响.

方法: 对25例内镜下贲门松弛且无明显反流症状患者及10例内镜检查正常的无症状健康志愿者均进行24 h食管pH监测及食管测压检查.

结果: 内镜下贲门松弛组24 h食管pH监测各项指标较正常对照组增高, 其中以pH<4总时间及DeMeester评分差异更明显(38.44±50.89 min *vs* 10.60±7.75 min, 11.98±14.84 *vs* 5.06±3.19, 均P<0.05). 贲门松弛组病理性酸反流发生率较正常对照组差异有统计学意义(28% *vs* 0%, P<0.05). 两组食管测压各项指标包括LES静息压、LES长度、食管远近端蠕动波幅、食管体部传导速度、湿咽成功率等较对

■同行评议者
王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科; 黄晓东, 副主任医师, 武汉市中心医院消化内科

照组低, 但差异无统计学意义.

结论: 贲门松弛易于发生酸反流, 部分贲门松驰且酸反流患者无相关临床症状.

关键词: 食管动力; 胃食管酸反流; pH监测; 食管测压; 括约肌

张定国, 崔毅. 无症状贲门松弛患者酸反流食管动力检测及意义. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 504–507
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/504.asp

0 引言

文献报道, 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)、食管裂孔疝(hiatal hernia, HH)、Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)贲门较正常人松弛, 贲门松弛程度与酸严重程度相关[1-5]. 临床操作过程中, 经常会发现许多患者内镜下并无食管炎、HH或BE表现, 但贲门明显松弛, 不能包绕镜身, 甚至贲门内径达到2倍镜身或以上, 这部分患者主要症状大多是上腹部不适或隐痛等消化不良症状, 少有明显的反流症状, 如烧心、反酸等. 我们暂且称这种现象为“无反流症状性贲门松弛”, 这一内镜征象有何临床意义, 是否存在潜在的胃食管反流或食管运动功能障碍, 是否胃食管反流病的前期表现, 目前尚未见相关研究.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-12/2006-04在中山大学内镜中心共检查胃镜患者3670例, 其中161例患者年龄在18-60岁, 内镜下贲门内径达2倍镜身或以上, 且排除食管炎、BE、HH、消化性溃疡、全身性疾病(糖尿病、系统性硬化症、结缔组织疾病、肝硬化等)、胃食管手术史及以烧心、反酸、嗳气为主诉者. 选取其中25例参与研究, 其中男15例, 女10例, 年龄19-56(平均36.2±12.3)岁. 对照组10名, 为经胃镜检查无明显异常及无贲门松弛的无症状健康自愿者, 男6例, 女4例, 年龄19-54(平均35.6±11.4)岁. 各组在性别构成比、年龄上的差异均无显著性意义.

1.2 方法

1.2.1 X线食道吞钡检查: 空腹8 h以上, 吞服浓度为200%硫酸钡混悬液, 先分别采用直立位、半卧位和卧位的左、右前斜位进行动态观察, 主要观察透视下胃食管的反流情况以及贲门松弛情况. 然后采用多次服钡剂, 取俯卧头低脚高位(10-15度), 用Valsalva试验, 作左前斜位转至右前斜位, 腹部棉垫加压等方法重点观察有无食管裂孔疝.

1.2.2 食管腔内压力测定: 采用瑞典CTD-Synectics高分辨多通道胃肠功能监测系统(Pc polygraf多导记录系统)及上消化道软件分析系统. 湿咽成功指标[6]为湿咽后食管近端压力>15 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa), 远端压力>20 mmHg. LESP<10 mmHg定义为LESP降低. 湿咽成功率<70%、食管远段压力<50 mmHg、食管体部蠕动波传导速度<2.4 cm/s定义为食管体部运动功能障碍[7].

1.2.3 食管24 h pH监测: 采用便携式24 h自动监测仪(Digitrapper MKⅢ型, Synetics Medical, 瑞典), 将pH<4时的时间百分比≥4.0%或DeMeester积分≥14.72定义为病理性酸反流(pH+).

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件进行统计分析, 计量资料采用mean±SD表示, 以独立样本t检验进行统计分析, 计数资料的比较采用χ^2检验, 非正态分布指标行Mann-Whitney秩和检验. P<0.05认为有统计学意义.

2 结果

2.1 食管吞钡检查 25例病例组均行食管X线钡餐检查, 主要观察透视下有无胃食管反流, 贲门大小形态, 并结合体位变化及Valsalva动作观察有无食管裂孔疝. 结果显示: 透视下均未见胃食管反流及裂孔疝, 贲门形态, 开放均无明显异常.

2.2 食管24 h pH检测结果比较 贲门松弛组酸反流各项指标平均值包括反流时间、反流次数等均较对照组增高, 其中pH<4总时间(min)及DeMeester评分差异具有统计学差异(P<0.05, 表1). 贲门松弛组病理性酸反流的发生率(28%, 7/25)显著高于正常对照组(0, 0/10)(P = 0.020<0.05), 提示贲门松弛易于酸反流.

2.3 食管测压结果比较 由表2可见食道压力各项指标贲门松弛组均较正常对照组低, 但差异无统计学意义.

2.4 贲门松弛组与正常对照组异常食管运动比较 以LESP<10 mmHg、湿咽成功率<70%、食管远段压力<50 mmHg、食管体部蠕动波传导速度<2.4 cm/s为动力异常, 两组分别有11、7、18、5例; 2、2、3、1例异常, 但两组间比较差异无统计学意义.

3 讨论

内镜下贲门松弛现象是胃镜检查中比较常见的

■相关报道
文献报道, RE、HH、Barrett食管贲门较正常人松弛, 贲门松弛程度与酸严重程度相关. Falavigna *et al* 对有酸反流症状的患者进行研究, 通过内镜检查分为贲门松弛组和贲门正常组, 显示贲门松弛组病理性酸反流明显增多.

■应用要点
对于内镜下单纯贲门松弛的患者, 应考虑到存在胃食管酸反流的病理生理变化及潜在食管贲门运动功能障碍.

■名词解释
贲门松弛: 内镜下贲门持续开放且贲门内径达2倍镜身或以上.

表 1 病例组和对照组食管24h pH检测结果比较

24 h检测指标	贲门松弛组 (n = 25)	正常对照组 (n = 10)	P值
pH<4时间(%)	2.84 ± 3.65	1.82 ± 2.40	0.424
立位pH<4时间(%)	3.15 ± 4.03	1.98 ± 2.44	0.400
卧位pH<4时间(%)	2.32 ± 4.07	1.26 ± 2.04	0.443
反流>5 min次数	1.16 ± 1.93	0.30 ± 0.48	0.177
pH<4总时间(min)	38.44 ± 50.89	10.60 ± 7.75	0.013
pH<4反流次数	48.44 ± 62.61	30.00 ± 19.84	0.371
最长反流时间(min)	9.72 ± 14.02	3.60 ± 4.55	0.189
DeMeester评分	11.98 ± 14.84	5.06 ± 3.19	0.035

表 2 病例组和对照组病例组与对照组食管压力结果比较

检测指标	贲门松弛组 (n = 25)	正常对照组 (n = 10)	P值
LESP(mmHg)	11.73 ± 4.82	14.24 ± 4.32	0.656
LESL(cm)	2.20 ± 0.79	2.84 ± 1.14	0.423
食管远端蠕动收缩幅度(mmHg)	64.01 ± 20.90	77.00 ± 27.30	0.367
食管近端蠕动收缩幅度(mmHg)	48.99 ± 13.69	50.52 ± 16.15	0.874
食管体部蠕动波传导速度(cm/s)	3.23 ± 0.92	3.87 ± 1.13	0.972
湿咽成功率(%)	55.36 ± 25.88	55.30 ± 37.76	0.058

征象, 但未引起学术界的重视, 其临床意义的研究不多. 对GERD、HH的研究已经表明GERD及HH易合并贲门松弛, 且贲门松弛程度与酸反流严重程度相关. 临床上许多内镜下无明显病变的患者贲门也明显松弛, 其中大部分患者无明显的反流症状, 对于这部分患者贲门松弛现象是否有意义研究尚未见报道. 本研究对比了贲门松弛组与正常对照组食管酸暴露情况, 结果表明贲门松弛组较正常对照组易于酸反流(P<0.05). 这一结果对临床工作也有新的指导意义.

贲门松弛是内镜检查中较常见的征象, 目前尚未见公认的判定标准. 主要以倒镜观察胃底贲门时, 贲门口与镜身是否接触紧密而定. 国内有学者提过贲门功能低下的概念[8], 指贲门入口处开大, 反转内镜见贲门口松弛, 与内镜间有较多空隙, 多合并胃食管反流. 但对贲门功能的判断, 公认还是以食道腔内测压结果判断. 本研究以反转内镜, 贲门口持续开放, 贲门内径达到镜身2倍或以上为贲门松弛标准, 前瞻性观察了2005-12/2006-04所有在中山大学附属第一医院内镜中心行胃镜检查的患者共3670例, 发现内镜下有贲门松弛征象且年龄在18-60岁的患者有161例, 占全部胃镜检查的4.4%, 其中有105例患者内镜下有合并症, 包括食道炎、食管裂孔疝、十二指肠球部溃疡、十二指肠球炎等, 对于这部分有合并症的患者, 贲门松弛可能是疾病导致的继发性改变, 可能与LESP低下、胃食管连接部的解剖结构改变、胃扩张等机制有关[9-10]. 然而, 本调查还发现有56例患者贲门松弛, 但无明显症状且内镜下无明显病变(无症状性贲门松弛), 占所有贲门松弛患者的34.8%.

24 h食管pH监测目前已被公认为诊断胃食管反流病的重要诊断方法. 应用便携式pH记录仪能在生理状态下对患者进行24 h食管pH连续监测, 可提供食管是否存在过度酸反流的客观证据. 正常时食管内的pH在5-7左右, 如有过多的酸反流, 则食管内的pH下降至4以下, 但食管能产生继发性蠕动收缩, 吞咽唾液的中和, 起化学性清除作用, 使食管的pH又回升. 正常人食管内有一定的酸反流, 多在餐后出现, 持续时间短, 次数少. 国际上常用的食管pH监测的标准是Johnson和DeMeester于1974年提出的标准[11]: 24 h食管pH<4的次数<50次、24 h食管pH<4百分比<4.2%、pH<4且持续5 min以上的的次数<3次、DeMeester计分<14.72. 酸反流过多容易造成食管黏膜损伤, 导致食管炎、Barrett食管、食管狭窄以及食管癌等一系列并发症.

本研究对比了25贲门松弛患者与10例健康对照的食管pH监测结果显示贲门松弛组有7例pH(+), 占28%, 正常对照组全部pH(-), 两者比较差异有统计学意义(P<0.05). 这一结果有重要的临床意义, 因为随着社会发展, 疾病谱也在发生变化, 以往未受重视的胃食管反流病越来越常见. 对于具有典型烧心、反酸等反流症状者, 临床上不难诊断, 但是对于不典型反流症状抑或是消化道外症状时, 诊断就比较棘手, 食管24 h pH监测是目前诊断的最佳手段, 但他毕竟是侵入性检查且费用昂贵, 不可能作为常规检测方法, 如何把握适应证是临床必须考虑的问题. 本研究提示对于具有不典型症状者, 若内镜下显示无明显原因导致的贲门明显松弛, 24 h食管pH监测阳性率较高. pH<4的总时间两组比较也有差异. 但其他反映酸反流的指标包括24 h pH<4百分比、最长反流时间、反流次数等两者平均值比较均无明显差异, 其原因可能与本课题病例组样本量偏少有关.

LESP正常值约为10-30 mmHg, 高于胃和食

管压力, 作为功能性屏障阻止反流. Cohen *et al*[12]于1971年提出LES功能缺陷是胃食管反流的重要原因. LESP降低而腹压增加时, 可能发生胃内容物自由反流至食管. 食管下括约肌是抵御胃食管内容物反流入食管的主要屏障, 许多研究已经证实大多数胃食管反流病患者的食管下括约肌静息压低于正常对照.

关于贲门松弛与食管运动功能间有何关联研究不多, 本研究比较了贲门松弛组及正常组LESP, 尽管贲门松弛组LESP较对照组低, 分别为11.73±4.82 mmHg/14.24±4.32 mmHg, 但两者间差异无统计学意义. 本次研究结果与Falavigna *et al*[13]的研究结果不符, 可能原因: (1)LESP正常范围较大, 且受很多因素影响, 且定点牵拉法仅记录某一时间点的LESP. 所以, "所谓"食管下括约肌静息压正常值本身就只是一个"近似值"而已. (2)研究对象有差异, Falavigna研究对象主要是有明显胃食管反流症状的患者, 而本研究排除了这部分患者. (3)贲门松弛组和对照组样本量偏少, 不能很好的反映全貌.

本研究同时对两组食管体部运动功能包括食管体部蠕动波幅、体部传导速度、湿咽成功率等进行了比较, 结果均无明显差异, 未能发现单纯贲门松弛有明显的食管运动功能障碍. 这或许可以解释部分有酸反流的患者为什么无明显反流症状. 本研究同时比较了25例病例组的LESP和酸暴露情况(以反流百分比评价), 并作线性相关分析, 发现LESP与酸暴露无明显线性关系. 与前人Kraus *et al*[14]和Behar *et al*[15]的结果相似, 这也说明说了LESP并不是影响酸反流的唯一因素.

总之, 对于内镜下单纯贲门松弛的患者, 应考虑到存在胃食管酸反流的病理生理变化及潜在食管贲门运动功能障碍, 在临床诊断中如伴有不典型胃食管反流症状可行24 h食管pH监测以利确诊; 在临床治疗中对对症治疗效果不佳者, 可考虑行抗酸治疗. 当然, 以上观点仅是一个初步的研究结果, 但依此可见继续深入开展相关研究的必要性及临床价值所在.

4 参考文献

1 Bonavina L, Evander A, DeMeester TR, Walther B, Cheng SC, Palazzo L, Concannon JL. Length of the distal esophageal sphincter and competency of the cardia. *Am J Surg* 1986; 151: 25-34

2 Pandolfino JE, Shi G, Trueworthy B, Kahrilas PJ. Esophagogastric junction opening during relaxation distinguishes nonhernia reflux patients, hernia patients, and normal subjects. *Gastroenterology* 2003; 125: 1018-1024

3 Korn O, Csendes A, Burdiles P, Braghetto I, Stein HJ. Anatomic dilatation of the cardia and competence of the lower esophageal sphincter: a clinical and experimental study. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 398-406

4 Rees CJ, Belafsky PC. Patulous lower esophageal sphincter. *Ear Nose Throat J* 2007; 86: 460

5 Sloan S, Rademaker AW, Kahrilas PJ. Determinants of gastroesophageal junction incompetence: hiatal hernia, lower esophageal sphincter, or both? *Ann Intern Med* 1992; 117: 977-982

6 许军英, 谢小平, 侯晓华. 食管运动功能在重度反流性食管炎中的地位. 中华内科杂志 2005; 44: 353-355

7 林金坤, 胡品津, 朱雪茵, 陈旻湖, 李初俊, 任明. 食管测压和24 h pH监测诊断GERD的价值. 世界华人消化杂志 1998; 6: 51-53

8 林三仁. 消化系统疾病电子内镜图谱. 北京: 北京大学医学出版社, 2003: 12-13

9 Massey BT, Simuncak C, LeCapitaine-Dana NJ, Pudur S. Transient lower esophageal sphincter relaxations do not result from passive opening of the cardia by gastric distention. *Gastroenterology* 2006; 130: 89-95

10 Holloway RH, Dent J. Pathophysiology of gastroesophageal reflux. Lower esophageal sphincter dysfunction in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1990; 19: 517-535

11 Johnson LF, Demeester TR. Twenty-four-hour pH monitoring of the distal esophagus. A quantitative measure of gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol* 1974; 62: 325-332

12 Cohen S, Harris LD. Does hiatus hernia affect competence of the gastroesophageal sphincter? *N Engl J Med* 1971; 284: 1053-1056

13 Falavigna M, Csendes A, Henriquez A, Luengas R. [Comparison of the endoscopic aspect of the cardia, manometry and 24 hours pH measurement in patients with chronic gastroesophageal reflux] *Rev Med Chil* 2006; 134: 187-192

14 Kraus BB, Wu WC, Castell DO. Comparison of lower esophageal sphincter manometrics and gastroesophageal reflux measured by 24-hour pH recording. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 692-696

15 Behar J, Biancani P, Sheahan DG. Evaluation of esophageal tests in the diagnosis of reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1976; 71: 9-15

■同行评价
本文具有一定的可读性, 对临床工作者有一定的指导意义.

编辑 史景红 电编 吴鹏朕

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 508-511
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗97例

罗红彬, 胡中伟, 郭家伟

■背景资料
胃底静脉曲张破裂出血量大、死亡率高, 治疗困难. 随着消化内镜技术的发展, 临床上通常选用急诊内镜下治疗, 虽然治疗方法上与食管静脉曲张相似, 但由于胃底静脉曲张更粗大, 压力更高, 在方法选择上需谨慎.

罗红彬, 胡中伟, 郭家伟, 广州市第八人民医院(广州市肝病医院)消化内科 广东省广州市 510060
作者贡献分布: 此研究由罗红彬与胡中伟设计; 临床操作、病例采集由罗红彬, 胡中伟及郭家伟完成; 数据分析、论文撰写由罗红彬与胡中伟完成.
通讯作者: 罗红彬, 510060, 广东省广州市东风东路627号, 广州市第八人民医院(广州市肝病医院)消化内科.
lhb37777@163.com
电话: 020-83710453 传真: 020-83878627
收稿日期: 2008-11-27 修回日期: 2009-01-09
接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-18

Endoscopic therapy for hemorrhage from gastric varices: an analysis of 97 cases

Hong-Bin Luo, Zhong-Wei Hu, Jia-Wei Guo

Hong-Bin Luo, Zhong-Wei Hu, Jia-Wei Guo, Department of Gastroenterology, the 8th People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China
Correspondence to: Hong-Bin Luo, Department of Gastroenterology, the 8th People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China. lhb37777@163.com
Received: 2008-11-27 Revised: 2009-01-09
Accepted: 2009-01-12 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To study the selection of methods and the curative effects of endoscopic therapy in hemorrhage from gastric varices.

METHODS: Ninety seven patients with hemorrhage from gastric varices were randomly divided into 3 groups. One group received endoscopic injection of tissue adhesives (Cyanoacrylate group, n = 31 cases), the second group was given sclerotic agents (EIS group, n = 37 cases) and group 3 had endoscopic band ligation (EVL group, n = 29 cases). An average of 6 months' follow-up was conducted to understand short-term and long-term efficacy of patients treated with endoscopic therapy.

RESULTS: The rates of haemostasis in the three groups were 91.9%-96.6%. The incidence of local ulcer, short-term rehaemorrhagia and mortality in the three groups were 22.5%,16.1%, 12.9% in cyanoacrylate group, 29.7%, 18.9%, 13.5% in EIS group, and 58.6%, 31.0%, 37.9% in EVL group. Incidence rate of local ulcer, short-term rehaemorrhagia and mortality were significantly higher in EVL group than either cyanoacrylate group or than EIS group (χ^2 = 9.485, 6.574, 7.579, all P < 0.05). However, there were not significant differences in long-term therapeutic efficacy among the three groups.

CONCLUSION: Endoscopic scherotherapy and endoscopic injection of cyanoacrylate are more effective and safer than endoscopic ligation for gastric varices.

Key Words: Gastric varices; Endoscopic variceal ligation; Endoscopic variceal sclerotherapy

Luo HB, Hu ZW, Guo JW, Endoscopic therapy in hemorrage from gastric varices: an analysis of 97 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 508-511

摘要

目的: 探讨胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗的方法选择及疗效.

方法: 将97例胃底静脉曲张破裂出血患者随机分为3组进行内镜下治疗, 分别为内镜下曲张静脉内注射组织粘合剂组(Cyanoacrylate组)31例、内镜下曲张静脉内注射鱼肝油酸钠组(EIS组)37例以及内镜下曲张静脉套扎术组(EVL组)29例. 术后随访6 mo, 了解其近期及远期疗效.

结果: 3种方法止血率达到91.9%-96.6%, 3种方法分别在局部溃疡形成、近期再出血率、近期死亡率比较, EVL组均高于Cyanoacrylate组和EIS组, 差异均有统计学意义(χ^2 = 9.485, 6.574, 7.579, 均P<0.05). 3种方法在远期疗效方面比较, 各组间差异均无统计学意义.

结论: 胃底静脉曲张静脉内注射组织粘合剂和曲张静脉内注射鱼肝油酸钠的疗效优于胃底曲张静脉套扎术.

关键词: 胃底静脉曲张; 内镜下曲张静脉套扎术; 内镜下曲张静脉硬化术

■同行评议者
周国雄, 主任医师, 南通大学附属医院消化内科

罗红彬, 胡中伟, 郭家伟. 胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗97例. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 508-511
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/508.asp

0 引言

胃底静脉曲张破裂出血通常出血量大, 病情凶险, 治疗困难[1-2], 临床上通常选用急诊内镜下治疗, 可选择的方法有内镜下曲张静脉内注射组织胶(cyanoacrylate)、内镜下曲张静脉硬化治疗术(endoscopic variceal sclerotherapy, EIS)和内镜下曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL). 本研究对上述3种方法治疗胃底静脉曲张破裂出血疗效及再出血率进行比较, 以为临床选择提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 2006-01/2008-04广州市第八人民医院住院的消化系出血患者, 经急诊内镜诊断为胃底静脉曲张破裂出血97例(平均年龄52.34±8.12), 其中男79例, 女18例, 原发病为肝炎后肝硬化68例, 原发性肝癌16例, 酒精性肝硬化13例. 肝功能Child A级17例, B级26例, C级54例. 单纯胃底静脉曲张12例, 合并食管静脉曲张85例. 按随机数字表选择治疗方法, 根据病因及病情严重程度适当调整, 共分为3组, 其中Cyanoacrylate组31例(平均年龄50.63±7.39), EIS组37例(平均年龄54.31±6.82), EVL组29例(平均年龄51.29±4.73), 组间一般资料、病因、疾病严重程度等差异无统计学意义(P>0.05). 治疗中EIS组硬化剂使用国产50 g/L鱼肝油酸钠注射液(上海信谊金朱药业有限公司)、组织黏合剂(Cyanoacrylate)选用国产α-氰基丙烯酸酯快速医用胶TH型(广州白云医用胶有限公司), 使用Wilson cook VIN-23单腔注射针和MBL-6六连发套扎器. 使用Pentax EPM-3300电子胃镜或Olmpus CV-70电子胃镜.

1.2 方法

1.2.1 一般处理及药物应用: 对所有患者建立静脉通道补液, 监测患者神志、生命体征, 常规予以静脉注射奥美拉唑(40 mg q12 h)至术后1 wk, 静脉滴注生长抑素(250 μg/h)至术后72 h. 充分估计出血速度及出血量, 当血压<90/60 mmHg, 心率>110次/min时, 给予快速补液、输血等处理, 确保在血流动力学基本稳定的情况下进行内镜下治疗.

1.2.2 内镜下治疗: Cyanoacrylate组, 常规行胃镜检查, 记录胃底静脉曲张的情况, 寻找合适的注射部位, 出血间歇期选曲张静脉最隆起点为注射部位, 出血活动期注射部位尽可能接近出血点. 插入备好的注射针, 使注射针外管前端触探静脉, 以判定确实为曲张静脉并最后确定针头穿刺部位注射, 用“三明治”法注射组织黏合剂, 即先将生理盐水充满注射针, 刺入胃底曲张静脉后快速注人1.0 mL组织黏合剂, 再注入生理盐水1.0 mL, 见活动性出血立即停止, 静脉增粗变白, 穿刺部位变硬, 边注射边退针, 退针后使整个注射针前端于胃腔中央向前插入, 使针端远离镜面, 以确保镜面不被粘住, 同时使用生理盐水冲洗注射针, 保证注射针通畅, 以备再次使用, 但通常每条注射针仅能使用2次, 如注射部位大于2点, 则需更换注射针. 对于合并食管静脉曲张的患者, 胃底注射治疗后可于齿状线以上2.0-3.0 cm范围内, 按同样方法注射治疗食管曲张静脉. EIS组, 注射部位选择及注射方法大致同Cyanoacrylate组, 不使用生理盐水, 不用冲洗注射针, 直接注射50 g/L鱼肝油酸钠注射液, 胃底曲张静脉注射5-10 mL, 食管曲张静脉注射3-5 mL, 至注射曲张静脉增粗变白、变紫, 胃底注射针眼渗血可用冰0.1 g/L去甲肾上腺素生理盐水局部喷洒, 食管注射针眼渗血可使用胃镜压迫1-2 min止血. EVL组, 常规行胃镜检查, 记录食管胃底静脉曲张的情况, 退出胃镜, 安装套扎器, 先在胃底将镜头反转套扎胃底曲张静脉, 有活动出血时, 首先套扎出血部位或同一静脉出血部位近胃体侧, 然后自齿状线依次结扎食管曲张静脉, 每根曲张静脉的相邻结扎点距离约3.0 cm左右, 自下而上呈螺旋式上升, 直至所有曲张静脉均被结扎, 套扎时应充分吸引, 尽量使透明帽内组织球饱满, 呈均匀粉红色或红色, 避免无效吸引, 通常每次套扎3-6点.

1.2.3 疗效判定标准: 参照中华医学会消化内镜学分会2003年《食管胃静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案》推荐标准[3]. 有效: 胃底静脉曲张缩小50%以上, 无红色征; 消失: 由孤立或簇状胃底静脉曲张变为直线状或消失; 近期再出血: 治疗后2 wk内, 经胃镜证实为胃底静脉曲张再发生出血; 再出血: 治疗后2 wk-6 mo, 经胃镜证实为胃底静脉曲张再发生出血.

统计学处理 应用SPSS12.0统计软件, 计量资料采用t检验, 计数资料χ^2检验, P<0.05为有统计学意义.

2 结果

2.1 近期疗效 对胃底静脉曲张破裂出血行急诊

■**研发前沿**
胃底静脉曲张出血内镜下治疗方法的选择目前倾向于无论其是否合并食管静脉曲张, 首选治疗方法为EIS和(或)曲张静脉内注射组织胶黏合剂. 近年有报道, 胃底静脉曲张套扎术也取得了较好疗效, 但其疗效尚有待于进一步观察.

■**相关报道**
目前的临床研究认为, 胃底静脉曲张的出现表明门静脉高压症已达到很严重的程度, 胃底静脉曲张多合并食管静脉曲张, 其合并发生率可达88%, 而且是重度的食管静脉曲张. 胃底静脉曲张出血急诊内镜下止血效果较好, 但再出血率、死亡率高, 不同的方法选择可能改变预后.

■创新盘点
本研究对胃底静脉曲张出血急诊内镜下治疗方法进行对比，发现胃底静脉曲张套扎术近期再出血率、死亡率高，不适用于胃底静脉曲张破裂出血的急诊治疗，临床选择上要慎重. 并根据胃底静脉曲张的特点，相对不易破裂出血，建议不给以预防性内镜下治疗.

表 1 3种内镜下治疗方法对胃底静脉曲张的近期疗效 (%)

分组	止血率	近期再出血	不良反应				死亡率
			术中出血	胸骨后痛	局部溃疡	低热	
Cyanoacrylate组	93.5	16.1	19.4	22.6	22.5	19.4	12.9
EIS组	91.9	18.9	35.1	24.3	29.7	21.6	13.5
EVL组	96.6	31.0[a]	10.3	17.2	58.6[a]	17.2	37.9[a]
χ^2值	0.614	6.574	0.543	0.504	9.485	0.200	7.579
*P*值	0.736	0.037	0.762	0.777	0.009	0.905	0.023

[a]*P*<0.05 *vs* Cyanoacrylate组和EIS组.

表 2 3种内镜下治疗方法对胃底静脉曲张的远期疗效

分组	有效率			消失率			再出血率	死亡率
	1 mo	3 mo	6 mo	1 mo	3 mo	6 mo		
Cyanoacrylate组	51.6	41.9	35.5	25.8	16.1	6.5	29.0	22.6
EIS组	51.4	45.9	35.1	24.3	10.8	8.1	29.7	21.6
EVL组	44.8	41.4	27.6	17.2	10.3	6.9	31.0	31.0
χ^2值	0.359	0.173	0.547	0.719	0.597	0.075	0.029	0.888
*P*值	0.836	0.917	0.761	0.698	0.742	0.963	0.985	0.641

内镜下治疗，观察2 wk内的近期疗效，资料显示，3种方法止血率达到91.9%-96.6%，以EVL组为优，但差异无统计学意义；3种方法分别在局部溃疡形成、近期再出血率、近期死亡率方面比较，Cyanoacrylate组和EIS组间差异无显著性，EVL组均高于Cyanoacrylate组和EIS组，差异均有统计学意义(*P*<0.05,表1)；术中出血、胸骨后痛和低热，各组间比较差异均无统计学意义(*P*>0.05，表1).

2.2 远期疗效 对胃底静脉曲张破裂出血行急诊内镜下治疗，观察2 wk-6 mo疗效，资料显示，3种方法在有效率、消失率、再出血率和死亡率方面比较，各组间差异均无统计学意义(*P*>0.05，表2).

3 讨论

胃底静脉曲张与食管静脉曲张均为门脉高压时建立的侧支循环，血液动力学及解剖学研究证实，胃底静脉曲张的血供主要来自胃短静脉和胃后静脉，而食管静脉曲张血供主要来自胃冠状静脉，大多数情况下这些侧支是有关连和交通的[4]，故一般认为胃底静脉曲张是反映门脉高压病况较重，常伴有明显的食管静脉曲张[5]. 本研究资料97例患者中有85例合并食管静脉曲张，占87.6%，符合上述观点. 据文献报道[6-8]，胃底静脉曲张出血率较食管静脉曲张为低. 但出血量更大、死亡率高，这可能因为胃底静脉曲张深在胃黏膜下层，而胃黏膜较食管黏膜厚，使其在相同或较大血流压力下相对不易破裂出血，而一旦破裂出血，由于其压力较大，出血更凶险. 近年国内外文献报道[9-12]，对于急性胃底静脉曲张出血而言，内镜下硬化疗法和EVL相比，以组织黏合剂如氰基丙烯酸酯、N-丁酰-氰基丙烯酸酯、异丁基-2-氰基丙烯酸酯或鱼肝油酸钠等进行内镜下静脉曲张闭塞更为有效，可以更好地控制初始出血，且再出血率更低. 内 镜下治疗方法的选择目前倾向于无论其是否合并食管静脉曲张，首选治疗方法为EIS和(或)曲张静脉内注射组织胶黏合剂[13]. 近年有报道[14-15]，胃底静脉曲张套扎术也取得了较好疗效，但其疗效尚有待于进一步观察.

我们的资料显示，对胃底静脉曲张破裂出血行急诊内镜下治疗，观察2 wk内的近期疗效，3种方法止血率达到91.9%-96.6%，以EVL组为优，但差异无显著性；提示3种方法均可有效止血，且成功率较高. 3种方法分别在局部溃疡形成、近期再出血率、近期死亡率方面比较，Cyanoacrylate组和EIS组，分别为22.5%，16.1%，12.9%和29.7%，18.9%，13.5%，组间差异无显著性，而EVL组则为58.6%，31.0%，37.9%，均高于Cyanoacrylate组和EIS组，差异均有统计学意义；分析EVL组近期再出血率、近期死亡率高的可能原因为：胃底静脉曲张一般较粗大，套扎时

难以完全阻断血流, 套扎后约1 wk左右, 套扎圈自动脱落, 局部溃疡形成, 没能完全阻断血流的血管就会再出血, 危及生命, 如再进行内镜下治疗则比较困难, 通常采用EIS和(或)静脉内注射Cyanoacrylate进行补救治疗, 但止血成功率较低, 故EVL不适用于胃底静脉曲张破裂出血的急诊治疗, 临床选择上要慎重.

静脉内注射Cyanoacrylate和EIS组止血成功率均较高, 组间差异无显著性. 静脉内注射Cyanoacrylate, 操作上对于胃底静脉曲张比较容易, 但对于食管静脉曲张, 应尽量避免药物黏住镜面, 且药物价格较高, 注射针容易堵塞, 治疗中常需更换注射针, 增加患者经济负担. EIS虽操作困难、术中出血发生率较高, 但通常出血量不大. 操作上应尽量取得患者配合, 注意监测生命体征, 术中静脉滴注生长抑素(250 μg/h), 必要时加倍使用, 以减轻门静脉压. 对胃底静脉曲张注射鱼肝油酸钠剂量应稍大(我们的资料未见有其他部位栓塞发生), 通常约8 mL左右, 至曲张静脉增粗变白、变紫, 退针后通常无渗血, 如发生, 则局部喷洒冰0.1 g/L去甲肾上腺素生理盐水, 可有效控制注射针眼渗血, 且鱼肝油酸钠价格低廉, 1条注射针通常可以使用4-6点, 不易堵塞, 患者经济上容易接受. 临床上可根据患者意愿选择静脉内注射Cyanoacrylate和/或EIS.

3种方法在胃底静脉曲张破裂出血远期疗效方面, 其有效率、消失率、再出血率和死亡率方面比较, 各组间差异均无显著性, 可能与样本量较小, 首次治疗后再次治疗次数较少有关. 但考虑患者肝硬化原发病因未能控制, 门脉高压持续存在, 单纯对胃底食管静脉曲张治疗, 难以取得远期疗效. 故我们认为, 对于胃底静脉曲张, 由于其深在胃黏膜下层, 而胃黏膜较厚, 相对不易破裂出血, 一般不考虑给以预防性内镜下治疗.

4 参考文献

1 Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Tajiri T. New methods for the management of gastric varices. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5926-5931

2 Javvaji S, Kumar A, Madan K, Garg PK, Acharya SK. Management of gastric variceal bleeding. *Trop Gastroenterol* 2007; 28: 51-57

3 中华医学会消化内镜学分会. 食管胃静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案(2003年). 中华消化内镜杂志 2004; 21: 5-7

4 Zhu H, Shi B, Upadhyaya M, Wu Z, Lin X, Wu Y, Chen K. Therapeutic endoscopy of localized gastric varices: pretherapy screening and posttreatment evaluation with MDCT portography. *Abdom Imaging* 2008 Nov 22. *[Epub ahead of print]*

5 Seno H, Konishi Y, Wada M, Fukui H, Okazaki K, Chiba T. Endoscopic ultrasonograph evaluation of vascular structures in the gastric cardia predicts esophageal variceal recurrence following endoscopic treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 227-231

6 Sato T, Yamazaki K, Toyota J, Karino Y, Ohmura T, Akaike J. Observation of gastric variceal flow characteristics by endoscopic ultrasonography using color Doppler. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 575-580

7 Lee CH, Lee JH, Choi YS, Paik SW, Sinn DH, Lee CY, Koh KC, Gwak GY, Choi MS, Yoo BC. [Natural history of gastric varices and risk factors for bleeding] *Korean J Hepatol* 2008; 14: 331-341

8 Matsushita M, Uchida K, Tahashi Y, Okazaki K. Management of gastric variceal bleeding. *Endoscopy* 2006; 38: 1054; author reply 1055

9 Park CH, Joo YE, Kim HS, Choi SK, Rew JS, Kim SJ. A prospective, randomized trial of endoscopic band ligation versus endoscopic hemoclip placement for bleeding gastric Dieulafoy's lesions. *Endoscopy* 2004; 36: 677-681

10 李坪, 成军, 毛羽, 胡居龙, 蒋煜. 急诊内镜治疗食管贲门胃底静脉曲张活动出血200例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 90-93

11 Mumtaz K, Majid S, Shah H, Hameed K, Ahmed A, Hamid S, Jafri W. Prevalence of gastric varices and results of sclerotherapy with N-butyl 2 cyanoacrylate for controlling acute gastric variceal bleeding. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1247-1251

12 Tan PC, Hou MC, Lin HC, Liu TT, Lee FY, Chang FY, Lee SD. A randomized trial of endoscopic treatment of acute gastric variceal hemorrhage: N-butyl-2-cyanoacrylate injection versus band ligation. *Hepatology* 2006; 43: 690-697

13 Consolo P, Luigiano C, Giacobbe G, Scaffidi MG, Pellicano R, Familiari L. Cyanoacrylate glue in the management of gastric varices. *Minerva Med* 2008 Dec 15. *[Epub ahead of print]*

14 Iida Y, Onitsuka A, Katagiri Y. Subserosal variceal ligation for gastric varices. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1609-1611

15 Wells CD, Harrison ME, Gurudu SR, Crowell MD, Byrne TJ, Depetris G, Sharma VK. Treatment of gastric antral vascular ectasia (watermelon stomach) with endoscopic band ligation. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 231-236

■同行评价

本文探讨了胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗的方法选择及疗效, 实用性强, 有一定的临床价值.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 512-515
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

香砂六君颗粒对脾虚患者及大鼠胃肠运动的调节作用

李 志, 肖国辉, 徐 州, 段国勋, 杨晓华

■背景资料
脾虚证是多种原因引起脾的功能虚衰、不足的病证, 常见于慢性胃炎、消化性溃疡、慢性腹泻等胃肠道疾病中, 与胃肠动力障碍密切相关, 而后者已是国内外学者研究的热点. 本课题切合胃肠动力研究传统中医中药, 对中医中药现代化的推进具有重要意义.

李志, 肖国辉, 徐州, 段国勋, 杨晓华, 泸州医学院附属第二医院消化内科 四川省泸州市 646000
四川省教育厅科研基金资助项目, No. 97133
作者贡献分布: 李志, 肖国辉及徐州对此文所做贡献均等; 此课题由李志, 肖国辉, 徐州, 段国勋及杨晓华设计; 研究过程由李志与肖国辉操作完成; 数据分析由李志, 肖国辉及徐州完成; 本论文写作由李志完成.
通讯作者: 李志, 646000, 四川省泸州市, 泸州医学院附属第二医院消化内科. sclzlz2008@163.com
电话: 028-66863836
收稿日期: 2008-12-10 修回日期: 2009-01-09
接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-18

Action of Xiangshaliujun granule on gastrointestinal peristalsis in experimental rats and patients with spleen deficiency syndrome

Zhi Li, Guo-Hui Xiao, Zhou Xu, Guo-Xun Duan, Xiao-Hua Yang

Zhi Li, Guo-Hui Xiao, Zhou Xu, Guo-Xun Duan, Xiao-Hua Yang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Supported by: the Science Research Fund of Education Department of Sichuan Province, No. 97133
Correspondence to: Zhi Li, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. sclzlz2008@163.com
Received: 2008-12-10 Revised: 2009-01-09
Accepted: 2009-01-12 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To investigate the action of Xiangshaliujun Granule (XSHLJG) on gastrointestinal peristalsis in experimental rats and on patients with spleen deficiency syndrome.

METHODS: Patients with spleen deficiency syndrome were randomly divided into treatment group and control group. The half time of gastric liquid emptying was measured by ultrasonography before and after administration. The plasma MTL, SS and serum GAS were determined by radioimmunoassay (RIA), and the symptoms were observed at the same time. The model of rats of spleen deficiency syndrome was duplicated by reserpine and were treated with high-dose, middle-dose, low-dose of XSHLJG. The blank, the model and XiangShaLiuJunWan control groups were designed, the gastric and intestinal propulsions were measured by using marker BD2000 and the levels of GAS, MTL and SS were measured.

RESULTS: Compared with XiangShaLiuJunWan control group, XSHLJG group showed significantly lower symptom scores (3.27 ± 1.93 *vs* 6.41 ± 2.35, $P < 0.01$), shorter half gastric liquid emptying time (T1/2) (24.32 ± 5.07 *vs* 27.14 ± 4.59, $P < 0.05$), higher MTL (341.58 ± 92.47 *vs* 284.03 ±78.40, $P < 0.05$), but no significantly different GAS and SS levels. Compared with XiangShaLiuJunWan control group, XiangShaLiuJunWan had lower gastric residual rate, lower intestinal propulsion rate, lower SS level, higher MTL, and higher GAS level (39.93 ± 8.99 *vs* 49.23 ± 8.68, 55.83 ± 6.91 vs 65.28 ± 6.24, 94.57 ± 12.50 *vs* 111.67 ± 13.81, 246.98 ± 48.58 *vs* 196.52 ± 53.01, 150.35 ± 30.12 *vs* 113.82 ± 21.34, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: XSHLJG can promote the gastric emptying and slow the peristalsis of small intestine by means of modulating gastrointestinal hormones and alleviate the symptoms of spleen deficiency syndrome which are superior to XiangShaLiuJunWan.

Key Words: Xiangshaliujun granule; Spleen deficiency syndrome; Gastrointestinal peristalsis

Li Z, Xiao GH, Xu Z, Duan GX, Yang XH. Action of Xiangshaliujun granule on gastrointestinal peristalsis in experimental rats and patients with spleen deficiency syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 512-515

摘要

目的: 观察香砂六君颗粒对脾虚患者及大鼠胃肠运动的影响.

方法: 将患者随机分为治疗组和对照组, 治疗前后以B超法检测胃半排空时间,放免法测血浆胃动素(motilin, MTL)、生长抑素(somatostatin, SS)和血清胃秘素(gastrin, GAS)

■同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科; 李旭, 副教授, 广东省广州市南方医院急诊科

水平, 同时观察症状积分. 利血平股四头肌注射复制脾虚大鼠模型, 分别用香砂六君颗粒高、中、低剂量进行治疗, 并设空白对照组、模型对照组和香砂六君丸对照组, 用葡聚糖蓝2000(BD2000)标记测量胃残留率和小肠推进比, 同时下腔静脉采血测GAS、MTL及SS.

结果: 临床观察中香砂六君颗粒组与香砂六君丸组比较, 症状积分显著降低(3.27±1.93 *vs* 6.41±2.35, $P<0.01$), 胃半排空时间缩短(24.32±5.07 *vs* 27.14±4.59, $P<0.05$), MTL升高(341.58±92.47 *vs* 284.03±78.40, $P<0.05$), 两组间GAS、SS差异无显著性. 实验研究中香砂六君颗粒中剂量组与香砂六君丸对照组比较, 胃残留率、小肠推进比、SS降低, MTL、GAS升高(39.93±8.99 *vs* 49.23±8.68, 55.83±6.91 *vs* 65.28±6.24, 94.57±12.50 *vs* 111.67±13.81, 246.98±48.58 *vs* 196.52±53.01, 150.35±30.12 *vs* 113.82±21.34, 均$P<0.05$).

结论: 香砂六君颗粒通过调节胃肠激素的含量可明显促进胃排空, 减慢小肠的蠕动, 改善脾虚症状, 且优于香砂六君丸对照组.

关键词: 香砂六君颗粒; 脾虚; 胃肠运动

李志, 肖国辉, 徐州, 段国勋, 杨晓华. 香砂六君颗粒对脾虚患者及大鼠胃肠运动的调节作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 512-515

http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/512.asp

0 引言

香砂六君方是健脾益气和胃的著名古方, 临床主要用于治疗中医脾虚证及其兼夹症, 对慢性胃炎、消化性溃疡、慢性腹泻等胃肠道疾病疗效显著, 由此方采用现代工艺制成的香砂六君颗粒剂经临床观察疗效亦确切. 本研究旨在进一步了解该药对脾虚患者及大鼠胃肠运动的影响, 以探讨其防治脾虚证的机制, 为临床应用提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 全部病例来自泸州医学院附属第二医院门诊及住院患者, 随机分为香砂六君颗粒治疗组和香砂六君丸对照组. 治疗组34例, 男23例, 女11例, 年龄26-59(平均年龄46)岁, 其中慢性胃炎17例, 消化性溃疡17例, 脾胃气虚9例, 脾虚气滞11例, 脾虚夹湿10例, 脾胃虚寒4例, 平均病程5.6年; 对照组34例, 男21例, 女13例, 年龄29-55(平均年龄45)岁, 慢性胃炎18例, 消化性溃疡16例, 脾胃气虚8例, 脾虚气滞12例, 脾虚夹湿8例, 脾胃虚寒6例, 平均病程5.4年, 经统计分析上述两组资料无显著性差异. 香砂六君颗粒[2], 泸州医学院附属第二医院制剂室提供, 系香砂六君子汤改剂型采用优选沸腾制粒工艺而成的无糖颗粒剂, 处方为: 红参, 炒白术, 茯苓, 陈皮, 法半夏, 木香, 砂仁, 炙甘草, 每包10 g. 香砂六君丸, 河南宛西制药股份有限公司生产, 批号034039, 每8丸相当于原药材3 g. MTL、GAS、SS放免试剂盒, 购自北京华英生物技术研究所. B超, TOSHIBA公司生产, 型号: JUSTIVISION400(SSA-325A), 探头频率3.75 MHz. 电子胃镜, Olympus公司生产, 240型. γ-闪烁摄像仪, 中科大中佳光电公司生产, 型号: GC-1200.

Wistar大鼠60只, 雌雄各半, 体质量250±15g, 鼠龄90 d, 购自四川大学华西医学中心实验动物中心, 实验前正常饲养1 wk以适应环境. 除利血平注射液购自上海医科大学红旗制药厂, 批号: 沪卫药准字(1995)第043022号, BD2000购自Sigma公司外, 余同上. 722分光光度计, 上海精密仪器有限公司生产, 型号: SFZ160601360104, r-闪烁摄像仪, 中科大中佳光电公司生产, 型号: GC-1200.

1.2 方法

1.2.1 临床研究: (1)病例选择: 经胃镜及病理检查确诊为慢性胃炎、消化性溃疡, 中医辨证符合脾胃气虚、脾虚气滞、脾虚夹湿、脾胃虚寒, 同时排除合并心脑血管、肝、肾、造血系统疾病、精神病、恶性肿瘤等患者, 作为纳入病例. 中医辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则》进行[1]. (2)治疗方法: 治疗组餐后30 min *po*香砂六君颗粒每次10 g, 每天3次; 对照组餐后30 min *po*香砂六君丸每次12粒, 每天3次, 共30 d. (3)症状积分统计: 参照《中药新药临床研究指导原则》, 以食欲减退、胃脘疼痛、嗳气泛酸、大便稀溏、神疲懒言、肢体倦怠为脾虚主要症状, 以积分法表示其严重程度, 无症状0分, 症状轻1分, 症状重偶而出现2分, 症状重经常出现3分, 治疗前后分别计算症状积分. (4)血MTL、GAS、SS测定: 清晨空腹采血4 mL, 按放免试剂盒说明书处理, 治疗前后各1次. (5)胃半排空时间测定[3]: 检查前3 d内未服用任何药物; 禁食8-12 h后饮500 mL温开水(37℃); 饮水后分别于0, 10, 20, 30, 40, 50 min测量胃底-胃体交界处前后壁切面的内径; 探头置于脐左侧

■研发前沿
脾虚证是临床上常见的中医证型, 香砂六君方是健脾益气和胃的著名古方, 由此方采用现代工艺制成的香砂六君颗粒剂经临床观察疗效亦确切. 但其防治脾虚证的机制不明.

■相关报道
孔令彪 *et al*对中医脾虚证研究的现状进行了综述. 刘海鹰就胃肠激素对中医脾胃学说的影响作了深入论述.

■创新盘点
本课题结合现代制剂工艺改变传统剂型, 从脾虚证与胃肠动力之间的关系入手, 探讨中药作用的机制, 推动促动力中药的研究, 充分体现了中医药的特色和优势.

表 1 香砂六君颗粒对症状积分、胃半排空时间以及胃肠激素的影响 (mean ± SD, n = 34)

分组		症状积分	胃半排空时间T1/2(min)	MTL(ng/L)	GAS(ng/L)	SS(ng/L)
治疗组	治疗前	12.59 ± 1.73	36.71 ± 9.50	215.75 ± 81.87	68.79 ± 16.67	74.35 ± 19.75
	治疗后	3.27 ± 1.93[bd]	24.32 ± 5.07[bc]	341.58 ± 92.47[bc]	98.68 ± 22.47[a]	41.72 ± 22.10[a]
对照组	治疗前	12.33 ± 2.20	38.04 ± 11.03	202.04 ± 84.32	64.44 ± 18.39	84.29 ± 19.11
	治疗后	6.41 ± 2.35[b]	27.14 ± 4.59[b]	284.03 ± 78.40[b]	92.57 ± 20.56[a]	45.91 ± 20.17[a]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 治疗前; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 对照组.

1 cm处, 方向指向右腋部, 对测量部位进行标记, 每次测量均在该部位; 检查中患者置于坐位, 避免腹部受压; 以胃底-胃体交界处前后壁内径减少至50%的时间为胃半排空时间. 治疗前后各测量1次.

1.2.2 实验研究: (1)脾虚大鼠动物模型的建立[4]: 60只大鼠随机分为A、B、C、D、E、F六组, 每组10只动物, F组动物股四头肌注射生理盐水0.5 mL/d, 其余各组股四头肌注射利血平0.3 mg/(kg·d), 共14 d. 第15天开始, E(模型对照组)、F组(正常对照组)灌服生理盐水3 mL/d, A组(香砂六君颗粒高剂量组)灌服香砂六君颗粒6 g/(kg·d), B组(香砂六君颗粒中剂量组)灌服香砂六君颗粒3 g/(kg·d), C组(香砂六君颗粒低剂量组)灌服香砂六君颗粒0.6 g/(kg·d), D组(香砂六君丸对照组, 用药剂量与B组等效)灌服香砂六君丸3.5 粒/(kg·d), 均持续14 d. 实验中观察大鼠摄食量、体质量、粪便情况(腹泻、肛门污秽)、毛色、自发活动(疲倦、嗜睡)等表现. (2)胃残留率的测定: 上述各组动物第29天禁食不禁水, 第30天用0.4 mL 2% BD2000灌胃, 20 min后用20 g/L戊巴比妥钠2.3 mL/kg麻醉, 取胃肠, 自幽门括约肌处取胃, 沿大弯侧剪开, 将胃内容物充分容于4 mL去离子水中, 3000 r/min离心15 min, 取上清滤液, 722分光光度计(620 nm)测吸光度, 计算胃内BD2000残留量. 胃残留率 = 胃内残留量/灌入色素量×100%. (3)小肠推进比的测定: 测量幽门括约肌至色素最前端的距离及小肠全长, 小肠推进比 = 色素推进长度/小肠全长×100%. (4)MTL、GAS、SS的测定: 下腔静脉穿刺采血4 mL, 处理同临床研究.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 组间数据比较采用单因素方差分析, 用SPSS11.0统计软件对数据进行统计分析.

2 结果

2.1 患者症状积分、胃半排空时间以及胃肠激素 两组与治疗前比较, 症状积分显著改善, 胃半排空时间显著缩短, MTL显著升高、GAS升高, SS降低; 香砂六君颗粒组与香砂六君丸组比较, 症状积分显著降低, 胃半排空时间缩短, MTL升高, 两组间GAS、SS差异无显著性(表1).

2.2 小鼠一般状况 模型组大鼠可见摄食量减少, 体重减轻, 大便质稀, 肛门污秽, 毛无光泽, 蜷缩少动等症状, 灌服香砂六君颗粒及香砂六君丸组上述症状明显改善.

2.3 香砂六君颗粒对小鼠胃肠运动的影响 香砂六君颗粒高剂量组、中剂量组与模型对照组比较, 香砂六君颗粒高剂量组与低剂量组比较, 胃残留率、小肠推进比、SS均显著降低, MTL、GAS均显著升高; 香砂六君颗粒中剂量组与香砂六君丸对照组比较, 胃残留率、小肠推进比、SS降低, MTL、GAS升高; 香砂六君颗粒低剂量组和香砂六君丸对照组与模型组比较, 胃残留率、小肠推进比、SS降低, MTL、GAS升高, 两组间比较差异无显著性. 香砂六君颗粒高剂量组与正常对照组比较各项指标亦无显著性差异(表2).

3 讨论

本研究采用利血平复制脾虚动物模型, 实验结果显示模型组大鼠出现摄食量减少, 体质量减轻, 大便质稀, 肛门污秽, 毛无光泽, 蜷缩少动等症状, 表明脾虚大鼠模型复制成功. 利血平致虚机制可部分地用中医理论解释: 利血平耗竭体内儿茶酚胺类物质, 导致副交感神经兴奋, 使胃肠内容物推进加快, 从而引起泄泻, 久泻伤脾, 使动物产生脾虚症状. 用四君子汤、香砂六君颗粒等健脾方药可纠正其脾虚表现, 反证了利血平致脾虚模型与临床脾虚证的相似性. 此外, 由于利血平作用机制清楚, 剂量易于掌握, 实验条件易于控制, 所造模型重复性、脾虚程度一致性好, 已广泛应用于健脾方药药理作用及药效学研究[5].

■应用要点
香砂六君颗粒是防治中医脾虚证及其兼夹症的有效制剂, 临床上对慢性胃炎、消化性溃疡、慢性腹泻等胃肠道疾病疗效显著.

表 2 各组小鼠间胃残留率、小肠推进比及胃肠激素的比较 (mean ± SD, n = 10)

分组	胃残留率(%)	小肠推进比(%)	MTL(ng/L)	GAS(ng/L)	SS(ng/L)
A	30.21 ± 8.13[bd]	49.18 ± 3.99[bd]	262.14 ± 56.35[bd]	160.11 ± 40.97[bd]	82.02 ± 16.80[bd]
B	39.93 ± 8.99[be]	55.83 ± 6.91[be]	246.98 ± 48.58[be]	150.35 ± 30.12[be]	94.57 ± 12.50[be]
C	48.17 ± 10.18[a]	63.34 ± 5.31[b]	207.96 ± 43.73[a]	121.01 ± 19.14[a]	101.02 ± 17.06[b]
D	49.23 ± 8.68[a]	65.28 ± 6.24[b]	196.52 ± 53.01[a]	113.82 ± 21.34[a]	111.67 ± 13.81[a]
E	57.98 ± 10.03	72.70 ± 4.80	154.01 ± 40.38	80.53 ± 22.81	128.11 ± 20.71
F	28.40 ± 7.62[b]	50.86 ± 3.49[b]	267.25 ± 35.26[b]	154.23 ± 46.27[b]	80.10 ± 16.34[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* E组; [d]P<0.01 *vs* C组; [e]P<0.05 *vs* D组.

■**同行评价**
本研究设计合理, 方法可行, 结果可靠, 结论可信, 有一定的参考价值.

祖国医学认为, 脾主运化, 胃主受纳, 脾胃升降运动包含着胃肠动力的生理概念, 脾胃虚弱, 运化无力, 胃失和降, 升降失常, 是脾胃运化功能失常的基本病理特点. 脾虚患者不同程度存在胃肠动力异常已被临床观察和实验研究证实, 多表现为胃排空延迟, 肠道推进加快, 本研究结果进一步证实了这一结论. 脾虚状态下的胃肠动力异常可能是由胃肠激素分泌紊乱引起的. 已有研究发现脾胃运化、升降失常与胃肠激素分泌紊乱密切相关[6]. 目前研究发现越来越多的胃肠激素对胃肠运动具有重要调节作用. 胃动素的主要作用是影响胃肠道的运动, 可促进胃排空[7]. 胃泌素对胃窦收缩作用最强, 幽门次之, 胃体最弱, 这一结果与近端胃经常保持紧张性收缩, 远端胃具有明显的节律性收缩活动相吻合[8]. 生长抑素可促进肠道内容物推进[9]. 本实验结果发现脾虚证患者血浆MTL、血清GAS水平明显降低, 血浆SS含量升高, 与国内相关报道一致[10-11], 经香砂六君颗粒治疗后脾虚患者胃肠运动和胃肠激素均恢复正常, 提示香砂六君颗粒对脾虚证胃肠运动的调节作用可能是通过调节胃肠激素水平实现的. 本研究结果表明香砂六君颗粒可明显升高血浆胃动素和血清胃秘素水平、降低生长抑素水平来促进胃排空、抑制小肠过快蠕动, 并改善脾虚症状, 进一步揭示了脾虚证的本质和香砂六君方的作用机制. 其次, 研究结果表明香砂六君颗粒优于香砂六君丸, 可能与现代制剂工艺有关.

进一步研究脾虚证与胃肠激素、胃肠运动的关系, 将有助于了解脾虚证的实质和胃肠动力疾病祖国医学病机, 为临床治疗胃肠动力疾病提供新的药物及辨证施治的实验依据. 临床已经开始使用某些促动力中药治疗胃肠动力障碍, 显示这是一个很有意义的领域.

4 参考文献

1 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行). 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 361-364
2 唐灿, 黄玉兰, 赵剑, 蒲清荣, 徐州, 陈珂, 龙维英. 香砂六君颗粒制备工艺研究. 中国药房 2000; 6: 249-251
3 侯晓华, 邓又斌, 刘永革. 非溃疡性消化不良病人胃液体排空功能的研究. 中华内科杂志 1992; 10: 623-625
4 任平, 黄熙, 张莉, 王骊丽, 刘芳, 李月彩. 四君子汤对实验性脾虚大鼠胃排空率的影响. 中国中西医结合杂志 2000; 8: 596-598
5 危北海. 中医脾胃学说应用研究. 第1版. 北京: 北京出版社, 1993: 135-138
6 梁卫江, 张万岱. 脾虚证的消化吸收功能研究进展. 中国中西医结合脾胃杂志 1999; 3: 191-192
7 张万岱, 姚永莉, 宋于刚. 脾虚证大鼠组织中胃泌素及生长抑素含量的变化及意义. 中国中西医结合脾胃杂志 1998; 4: 223-225
8 周吕, 罗洁新. 胞内钙释放在胃泌素引起的胃平滑肌收缩中的作用. 生理学报 1997; 49: 197-203
9 Ross EA, Koo LC. Improved nutrition after the detection and treatment of occult gastroparesis in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 62-66
10 梁煜, 贾波, 李晓红, 黄秀深, 胡鹏. 白术茯苓汤及其与补气药、除湿药配伍对脾虚大鼠胃肠激素的影响. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 142-144
11 任平, 黄熙, 李月彩, 刘芳, 张莉, 王骊丽, 封吉化. 脾虚证大鼠组织和血浆中SS, CCK, Mot含量的变化. 世界华人消化杂志 2000; 8: 436-438

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 516-520
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

足三里梁门胃俞穴区红外辐射与慢性胃痛的相关规律及其应用

常小荣, 严 洁, 易受乡, 岳增辉, 林亚平

■背景资料
热力学认为, 任何物体在绝对零度(-273℃)以上均有分子的热运动, 运用红外遥测技术, 能够精确测量红外辐射的量. 由于红外遥测不直接接触物体, 因而无创伤、无干扰, 已经被应用于医学领域, 主要有代表性的仪器是根据电视扫描原理制成的红外热像仪. 本研究拟采用人体热能辐射测试仪检测慢性胃痛患者足三里、梁门、胃俞穴区红外辐射值, 并与健康人及以咳嗽为主症的肺病患者进行对照.

■同行评议者
曹志成, 英国生物医学科学研究所院士, 伊利沙伯医院临床肿瘤科

常小荣, 严洁, 易受乡, 岳增辉, 林亚平, 湖南中医药大学针灸推拿学省级重点学科, 经穴脏腑相关重点研究室, 针灸生物信息分析重点实验室 湖南省长沙市 410007
国家重点基础研究发展计划973基金资助项目, No. 2009CB522904
湖南省教育厅重点基金资助项目, No. 08A048
作者贡献分布: 常小荣与严洁对此文作主要贡献; 此课题由严洁与常小荣设计; 研究过程由常小荣, 严洁, 易受乡, 岳增辉与林亚平操作完成; 数据分析由易受乡, 林亚平及岳增辉完成; 论文写作由常小荣与严洁完成.
通讯作者: 严洁, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院. yj5381159@yahoo.com.cn
电话: 0731-5381159
收稿日期: 2008-12-30 修回日期: 2009-01-12
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Relation of the infrared radiation on Zusanli, Liangmen and Weishu area with chronic gastric pain and its application

Xiao-Rong Chang, Jie Yan, Shou-Xiang Yi, Zeng-Hui Yue, Ya-Ping Lin

Xiao-Rong Chang, Jie Yan, Shou-Xiang Yi, Zeng-Hui Yue, Ya-Ping Lin, Hunan University of Traditional Chinese Medicine Acupuncture-Moxibustion and Tui-Na Provincial Key discipline; Key Laboratories of the Correlation of Meridians and Viscera; Key Acupuncture-Moxibustion Laboratories of Biological Information Analyzing, Changsha 410007, Hunan Province, China
Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2009CB522904; and the Hunan Province Department of Education's Key Research Subject, No. 08A048
Correspondence to: Professor Jie Yan, College of Acupuncture, Moxibustion and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. yj5381159@yahoo.com.cn
Received: 2008-12-30 Revised: 2009-01-12
Accepted: 2009-01-19 Pubilshed online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To study correlation of infrared radiation on such acupoints as Zusanli (ST36), Liangmen (ST21), Weishu (BL21) with chronic gastralgia.

METHODS: One hundred and twenty patients with chronic gastralgia received infrared radiation on such acupoints as Zusanli (ST36), Liangmen (ST21), Weishu (BL21). Forty patients with lung diseases characterized by cough and 40 healthy people were taken as controls.

RESULTS: The numerical values of infrared radiation on bilateral acupoints of healthy people were balanced. The numerical values of infrared radiation on bilateral acupoints and back shu acupoints of the patients with chronic gastralgia were asymmetric ($P < 0.05$ or 0.01). Infrared radiation on three acupoints were closely related to chronic gastralgia, which on bilateral acupoints were asymmetric ($P < 0.05$ or 0.01); the numerical values of infrared radiation on the two acupoints Zusanli (ST36) and Liangmen (ST21) were bilaterally lower than healthy people ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Infrared radiation detection on acupoints can be used as a method of acupuncture efficacy research. Acupuncture treatment can increase the reduced infrared radiation, which can restore channel Qi to normal.

Key Words: Zusanli; Liangmen; Weishu; Chronic gastralgia; Infrared radiation

Chang XR, Yan J, Yi SX, Yue ZH, Lin YP. Relation of the infrared radiation on Zusanli, Liangmen and Weishu area with chronic gastric pain and its application. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 516-520

摘要

目的: 探讨足三里、梁门、胃俞三穴区红外辐射与慢性胃痛的相关规律及临床运用.

方法: 采用人体热能辐射测试仪检测慢性胃痛患者足三里、梁门、胃俞穴区红外辐射值, 并与健康人及以咳嗽为主症的肺病患者进行对照分析.

结果: 健康人左右两侧经穴红外辐射基本平衡, 而慢性胃痛患者左右两侧经穴及背俞穴红外辐射不对称(P<0.05或0.01). 三穴区红外辐射与慢性胃痛密切相关, 其表现为三穴区左右两侧红外辐射不对称(P<0.05或0.01), 足三里与梁门二穴区红外辐射两侧均低于健康人(P<0.01).

结论: 穴位区域红外辐射检测可作为研究针刺疗效的一个手段. 针刺能够使降低的红外辐射升高, 从而调节经气使之趋向正常.

关键词: 足三里; 梁门; 胃俞; 慢性胃痛; 红外辐射

常小荣, 严洁, 易受乡, 岳增辉, 林亚平. 足三里梁门胃俞穴区红外辐射与慢性胃痛的相关规律及其应用. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 516–520
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/516.asp

0 引言

经络的主体是经脉, 经脉之气输注于体表的部位是腧穴(经穴). 由于经穴分别归属于经络, 而经络又隶属于一定的脏腑. 因此, 经穴-经脉-脏腑之间形成了不可分割的联系. 脏腑发生病变影响经脉之气, 则可在经穴部位出现反应, 探查经穴产生的变化, 用来推断疾病, 即是经络诊断. 针灸经穴能够调节经脉之气使之趋于正常, 从而治疗疾病, 因此经穴-经脉-脏腑相关是经络诊查及针灸治病的理论依据. 探讨这种相关的规律性及其机制, 对于提高针灸疗效, 使经络诊断客观化具有十分重要的临床意义. 本研究拟采用人体热能辐射测试仪(简称HED)检测慢性胃痛(简称CG)患者足三里、梁门、胃俞穴区红外辐射值(下称HED值), 并与健康人及以咳嗽为主症的肺病患者进行对照, 旨在探讨: (1)三穴区HED值与CG的相关规律; (2)三穴HED值的变化在CG辨病辨证中的应用; (3)针刺对CG患者穴区HED值的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 本课题全部病例均来源于湖南中医药大学第一附属医院胃镜室接受胃镜检查及内科住院的患者. 其中以慢性胃痛(CG)为主症, 病程均在2年以上, 经西医诊断为慢性胃炎和/或十二指肠炎, 胃和/或十二指肠溃疡而需行胃镜检查者120例, 且排除伴有呼吸、心血管、内分泌系统与肝胆胰疾病及其他可能直接影响胃功能的各种疾病; 以咳嗽为主症者40例, 其中经西医诊断为慢性支气管炎27例、肺气肿11例, 支气管扩张2例, 并均已排除伴消化系统及其他疾病. 健康人自愿者来自湖南中医药大学及附属医院的学生及教职工共40例, 经体格检查未发现任何器质性、功能性疾病, 中医四诊未见异常. 与所有受试对象都签署了知情同意书. 本课题临床研究方案和知情同意书内容都经院伦理委员会审查批准.

1.2 方法

1.2.1 分组: 将研究对象分为慢性胃痛(A组), 肺病(B组)与健康人(C组).

1.2.2 诊断标准: (1)中医辩证分型标准: 参照2000-05由中华医学会消化病学分会在江西召开的全国慢性胃炎研讨会共识意见[1]. (2)胃镜下胃黏膜相微观辨证分类标准[2]: 胃镜下胃黏膜相微观辨证分类标准 根据詹继烈“胃黏膜相微观辨证分型探讨”而定. 分为以下四型: A: 胃寒型黏膜; B: 胃热型黏膜; C: 胃络瘀滞型黏膜; D: 胃络灼伤型黏膜. (3)黏膜病变广泛及严重程度分类标准: 根据胃黏膜病变范围是否广泛及严重程度将慢性胃痛患者胃镜所见分为4型: Ⅰ型; 病变范围广泛累及胃、食管下段及十二指肠, 程度严重. Ⅱ型: 病变累及胃与十二指肠, 程度介于严重与轻浅之间. Ⅲ型: 病变累及胃与十二指肠, 程度较轻. Ⅳ型: 病变仅累及胃或十二指肠, 且程度轻浅.

1.2.3 观察指标与方法: (1)穴位区域红外辐射的检测: 检测部位: 所有200例受试者的双侧足三里、梁门、胃俞、中府、肺俞共五穴十点均为检测部位, 选穴标准参照统编五版教材《针灸学》; 检测仪器: 中国原子能工业公司研制的HGD-1型人体热能辐射测试仪; 检测条件: 室温在19-25℃之间, 相对湿度≤80%、室内无日光直射, 无冷热风源; 检测方法: 受试者进入检测室休息5 min, 检测时临时裸露检测部位. 先测受试者左右两侧本底值. 计算时用实测值减去同侧本底值即为真值. (2)胃镜检查: 采用日本产奥林巴斯P3型胃镜对全部120例患胃病者进行检查, 具体操作由附一院胃镜室医生承担.

统计学处理 数据用SPSSl3.0软件进行统计分析, 用mean±SD表示, 一般资料采用原始资料计数方法表示, 用卡方检验. 同穴区HED值左右比较采用配对t检验. 多组样本均效的比较, 方差齐时进行方差分析, 并进一步行两两比较(q检验), 方差不齐时采用近似方差分析(F检验). 同穴左右HED值差的绝对值比较采用中位数检验. 成组资料均数的比较, 方差齐时行t检验, 方差不齐时行t'检验.

2 结果

2.1 三组间年龄性别比较 将慢性胃痛(A组), 肺病(B组)与健康人(C组)三组间, 经卡方检验, 三组之间性别、年龄差异均无统计学意义, 组间可比性良好(表1).

■相关报道

田宛玲 *et al*运用人体热辐射测试仪检测了正常人、非肿瘤肺病患者, 肺癌患者的天府、尺泽、委中、大郄等穴HED值, 发现肺癌患者天府穴高于尺泽穴, 委中低于大郄, 经诊断试验检验, 肺癌符合率(83.3%)明显高于正常人(40%)及其他肺病患者(37.7%).

■应用要点
穴位区域红外辐射检测可作为研究针刺疗效的一个手段应用于临床.

表 1 三组年龄、性别比较

分组	n	男(n)	女(n)	年龄(岁)			
				20–29	30–39	40–49	50–60
A组	120	78	42	38	35	21	26
B组	40	22	18	11	14	8	7
C组	40	24	16	14	12	8	6

性别比较: χ^2 = 1.6049, 年龄比较: χ^2 = 1.6471, 均P>0.05.

表 2 A组与C组五穴区左右侧HED值差的绝对值比较

穴位	中位数	>M(n)		<M(n)		χ^2	P
	(M)	A组	C组	A组	C组		
足三里	7	63	12	50	25	6.0630	<0.05
梁门	10	53	11	40	27	8.4898	<0.01
中府	8	60	15	53	23	2.1130	>0.05
肺俞	7.5	67	27	53	13	1.6849	>0.05
胃俞	8	61	13	44	24	7.5600	<0.01

2.2 三组五穴区左右侧HED值的比较 对120例胃病患者(A组), 40例肺病患者(B组), 40例健康人(C组)五对穴位区域红外辐射按前述方法进行检测, 其结果比较如下: A、B、C三组五穴位区域左右侧HED值之间差异均无统计学意义; A组与C组同侧比较, 足三里、梁门双侧及胃俞左侧差异均有非常显著或显著性意义(P<0.01或0.05), 中府、肺俞两侧差异均无显著性意义. B组与C组比较: 中府、肺俞穴双侧差异均有非常显著性意义(P<0.01)、梁门穴双侧差异均不显著, 但同时可见, 足三里穴右侧及胃俞穴左侧差异均有显著性意义(P<0.05), 而足三里左侧及胃俞穴右侧无显著性意义. 而梁门、胃俞二穴组间差异均无统计学意义.

2.3 三组五穴区左右侧HED值差的绝对值的比较 三组五穴区左右侧HED值差的绝对值比较采用非参统计成组资料的中位检验, 表2结果显示: 足三里穴组间差异比较有统计学意义(P<0.05); 梁门、胃俞二穴组间差异均有统计学意义(P<0.01); 而中府、肺俞二穴组间差异均无统计学意义; 表3结果显示: 足三里穴组间差有统计学意义(P<0.01); 中府、肺俞二穴组间差异均有统计学意义(P<0.05); 而梁门、胃俞二穴组间差异均无统计学意义(表2-3).

2.4 CG各证型五穴区红外辐射值的比较 依据前述中医辨证分型标准, 五种证型各穴区红外辐射的比较结果显示:A型与B型、D型比较, 足三里左侧差别均有显著性意义(P<0.01); 与E型比较, 足三里右侧差别有显著性意义(P<0.05); 与C型比较梁门穴双侧差别均有显著性意义(P<0.05); C型足三里穴左右侧之间差异有显著性意义(P<0.05); 与B型比较, 梁门、胃俞穴双侧、足三里左右两侧差别均有非常显著或显著性意义(P<0.05); 与D型比较足三里、胃俞二穴左侧, 梁门穴双侧均有非常显著或显著性意义(P<0.01或0.05); 与E型较足三里穴左侧、梁门穴双侧均有非常显著或显著性意义(P<0.01或0.05); 其余各穴左右之间, 各证型之间比较差异均不显著.

表 3 B组与C组五穴区左右侧HED差的绝对值比较

穴位	中位数	>M(n)		<M(n)		χ^2	P
	(M)	A组	C组	A组	C组		
足三里	7	23	12	16	25	7.23430	<0.01
梁门	7	23	14	15	22	3.08900	>0.05
中府	8.5	25	15	15	25	5.00000	<0.05
肺俞	6	21	14	14	24	3.19149	<0.05
胃俞	7	21	16	116	23	1.88080	>0.05

2.5 CG不同胃黏膜相HED值的比较 将胃镜所见胃黏膜病理改变按前述标准分型, 各穴型间HED值比较显示: B型与A型、C型、D型比较足三里、梁门、胃俞三穴左右两侧差异均有显著性意义(P<0.01); 其各穴及各型间比较差别均无显著性意义.

2.6 CG不同胃黏膜病变广泛及严重程度各穴区HED值的比较 足三里、梁门二穴左右两侧在Ⅰ-Ⅱ、Ⅰ-Ⅲ、Ⅰ-Ⅳ、Ⅱ-Ⅳ、Ⅲ-Ⅵ之间比较时差别均有非常显著性意义(P<0.01), Ⅱ-Ⅲ比较差异均显著性意义(P>0.05). 胃俞穴四型之间比较左右两侧差别均有显著性意义(P<0.01), Ⅰ型足三里穴区、Ⅱ型梁门穴区左右侧之间比较, 差别有显著性意义(P<0.01), Ⅳ型梁门穴、Ⅱ型与Ⅲ型胃俞穴区左右侧之间比较, 差别有显著性意义(P<0.05).

2.7 针刺单侧冲阳穴对两侧足三里穴区HED值的影响 从120例胃镜检查患者中任选30例作观察组, 以28号1寸长毫针(苏州医疗器械厂生产), 针刺左侧冲阳穴, 进针0.5寸左右避开动脉, 行平补平泻手法, 得气后留针20 min, 出针后即刻检测双侧足三里穴区HED值; 另外任选30例不施任何措施作为空白对照, 于第1次测量后间隔20 min, 再次检测双侧足三里穴区HED值, 测量结果比较见表4. 表4中针刺组针刺后高于针刺前, 差别有非常显著性意义(P<0.01), 针刺后左侧虽

表 4 针刺左侧冲阳穴对双侧足三里穴区HED值影响比较 (mean ± SD, n = 30)

分组	中针刺组		空白组	
	左侧	右侧	左侧	右侧
针前HED值	176.00 ± 10.11	175.93 ± 13.00	180.90 ± 8.96	177.20 ± 11.10
针后HED值	197.33 ± 13.06	130.17 ± 13.30	180.83 ± 10.29	176.33 ± 13.03
P值	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05

■名词解释
红外辐射(HED): 是指物体热运动过程中, 以放射红外线的方式内外界辐射能量. 机体向外界散热有辐射, 对流, 传导与蒸发四种形式, 其中辐射散热约占全部散热的60%左右.

略高于右侧但差别无显著性意义(P>0.05). 空白对照组两次测量结果比较两侧差异均无显著性意义.

3 讨论

本研究中我们发现, 三穴区HED值与CG密切相关, 这种相关具有相对特异性. 足三里为足阳明经之合穴, 胃腑的下合穴, “四总穴”之一, 是治疗胃肠道疾病的主要穴位之一. 梁门穴位于上腹部, 且位于胃的募穴中脘穴旁开4寸, 募穴是脏腑经气在胸腹部汇聚的部位. 胃俞是胃的经气输注于背的部位, 在反映胃的经气方面, 三穴具有代表性. 在慢性胃痛组足三里、梁门二穴区HED值低于健康组, 差异有非常显著性意义(P<0.01), 而中府、肺俞二穴区HED值与健康组差异无统计学意义; 慢性肺病组中府、肺俞二穴区HED值均低于健康组, 差异有非常显著性意义(P<0.01), 而梁门穴区则无显著性意义, 其结果提示足三里、梁门与慢性胃痛相关, 中府、肺俞与慢性肺病相关, 这种相关具有相对特异性. 在慢性肺病组右侧足三里穴HED值低于健康组, 差异有显著性意义(P<0.05), 这可能是因为慢性肺病患者久病致全身气血亏虚[3]. 而足阳明胃经为多气多血之经, 全身气血既亏, 故在反映胃经气血盛衰较灵敏的合穴足三里出现异常反应[4].

本研究还发现胃病组(A组)与健康对照组(C组)比较的结果, 足三里、梁门、胃俞三穴区左右侧HED差值有显著及非常显著的差异(P<0.05或0.01), 而中府、肺俞二穴区HED值差的绝对值均无显著性差异.提示CG患者足三里、梁门、胃俞三穴区左右侧红外辐射失衡. 而肺病组(B组)与健康对照组(C组)的比较, 中府、肺俞二穴区HED值左右差值绝对值的差异显著(P<0.05), 而梁门、胃俞二穴区比较则均无显著性意义, 提示肺病患者中府、肺俞二穴区左侧红外辐射失衡, 同样也说明肺病影响了这二穴的经气输注状态. 在肺病组还发现了足三里穴左右HED差值比较有显著性意义(P<0.05), 提示足三里与慢性肺病亦具相关性[5].

本课题探讨了CG的中医证型与足三里、梁门、胃俞三穴区HED值的关系: 就足三里穴红外辐射值(HED值)而言, 肝胃不和型(A型)和脾胃湿热型(C型)的左侧均高于右侧, 上二型的左侧均高于脾胃虚寒型(B型)、瘀阻胃络型(D型)及胃阴亏虚型(E型), C型右侧高于B型; 脾胃湿热型梁门穴区双侧均高于脾胃虚寒型, 其左侧还高于瘀阻胃络型, 其差异均有显著或非常显著性意义(P<0.05或0.01), 而三穴区各证型均低于健康组. 可见脾胃湿热与脾胃虚寒三穴区HED值均表现出一致性的差异. 如前所述,穴位区域的红外辐射量与该经气血有密切关系. 热证阳气偏盛, 经气较旺盛, 寒证阳气偏衰不能推动经脉气血的运行, 则经气较虚衰, 故寒热之间三穴区HED值的差异表现出一致性. 瘀阻胃络型因瘀滞胃经络脉, 阻碍经气运行, 胃经经气运行不畅, 且CG患者久病气血本已亏虚, 故各穴区红外辐射类似于寒象[6-8]. 总之, 三穴区HED值对CG的寒热辨证有一定的参考价值, 但要在临床上对CG进行细致的辨别, 还要作进一步的深入研究.

我们还发现针刺左侧冲阳穴对CG患者双侧足三里HED具有调整作用, 针刺左侧冲阳穴20 min后, 足三里双侧HED值均显著升高(P<0.01), 而趋向健康人水平. 非针刺对照组两次检测结果差异不显著, 提示针刺对胃经经气具有良性的调整作用. 由于红外辐射与局部血流量、植物神经功能密切相关[9]. 针刺可影响进针部位植物神经功能, 使局部血管扩张、血流量增加, 从而升高HED值[10-11], 因此没有选择足三里而选择了胃腑原气经过和留止的原穴冲阳作为针刺点. 针刺冲阳穴调动了胃的原气, 胃经气血推动有力, 故而经气转旺HED相应增加, 这一循经出现的红外辐射升高与张栋 *et al*[12]的研究结果具有一致性.

针刺既然对HED值具有调整作用, 那么随时观察针刺时及针刺各穴位HED值, 就能够

■同行评价
本文探讨足三里梁门胃俞穴区红外辐射与慢性胃痛相关规律及其应用的研究, 选题新颖, 科学性强, 具有较好的学术价值.

反映出当时经气的状况, 从而对针刺的即时效应、后效应及治疗效果进行较为客观的评估, 因此将人体热能辐射测试仪应用于对针刺疗效的研究中具有一定的实用价值.

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会. 全国慢性胃炎研讨会共识意见. 胃肠病学 2000; 5: 77-79
2 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. 胃肠病学 2006; 11: 674-684
3 邓海平, 沈雪勇, 丁光宏. 太渊穴自发红外辐射与肺功能的相关性分析. 中医杂志 2007; 48: 74-76
4 丁轶文, 丁光宏. 红外辐射光谱在针灸研究中的应用. 针刺研究 2006; 31: 252-255
5 姚伟, 丁光宏, 张迪, 沈雪勇. 人体穴位红外辐射光谱特征. 中国科学G辑: 物理学力学天文学 2007; 37: 118-123
6 刘汉平, 沈雪勇, 丁光宏, 邓海平, 魏建子, 应荐. 人体劳宫穴红外辐射光谱特性研究. 激光生物学报 2007; 16: 258-261
7 任超世, 王妍, 赵舒. 电阻抗断层成像与胃排空和胃动力检测. 世界华人消化杂志 2008; 16: 799-805
8 卞孝忠, 杜黎明, 焦艳文, 卞敏. 慢性胃病2154例分析. 中国民康医学 2007; 19: 99, 119
9 李文永, 王玉玲, 马登程, 吴磊磊. 红外技术在临床医学领域中的应用. 科技信息 2008; 4: 811
10 廖常奎, 王佩秋. 功能性胃肠病的腹痛分型、鉴别诊断与罗马Ⅲ诊断标准的应用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 675-679
11 周愉, 沈雪勇, 丁光宏, 王丽桢. 支气管哮喘患者太渊穴红外辐射光谱病理信息探测. 上海中医药大学学报 2007; 21: 37-41
12 张栋, 付卫星, 王淑友, 马惠敏, 王援朝. 不同针灸方法诱发循经高温线现象的比较. 中国针灸 2000; 12: 123-126

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志计量单位标准

本刊讯 本刊计量单位采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即Ar(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在＋、－、±及-后列出. 如37.6±1.2℃, 45.6±24岁, 56.4±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56±0.27 ng/L, 131.6±0.4 mmol/L, t = 28.4±0.2℃. BP用kPa(mmHg), RBC数用×10^{12}/L, WBC数用×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B_1、维生素B_2、维生素B_6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B_{12}用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 μg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/ L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示. (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 521-523
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

腹腔镜下经胆囊管内置管(c管)引流术

张光辉, 吴硕东, 苏 洋, 李 英

张光辉, 吴硕东, 苏洋, 李英, 中国医科大学附属盛京医院第一微创外科、胆道外科 辽宁省沈阳市 110004
作者贡献分布: 本文由张光辉起草写作; 此课题由吴硕东设计; 苏洋对文章的知识性内容进行批评性审阅; 采集数据由张光辉与李英完成.
通讯作者: 张光辉, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院第一微创外科、胆道外科.
zkzgh0394@126.com
电话: 024-83955058 传真: 024-83955062
收稿日期: 2008-11-16 修回日期: 2009-01-08
接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-18

Laparoscopic c-tube biliary drainage

Guang-Hui Zhang, Shuo-Dong Wu, Yang Su, Ying Li

Guang-Hui Zhang, Shuo-Dong Wu, Yang Su, Ying Li, Department of the First Minimally Invasive Surgery and Biliary Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Guang-Hui Zhang, Department of the First Minimally Invasive Surgery and Biliary Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. zkzgh0394@126.com.cn
Received: 2008-11-16 Revised: 2009-01-08
Accepted: 2009-01-12 Published online: 2009-02-18

Abstract
AIM: To elucidate the method of laparoscopic use of c-tube, and to explore its indications and advantages.

METHODS: Seven patients who underwent laparoscopic c-tube biliary drainage at our hospital between the period of April 2006 and August 2008 were retrospectively reviewed. Patients' operative methods, postoperative drainage removal time, and complications were analyzed.

RESULTS: Laparoscopic placements of c-tube were successful with no obstruction, no bile leakage, and no biliary hemorrhage. The postoperative c-tube removal time averaged around 2 weeks and patients experienced no fever or jaundice; 2 of 7 patients had mild epidermal swelling around the c-tube external fixation.

CONCLUSION: Laparoscopic c-tube biliary drainage has clear indications and advantages; it plays an important role in minimal-invasive biliary surgery and is strongly recommended.

Key Words: Laparoscopy; c-tube; Drainage

Zhang GH, Wu SD, Su Y, Li Y. Laparoscopic c-tube biliary drainage. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 521-523

摘要
目的: 阐述腹腔镜下经胆囊管内置管(c管)的方法, 并探讨c管引流术的适应证和优点.

方法: 回顾性分析2006-2008年于我院行c管引流术的7名患者的手术方式、术后拔管时间及并发症发生率等.

结果: 腹腔镜下c管放置术后引流通畅; 术后无胆漏发生; 无胆道出血; 术后平均拔除c管时间约为2 wk; 拔管后患者无发热, 无黄疸, 2例出现体外固定c管周围皮肤轻度红肿.

结论: 腹腔镜c管引流术, 适应证明确, 具有多种优点, 在微创胆道外科发挥着重要作用, 值得推荐.

关键词: 腹腔镜; c管; 引流术

张光辉, 吴硕东, 苏洋, 李英. 腹腔镜下经胆囊管内置管(c管)引流术. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 521-523
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/521.asp

0 引言
c管(cystic duct tube)是一个细长软管(6Fr. polyviny), 如聚乙烯质类细软管或常用的输尿管导管等, 术中将其通过胆囊管残端插入胆总管内起引流作用. 我科近2年来开展腹腔镜下c管引流术, 取得良好效果, 本文对我院2006-04/2008-08行c管引流术7例病例资料进行回顾与分析, 对其适应证和优点进行初步探讨.

1 材料和方法
1.1 材料 2004-04/2008-08在我院行腹腔镜下胆囊切除术加c管引流术治疗胆总管结石的患者7

■背景资料
近年来随着微创外科的进一步发展, 腹腔镜c管引流术作为一种新的引流方法, 与传统的T管引流相比较, 具有对患者机体干扰小, 胆道创伤小; 术后拔管时间早; 胆漏等并发症发生率少; 置引流管处损伤轻, 感染发生率低; 患者恢复快、住院时间短、经济负担轻、术后生活质量高等优点. 因此把握手术适应证及手术时机, 使用腹腔镜c管引流术, 能够使患者得到更有效的治疗.

■同行评议者
梁力建, 教授, 中山大学附属第一医院肝胆外科; 沈柏用, 副教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院肝胆胰外科中心

■研发前沿
由于随访难度较大, 目前暂缺乏腹腔镜c管引流术与T管引流术远期并发症的对比研究; 两组引流方式的局限性能否互补尚没有相关研究.

例, 年龄51-63岁, 其中男2例, 女5例, 病程5-23年, 其中2例胆总管内结石为泥沙样, 5例术前曾行EST, 4例合并胆囊结石, 1例合并胆源性胰腺炎. 术前均经影像学检查如彩超、MRCP或CT证实有胆总管结石.

1.2 *方法* 全麻下常规建立气腹, 三个戳卡定位并成功进入腹腔内, 腹腔镜下仔细游离胆囊前三角, 钝性分离并充分暴露胆总管及胆囊管无误后, 首先用可吸收夹夹闭胆囊管, 然后将胆囊从肝床完整行顺逆结合游离, 暂不切除胆囊, 其后用腔镜下剪刀于胆总管中段纵行切开一长约1.0 cm的切口, 以胆道镜探查胆总管及肝内胆管, 取石网篮反复套取胆总管内结石, 取石成功后再次用胆道镜探查胆总管下端直至十二指肠乳头开口处, 观察通畅无梗阻后, 切断胆囊管, 切除胆囊并使用取胆囊钳将胆囊经戳孔完整取出. 于胆囊管内插入一支c管(我院常采用输尿管导管, 直径约0.3 cm), c管进入胆总管约3 cm, 在距胆总管约3 mm处用可吸收线缝合胆囊管残端并固定c管, 并用可吸收线连续缝合胆总管切口. 吸引器对局部冲洗, 吸净, 查无出血及胆汁渗漏. 于文氏孔留置引流管1枚经腋前线戳口引出. 于右锁骨中线肋弓下引出c管并固定.

2 结果

在我院行腹腔镜下c管引流术的7例患者中, 4例于术后第8天间断行c管夹闭, 2例患者术前曾体温偏高, 考虑到胆管炎可能性大, c管一直呈开放状态, 所有患者均于术后c管引流通畅, 无c管堵塞发生; 拔管时间3例为术后第16天拔管, 其余4例为术后第13天拔管, 平均拔管时间约为2 wk; 7例患者拔管后观察病情1wk, 均未发现发热、胆漏、胆道出血、皮肤巩膜黄染等并发症发生, 经化验肝功能后亦未发现胆红素指标异常等. 1例因患者年龄较大, 加之全身营养状态偏差, 出现体外固定c管周皮肤轻度红肿溃破.

3 讨论

腹腔镜下c管引流术是近年来微创外科新采用的一种引流方法, 他是在术中将c管通过胆囊管插入胆总管, 行胆总管结石术后引流、化脓性胆管炎及胆源性胰腺炎早期引流及非开放性胆道探查术后二期胆道造影.

■相关报道
金志明 *et al*较为详细的报道了36例经胆囊管胆总管探查取石术后行c管引流术的手术适应证; Fujimura *et al*指出了c管的概念及其引流的手术方式和优点.

腹腔镜下c管引流术的适应症及手术时机把握是行c管引流术成功与否的关键. 本文所述腹腔镜下c管引流组7例病例中, 术前行EST取石术4例, 但行EST后发现取石困难, 改行腹腔镜下胆囊切除加胆总管切开探查取石, 取石干净确切, 术后放置c管替代传统的T管引流, 用可吸收线缝合胆总管切口. 侯郑生 *et al*[1]的报道c管的应用可不单纯局限于胆总管结石. 腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)过程中, 胆管损伤时经胆囊管胆道造影判明胆管损伤的部位, 决定是否中转开腹都是非常有用的. 术中经c管注入亚甲蓝, 不但能快速明确有无胆管损伤, 也可省略术中胆道造影, 缩短手术时间, 减少患者的医疗费用. c管的放置在LC及胆总管切开后行一期缝合术后, 尤其是伴有化脓性胆管炎的患者, 可以起到引流及支撑胆管的作用, 防止胆管出现炎性狭窄和粘连. 对于胆总管较细且合并结石的患者, 行胆总管切开取石后置入T管较为困难, 此时可考虑腹腔镜下经扩张胆囊管取石术取出胆总管内小结石, 术后留置c管继续引流. 对胆总管下端影像学检查或非开放性探查为阴性, 但不排除上段胆道结石, 可行c管留置, 以便行二期胆道造影. 所选病例资料中, 其中1例胆源性胰腺炎患者, 术前也曾行EST术, 术后3 d改行LC加c管引流术治疗, 对于胆囊结石合并急性胆源性胰腺炎患者我们尝试早期行单纯胆囊切除+c管引流治疗, c管引流治疗可以有效的达到胆道减压的目的. 由于胰胆管共同通道, 理论上讲通过胆道减压可以缓解胰管压力, 有利于胰腺炎的治疗.

c管引流术与传统的T管引流术比较中具有明显的优点. 胆管切开探查并置T管引流在全世界普外科界虽然已有近一个世纪的历史[2-3], 其相关并发症报道也不尽一致, 如Hotta *et al*[4]报道为76.5%, Wills *et al*[5]报道为15.7%, Fujimura *et al*[2]为21.0%, 但T管相关并发症高是不争的事实. T管放置后胆漏发生率高及T管拔除时间要求较长等[6], 侯郑生 *et al*[1]报道c管与T管术后胆漏发生率对比研究中, 放置c管术后无胆漏发生, 同期胆总管切开取石T管引流组胆漏发生率为11%; T管放置术后约需3 wk左右方能拔管, 而c管放置术后仅需1 wk即可拔管. 据我们对本文所报道病例资料的观察, 亦证实以上结论.

因此, 我们不难得出, 腹腔镜下c管引流术应用的适应证可以概括为以下几点: (1)胆总管小结石或泥沙样结石的经胆囊管取石后的冲洗和继续引流. (2)LC+胆总管切开取石, 同时行胆总管一期缝合的后引流. (3)胆源性胰腺炎的早期引流. (4)化脓性胆管炎的支撑, 冲洗胆道及继续

引流. (5)较细的胆总管小结石经扩张胆囊管取石后的继续引流. (6)对胆总管下端影像学检查或非开放性探查为阴性, 但不排除上段胆道结石, 行c管留置, 以便行二期胆道造影[7].

总结c管引流术的优点有以下几点: (1)对患者机体干扰小. (2)胆道创伤小. (3)术后拔管时间早. (4)胆漏等并发症发生率少. (5)置引流管处损伤轻, 感染发生率低. (6)患者恢复快、住院时间短、经济负担轻、术后生活质量高等优势.

腹腔镜c管引流术, 有其明确的临床适应症及优点, 在微创胆道外科诸多方面疾病的治疗中发挥着重要作用, 是一个值得推荐的方法.

4 参考文献

1 侯郑生, 田岛义证, 刘京山. 腹腔镜下经胆囊管取石及胆囊管内置管(c管)在胆道外科中的应用. 腹腔镜外科杂志 2006; 11: 129-131

2 Fujimura M, Hirano M, Sato I, Kinoshita T, Yamamoto I, Nishimura K, Takahara H, Yamamoto A. [The C tube in biliary surgery--its development and clinical application] *Nippon Geka Hokan* 2000; 68: 85-122

3 Sikić N, Tutek Z, Strikić N. Primary suture vs. T-tube after common bile duct exploration (our 25 years of experience). *Przegl Lek* 2000; 57 Suppl 5: 143-145

4 Hotta T, Taniguchi K, Kobayashi Y, Johata K, Sahara M, Naka T, Maeda T, Tanimura H. Biliary drainage tube evaluation after common bile duct exploration for choledocholithiasis. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 315-321

5 Wills VL, Gibson K, Karihaloot C, Jorgensen JO. Complications of biliary T-tubes after choledochotomy. *ANZ J Surg* 2002; 72: 177-180

6 郭玮. T型管引流术中所遇到的问题. 山东医药 1980; 24: 17-19

7 金志明, 王天翔, 黄循波, 袁建明, 潘宏, 尹路. 非开放性总胆管探查及C管引流术36例临床分析. 上海医学 2007; 30: 536-537

■同行评价

本文所提供的临床资料有一定的参考价值, 但病例数较少.

编辑 史景红 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. P值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, t = 4.56 *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用t/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小7.5 cm×4.5 cm, 必须使用双面胶条黏 贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐. (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 524-528
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

基于64层螺旋CT断层图像的影像后处理–大肠三维重建及虚拟内镜

俞金龙, 黄宗海, 陈海金, 方驰华

■背景资料
CT、MRI工作站对断层影像处理目的比较单一, 基于64层螺旋CTA断层数据集建立的三维重建模型为解剖教学、手术培训提供教学平台. 临床医师根据患者的数字化仿真模型, 可制订个体化术前规划和手术模拟.

俞金龙, 黄宗海, 南方医科大学珠江医院普外科 广东省广州市 510280
陈海金, 中国人民解放军北京军区总医院附属八一儿童医院儿外科 北京市 100007
方驰华, 南方医科大学珠江医院肝胆外科 广东省广州市 510280
国家"863"计划基金资助项目, No. 2006AA02Z346
作者贡献分布: 此课题由黄宗海与方驰华设计; 研究过程由俞金龙完成; 本论文写作由俞金龙与陈海金完成.
通讯作者: 陈海金, 100007, 北京市, 中国人民解放军北京军区总医院附属八一儿童医院儿外科. chenhaijin@sina.com
电话: 020-61643213 传真: 020-61643213
收稿日期: 2008-11-02 修回日期: 2008-12-25
接受日期: 2008-12-29 在线出版日期: 2009-02-18

Image post-processing based on 64-slice helical CT sectional images: three-dimensional reconstruction and virtual endoscopy of large intestine

Jin-Long Yu, Zong-Hai Huang, Hai-Jin Chen, Chi-Hua Fang

Jin-Long Yu, Zong-Hai Huang, Department of General Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China
Hai-Jin Chen, Surgery for Children, Bayi Children's Hospital, Affiliated to the General Hospital of Chinese PLA Beijing Military Region, Beijing 100007, China
Chi-Hua Fang, Department of General Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China
Supported by: the National 863 Science Foundation of China, No. 2006AA02Z346
Correspondence to: Hai-Jin Chen, Surgery for Children, Bayi Children's Hospital, Affiliated to the General Hospital of Chinese PLA Beijing Military Region, Beijing 100007, China. chenhaijin@sina.com
Received: 2008-11-02 Revised: 2008-12-25
Accepted: 2008-12-29 Published online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To find a method to reconstruct a large intestine three-dimensional digital model and virtual endoscopic examination based on 64-slice helical CT image in personal computer.

METHODS: We used Philips/Brilliance 64 CT to complete plain scan from the 9th thoracic vertebra to middle-femur and continuously tracked scan of arterial phase and venous phase. Based on the CT plain scan after air pressure enema, we used the VGL 3.2 sharewares to carry on the volume rendering of intestine with the Ray-Casting light projection algorithm. Mimics software for the surface was used to render intestines with the Marching Cubes algorithm then three dimensional graphics were reconstructed using virtual endoscopy (VE). We reconstructed three-dimensional large intestine and surrounding structures with the Mimics software separately based on the CTA two-dimensional graphics.

RESULTS: We have established a more precise model of volume rendering and surface rendering of large intestine and surrounding structures, including skeletal system, arterial system, urinary tract, skin, large intestine and part of small intestine. We have achieved a three-dimensional interactive browsing and virtual endoscopic applications.

CONCLUSION: The large intestine visualization model could show precisely complex anatomical structure and spatial adjoining relations, which not only offers clinic doctors reliable anatomical information, but also a good base for later virtual surgery.

Key Words: CT images; Angiography; Large intestine; 3D reconstruction; Virtual endoscope; Mimics software

Yu JL, Huang ZH, Chen HJ, Fang CH. Image post-processing based on 64-slice helical CT sectional images: three-dimensional reconstruction and virtual endoscopy of large intestine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 524-528

摘要

目的: 寻求基于64层螺旋CT断层图像在个人电脑重建大肠三维数字模型及虚拟内镜检查的方法.

方法: Philips/Brilliance 64对胸9至股骨中段沿

■同行评议者
戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

横断面平扫及动脉期和静脉期连续跟踪扫描. 基于空气灌肠造影平扫CT数据, 使用VGL 3.2共享软件包用Ray-Casting光线投射算法对肠管进行体绘制, Mimics软件用MC(marching cubes)算法对肠管进行面绘制及用虚拟内镜法(VE)重建三维图像. Mimics软件基于CTA二维图像对大肠及周围结构等各种组织进行三维重建.

结果: 成功建立了较精确的大肠体绘制和面绘制模型及大肠及周围结构三维数字模型, 包括骨骼系统, 动脉系统, 泌尿系, 皮肤, 大肠及部分小肠. 实现了三维交互式浏览和虚拟内镜的应用.

结论: 大肠可视化模型准确反映其复杂的解剖结构及空间毗邻关系, 不但为临床诊断提供可靠的解剖资料, 也为今后的虚拟手术打下了良好的基础.

关键词: CT图像; 血管造影; 大肠; 三维重建; 虚拟内镜; Mimics软件

俞金龙, 黄宗海, 陈海金, 方驰华. 基于64层螺旋CT断层图像的影像后处理–大肠三维重建及虚拟内镜. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 524–528
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/524.asp

0 引言

随着计算机技术向影像学领域渗透和应用, CT、MRI等断层影像技术实现了数字化图像处理, 医学图像信息的采集、储存、传输、处理、显示等发生了前所未有的变革. 由此形成全新医学图像处理和诊断模式, 诞生了仿真影像学[1]. 仿真影像学以仿真内镜(virtual endoscope, VE)[2]为核心, 包括各种数字化图像三维重建技术和后处理技术. 利用CT、MRI等二维断层图像为数据源, 应用计算机软件重建直观地显示人体器官, 尤其是管腔器官内表面解剖及病变三维仿真图像[3-8], 能够准确地直观反映人体三维结构, 进行疾病诊断、立体定位、模拟手术等. 大肠及周围结构是普通外科重要的解剖结构, 基于CT、MRI工作站对断层影像处理主要用于疾病诊断, 目的比较单一, 对CT、MRI等断层影像有效信息挖掘不够深入, 为此, 我们基于64层螺旋CTA断层数据集在个人电脑重建大肠体绘制和面绘制模型, 大肠和周围解剖结构空间毗邻关系模型及大肠虚拟内镜, 为深入挖掘断层影像有效信息做了有益尝试. 建立的模型为解剖教学、手术培训提供教学平台. 临床医师根据患者的数字化仿真模型, 可制订个体化术前规划和手术模拟.

1 材料和方法

1.1 材料 Dicom 3.0格式[9-13]CTA扫描断层数据. 64层螺旋CT(Philips/Brilliance 64, 飞利浦公司, 荷兰). JS-818电脑遥控灌肠整复机(今健医疗器械有限公司, 中国广州). 优维显(德国先灵广州药业有限公司). 计算机硬件: AMD Athlon64 3200+中央处理器, 2G内存, 200G硬盘, 256M显存Radeon X1600Pro显卡, 19寸液晶显示器; 计算机环境: Windows XP/Professional操作系统. 医学3D图像编辑处理软件Mimics 11.02(Materialise Software, Belgium). VGL 3.2共享软件包(volume graphics Software, Germany).

1.2 方法

1.2.1 原始数据的采集: 选1名健康志愿者, 男, 31岁, 检查前3 d进流质饮食, 检查前晚服蓖麻油30 mL, 当日禁食, 检查前2 h作清洁灌肠, 直到排出液澄清为止, 术前15 min肌注阿托品0.5 mg. 使用JS-818电脑遥控灌肠整复机行空气灌肠使肠管膨胀. 经肛门插入Foley氏18F气囊管(代肛管), 插入深度为10 cm, 注入30 mL空气膨胀气囊, 防止气囊管脱落. 以12 kPa压力向直肠内注入空气30 s, 以患者感到轻度腹涨为度, 夹闭气囊管. 空气灌肠成功后行CT平扫及动脉造影. 平扫采用平卧位及俯卧位两次采集数据. CTA动脉造影方法: 经右侧肘前静脉以5 mL/s流率用双筒高压注射器注射优维显(370 mgI/mL)80 mL, 再以3.0 mL/s的流率静脉注射0.9%的生理盐水30 mL. CT的扫描条件: 使用Philips 64层螺旋CT, 扫描范围从胸9至股骨中段平面, 动脉造影沿横断面在动脉期及静脉期连续跟踪扫描, 选择腹部扫描条件, 软组织窗, 准直器宽33 mm×0.625 mm, 管电压120 kV. 原始数据的重建层厚0.5 mm, 间隔0.5 mm, 矩阵512×512. 平扫, 动脉期及静脉期各812层, 扫描数据以Dicom 3.0标准存储.

1.2.2 肠管体绘制: 体绘制[14-16]是对体数据进行直接绘制的过程. 我们用Ray-Casting光线投射算法[17]对肠管进行体绘制. 光线投射法是基于图像空间扫描生成高质量图像体绘制算法, 该方法能很好地反映物质边界的变化, 在医学上可将各组织器官的性质属性、形状特征表现出来. 在VGL 3.2软件包载入体数据后, 激活Classification工具控制面板, 在该面板内调节体绘制的参数. 主要定义以下2个传递函数: (1)灰度-不透明度传递函数. 该函数确定各体素或单

■**研发前沿**
肠管柔软易变形, 其在人体的真实外形不易理解. 本研究以三维可视化的形式展示肠管, 对临床医师理解掌握结肠及其周围结构在体内的解剖关系有极大帮助.

■**创新盘点**
基于医学图像进行三维重建已广泛应用于口腔生物力学、康复工骨生物力学等多个领域, 作为形态学、解剖学分析和力学分的基础. 文章将CT图像、MIMICS和有限元软件相结合, 并可以扩展到建立其他各个部位三维有限元模型, 进一步应用于临床和生物力学研究.

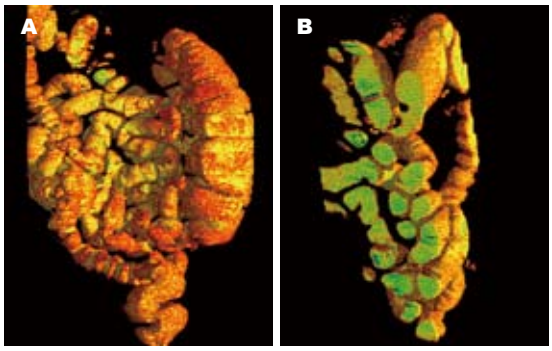


图 1 肠管体绘制观. A: 前面观; B: 任意方向切面观.

位长度值的不透明度; (2)灰度-颜色传递函数. 该函数确定体素的颜色值或者灰度值. 体绘制的最终效果很大程度上由传递函数决定的, 在VGL对这两类传递函数进行调节以达到体素模型最佳视度效果. 在Clipbox工具可对体素模型进行三个正交平面的三维裁剪, 在Clipplane工具可对任意平面进行三维裁剪.

1.2.3 *肠管面绘制和外显镜*: Mimics软件[18-19]读入Dicom格式CT断层图像, 软件自动设定CT原始扫描参数, 每层原始图像灰度值以内插值处理, 达到亚体素的精度. 调整窗位窗宽, 对比度达到最佳视度. 空气灌肠使肠管充气膨胀, 肠道面绘制模型[20-21]按空气阈值建模, 界定阈值在-1024至1024亨氏单位, 并膨胀1-2个像素达到选择像素充满全部肠腔, 区域增长工具分割出直肠及乙状结肠, 升结肠, 横结肠及部分小肠, 去除冗余数据, 经MC(marching cubes)[22-27]算法计算建立肠道的三维数字模型. 面绘制模型以三角面片显示.

1.2.4 *肠管空间毗邻关系*: 在动脉期数据集重建骨骼系统, 动脉系统及皮肤, 前列腺三维模型. CTA血管造影技术使动脉显影, 密度造影剂和骨骼结构密度值相近. 按傅栋 *et al*[28]的方法建立骨性结构和动脉数字模型, 界定阈值在145-1061亨氏单位, Mimics软件自动形成各层面骨组织和动脉表面轮廓线, 图像经编辑处理, 去除无关边缘杂点和冗余数据, 经区域增长工具分割骨骼和动脉, 用Mimics软件二维, 三维修改工具及布尔计算分割后分别3D计算建立骨骼结构和动脉三维数字模型. 界定皮肤阈值在-718至-177亨氏单位建立皮肤三维数字模型. 在110层及82层二维图像分别手动分割出膀胱及前列腺, 3D计算建立膀胱及前列腺三维数字模型. 在静脉期数据集根据残余造影剂浓度重建输尿管三维模型, 阈值在220-1641亨氏单位, 经区域增长3D计算建立输尿管三维模型, 以STL格式导出在动脉期数据集根据输尿管和双肾及膀胱解剖结构关系行三维模型立体配对.

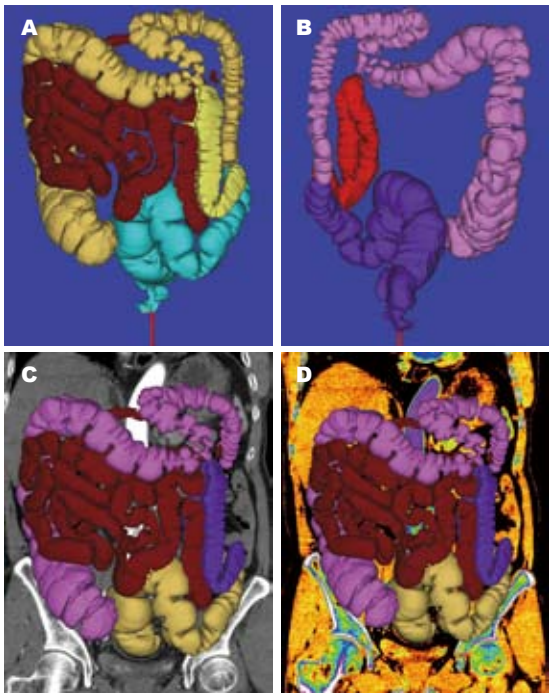


图 2 小肠, 结直肠面绘制观. A: 结肠和部分小肠面绘制前面观; B: 结肠和直肠面绘制后面观; C: 结肠和部分小肠面绘制切面观; D: 结肠和部分小肠面绘制切面观(伪彩).

1.2.5 *虚拟内镜*: 对基于CT断层图像建立的肠管面绘制模型, 用虚拟内窥镜技术可对肠腔解剖和病变进行观察, 观看三角面片内部信息能够获得有效肠道内解剖图像和诊断信息. 可在二维平面图像进行大体观察来指导内镜重点观察目标, 给合多平面裁剪功能可以综合分析. 在肠腔内“漫游”可观察全结肠. 对观察到的病变对发现病变后, 变换视角、视距, 甚至反向观察. 返回到二维平面图像测量其最大径作为直径.

2 结果

2.1 *肠管体绘制三维成像* 体数据应用体绘制光线投射(Ray-Casting)算法绘制出组织表面的真实感图像, 体绘制以体素作为基本单元, 直接由切片数据集生成三维体的图像, 能够较好地表示对象的内部信息, 并可从任意方向观看(图1).

2.2 *肠管面绘制三维成像* 用面绘制MC算法对直肠, 肛管, 乙状结肠, 升结肠, 横结肠及部分小肠进行面绘制, 数字模型以三角面片表示(图2). 建立的模型几何外型逼真, 具有较佳的视觉效果, 可以多彩色、透明或任意组合显示, 整体清晰、实体感强. 通过不同平面的切面可以观察

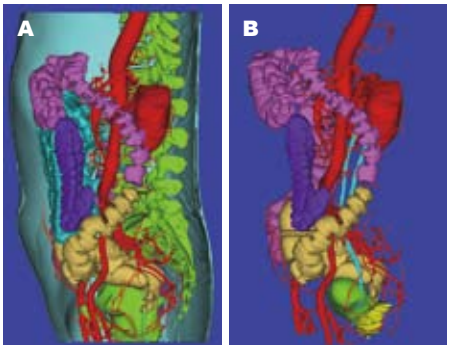


图 3 肠管与骨骼及泌尿系主动脉空间毗邻关系侧面观. A: 骨骼主动脉; B: 泌尿系主动脉.

各组件的内部结构关系, 能够任意角度的旋转及缩放观察. 在同一平面上, 可用不同色彩分别显示直肠, 小肠、结肠等, 并根据需要, 从不同角度, 构建出所需绘制模型, 如结肠和部分小肠前面观(图2A), 结肠和直肠后面观(图2B), 结肠和部分小肠切面观等(图2C-D).

2.3 毗邻脏器空间关系三维构建 成功建立骨骼系统, 动脉系统及皮肤, 直肠, 结肠, 部分小肠, 输尿管, 膀胱和前列腺三维数字模型(图3). 并可从不同角度观看毗邻脏器的空间结构关系, 不同脏器用不同色彩展现, 便于分辨.

2.4 虚拟内镜 基于64层螺旋CT断层图像用虚拟内窥镜技术对肠腔的解剖和病变进行了观察. 能成功内镜样展现结肠的任何部位与转角处, 并能从狭窄、梗阻处两端观察肠腔的解剖和病变, 可靠地显示了病变部位和大小(图4). 动态显示可制作成AVI格式电影存储、输出, 画面清晰流畅.

3 讨论

可视化技术[29]是运用计算机图形学和图像处理技术, 把二维平面图像重构出具有立体效果的空间三维形态结构图像. 他涉及到计算机图形学、图像处理、计算机视觉、计算机辅助设计及人机交互技术等多个领域. 由于非侵入诊断技术如CT、MRI和正电子放射断层扫描(PET)的发展, 获得患者有关部位的二维断层图像变得很容易. 我们根据CT二维图像序列, 配合图像轮廓提取技术, 基于空气灌肠造影及CTA血管造影技术, 更精确还原骨骼, 肠管及动脉, 输尿管在活体内的原有真实结构形态, 简便、高效地建立直肠及周围结构三维模型. 以三维可视化的方式从不同角度进行展示, 可以根据需要设置不同的透明度, 透视观察骨骼结构, 动脉系统, 皮肤, 肠管, 输尿管, 膀胱, 前列腺的相互关系,

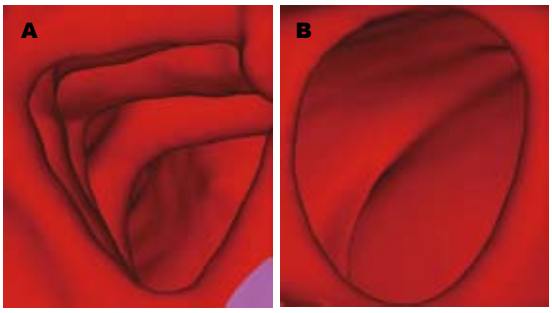


图 4 肠腔虚拟内镜观. A: 升结肠; B: 直肠.

结合传统教材的图像与实体解剖, 能更好地理解真实的三维人体结构, 克服了解剖学教学中不能很好还原其真实解剖位置的不足, 是对传统教材中的完善和补充. 三维重建图像利于整体直观地显示病变, 帮助明确诊断并指导手术. 在可视化技术的基础上可以进一步实现计算机模拟及手术规划. 通过对人体器官的三维模型虚拟重建可加深对临床解剖学的理解, 是促进外科发展的有效途径. 肠管柔软易变形, 离体后不易定形, 其在人体的真实外形不易理解, 本研究以三维可视化的形式, 通过任意角度的旋转, 全方位显示直肠及其周围结构, 便于对周围结构的观察理解, 对临床医师理解掌握直肠周围结构的解剖关系有极大帮助.

虚拟内窥镜技术[30-33](VE)是计算机技术、计算机图形学、计算机图像处理尤其是虚拟现实等技术结合的一种独特医学图像后处理技术. 利用计算机专用软件, 将螺旋CT或MR获得的原始容积数据进行后处理, 对空腔器官内表面具有相同像素值范围部分进行三维重建, 利用计算机的模拟导航技术(navigation)或漫游技术(flythrough)进行腔内观察, 并赋予不同的光照强度和人工伪彩连续回放, 逼真地模拟腔道内窥镜直视观察肠腔的动态重建图像. 基于CT断层图像的虚拟内镜技术源于螺旋CT连续扫描获得的容积数据, 和传统的内窥镜技术相比, 虚拟内窥镜和CT工作站仿真内窥镜有着共同独特的优点: (1)无接触式无创性检查, 患者无不适感, 检查过程中不会产生穿孔、出血或感染等副作用; (2)常规的纤维镜存在视野的局限和无法评价腔外解剖与病变等缺点. 虚拟内窥镜可以从任意的角度和方位对病灶进行观察, 并能从狭窄、梗阻处两端观察肠腔的解剖和病变, 可靠地显示了病变部位和大小. 并能同时提供腔内腔外的情况; (3)可以针对不同要求, 制定不同的漫游计划, 任意地重复检查过程; (4)降低了医疗检查

■应用要点

虚拟内窥镜具有传统内镜不具备的独特优点, 无创性、简便性和灵活性使得他的应用很广泛, 也很有吸引力, 成为一个重要的医疗诊断和医疗普查的辅助手段.

■同行评价
本文设计合理, 文字表达清晰, 研究结果为今后临床, 教学和科研打下了一定的基础.

复杂性、危险性和医疗成本; (5)可用于教学目的, 可以三维可视化的方式从不同角度进行展示, 可以根据需要设置不同的透明度, 指导患者了解自己的病情.

CT或MR图像精度不够, 导致虚拟内窥镜图像分辨率不够理想; 不能反映器官腔内的真实颜色, 因此不能诊断黏膜的充血水肿及炎性病变; 肠腔内的扁平性病变、轻度渐进性长段的狭窄, 虚拟内窥镜的效果不够理想; 组织特异性较差, 不能采取标本活检, 或腔内介入性治疗; 会受肠道内残留气体或残留的粪便等影响, 产生伪影, 并可能有假阳性病灶产生. 这些都是VE的固有缺陷. 但由于虚拟内窥镜具有传统内镜不具备的独特优点, 无创性、简便性和灵活性使得他的应用很广泛, 也很有吸引力, 成为一个重要的医疗诊断和医疗普查的辅助手段. 相信随着医学三维成像技术的发展和虚拟内窥镜技术自身的发展, 虚拟内窥镜必将在越来越多的疾病诊断中占据着越来越重要的地位.

4 参考文献

1 罗立民. 仿真医学影像学. 中国医疗器械杂志 2002; 26: 79-81
2 闵翔, 谢德明. CT仿真内镜的应用. 现代医学仪器与应用 2007; 11: 28-31
3 Duan SY, Zhang DT, Lin QC, Wu YH. Clinical value of CT three-dimensional imaging in diagnosing gastrointestinal tract diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2945-2948
4 Horton KM, Fishman EK. Current role of CT in imaging of the stomach. *Radiographics* 2003; 23: 75-87
5 Ba-Ssalamah A, Prokop M, Uffmann M, Pokieser P, Teleky B, Lechner G. Dedicated multidetector CT of the stomach: spectrum of diseases. *Radiographics* 2003; 23: 625-644
6 Patak MA, Mortele KJ, Ros PR. Multidetector row CT of the small bowel. *Radiol Clin North Am* 2005; 43: 1063-1077, viii
7 Qalbani A, Paushter D, Dachman AH. Multidetector row CT of small bowel obstruction. *Radiol Clin North Am* 2007; 45: 499-512, viii
8 Ramachandran I, Sinha R, Rajesh A, Verma R, Maglinte DD. Multidetector row CT of small bowel tumours. *Clin Radiol* 2007; 62: 607-614
9 张崴, 牛玮. 医学数字图像和通讯标准-DICOM. 现代医药卫生 2005; 21: 111-112
10 骆建珍, 林财兴, 孟令旗, 杨安荣. DICOM医学图像三维可视化系统的研究. 机电一体化 2007; 13: 45-48
11 Liu S, Liao W, Yu Q, Cheng X, Dai N, Zhang X. [The development of a system for 3D reconstruction from DICOM data and collaborative visualization] *Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi* 2007; 24: 1152-1156
12 Kling-Petersen T, Rydmark M. Modeling and modification of medical 3D objects. The benefit of using a haptic modeling tool. *Stud Health Technol Inform* 2000; 70: 162-167
13 Durand LG, Garcia D, Sakr F, Sava H, Cimon R, Pibarot P, Fenster A, Dumesnil JG. A new flow model for Doppler ultrasound study of prosthetic heart valves. *J Heart Valve Dis* 1999; 8: 85-95
14 张娟, 王昌元, 鲁雯, 侯庆峰, 张会如. 医学图像三维重建的算法研究. 中国医学装备 2008; 5: 19-21
15 王晓敏, 张艳, 王鹏程, 谢晋东, 韩彬, 唐峰. 医学三维可视化方法以及算法平台的研究进展. 中国医学装备 2007; 4: 5-9
16 王福昌, 胡顺田, 张宝雷. 基于体绘制法的头部CT图像的三维重建. 计算机与现代化 2007; 23: 86-88
17 宋卫东, 雷万军. 基于一种改进的光线投影体绘制算法的三维重建. 医疗设备信息 2007; 22: 1-3
18 Escott EJ, Rubinstein D. Free DICOM image viewing and processing software for your desktop computer: what's available and what it can do for you. *Radiographics* 2003; 23: 1341-1357
19 Zhu XY, Fang CH, Bao SS, Quan XY, Zhong SZ. [Image segmentation and three-dimensional reconstruction of the liver based on 64-slice spiral CT scanning data] *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2008; 28: 345-347
20 Cline HE, Dumoulin CL, Hart HR Jr, Lorensen WE, Ludke S. 3D reconstruction of the brain from magnetic resonance images using a connectivity algorithm. *Magn Reson Imaging* 1987; 5: 345-352
21 Lee TY, Lin CH. Growing-cube isosurface extraction algorithm for medical volume data. *Comput Med Imaging Graph* 2001; 25: 405-415
22 Wang K, Denney T, Morrison E, Vodyanoy V. Construction of volume meshes from computed tomography data. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2005; 5: 5168-5171
23 Delibasis KS, Matsopoulos GK, Mouravliansky NA, Nikita KS. A novel and efficient implementation of the marching cubes algorithm. *Comput Med Imaging Graph* 2001; 25: 343-352
24 Lesk VI, Sternberg MJ. 3D-Garden: a system for modelling protein-protein complexes based on conformational refinement of ensembles generated with the marching cubes algorithm. *Bioinformatics* 2008; 24: 1137-1144
25 Teferi S. Visualization, volume and surface area calculation of three dimensional (3D) ultrasound images. *Ethiop Med J* 2007; 45: 383-390
26 Niu Q, Chi X, Leu MC, Ochoa J. Image processing, geometric modeling and data management for development of a virtual bone surgery system. *Comput Aided Surg* 2008; 13: 30-40
27 Schreiner J, Scheidegger CE, Silva CT. High-quality extraction of isosurfaces from regular and irregular grids. *IEEE Trans Vis Comput Graph* 2006; 12: 1205-1212
28 傅栋, 靳安民. 应用CT断层图像快速构建人体骨骼有限元几何模型的方法. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 1620-1623
29 陈新, 陈良琴, 徐伟. 三维可视化技术及其在现代医学诊断中的应用. 中国高校科技与产业化(学术版) 2006; z1: 306-309
30 姚德民, 宋志坚. 虚拟内窥镜关键技术的研究与临床应用. 生物医学工程学杂志 2008; 25: 18-22
31 高向军, 田联房, 王立非, 毛宗源. 虚拟内窥镜系统的关键技术分析. 计算机应用研究 2008; 25: 1956-1959
32 彭延军, 王元红, 郑永果. 虚拟内窥镜系统研究进展. 计算机工程与应用 2005; 41: 203-205
33 姚德民, 宋志坚. 交互式虚拟内窥镜成像及应用. 解剖学杂志 2005; 28: 192-194

编辑 李军亮 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 529-531
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术的安全性

张 超, 刘 涛, 余佩武, 甘 露, 刘立业

张超, 刘涛, 余佩武, 甘露, 刘立业, 中国人民解放军第三军医大学附属西南医院普外科 重庆市 400038
全军"十一五"课题资助项目, No. 06MB243
院临床研究专项基金资助重大项目, No. 2005A001
作者贡献分布: 此课题由张超, 刘涛及刘立业设计; 研究过程由张超与刘涛操作完成; 研究所用试剂及分析工具部分由刘涛提供; 数据分析与论文写作由张超与刘涛完成.
通讯作者: 张超, 400038, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学附属西南医院普外科. zhangchao5642@163.com
收稿日期: 2008-12-23 修回日期: 2009-01-12
接受日期: 2009-01-19 在线出版日期: 2009-02-18

Evaluation of laparoscopic D3 radical correction with pelvic autonomic nerve preservation for rectal cancer

Chao Zhang, Tao Liu, Pei-Wu Yu, Lu Gan, Li-Ye Liu

Chao Zhang, Tao Liu, Pei-Wu Yu, Lu Gan, Li-Ye Liu, Department of General Surgery, Southwest Hospital, the Third Military Medical University of Chinese PLA, Chongqing, 40038, China
Supported by: the Major Programs of Chinese PLA during the 11th Five-Year Plan Period, No. 06MB243; the Major Programs of Clinical Research Foundation of the First Affiliated Hospital of the Third Military Medical University of Chinese PLA, No. 2005A001
Correspondence to: Zhang Chao, Department of General Surgery, Southwest Hospital, the Third Military Medical University of Chinese PLA, Chongqing 40038, China. zhangchao5642@163.com
Received: 2008-12-23 Revised: 2009-01-12
Accepted: 2009-01-19 Published online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To evaluate the security and feasibility of laparoscopic D3 radical correction for rectal cancer.

METHODS: Sixty two cases diagnosed as rectal cancer in Duke's stage B or C from January 2007 to June 2008 at our hospital were arranged into two groups, of which, one group underwent open D3 radical correction and the other received laparoscopic D3 radical correction. At the same time, they all received pelvic autonomic nerve preservation.

RESULTS: The average operation time of laparoscopic group was 271 min, somewhat longer than that of open group, but the average hemorrhage volume was less. The detected lymph nodes for laparoscopic group and open group were 23.2 and 22.8, respectively, and no statistically significant difference was noted between them. In addition, no significant difference in short-term post-operative complications was observed between the two groups.

CONCLUSION: Laparoscopic radical correction with pelvic autonomic nerve preservation for rectal cancer has the same security and feasibility effects as open operation. So it is recommended for wide use in clinics.

Key Words: Rectal cancer; Laparoscope; D3 radical correction; Pelvic autonomic nerve preservation

Zhang C, Liu T, Yu PW, Gan L, Liu LY. Evaluation of laparoscopic D3 radical correction with pelvic autonomic nerve preservation for rectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 529-531

摘要

目的: 探讨腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术的手术安全性和可行性.

方法: 选择2007-01/2008-06在我院手术治疗的Duke's B期和Duke's C期的中低位直肠癌62例. 将患者分为开腹组和腹腔镜组, 分别进行保留自主神经的开腹直肠癌D3根治术和腹腔镜直肠癌D3根治术.

结果: 腹腔镜组平均手术时间为271 min, 稍长于开腹组, 而平均总出血量为150 mL, 略少于开腹组; 腹腔镜组与开腹组平均检出淋巴结分别为23.2枚和22.8枚, 无统计学差异; 两组术后短期并发症发生率亦无显著差异.

结论: 腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术能够达到开腹手术的效果, 具有可靠的安全性和可行性, 值得在临床推广应用.

关键词: 直肠癌; 腹腔镜; D3根治术; 保留盆腔自主神经

张超, 刘涛, 余佩武, 甘露, 刘立业. 腹腔镜保留自主神经的直

■背景资料
淋巴结的跳跃转移是直肠癌复发和转移的一个重要因素, 据报道其发生率大约在10%-25%. 扩大清扫淋巴结有助于降低复发率和转移率, 然而该术式因清扫范围广泛, 极易损伤盆腔自主神经, 导致术后排尿功能障碍和性功能障碍的发生率明显上升.

■同行评议者
崔云甫, 教授, 哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

■应用要点
腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术能够达到开腹手术的效果，具有可靠的安全性和可行性，值得在临床推广应用.

肠癌D3根治术的安全性. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 529-531
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/529.asp

0 引言

新近的研究发现，淋巴结的跳跃转移是直肠癌复发和转移的一个重要因素[1-2]，据报道其发生率大约在10%-25%[3-4]. 扩大清扫淋巴结有助于降低复发率和转移率，然而该术式因清扫范围广泛，极易损伤盆腔自主神经，导致术后排尿功能障碍和性功能障碍的发生率明显上升. 为此，我们在多年腹腔镜直肠癌根治术的基础上率先在国内开展了腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术，以期为该术式的临床应用提供客观依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2007-01/2008-06在我院诊断为Duke's B期和C期的中低位直肠癌患者62例，平均年龄为47±11(25-81)岁. 开腹组34例，男：女为19：15，Duke's B：Duke's C为20：14，Dixon：Mile's为24：10；腹腔镜组28例，男：女为16：12，Duke's B：Duke's C为17：11，Dixon：Mile's为19：9. 病理分期为Duke's B期37例，Duke's C期25例. 两组病例数、男女比例以及病理分期均无显著差异.

1.2 方法

1.2.1 筛选患者排除标准：(1)有既往手术史；(2)哺乳、妊娠期妇女；(3)多原发结直肠癌；(4)术中发现已有远处转移；(5)过于肥胖；(6)伴有急性肠梗阻需急诊手术者；(7)有全麻或人工气腹禁忌症的患者. 符合标准的患者进入开腹组或腹腔镜组，分别接受开腹保留自主神经的直肠癌D3根治术和腹腔镜保留自主神经的直肠癌D3根治术.

1.2.2 手术方法：开腹组直肠肠管及系膜切除须严格遵循TME原则，在直视下锐性解剖，完整切除包裹在盆脏筋膜内的直肠及其系膜，切除5 cm肿瘤远端肠管及直肠系膜，对低位癌肿保证切缘位于原发灶远端3 cm以下. 开腹组D3淋巴结清扫依据董新舒 *et al*[5]报道的程序：先从肠系膜下动脉根部上1-2 cm处开始向下清除脂肪及淋巴组织，至腹主动脉的前面，游离、并以吊带牵起下腹神经，自上而下清除腹主动脉及下腔静脉周围的结缔组织. 至左、右髂总动脉分叉处，分别以吊带牵起下腹神经左、右两支，清扫双髂总、髂外动脉旁及腹股沟深组淋巴结及脂肪组织，接着清除髂内、闭孔及痔中动脉旁的淋巴及脂肪组织. 最后，彻底清除下腹神经周围的结缔组织.

腹腔镜直肠癌D3根治术术前准备同常规开腹手术. 术中取截石位，头低臀高，同时向右侧约15度，在脐部上方0.5 cm做10 mm观察孔，穿刺建立气腹，维持压力在12-14 mmHg，左右髂前上棘与脐连线中外1/3处分别置入5 mm和10 mm Trocar，在左右锁骨中线平脐下1横指处分别置入10 mm和5 mm Trocar. 在清扫腹主动脉和下腔静脉前脂肪和淋巴组织时，可在耻骨联合上方2 cm旁增加一个Trocar孔. 手术步骤：(1)按照TME原则在腹腔镜下完成肿瘤及系膜的切除；(2)用超声刀显露肠系膜下动脉(inferior mesenteric artery, IMA)根部，在其上方2 cm处开始向下清扫周围的淋巴和脂肪组织；到达IMA下方的腹主动脉(abdminal aorta, AA)前方时，应当注意保护在腹主动脉两侧及前方的腹主动脉丛(abdominal aortic plexus, AAP)，将AAP向上方牵起，在其下方自上而下清除腹主动脉及下腔静脉(inferior vena cava, IVC)周围的淋巴和脂肪组织，直至髂总动脉分叉处. (3)AAP在第5腰椎前延续为上腹下丛(superior hypogastric plexus, SHP)，将其提起，清扫双髂总、髂外动脉旁脂肪及淋巴组织. (4)清除髂内动脉和髂外动脉之间的淋巴及脂肪组织，显露闭孔神经. 尽量保存由盆神经丛发出的支配直肠以外器官的诸分支.

Mile's术式的腹部手术步骤同上，并按传统手术方法在左下腹造口，会阴部手术程序均参照开腹手术.

统计学处理 数据结果用SPSS13.0进行t检验和χ^2检验.

2 结果

腹腔镜组手术平均用时为271±31 min，平均总出血量为150±50 mL，平均切除淋巴结数为23.2枚，平均肛门通气时间为2.5 d，平均保留尿管时间为3.5 d，平均住院天数为11 d. 其中，手术时间略长于开腹组，而总出血量则要略低，住院天数也略短. 其他如切除淋巴结数、尿管保留时间等与开腹组相比无显著差异(表1).

3 讨论

全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)的提出是直肠癌外科治疗的一个里程碑，他明确了直肠癌手术的切除范围，是直肠癌手术的一个规范. 但是，对于已经发生跳跃转移的患

表 1 两组患者术中及术后情况

项目	开腹组	腹腔镜组	*P*值
手术时间(min)	247 ± 28	271 ± 31	<0.05
总出血量(mL)	200 ± 70	150 ± 50	<0.05
平均检出淋巴结数	22.8	23.2	>0.05
平均远切缘距离(cm)	2.6 ± 0.4	2.8 ± 0.3	>0.05
肛门通气时间(d)	3.6 ± 0.7	2.5 ± 0.6	<0.05
尿管保留时间(d)	3.8 ± 0.5	3.5 ± 0.8	>0.05
住院天数(d)	13(8–18)	11(8–15)	<0.05
并发症(*n*)	3	2	>0.05
吻合口瘘	1	1	
切口液化	2	1	
手术死亡率(%)	0	0	

者, 仅实施TME其切除范围是不够的, 因此, 许多学者开展了保留盆腔自主神的直肠癌D3根治术, 并取得了较好的临床疗效[5]. 能否在此基础上运用微创手术的优势在腹腔镜下开展直肠癌D3根治术尚无文献报道. 为此, 我们在多年的腹腔镜直肠癌根治术的基础上开展腹腔镜保留盆腔自主神经的直肠癌D3淋巴结根治术的研究.

与开腹手术相比, 腹腔镜组的平均手术时间略长于开腹组, 但出血量明显低于开腹组. 因为全器械操作时术者与助手的配合比较复杂, 需要反复磨合, 有一定的学习曲线, 但随着手术例数的增多, 操作熟练程度的提高, 手术时间就会缩短. 腹腔镜手术有其自身的优势, 例如腹腔镜的放大作用使解剖间隙更加清晰, 气腹状态下腹腔内的操作空间更大, 超声刀的应用使止血效果更好等等, 因此术中出血明显减少. 此外, 在我们的研究结果中, 无论是腹腔镜组, 还是开腹组, 均严格遵行TME原则切除肠管和系膜, 术后远切缘均为阴性, 而远切缘距离在腹腔镜组和开腹组分别为2.8 cm和2.6 cm, 差别也不显著. 腹腔镜组手术切除淋巴结数平均23.2个, 这与开腹组的平均22.8个相比, 没有显著差异. 上述结果表明两组手术均具有同样的肿瘤学安全性.

研究中全部并发症的发病率与其他研究结果相近[6-7]. 扩大淋巴结清扫范围的风险在于损伤盆腔自主神经的可能性大大增加, 容易造成术后尿潴留及性功能障碍, 使患者术后的生活质量明显降低. 如何在扩大根治的同时有效地保护盆腔自主神经是目前众多学者关注的热点问题. 我们充分利用腹腔镜的放大作用及超声刀良好的切割止血效果, 在术中能清晰地辨认自主神经的走向及细小分支, 避免了在扩大根治时造成损伤, 我们的研究结果表明, 两组患者术后未出现1例尿潴留, 并发症的发生率也不具有统计学差异. 另外, 患者术后恢复较快也体现了腹腔镜的微创治疗优势, 如患者平均住院时间为11 d, 明显低于开腹组的13 d; 而术后平均肛门通气时间在腹腔镜组为2.5 d, 也明显低于开腹组的3.6 d.

腹腔镜保留盆腔自主神经的直肠癌D3根治术在微创的基础上扩大了淋巴结切除的范围, 清扫了可能发生跳跃转移的D3站淋巴结, 并且达到了开腹手术的效果, 未增加并发症的发生率, 表明该术式具有与开腹手术同样的安全性与可行性, 短期疗效果满意, 值得在临床推广应用. 但因开展时间较短, 病例数尚少, 其远期疗效有待进一步观察随访.

■**同行评价**
本文立题新颖, 创新性强, 研究设计合理, 结果结论可信, 是一篇优秀的临床应用研究论文.

4 参考文献

1 Ueno M, Oya M, Azekura K, Yamaguchi T, Muto T. Incidence and prognostic significance of lateral lymph node metastasis in patients with advanced low rectal cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 756-763

2 Wang C, Zhou ZG, Xu D, Yu YY, Cheng Z, Li L. [Patterns and prognostic value of resection margin involvement and lateral pelvic metastases for patients with rectal cancer] *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2006; 9: 474-476

3 Wang C, Zhou ZG, Yu YY, Li Y, Lei WZ, Cheng Z, Chen ZX. Patterns of lateral pelvic lymph node metastases and micrometastases for patients with lower rectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 463-467

4 Uehara K, Nakanishi Y, Shimoda T, Taniguchi H, Akasu T, Moriya Y. Clinicopathological significance of microscopic abscess formation at the invasive margin of advanced low rectal cancer. *Br J Surg* 2007; 94: 239-243

5 董新舒, 徐海涛, 李志高, 于志伟, 崔滨滨. 直肠癌扩大根治术的盆腔内脏神经保护. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 121-123

6 Aziz O, Constantinides V, Tekkis PP, Athanasiou T, Purkayastha S, Paraskeva P, Darzi AW, Heriot AG. Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 413-424

7 Kim SH, Park IJ, Joh YG, Hahn KY. Laparoscopic resection for rectal cancer: a prospective analysis of thirty-month follow-up outcomes in 312 patients. *Surg Endosc* 2006; 20: 1197-1202

编辑 李军亮 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年2月18日; 17(5): 532-537
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

APC基因MCR区突变与大肠肿瘤患者临床发病的关系

冯莉芳, 赖仁胜, 刘 丽, 谢 玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐 翔, 耿建祥

■背景资料
随着纤维结肠镜技术的发展和普及, 肠道肿瘤的检出率逐年增高. 并且需要进一步检查APC基因突变分析突变类型的临床意义. APC基因突变, 是大肠肿瘤发生的早期分子事件, 但稳定于肿瘤发生发展的全过程, 检测APC基因突变情况已成为肿瘤分子遗传学研究的重要内容. APC基因第15外显子突变率高, 多集中在5'端, 是APC基因突变密集区(MCR).

冯莉芳, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029
赖仁胜, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐翔, 南京中医药大学附属医院细胞分子生物学实验室/病理科 江苏省南京市 210029
耿建祥, 江苏省南京市中医院病理科 江苏省南京市 210001
作者贡献分布: 此课题由赖仁胜设计; 研究过程由冯莉芳, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏及唐翔操作完成; 研究所用新试剂及病例材料由赖仁胜, 刘丽, 冯莉芳及耿建祥提供; 数据分析由冯莉芳与赖仁胜完成; 本论文写作由冯莉芳与赖仁胜完成.
通讯作者: 赖仁胜, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 南京中医药大学附属医院病理科/细胞分子生物学实验室.
lairensheng@163.com
电话: 025-86617141-70309
收稿日期: 2008-07-19 修回日期: 2009-01-06
接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-18

Correlation of APC MCR mutation with colorectal neoplasms

Li-Fang Feng, Ren-Sheng Lai, Li Liu, Ling Xie, Xiao-Bin Wu, Shu-Peng Zhang, Xiang Tang, Jian-Xiang Geng

Li-Fang Feng, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Ren-Sheng Lai, Li Liu, Ling Xie, Xiao-Bin Wu, Shu-Peng Zhang, Xiang Tang, Laboratory of Cytology and Molecular Biology/Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Jian-Xiang Geng, Department of Pathology of the Hospital Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Ren-Sheng Lai, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lairensheng@163.com
Received: 2008-07-19 Revised: 2009-01-06
Accepted: 2009-01-12 Published online: 2009-02-18

Abstract
AIM: To explore relationship of codon 1493, 1367 and 1328 mutations in mutation cluster region (MCR) of exon 15 of Adenomatous polyposis coli (APC) gene in cases of colorectal neoplasm with the family history.

METHODS: The specimens were prepared for DNA extraction from 21 colorectal adenoma specimens, 16 colorectal carcinoma, 20 healthy germline groups with positive familial history and 8 healthy germline groups without family history. Then MCR of APC gene exon 15 were specifically amplified and sequenced by ABI3100 Genetic Analyzer, and the codon mutations were statistically analyzed among the 4 groups and variation genotypes, and then tested with Chi-square.

RESULTS: The codon mutations of APC MCR from total samples were three variations: 1493(ACG>ACA), 63/69(91.3%); 1367(CAG>TAG), 1/69(1.4%) and 1328(CAG>TAG), 5/69(7.2%)Four genotypes such as 4478 (G→A), 4478 (G/A), 4096 (C/T) and 3979 (C/T) were found out. Significant differences ($P < 0.05$) were noted between the adenoma group and non-family history group on the analysis of 4478 (G→A) and (G/A), also noted between family history group and no family history group on the analysis of 4478 (G→A). The significant differences ($P < 0.05$) in pathogenic mutant phenotypes were involved between 4478 (G→A) with 4478 (G/A), 4096 (C/T) and 3979 (C/T), respectively, also between 4478 (G/A) with 4096 (C/T) and 3979 (C/T), but not between 4096 (C/T) and 3979 (C/T).

CONCLUSION: The most frequently present 4478 (G→A) of 1493 (ACG>ACA) is the phenotype of positive history group and adenoma group. In researches, APC MCR codon 1367 and 1328 genotyping are significantly present only in somatic cells of the colorectal cancergenetic phenotypes.

Key Words: Adenomatous polyposis coli; Familial adenomatous polyposis; Colorectal neoplasm; Mutation cluster region

Feng LF, Lai RS. Liu L, Xie L, Wu XB, Zhang SP, Tang X, Geng JX. Correlation of APC MCR mutation with colorectal neoplasms. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(5): 532-537

摘要
目的: 探讨APC基因的第15外显子MCR区(mutation cluster region)的1493, 1367和1328位突变与大肠肿瘤患者(阳性家族史)临床发病的关系.

方法: 共提取65例标本的基因组DNA, 包括21例肠腺瘤标本组和16例肠腺癌标本组, 20例家族史阳性组和8例无家族史组. PCR特异性扩增APC基因的第15外显子MCR区, 经ABI3100基因测序仪测序, 对密码子突变情况按4个标

■同行评议者
杜祥, 教授, 复旦大学附属肿瘤医院病理科; 李瑗, 教授, 广西肿瘤研究所

本分组和基因变异类型进行统计分析.

结果: 检出APC基因的三种密码子突变, 即密码子1493(ACG>ACA), 突变的发生率为91.3%(63/69), 密码子1367(CAG>TAG), 1.4%(1/69)和密码子1328(CAG>TAG), 7.2%(5/69). 共检出4种碱基变化, 4478 (G→A), 4478 (G/A), 4096 (C/T)and 3979(C/T). 4478位碱基G→A和4478位碱基G/A分别在腺瘤组与无家族史组的比较有显著性差异(P<0.05), 4478位碱基G→A在家族史阳性组与无家族史组的比较也有显著性差异(P<0.05). 基于临床病理突变表型, 四种核苷酸变化间经χ^2检验比较发现有显著性差异(P<0.05)的是: 4478位G→A型突变分别与4478位G/A型突变、4096位C/T型突变和3979位C/T型突变之间, 4478位碱基G/A型突变分别与4096位C/T型突变和3979位C/T型突变之间, 而4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较无显著性意义.

结论: 密码子1493(ACG>ACA)的4478位(G→A)突变为各组最高频发的同义突变, 与阳性家族史和腺瘤表型有关. 密码子1367(CAG>TAG)和1328(CAG>TAG)仅为腺癌表型的体细胞无义突变.

关键词: 腺瘤性息肉病基因; 家族性腺瘤性息肉病; 大肠肿瘤; MCR区

冯莉芳, 赖仁胜, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐翔, 耿建祥. APC基因MCR区突变与大肠肿瘤患者临床发病的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 532-537
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/532.asp

0 引言

腺瘤性息肉病基因(adenomatous polyposis coli), 亦称APC基因, 是抑癌基因, 与家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)密切相关. 以往文献有关MCR密集突变区突变类型和频率报道不一, 特别是缺乏突变类型与肿瘤发病的临床关联的报道. 本文研究在正常体检人群, 腺瘤患者, 以及腺癌患者中分组测定APC基因的胚系和体细胞的突变情况, 并进行病理发病分析.

1 材料和方法

1.1 材料 我们收集2005-01/2008-11的62例检测病例的标本, 男45例, 女17例, 年龄24-80(平均50)岁, 其中3个病例各用了2种标本, 所以共65个标本. 病例及标本的分组情况见表1. 28例体检标本组包括家族史阳性者标本组和无家族史组, 家族史阳性的纳入标准为HNPCC国际合作组织1999年修订的Amsterdam标准. 腺瘤组织及腺癌组织的石蜡标本及他们的新鲜组织标本归为体细胞, 其余归为胚系. 62例病例中有2个病例各用腺瘤石蜡标本和腺癌石蜡标本, 分别纳入腺瘤组和腺癌组进行统计, 1例分别纳入腺癌石蜡标本和病例本人的正常组织石蜡标本, 分别归为体细胞标本组和胚系标本组, 其余病例只选择一种标本. 即65例标本中3例为新鲜组织、29例石蜡组织, 其中肠镜标本为17例、33例为2 mL外周静脉抗凝血, 提取他们的基因组DNA. 血液和组织细胞基因组DNA提取试剂盒(Promega公司); 石蜡组织基因组DNA提取试剂盒(Omega公司); ABI金牌PCR扩增酶/HotStarPCR酶(Qiagen); PCR纯化试剂盒(V-gene公司); 3100POP6测序胶(美国ABI公司); ABI测序专用板(96孔); ABI 3100-Avant基因测序仪(美国ABI公司).

1.2 方法

1.2.1 DNA模板的提取: 用基因组DNA提取试剂盒按照说明提取DNA. 琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度, 再用eppendorf核酸定量仪测定dsDNA浓度[260 nm吸光率大于0.05以上(DNA含量大于2.0 g/L), 吸光率A_{260}/A_{280}比值1.6-1.8之间, 320 nm波长处吸光率接近为0].

1.2.2 PCR扩增和纯化: (1)引物的设计与合成: 根据NCBI确定候选目的基因片断序列(GeneID: 324), 利用GenBank上提供的序列(NM_000038)使用Oligo软件设计引物(上海生工合成), 扩增片段长度为1286 bp, 涵盖MCR. 引物共4对, 分别为APC1-F(上游引物): AAC CAA GAA ACA ATA CAG AC, APC1-R(下游引物): GTT GAA TTT TCT TCA GGA GC; APC2-F: AAG TTC CAG CAG TGT CAC AG, APC2-R: GAT AGC CCT GGA CAA ACC AT; APC3-F: TTG CCA GCT CCG TTC AGA GT, APC3-R: TGA GTG CTC TGA GCC TCG AT; APC4-F: TGA TGG AGA ACT AGA TAC AC, APC4-R: GAA GAT GAC TAT GAA GAT GA. (2)PCR反应: PCR反应体系(总体系20 μL)置ABI-2700型扩增仪中95℃预变性15 min, 用Touchdown PCR, 94℃变性50 s, 63℃-58℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 共循环10次, 94℃变性50 s, 57℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 共循环30次, 最后于72℃延伸10 min. (4)PCR产物纯化: PCR产物上样于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 溴乙锭染色, 应用荧光凝胶自动显像分析系统观察PCR扩增产物是单一目的条带, 根据V-gene公

■**研发前沿**
APC基因与肠道肿瘤的关系的研究以往多集中在APC基因蛋白表达及基因突变的检测, 各种突变类型与肠道肿瘤发生发展的关系不甚明了, 检测或分析数据也不完全相同或不能重复.

■相关报道
房殿春 *et al*采用多重PCR、DGGE电泳和DNA测序技术检测76例大肠癌APC基因15外显子突变; 采用PCR为基础的方法检测MSI. 探讨APC基因突变在大肠癌发生中的作用及与临床病理参数和微卫星不稳(MSI)的关系, 76例大肠癌中检出APC基因15外显子突变29例, 突变率为38.2%; APC基因突变多见于左侧大肠癌, 但与肿瘤大小、分化程度、浸润深度和临床病理分期无显著相关. 高频率微卫星不稳(MSI-H)大肠癌APC基因突变率显著低于低频率微卫星不稳(MSI-L)和微卫星稳定(MSS)大肠癌(P<0.05-0.01)

表 1 病例及标本使用

标本分组	胚系标本			体细胞标本		临床肠道息肉数				病理诊断
	血液	石蜡正常组织	新鲜正常组织	石蜡肿瘤组织	新鲜肿瘤组织	单发	≤3	≤100	>100	
家族史阳性组	16	3	1	/	/	0	0	0	0	慢性炎、溃疡性结肠炎
无家族史组	8	0	0	/	/	0	0	0	0	慢性炎、无特殊病变
腺瘤组	6	0	0	14	1	14	2	3	2	管状腺瘤、绒毛状腺瘤、管状绒毛状腺瘤
腺癌组	3	1	0	11	1	8	3	4	1	溃疡型、浸润型

司提供的PCR清洁试剂盒(cat.No110310-25), 对PCR产物过柱纯化后进行测序反应.

1.2.3 测序反应: (1)反应体系: 1 μL BigDye (2.5X)、1.5 μL BigDye Seq Buffer(5X)、3 μL 引物、1 μL PCR纯化产物、3.5 μL ddH_2O. (2)测序PCR热循环条件: 96℃, 10 s(96℃ 10 s, 50℃ 5 s, 60℃ 4 min), 共25个循环, 60℃, 4 min, 4℃保温. (3)测序产物纯化: 10 μL反应体系, 96孔板, 酒精/EDTA/NaAc法. (4)基因测序: 上样至ABI 3100-Avant遗传分析仪进行电泳, Data collection2.0软件自动进行数据处理和分析.

统计学处理 将测序结果用DNA sequencing analysis5.1软件自动分析原始数据, 获得测序电泳图和序列, SeqScape分析软件与样品序列进行比对, 观察样本是否存在突变、缺失、多态性等改变; 采用χ^2检验进行数据分析.

2 结果

65例检测标本, 检出APC基因15外显子MCR区有63例突变, 突变率为96.9%(63/65), 共出现四种核苷酸突变类型, 突变发生次数为69次. 其中65次APC基因突变见于密码子1493位(ACG>ACA), 突变碱基为4478位, 有41例G转换为A(G→A)和22例为G与A杂合(G/A)两种; 其中见1例除了1493位突变, 还同时存在1367位密码子(CAG>TAG), 突变碱基为4096位, 为C与T杂合(C/T); 见5例除了1493位突变, 同时存在1328位密码子(CAG>TAG), 突变碱基为3979位, 为C与T杂合(C/T). 未发现颠换型突变(图1).

2.1 四组临床病理标本的APC基因MCR区突变情况 将65例APC基因检测标本按临床病理诊断结果分为腺瘤组、腺癌组和体检组, 体检组又分为家族史阳性组和无家族史组. 腺瘤组和腺癌组的突变率均为100%, 体检组的突变率为92.9%(26/28), 未突变的两例全在无家族史组, 组间经χ^2检验比较差异无统计学意义(P>0.05); 体细胞检测标本和胚系检测标本中除了两例无家族史标本全部发生了1493位突变, 体细胞检测中1例发生了1367位突变, 5例发生了1328位突变. 四种核苷酸突变类型分别在胚系组和体细胞组进行χ^2检验比较, 差别无显著性(P>0.05, 表2).

2.2 四种APC基因15外显子MCR区核苷酸变化情况 由表可见, 腺瘤组和体检的两组以G→A转换为主, 腺癌组以G/A杂合较多. 密码子1367位和1328位都是无义突变, 即是腺瘤和腺癌体细胞检测标本组. 四种核苷酸变异情况在四组间的差异分别经χ^2检验比较, 发现有显著性意义(P<0.05)的是: 4478位碱基G→A在腺瘤组与无家族史组以及在家族史阳性组与无家族史组, 4478位碱基G/A在腺瘤组与无家族史组以及在腺癌组与无家族史组. 四种核苷酸变化间经χ^2检验比较, 发现4478位碱基G→A型突变分别与4478位碱基G/A型突变、4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较有显著性意义(P<0.05), 4478位碱基G/A型突变分别与4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较有显著性意义(P<0.05), 而4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较无显著性意义(P>0.05, 表3).

3 讨论

APC基因位于染色体5q21, 长度为10.4 kb. APC基因所产生的无功能的截短蛋白的移码突变(68%)或无义突变(30%), 也称为截短型突变(truncated mutation), 主要分布在编码序列区前1/2, 前者包括: 无义突变、错义突变和拼接错误, 后者包括: 缺失和插入. 点突变大多数为C→T的转变, 且大部分集中在CpG和CpA位点上[1]. 研究发现, APC基因最靠近5'端的突变(在外显子

■创新盘点
本试验设计正常人群, 家族史阳性及腺瘤、腺癌的胚系和体细胞对比研究, 分析APC基因MCR区突变的演变和临床意义. 对于深化理解APC基因突变并应用于临床分子诊断有开拓意义.

表 2 四组临床病理标本的APC基因MCR区突变

分组	参加检测	发生突变	胚系检测					体细胞检测				
			参加检测	1493位突变		1367位突变	1328位突变	参加检测	1493位突变		1367位突变	1328位突变
				G→A	G/A				G→A	G/A		
腺瘤组	21	21	6	6	0	0	0	15	8	7	0	1
腺癌组	16	16	4	2	2	0	0	12	5	7	1	4
家族史阳性组	20	20	20	17	3	0	0	/	/	/	/	/
无家族史组	8	6	8	3	3	0	0	/	/	/	/	/

表 3 四种APC基因15外显子MCR区核苷酸变化

密码子	碱基	核苷酸变化	发生突变	腺瘤组突变	腺癌组突变	家族史阳性组	无家族史组	突变类型	胚系组		体细胞组	
									参加标本	突变	参加标本	突变
1493	4478	G→A	41	14	7	17	3	T1493T	38	28	27	13
		G/A	22	7	9	3	3	T1493T		8		14
1367	4096	C/T	1	0	1	0	0	Q1367X		0		1
1328	3979	C/T	5	1	4	0	0	Q1328X		0		5

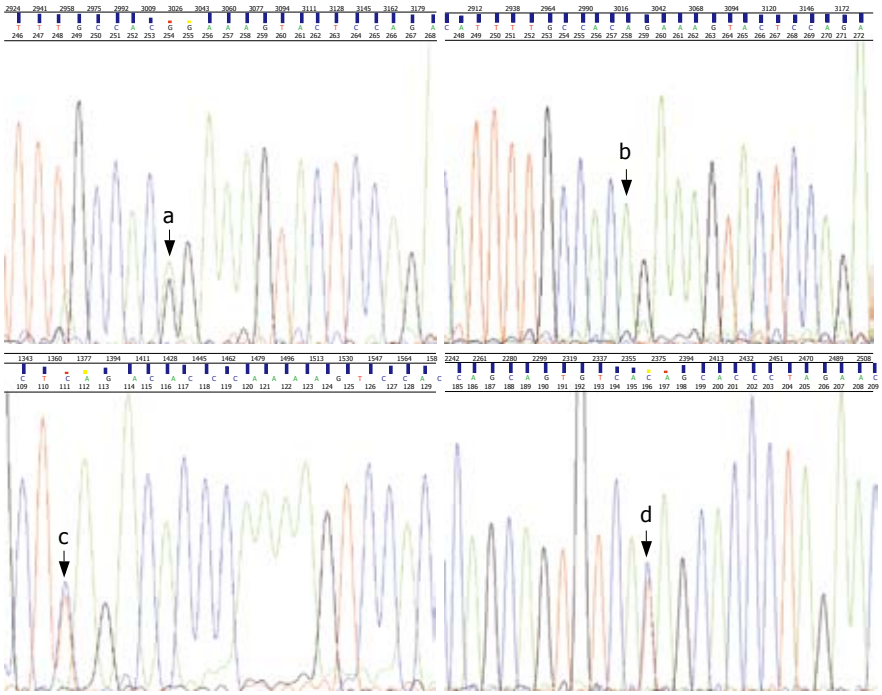


图 1 APC基因突变. 箭头所示为突变位点. a箭头: 4478位G与A杂合(G/A); b箭头: 4478位G转换为A(G→A); c箭头: 1367位C与T杂合(C/T); d箭头: 1328位C与T杂合(C/T).

4或更近侧)产生轻型肿瘤表型, 而靠近3'端MCR的突变产生重型表型[2]. 针对突变的研究方法有多重连接依赖性探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)、聚合酶链反应-单链构象多态性分析(PCR-SSCP)、PCR-变性高效液相色谱技术(DHPLC)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、DNA直接测序(direct sequence)、截短蛋白检测(protein truncation test, PTT)、微卫星标记PCR-LOH(loss of heterozygosity)分析方法等. 但上述对APC基因的生物学意义和技术方法的研究缺乏临床病理和循证医学大样本资料的验证, 对密码子1493位、1367位和1328位在正常与疾患者群检出的频率和临床相关的外显率均有不同的报道.

本研究应用DNA直接测序技术检测65例包括正常体检组、腺瘤组和腺癌组的APC基

■应用要点
APC基因MCR区突变与大肠肿瘤临床发病关联分析有助于进一步认识APC基因各种主要突变类型与大肠肿瘤的发生关系, 准确分析APC基因的突变及正确认识APC基因的临床意义, 丰富了肠道肿瘤的遗传学研究基础, 及对分子靶向药物的开发也有着重要意义.

■名词解释
胚系突变: 即生殖细胞突变或生殖系突变, 可以携带父母遗传物质的各种突变, 本文特指由血液、正常黏膜细胞发生的生殖遗传性突变.

因第15外显子MCR区突变情况, 以期研究其发生频率、临床病理外显意义和碱基变化类型与临床病理标本之间的关系. 65例标本中发生突变的有63例, 总突变率为96.9%(63/65), 且都发生了1493位密码子碱基替换, 是同义突变(synonymous mutation), 变异的发生率为91.3%(63/69), 如此高的变异率在国内外文献中未见报道. 另1例除了存在密码子1493同义突变, 同时存在Q1367X, 即密码子CAG从编码谷氨酰胺(Glutamine, Q)变为终止密码子TAG, 为无义突变. 认定其从正常细胞启动为癌细胞的始动遗传性致病基因属性. 故对该例胚系进行检测, 选择病理诊断不含腺瘤或腺癌组织的针对其正常黏膜石蜡标本再进行测序, 结果仅有4478(G/A), 未发现1367位密码子突变, 即Q1367X可能是正常细胞启动为癌细胞的始动致癌属性的第二次突变, 而4478(G/A)可能是体细胞第2次突变的伴随现象或是与其他临床病理过程相关的基础性突变. 还有5例多发性息肉半腺癌存在4478位两种突变, 同时存在Q1328X无义突变, 突变的发生率为7.2%(5/69). 此5例标本的所属病例有共同点, 即息肉数多, 或癌变不止一处. 同一FAP病例腺瘤阶段和腺癌阶段都存在1328位密码子无义突变, 此病例全结肠布满息肉, 其中三处癌变, 此病例应该是家族性腺瘤性息肉病患者. 终止密码无义突变的1367位和1328位密码子产生截短型蛋白, 不能正常地发挥生理功能, 导致细胞-细胞、细胞间质之间黏附作用以及接触抑制信号传递的改变, 引起细胞分裂与细胞死亡之间的平衡失调, 以致生长失控, 成为形成结直肠癌的分子因素之一. 腺瘤组中还有1例为全肠弥漫性息肉超过百余枚, 病理诊断为高级别上皮内肿瘤, APC基因MCR区测序中只发现了4478位的同义突变, 家族史中未有FAP现象, 但文献报道20%的FAP病例无家族史[3], 不能排除其也存在其他的病理性突变如MYH基因因素等.

本研究中腺瘤组和腺癌组的突变率均为100%(37/37), 体检组的突变率高达92.9%(26/28), 未突变的两例在无家族史组, APC基因突变率在四组间经χ^2检验比较差异无统计学意义(P>0.05), 说明APC基因突变在健康人群和肿瘤人群中都是普遍存在的分子事件. 但突变的类型差异与肿瘤和癌变有关, 比如广泛存在的1493密码子同义突变有两种碱基变异方式, 其中4478(G→A)在家族史和腺瘤中更多(P<0.05). 而4478(G/A)在散发性腺癌中多见, 他们虽然属生化意义上同义突变但仍存在上述临床发病学的不同意义.

四种核苷酸变化情况在四组间的差异分别经χ^2检验比较, 发现有显著性意义(P<0.05)的是: 4478位碱基G→A提示血液检测阳性者可能有腺瘤的风险和阳性家族史意义. 4478位碱基G/A阳性者除了腺瘤风险尚注意有癌变趋势的风险. 1493位密码子有G→A和G/A两种生化意义的同义突变, 但临床分组有统计学意义. 四种核苷酸变化间经χ^2检验比较突变频率4478(G→A)>4478(G/A)>3979(C/T)>4096(C/T)(P<0.05). 腺瘤组和体检组以G→A转换(14/22和21/27)为主, 腺癌组以G/A杂合(9/21)较多, 不排除G/A杂合方式也是体细胞二次突变中存在的主要方式, 值得在活检组织中进行分子病理检测, 而且腺癌组织4478位G→A转换频率(7/16)低于腺瘤组织(14/22), 提示癌变机制中1493位G→A突变可能并非癌变的主要相关方式, 而是意义未明的SNP位点. 健康体检病例中家族史阳性组的4478位G→A转换发生率高达17/20, 而无家族史组显示该位点的发生率低至3/8, 说明该位点与结直肠癌史有关.

分析本研究检出的无义突变仅在体细胞中1例发生了1367位突变, 5例发生了1328位突变, 都是截短型C/T型突变, 说明1367位和1328位的无义突变可能是致癌的信号通路有重要意义. 本研究中只有腺瘤和腺癌体细胞检测才发现了无义突变. 提示选择胚系检测或体细胞检测来发现无义突变是有重大区别的.

关于密码子1493位、1367位和1328位的相关文献报道各有不同. 杨吉龙 *etal*[4]采用PCR-DHPLC-Sequence的方法分析韧带样型纤维瘤病中石蜡组织APC基因的突变, 2例伴有FAP的韧带样型纤维瘤病中没有检出突变, 而散发性病例中检出APC基因的体细胞突变, 均为碱基转换或颠换, 没有出现截短突变, 共出现5种突变, 突变率为26.1%(18/69), 其中1493(ACG>ACA)与本研究中的突变类型相同. Wallis *etal*[5]应用变性梯度凝胶电泳(DGGE)、截短蛋白检测(protein truncation test, PTT)、DNA直接测序(direct sequence)的方法, 检测分析190例无亲缘关系的FAP患者和15例非FAP患者的APC基因的突变情况. 1例发生了1493位密码子移码突变, 突变多集中在碱基1395-1493段的序列, 突变率87%. 叶建新 *et al*[6]应用聚合酶链反应-单链构象多态性

分析(PCR-SSCP)、DNA直接测序及微卫星标记PCR-LOH分析方法, 检测分析40例散发性结直癌大肠黏膜的APC基因的突变和杂合缺失. 所有突变均发现在第15外显子, 其中MCR区突变占76.3%(29/38), 共发现包括1367位密码子(CAG→TAG)的无义突变的5种突变. 袁平 *et al*[7]经微解剖分离提取15例正常黏膜腺体、34例隐窝异常病灶(aberrant crypt foci, ACF)、15例腺瘤和35例结直肠癌组织进行DNA测序, 检测APC第15外显子MCR区的突变, 发现癌22.9%(8/35)和腺瘤26.7%(4/15)APC基因突变率相近. 有文献报道当突变发生在密码子1250以后, 通常位于外显子15G区的突变, 特别是密码子1309、1328突变常导致严重的临床表现, 如患者有大量息肉和更高癌变的风险[8].

与我们的研究结果比较, 上述文献APC MCR突变区的突变率均较低, 可能与采用的标本和检测方法差异有关. 我们着重结合胚系、腺瘤和腺癌的临床病理背景初步分析了上述突变外显意义, 需要在临床诊断应用中进一步做循证医学的观察和验证.

4 参考文献

1 黄凯. APC基因在肿瘤研究中的进展. 实用医技杂志 2003; 10: 404-407

2 刘晓蓉, 单祥年, Friedl W, Uhlhaas S, 李金田, Propping P, 王亚平. 应用蛋白截短技术检测APC基因胚系突变. 遗传学报 2005; 32: 903-908

3 师英强, 蔡宏, 莫善兢, 傅红, 杜春燕. 大肠家族性腺瘤性息肉病癌变的治疗. 外科理论与实践 2003; 8: 193-194

4 杨吉龙, 王坚, 周晓燕, 侯英勇, 朱雄增. 韧带样型纤维瘤病Wnt通路中APC/β-catenin基因异常. 中国癌症杂志 2006; 16: 859-863

5 Wallis YL, Morton DG, McKeown CM, Macdonald F. Molecular analysis of the APC gene in 205 families: extended genotype-phenotype correlations in FAP and evidence for the role of APC amino acid changes in colorectal cancer predisposition. *J Med Genet* 1999; 36: 14-20

6 叶建新, 许东坡, 李心翔. 散发性结、直肠癌APC基因杂合缺失和突变的研究. 中华实验外科杂志 2004; 21: 1209-1277

7 袁平, 孙孟红, 张锦生, 朱雄增, 施达仁. 结直肠粘膜隐窝异常病灶K-ras、APC基因突变的研究. 中华病理学杂志 2001; 30: 35-38

8 胡念平, 詹文华, 晏仲舒, 郭漫红, 吕新生. 家族性腺瘤性息肉病的基因型与表现型的关系初探. 中山大学学报(自然科学版) 2000; 39: 214-217

■同行评价
本文探讨APC基因MCR区突变与大肠肿瘤临床发病关联情况, 设计及实验方法合理, 结果明确, 讨论中肯, 有一定的学术价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T_{\frac{1}{2}}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白. (常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)

• 致谢 •

致谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

曹志成 英国生物医学科学研究所院士
香港伊利沙伯医院临床肿瘤科

程树群 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

管冬元 副教授
上海中医药大学基础医学院实验中医学教研室

韩新巍 教授
河南省郑州大学第一附属医院放射科

黄晓东 副主任医师
武汉市中心医院消化内科

姜春萌 教授
大连医科大学附属第二医院消化科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李健丁 教授
山西医科大学第一医院放射科CT室

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李淑德 主任医师
中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

李旭 副教授
广东省广州市南方医院急诊科

梁力建 教授
中山大学附属第一医院肝胆外科

刘宝瑞 教授
南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

刘改芳 主任医师
河北医科大学第三医院消化内科

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

沈柏用 副教授
上海市交通大学医学院瑞金医院肝胆胰外科中心

孙学英 教授
哈尔滨医科大学第一附属医院黑龙江省肝脾外科中心

王凤山 教授
中国医科大学附属第一医院肝胆外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

王晓艳 副教授
湖南长沙中南大学湘雅三医院消化内科

王学美 研究员
北京大学第一医院中西医结合研究室

徐列明 教授
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

杨维良 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外四科

张继明 教授
复旦大学附属华山医院肝炎研究室

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

周士胜 教授
大连大学医学院医学研究中心

周伟平 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外三科

朱传武 副主任医师
江苏省苏州市第五人民医院传染科