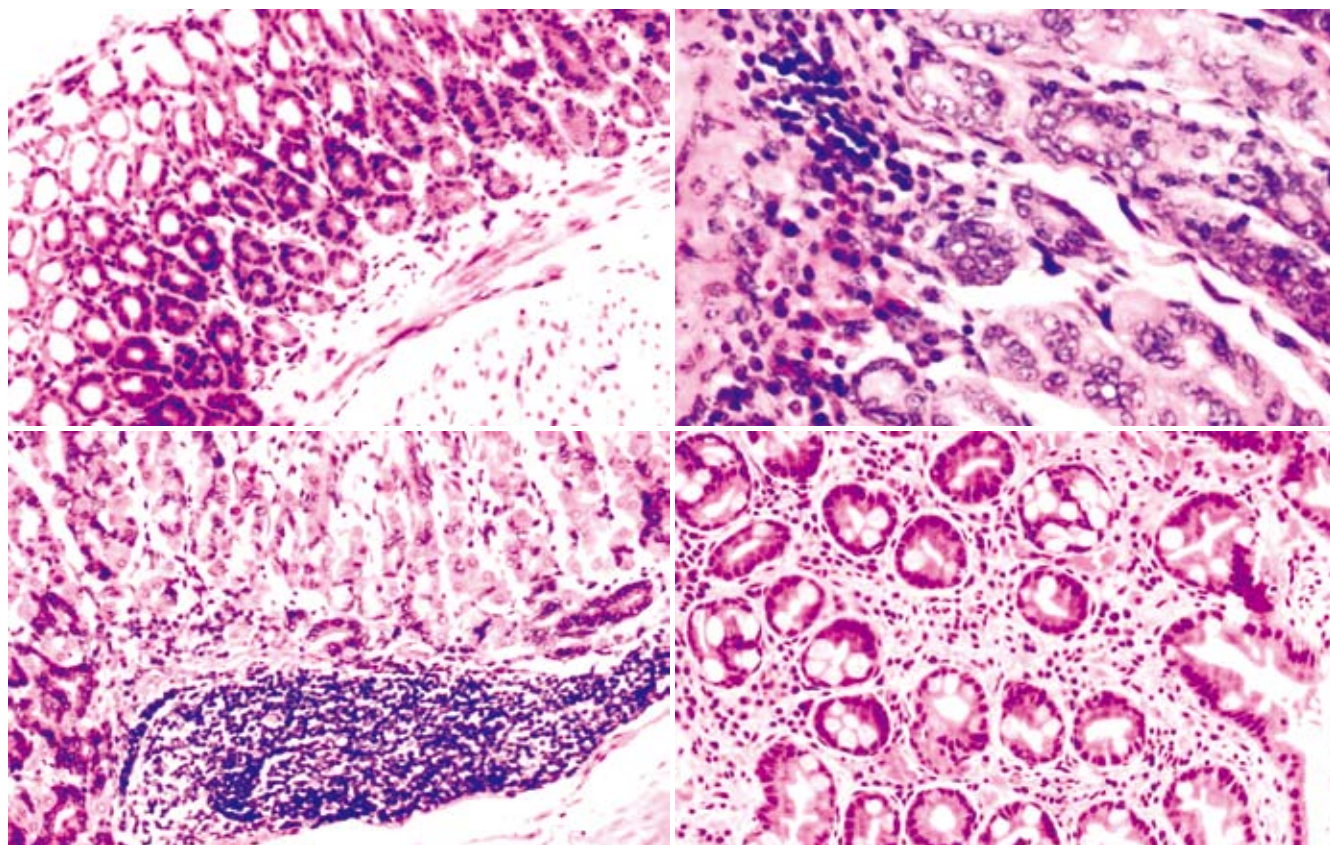


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2010 年 6 月 8 日 第 18 卷 第 16 期 (Volume 18 Number 16)



16 / 2010

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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
杨思风教授
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
聂新明教授
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
郝建宇教授
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
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授

马红主任医师
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
田宇彬教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承尧教授
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
郑素军副主任医师
周国雄主任医师
周晓东副教授
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

消化外科学
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
陈立波教授
陈凜教授
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
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
李华山主任医师
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授

李旭副教授
李永翔主任医师
梁力建教授
刘超副教授
刘建教授
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
邵升副教授
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
陈红松研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
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
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
钱林学主任医师
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
朱传武主任医师
庄林主任医师

消化中医学

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
李康副教授
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

曹秀峰教授
曹志成院士
陈公琰主任医师
李璦教授
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
严惟力副教授
杨业发教授
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
魏睦新教授
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
黄园教授
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
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
田文静副教授
田颖刚副研究员
王钦红教授
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
阴赅宏研究员
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
李晟磊副主任医师
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
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 ● 2010年6月8日 第18卷 第16期 (总第312期)

述 评

1631 TGF- β 1在肝纤维化研究中的新进展

党双锁, 李亚萍

基础 研究

1637 幽门螺杆菌长期感染诱发C57BL/6小鼠胃癌模型的建立及对血管新生的影响

李琦, 刘宁宁, 赵成根, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽

1643 骨髓间充质干细胞共培养对肝星状细胞增殖、凋亡和RohA表达的调控

陈国忠, 姜海行, 陆正峰, 肖健, 梁梓宇, 覃山羽

1650 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65在溃疡性结肠炎大鼠中的表达及乌梅丸的干预作用

梁丽, 范恒, 段雪云, 陈小艳, 张丽娟, 唐庆, 廖奕, 刘星星, 钟敏

临 床 研 究

1656 IL-10基因启动子区单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒感染后疾病转归的关系

刘娟娟, 高英堂, 杜智, 杨斌, 经翔, 王毅军, 王凤梅, 刘彤

1664 LMP2/LMP7基因多态性与乙型肝炎病毒感染结局的关系

施超, 刘黎, 钱燕华, 崔倩, 顾静, 董美华, 林玉娣, 喻荣彬

1669 Val384Asp错义突变在家族性胃癌患者中的检出及其致病分子机制

王德强, 周建农, 宋磊, 李苏平, 丁建华, 李金田, 马国建, 陈森清, 张晓梅

1676 肝细胞癌survivin表达与临床相关性

林辉, 何自力, 钟德珩

1682 肥大细胞和类胰蛋白酶在腹泻型肠易激综合征升结肠黏膜中的表达及意义

王承党, 郭朝书

文 献 综 述

1687 瘦素、脂联素在慢性肝病中的研究进展

张育先, 马红

1694 胆囊切除术后综合征的中医认识和治疗进展

孙飞, 彭海燕

研 究 快 报

1701 硒代甲硫氨酸对胃癌细胞蛋白表达谱的影响

辛林, 朱培谦, 曹家庆, 沈威

1705 十二指肠灌注生大黄对SD大鼠胰腺外分泌的影响

陈小燕, 闫峻, 裴继华

临 床 经 验

1708 山西省阳泉市表型不一致同胞对的食管癌调查

孙玉琳, 张金强, 毛永红, 韩丽芬, 马玉龙, 林正伟, 周兰萍, 吴昱, 赵晓航

1714 胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系

张贺军, 崔荣丽, 金珠

1717 二甲双胍治疗成年人非酒精性脂肪性肝病的荟萃分析

张智峰, 赵钢, 朱英, 王丽霞, 朱磊

1724 ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例

宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田宇彬, 张琪

1728 大网膜扭转的腹腔镜诊断与治疗4例

刘迪, 秦鸣放

病例报告	1731 腹茧症合并机械性肠梗阻1例 吕伟, 吉王明, 陈圣, 万葆冬
附录	1734 《世界华人消化杂志》投稿须知 1739 2010年国内国际会议预告
志 谢	1740 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1636 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1642 汤姆森-路透公布2008年WJG影响因子2.081 1649 《世界华人消化杂志》外文字符标准 1655 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》 1663 WJG成功通过评审被PMC收录 1668 《中国期刊引证报告(扩刊版)》发布《世界华人消化杂志》影响因子0.729 1681 《世界华人消化杂志》计量单位标准 1686 2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结 1693 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1713 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1716 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》 1723 《世界华人消化杂志》正文要求 1727 《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布《世界华人消化杂志》2008年影响因子0.547 1733 《世界华人消化杂志》出版流程
封面故事	李琦, 刘宁宁, 赵成根, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽. 幽门螺杆菌长期感染诱发C57BL/6小鼠胃癌模型的建立及对血管新生的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1637-1642 http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1637.asp
本期责任人	编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 何基才; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李军亮; 形式规范 马连生

世界华人消化杂志 Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊) 创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2010-06-08 原刊名 新消化病学杂志 名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮 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://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 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. 2010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 每册56.00元 全年2016.00元 广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

June 2010 Contents in Brief Volume 18 Number 16

EDITORIAL	1631 Advances in understanding the role of transforming growth factor- β 1 in the pathogenesis of liver fibrosis <i>Dang SS, Li YP</i>
BASIC RESEARCH	1637 Establishment of a mouse model of chronic <i>Helicobacter pylori</i> infection-induced gastric adenocarcinoma and investigation of the effect of <i>Helicobacter pylori</i> infection on angiogenesis <i>Li Q, Liu NN, Zhao CG, Zhou N, Wang Y, Sun J, Fan ZZ</i> 1643 Bone marrow mesenchymal stem cells modulate cell proliferation and apoptosis and RohA expression in rat hepatic stellate cells <i>Chen GZ, Jiang HX, Lu ZF, Xiao J, Liang ZY, Qin SY</i> 1650 Wumeiwan treatment alters the expression of β2AR, β-arrestin 2 and NF-κB p65 in rat ulcerative colitis <i>Liang L, Fan H, Duan XY, Chen XY, Zhang LJ, Tang Q, Liao Y, Liu XX, Zhong M</i>
CLINICAL RESEARCH	1656 Relationship between IL-10 gene promoter polymorphisms and outcome of hepatitis B virus infection <i>Liu JJ, Gao YT, Du Z, Yang B, Jing X, Wang YJ, Wang FM, Liu T</i> 1664 Association between LMP2/LMP7 gene polymorphisms and outcome of hepatitis B virus infection <i>Shi C, Liu L, Qian YH, Cui Q, Gu J, Dong MH, Lin YD, Yu RB</i> 1669 Genotype frequencies of the Val384Asp missense mutation in the hMLH1 gene in patients with familial gastric cancer <i>Wang DQ, Zhou JN, Song L, Li SP, Ding JH, Li JT, Ma GJ, Chen SQ, Zhang XM</i> 1676 Clinical significance of survivin expression in hepatocellular carcinoma <i>Lin H, He ZL, Zhong DW</i> 1682 Clinical significance of mast cell infiltration and tryptase expression in the colon of patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome <i>Wang CD, Guo CS</i>
REVIEW	1687 Advances in understanding the roles of leptin and adiponectin in the pathogenesis of chronic liver diseases <i>Zhang YX, Ma H</i> 1694 Advances in understanding and treatment of postcholecystectomy syndrome by Chinese medicine <i>Sun F, Peng HY</i>
RAPID COMMUNICATION	1701 Selenomethionine alters the protein expression profile of human gastric carcinoma AGS cells <i>Xin L, Zhu PQ, Cao JQ, Shen W</i> 1705 Effect of intraduodenal infusion of rhubarb on pancreatic exocrine secretion in Sprague-Dawley rats <i>Chen XY, Yan J, Pei JH</i>
CLINICAL PRACTICE	1708 Epidemiological study of risk factors for esophageal cancer in Yangquan Area of Shanxi Province based on discordant sib pairs <i>Sun YL, Zhang JQ, Mao YH, Han LF, Ma YL, Lin ZW, Zhou LP, Wu M, Zhao XH</i> 1714 Clinical characteristics of gastric bezoars and relationship between gastric bezoars and <i>Helicobacter pylori</i> infection: an analysis of 93 cases

	<i>Zhang HJ, Cui RL, Jin Z</i> 1717 Efficacy of metformin in the treatment of adult nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis <i>Zhang ZF, Zhao G, Zhu Y, Wang LX, Zhu L</i> 1724 Efficacy of ENBD in the prevention of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia in patients with common bile duct stones: an analysis of 65 cases <i>Song LY, Zhao QX, Kong XJ, Tian ZB, Zhang Q</i> 1728 Laparoscopic diagnosis and treatment of torsion of the omentum: a report of 4 cases <i>Liu D, Qin MF</i>
CASE REPORT	1731 A case report of abdominal cocoon with mechanical intestinal obstruction <i>Lv W, Ji WM, Chen S, Wan BD</i>
APPENDIX	1734 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology 1739 Meeting events calendar in 2010
ACKNOWLEDGMENT	1740 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<i>Li Q, Liu NN, Zhao CG, Zhou N, Wang Y, Sun J, Fan ZZ.</i> Establishment of a mouse model of chronic <i>Helicobacter pylori</i> infection-induced gastric adenocarcinoma and investigation of the effect of <i>Helicobacter pylori</i> infection on angiogenesis. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2010; 18(16): 1637-1642 http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1637.asp
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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 June 8, 2010

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: wjcd@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: wjcd@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: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue
RMB 2016 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2010 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 © 2010 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

TGF- β 1在肝纤维化研究中的新进展

党双锁, 李亚萍

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

党双锁, 教授, 博士生导师, 主要从事病毒性肝脏疾病的临床和基础研究.

陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项基金资助项目, No. 2009ZDKG-68

作者贡献分布: 本文综述由党双锁与李亚萍完成; 党双锁审校.

通讯作者: 党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科. dang212@126.com

电话: 029-83036998 传真: 029-87679688

收稿日期: 2010-05-07 修回日期: 2010-05-21

接受日期: 2010-06-03 在线出版日期: 2010-06-08

Advances in understanding the role of transforming growth factor- β 1 in the pathogenesis of liver fibrosis

Shuang-Suo Dang, Ya-Ping Li

Shuang-Suo Dang, Ya-Ping Li, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of School of Medicine of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Supported by: the Special Fund for "13115" Major Scientific and Technological Innovation Project of Shaanxi Province, No. 2009ZDKG-68

Correspondence to: Professor Shuang-Suo Dang, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of School of Medicine of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China. dang212@126.com

Received: 2010-05-07 Revised: 2010-05-21

Accepted: 2010-06-03 Published online: 2010-06-08

Abstract

Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) is one of the most important cytokines leading to liver fibrosis and is most closely to the development and progression of liver fibrosis and extracellular matrix (ECM) metabolism. Numerous studies have demonstrated that TGF- β 1 plays a significant role in the occurrence, development and progression of liver fibrosis. Many therapeutic approaches targeting TGF- β 1, especially gene therapy and immunotherapy, have been proposed to treat hepatic fibrosis in recent years. Here, we will review the recent advances in understanding the role of TGF- β 1 in the pathogenesis of liver fibrosis.

Key Words: Transforming growth factor- β 1; Liver

fibrosis; Hepatic stellate cells; Gene therapy

Dang SS, Li YP. Advances in understanding the role of transforming growth factor- β 1 in the pathogenesis of liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1631-1636

摘要

转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β 1)是肝纤维化最关键的细胞因子, 他与肝纤维化发生发展、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)代谢关系最为密切. 学者们在肝纤维化疾病的大量研究中证明了TGF- β 1在肝纤维化形成、发生及发展中有着重要的作用, 而且近年来提出了针对干预TGF- β 1的抗肝纤维化治疗新途径, 在基因治疗及免疫治疗的研究方面取得可喜的进展. 本文简要总结了国内外学者关于肝纤维化中TGF- β 1的作用及其为靶点的药物开发新进展.

关键词: 转化生长因子 β 1; 肝纤维化; 肝星状细胞; 基因治疗

党双锁, 李亚萍. TGF- β 1在肝纤维化研究中的新进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(16): 1631-1636

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1631.asp>

0 引言

肝纤维化是肝脏持续损伤组织发生、修复反应时因细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成降解与沉积不平衡而引起的病理过程, 是慢性肝病的病理特征, 也是进一步向肝硬化发展的主要环节. TGF- β 1是介导肝损伤及纤维化的最关键的细胞因子. 因此, 探讨TGF- β 1在肝纤维化形成、发生及发展中的具体机制, 对于未来更有效、安全的以TGF- β 1为靶目标治疗肝纤维化的意义重大, 其研究结果将为肝纤维化的防治延缓或停止肝病的发生病理进程提供科学依据.

1 肝纤维化与TGF- β 1

1.1 肝纤维化形成的机制 纤维化是指体内各种组织的过度增长、硬化、瘢痕形成, 可以归因

■背景资料

TGF- β 1是介导肝损伤及纤维化的最关键的细胞因子. 因此, 探讨TGF- β 1在肝纤维化形成、发生及发展中的具体机制, 对于未来更有效、安全的以TGF- β 1为靶目标治疗肝纤维化的意义重大, 其研究结果将为肝纤维化的防治延缓或停止肝病的发生病理进程提供科学依据.

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

■研发前沿

通过消除纤维化发展过程中病变组织产生的过多TGF- β 1来预防或阻断纤维化的发展已成为纤维化防治研究的最新热点。

于体内ECM主要是胶原蛋白的过度沉积。纤维化疾病中常见疾病之一就是肝纤维化^[1]。肝纤维化是指肝脏内纤维性结缔组织的大量异常增生,是一种“创伤愈合”的慢性渐进的病理过程。

肝纤维化常见的原因是由于乙醇、缺血、寄生虫、HBV和HCV病毒感染、自体免疫攻击、非酒精性脂肪肝疾病、药物治疗,以及肝毒素等因素诱发肝细胞损伤,导致肝Kupffer细胞、肝窦状内皮细胞、肝成纤维细胞等其他类型肝细胞以及迁移的炎性细胞活化并释放大量的细胞因子和可溶因子,与此同时这些因子导致肝星状细胞(hepatocellular stellate cell, HSC)或肝成纤维细胞(myofibroblasts, MFB)活化、分化与增殖,合成大量ECM,并逐渐沉积从而引起肝纤维化^[2-5]。肝细胞、炎性细胞以及细胞因子之间相互影响并且形成一个复杂的网络结构。随着肝细胞的慢性损伤和纤维化,肝脏的结构和新陈代谢受到严重破坏,最终会导致肝硬化甚至肝癌,对人类的健康和生命具有极大的威胁。因此,了解肝纤维化疾病发生发展过程中的最重要的细胞因子TGF- β 1的动态变化及作用,对于阐释肝纤维化疾病的发生机制及治疗具有重要意义。

1.2 TGF- β 1的提出及生物学作用 TGF- β 1属TGF β 超家族,由Derynck于1978年从小鼠肉瘤病毒转化的3T3细胞无血清培养液中分离得到的,由于能使正常成纤维细胞的表现类型发生转换,故由Moses等于1981年命名为转化生长因子 β 1。TGF β 超家族包括三种亚型TGF- β 1-3,他们在活体外有相同的功能,活体内的生物学功能却不相同,TGF- β 1在组织器官的创伤愈合及纤维病变中有着重要的作用^[1,6]。

TGF- β 1具有多重的生物学作用,主要涉及生命的各种进程及多种细胞反应,包括细胞发育、生长、分化、凋亡、细胞黏附、迁移、ECM的沉着、免疫应答以及调节ECM蛋白的生成及降解。

2 TGF- β 1与肝纤维化的关系

肝纤维化发病过程中,HSC的活化增殖是核心环节。在参与调控活化的因素中,细胞因子具有重要作用,他们之间相互影响,并与HSC、ECM之间相互作用,共同构成网络状调控网络,其中包括TGF- β 1、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、成纤维生长因子

(fibroblast growth factor, FGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor1, IGF-1)、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)等。但是,TGF- β 1是提高肝纤维化最有效的细胞因子,能够抑制肝细胞的增殖,激发HSC的活化,促进ECM的产生,并调节肝细胞的凋亡。

研究表明,TGF- β 1水平在有病变的组织器官中会大大提高,尤其是在纤维病变的区域;外源性TGF- β 1若用于实验动物就会导致组织器官的纤维化发生以及细胞的ECM的过量沉积;实验性抗TGF- β 1的治疗,包括中和抗体、可溶的II型受体、反义寡核苷酸、小分子抑制剂以及RNA干扰均能够抑制纤维化的形成。因此,证明了转化生长因子TGF- β 1是调控肝纤维化发生发展的核心物质,二者关系密切^[7]。

3 TGF- β 1在肝纤维化发生发展中的作用

3.1 TGF- β 1的产生及活化 当肝细胞受到各种病因损伤刺激后,导致肝Kupffer细胞、肝窦状内皮细胞、肝成纤维细胞等其他类型肝细胞以及迁移的炎性细胞活化并释放大量的细胞因子和可溶因子,其中释放的细胞因子TGF- β 1在肝纤维化发生发展中有着关键的作用,主要存在于肝脏HSC、窦内皮细胞及纤维化附近的炎性细胞中^[2]。炎性细胞释放细胞因子TGF- β 1不是通过他的转录水平调节其生成,而是通过分泌和活化途径生成的^[1]。

TGF- β 1的激活主要是受其前体潜在相关肽(latency-associated peptide, LAP)调节的^[8]。TGF- β 1是一种同源二聚体潜在相关肽,其活化主要是由于在高尔基体氨基末端的蛋白LAP的切割,使其以活化的形式分泌;TGF- β 1的活化过程是可以逆转的,若活化的TGF- β 1重新结合为LAP,则可以使成熟的具有活性的TGF- β 1转变为潜伏形式。研究证明,LAP具有以下功能,第一LAP抑制HSC/MFB的活化增殖,通过PDGF的分泌被抑制来介导;第二,LAP通过TGF- β 1的失活和生成受到抑制来干扰肝纤维化反应;第三,LAP通过TGF- β 1分泌的中断可以逆转MFB成为HSC,目前机制尚不清楚。因此,MFB细胞中的LAP的过表达可以导致HSC表型的转化,从而抑制肝纤维化的形成。

3.2 TGF- β 1促进HSC转分化为肝成纤维细胞 肝

纤维化形成的过程是一个具有活性的生物学进程. HSC是一种树突状的肝周细胞, 位于肝脏窦周间隙, 细胞形态不规则, 常伸出一些29-30 μm 长度的细胞微突包绕肝窦并穿过肝细胞直达毗邻的肝窦细胞与其接触. HSC在生理状态下处于静息状态, 可以分泌一些细胞因子, 如肝细胞生长因子、上皮生长因子等, 他们在维持肝脏结构及正常功能等方面发挥作用. 当肝细胞受到各种病因损伤刺激后, HSC表型发生变化进而影响其功能发生改变, 如细胞增殖、转化MFB、ECM大量合成等.

HSC是肝纤维化形成过程中最关键的细胞, 正常静息状态的下的HSC活化并分化为MFB是肝纤维化发生发展的中心环节. 目前研究表明, HSC活化并分化为MFB, 可以用“三级级联反应”解释^[2]: 第一步是前期炎症阶段, 各种损伤因素导致肝细胞损伤后, 凋亡或坏死的肝细胞释放多种丝裂原样物质, 始动激活HSC转化为MFB(直接旁分泌通路); 第二步是炎症阶段, 肝损伤导致肝内炎症细胞主要是活化的巨噬细胞以及血小板分泌大量细胞因子如TGF- β 1、TNF- α 、EGF、PDGF等, 进一步刺激HSC活化转化为MFB(旁分泌活化通路); 第三步是炎症后阶段, MFB及HSC在转化中可以分泌TGF- β 1、TNF- α 等因子, 促进自身进一步活化(自分泌活化通路), 在炎症后阶段即使去除原来的肝损伤因素, 也足以持续肝纤维化形成过程, 他是重要的、可能永存的阶段. 因此, TGF- β 1对HSC的激活、转化、分化及调节具有极其重要的作用, 是最强的促HSC纤维化生成因子.

3.3 TGF- β 1与ECM的关系

3.3.1 TGF- β 1/Smad信号传导通路调节ECM: 转化生长因子TGF- β 1是提高肝纤维化最有效的细胞因子, 通过促进ECM的产生及沉积, 而引起肝纤维化, 其中TGF- β 1/Smad信号传导通路调节ECM的基因表达是促进ECM生成的重要途径^[1,7,9,10]. TGF- β 的受体包括两种, 分别是单次跨膜蛋白激酶受体 I 和 II (TRB I 和 TRB II), 当TGF- β 与受体结合时, TRB I 和 TRB II 受体得以活化, 活化的受体催化一类重要的信号分子Smad发生丝氨酸磷酸化, 磷酸化的Smad分子形成同源寡聚体后进入细胞核, 结合转录因子, 调节ECM的基因转录子的表达, 促进ECM的过量生成及沉积, 导致肝纤维化的发生. 研究表明, TGF- β 1是一种分泌性同源二聚体蛋白质, 参与细胞发育、增殖、分化、凋亡等多种

细胞反应, 参与并起始TbR II-ALK5-Smad2/3及TbR II-ALK1-Smad1/5信号传导通路^[7]. TGF- β 1结合TRBI(ALK1和ALK5), 活化的ALK5催化Smad2/3蛋白质分子发生磷酸化, 调节目标基因主要是胶原蛋白、金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)、ECM基因的转录及表达; 活化的ALK1催化Smad1/5蛋白质分子发生磷酸化, 调节原癌基因的转录及表达. 因此, TGF- β 1就是通过TGF- β 1/Smad信号传导通路调节ECM基因的表达, 促进其过量合成并沉积于肝细胞, 导致肝纤维化的发生.

3.3.2 TGF- β 1通过下调MMPs和上调TIMPs调节ECM: TGF- β 1一方面可以促进ECM的基因激活转录并高表达, 另一方面还可以通过下调基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和上调TIMPs降低ECM的降解, 更进一步加重肝纤维化的发生加发展^[11,12,14]. 组织的改变常常受蛋白酶、蛋白酶抑制剂、生长因子调节. 正常生理情况下, ECM的合成和降解保持动态平衡状态, 基质的降解受MMPs和纤溶酶的调节.

MMPs是一簇锌依赖性蛋白酶, 主要功能是降解ECM, 在生理病理过程中有着重要的作用. MMPs的活性主要受三方面调节, 一是表达水平的调节, 研究证明MMPs的转录表达水平受细胞因子及生长因子调节, 如TGF- β 1通过P38MAPK和PI3途径可以下调MMP13的表达, 相反成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、结缔组织生长因子等可以上调MMPs的表达^[13]; 二是蛋白质间相互作用水平的调节, TIMPs对MMPs活性的调节具有关键性的作用, TIMPs是MMPs的内源性抑制因子^[11-14]; 三是酶原活化过程的调节, 肝脏和肾脏产生纤溶酶原后经血液循环到达组织, 激活成为纤溶酶, 其可以降解纤维蛋白、胶原蛋白等大量ECM成分并激活MMPs.

肝纤维化的发生是由于ECM的合成和降解失衡造成的, 最终结果是ECM合成过多, 更大程度上是由于后期降解的减少导致的, MMPs与TIMPs共同参与了肝纤维化形成和降解的过程. 肝纤维化的进程中, 活化的HSC是产生胶原蛋白 I, III和TIMP1的关键来源, 同时活化的HSC分泌大量的TGF- β 1, 可以上调TIMP1的基因表达同时下调MMPs的表达, 从而引起MMPs/TIMPs的失衡, 引起ECM合成与降解的失衡, 从而导致肝纤维化的形成. 因此, TGF- β 1在调节MMPs与TIMPs的过程中有着关键性的作用.

■相关报道

Ueno等构建了一种能表达装配在人免疫球蛋白Fc段的TGF- β II型受体的重组腺病毒载体, 然后将其转染到经DMN处理过的大鼠肾大肌细胞中, 在血液中可测得可溶性受体分子片段的表达, 其与TGF- β 1竞争性结合, 阻断TGF- β 1的生物学活性, 并且抑制肝中TGF- β 1信号得传导, 明显改善纤维化症状, 并且没有不良反应.

■同行评价

本文综述了TGF- β 1在肝纤维化形成、发生及发展中的重要作用,内容丰富,条理清晰,可读性强。

3.4 TGF- β 1与肾素血管紧张素醛固酮系统调节肝纤维化的关系 肾素血管紧张素醛固酮系统在心肌纤维化、心肌细胞肥大、肺纤维化、糖尿病等有着重要的作用^[14,16,17],与此同时,血管紧张素II(angiotensin II, ANG II)在肝纤维化的发生发展中也有着重要的作用^[1,15]。研究表明,当肝细胞受到损伤因素刺激后,肝脏的巨噬细胞及成纤维细胞活化并产生ANG II,同时ANG II通过产生诱导作用的NADPH还原酶活化而发挥作用,刺激TGF- β 1的合成与分泌,并触发成纤维细胞增殖、分化为胶原分泌型成肌纤维细胞及纤维化形成; ANG II可以通过增加Smad2水平增强TGF- β 1信号转导通路,促进肝纤维化的形成^[1]; ANG II能够增加HSC的DNA合成和细胞增殖,刺激HSC收缩呈剂量时间依赖性,并促进其增殖,是HSC的分裂原之一^[15]。

4 TGF- β 1在抗肝纤维化治疗中的新进展

近年来,越来越多的研究已经提出以TGF- β 1为靶目标抗肝纤维化。通过消除纤维化发展过程中病变组织产生的过多TGF- β 1来预防或阻断纤维化的发展已成为纤维化防治研究的最新热点^[1-5,13,18,19]。

根据TGF- β 1在肝纤维化的发生发展分子病理机制中,针对其治疗,可分为以下几种:一是抑制活化的TGF- β 1活性,活化的TGF- β 1重新结合LAP,则可以使成熟的具有活性的TGF- β 1转变为潜伏形式,同时MFB细胞中的LAP的过表达可以导致HSC表型的转化,从而抑制肝纤维化的形成, Isono等^[8]研究结果证实了这点,通过用过量表达LAP的重组腺病毒感染肝纤维化小鼠建立的MFBY2明显抑制了TGF- β 1和ECM机制的表达;二是利用ANG II拮抗剂抑制TGF- β 1产生及分泌,并且抑制HSC的增殖, Liu等^[15]通过给予ANG II和ANG II拮抗剂(AT1RA)研究HSC-T6细胞系的增殖、收缩、胶原合成,结果表明ANG II能够增加HSC的合成与增殖并且刺激收缩HSC,同时促进分泌TIMP-1、胶原蛋白I、III和TGF- β 1;三是白介素-10、肝细胞生长因子、干扰素(γ -IFN)在体内外临床试验中均已证实具有潜在的抗肝纤维化细胞因子;四是针对TGF- β 1的基因治疗,随着基础研究的飞速进展,肝纤维化的基因治疗显示出令人鼓舞的前景,基因疗法目前在动物体内已经取得了初步成功。Ueno等构建了一种能表达装配在人免疫球蛋白Fc段的TGF- β II型受体的重组腺病

毒载体,然后将其转染到经DMN处理过的大鼠臀大肌细胞中,在血液中可测得可溶性受体分子片段的表达,其与TGF- β 1竞争性结合,阻断TGF- β 1的生物学活性,并且抑制肝脏TGF- β 1信号的传导,明显改善纤维化症状,并且没有不良反应。Jiang等^[20]也证明了这点,通过给予反义TBR I、TBR II重组质粒以敲除其基因从而达到了逆转肝纤维化的目的。Xu等^[21]通过TGF- β 1小RNA干扰(siRNA)技术研究刀豆蛋白A诱导的肝纤维化小鼠,实验中针对TGF- β 1的三个氨基酸序列(N19-21)设计shRNA(小发夹结构RNAi)靶点序列,然后将其重组并克隆到表达载体pGenesil-1质粒中,获得三组重组表达载体pGenesil-TGF- β 1-m1、pGenesil-TGF- β 1-m2、pGenesil-TGF- β 1-m3,分别经尾静脉注射小鼠,结果表明TGF- β 1、Smad3和 α -SMA表达下调,Smad7表达上调,明显抑制了肝纤维化的发展; Cheng等^[22]也证明了这点,通过在HSC-T6细胞模型水平上用TGF- β 1基因沉默的方法显著地降低了TGF- β 1、TIMP-1的表达,甚至有效降低了炎症因子TNF- α 、IL-1的水平,从而明显达到防治肝纤维化的目的。Guo等^[23-25]利用基因免疫的方法已经成功构建人TGF- β 1抗原决定簇与乙型核心抗原融合肽苗,并且对小鼠进行免疫后能够检测到高效价的抗TGF- β 1的中和抗体,充分证明具有TGF- β 1抗原性,并且应用ELISA法检测小鼠免疫血清抗体滴度,抗TGF- β 1及抗-HBcAg最终稀释抗体滴度分别为(1:2.56) $\times$ 10⁵和低于(1:1) $\times$ 10⁴;免疫血清可阻断TGF- β 1对貂肺上皮细胞的抑制活性; lng TGF- β 1加入1:100及1:200的免疫血清后抑制率分别下降到14.6%, 20.9%,与对照组相比(抑制率为72%)有显著差异。由此可见, TGF- β 1-HBcAg融合疫苗刺激机体产生抗体,中和自体产生的过量TGF- β 1,能够很好地改善纤维化症状,抗肝纤维化融合肽苗尽管在动物实验中很有效,但在临床应用中有待于进一步深入研究。

总之,针对TGF- β 1的治疗主要是给予其对抗物,包括中和抗体、可溶性TBR II受体、小分子抑制剂以及siRNA的应用均已证实明显抑制TGF- β 1。但是否可以长期使用TGF- β 1对抗物尚未明确证实,尽管Kang等^[26]研究证实TBR II对抗物长期使用可以预防纤维化,但是在临床试验中必须重视其不良反应,长期使用很可能会导致自身免疫性疾病以及加重炎症、肿瘤的发生,从而造成肝脏及其他器官的损害^[27,28]。目前,

又有学者提出利用基因治疗方法敲除TGF- β 1信号传导通路中的关键分子Smad3, 将会达到理想的抗肝纤维化作用而且不良反应很小^[29-32], 因此, 利用基因治疗的技术针对TGF- β 1过度表达、活性的调节及信号转导通路的阻断将会存在重要的潜在临床价值。

5 结论

只要能够减缓或阻止肝纤维化的发生, 就可以减轻或治愈肝脏损伤病理进程, 正是基于此, TGF- β 1在肝纤维化形成机制及治疗中的研究方兴未艾。TGF- β 1在肝纤维化中所起的核心作用, TGF- β 1与ECM代谢的关系, TGF- β 1与ANG II调节肝纤维化的关系已经引起学者的广泛关注及深入研究; 并且随着其在分子生物学及免疫学的研究, 通过基因疗法阻断TGF- β 1信号传导、抑制TGF- β 1表达, 利用融合疫苗中和TGF- β 1的治疗方法将会为肝纤维化的防治作出新的贡献, 其所具有的潜在的临床价值均需进一步进行研究和评定。因此, TGF- β 1在肝纤维化中的机制及治疗研究中将会给未来的临床提供一个很有吸引力的诊断依据和治疗思路。然而, 肝纤维化是一复杂、多因素参与的过程, 基因调控也是一个精密、庞大、复杂的生物调控系统, 面对这些问题, 现有的生物技术方法存在限制, 但是, 我们相信随着基础研究的日益发展, TGF- β 1引起肝纤维化的具体机制将得到更深入的探讨, 在不久的将来, 以TGF- β 1为靶目标的抗肝纤维化治疗将会开拓出新的途径, 而且将会成为基本的临床概念。

6 参考文献

- Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008; 214: 199-210
- Gressner OA, Rizk MS, Kovalenko E, Weiskirchen R, Gressner AM. Changing the pathogenetic roadmap of liver fibrosis? Where did it start; where will it go? *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1024-1035
- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172
- Battaller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218
- Le Bousse-Kerdilès MC, Martyré MC, Samson M. Cellular and molecular mechanisms underlying bone marrow and liver fibrosis: a review. *Eur Cytokine Netw* 2008; 19: 69-80
- Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-beta in T-cell biology. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 46-53
- Liu X, Hu H, Yin JQ. Therapeutic strategies against TGF-beta signaling pathway in hepatic fibrosis. *Liver Int* 2006; 26: 8-22
- Isono M, Soda M, Inoue A, Akiyoshi H, Sato K. Reverse transformation of hepatic myofibroblast-like cells by TGFbeta1/LAP. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 959-965
- Roberts AB, Russo A, Felici A, Flanders KC. Smad3: a key player in pathogenetic mechanisms dependent on TGF-beta. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 995: 1-10
- Cutroneo KR. TGF-beta-induced fibrosis and SMAD signaling: oligo decoys as natural therapeutics for inhibition of tissue fibrosis and scarring. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S54-S60
- Hemmann S, Graf J, Roderfeld M, Roeb E. Expression of MMPs and TIMPs in liver fibrosis - a systematic review with special emphasis on anti-fibrotic strategies. *J Hepatol* 2007; 46: 955-975
- Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 55-71
- Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60
- Pan CH, Wen CH, Lin CS. Interplay of angiotensin II and angiotensin(1-7) in the regulation of matrix metalloproteinases of human cardiocytes. *Exp Physiol* 2008; 93: 599-612
- Liu J, Gong H, Zhang ZT, Wang Y. Effect of angiotensin II and angiotensin II type 1 receptor antagonist on the proliferation, contraction and collagen synthesis in rat hepatic stellate cells. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 161-165
- Schröder D, Heger J, Piper HM, Euler G. Angiotensin II stimulates apoptosis via TGF-beta1 signaling in ventricular cardiomyocytes of rat. *J Mol Med* 2006; 84: 975-983
- El-mesallamy HO, Gad MZ, Sallam AM. The association of TGF- β 1, angiotensin II and oxidative stress with diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Int J Diabetes Metabolism* 2008; 16: 63-68
- Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: d69-d77
- Inagaki Y, Okazaki I. Emerging insights into Transforming growth factor beta Smad signal in hepatic fibrogenesis. *Gut* 2007; 56: 284-292
- Jiang W, Yang CQ, Liu WB, Wang YQ, He BM, Wang JY. Blockage of transforming growth factor beta receptors prevents progression of pig serum-induced rat liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1634-1638
- Xu W, Wang LW, Shi JZ, Gong ZJ. Effects of RNA interference targeting transforming growth factor-beta 1 on immune hepatic fibrosis induced by Concanavalin A in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 300-308
- Cheng K, Yang N, Mahato RI. TGF-beta1 gene silencing for treating liver fibrosis. *Mol Pharm* 2009; 6: 772-779
- Guo YH, Luo JY, Hao ZM, Wang QY, Yang GX. [Fusion of TGF-beta 1 antigenic determinant and HBV core antigen as an anti-TGF-beta 1 vaccine] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2005; 13: 582-585
- Guo YH, Hao ZM, Luo JY, Wang JH. [Detecting the activity of antibodies induced by recombinant TGFbeta1 vaccine] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2006; 14: 183-186
- Guo YH, Hao ZM, Luo JY, Wang JH. Construction of prokaryotic expression system of TGF-beta1 epitope gene and identification of recombinant

- fusion protein immunity. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6389-6394
- 26 Kang Y, Hebron H, Ozbun L, Mariano J, Minoo P, Jakowlew SB. Nkx2.1 transcription factor in lung cells and a transforming growth factor- β 1 heterozygous mouse model of lung carcinogenesis. *Mol Carcinogen* 2004; 40: 212-231
- 27 Monteleone G, Kumberova A, Croft NM, McKenzie C, Steer HW, MacDonald TT. Blocking Smad7 restores TGF- β 1 signaling in chronic inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 2001; 108: 601-609
- 28 Herrera B, Alvarez AM, Sánchez A, Fernández M, Roncero C, Benito M, Fabregat I. Reactive oxygen species (ROS) mediates the mitochondrial-dependent apoptosis induced by transforming growth factor (beta) in fetal hepatocytes. *FASEB J* 2001; 15: 741-751
- 29 Bonniaud P, Kolb M, Galt T, Robertson J, Robbins C, Stampfli M, Lavery C, Margetts PJ, Roberts AB, Gauldie J. Smad3 null mice develop airspace enlargement and are resistant to TGF- β -mediated pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2004; 173: 2099-2108
- 30 Inazaki K, Kanamaru Y, Kojima Y, Sueyoshi N, Okumura K, Kaneko K, Yamashiro Y, Ogawa H, Nakao A. Smad3 deficiency attenuates renal fibrosis, inflammation, and apoptosis after unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 2004; 66: 597-604
- 31 Lakos G, Takagawa S, Chen SJ, Ferreira AM, Han G, Masuda K, Wang XJ, DiPietro LA, Varga J. Targeted disruption of TGF- β /Smad3 signaling modulates skin fibrosis in a mouse model of scleroderma. *Am J Pathol* 2004; 165: 203-217
- 32 Stramer BM, Austin JS, Roberts AB, Fini ME. Selective reduction of fibrotic markers in repairing corneas of mice deficient in Smad3. *J Cell Physiol* 2005; 203: 226-232

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

幽门螺杆菌长期感染诱发C57BL/6小鼠胃癌模型的建立及对血管新生的影响

李琦, 刘宁宁, 赵成根, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽

李琦, 刘宁宁, 赵成根, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽, 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科 上海市 200062

李琦, 副教授, 副主任医师, 主要从事中西医结合防治肿瘤的临床及基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30600844

上海市普陀区科技创新重大基金资助项目No. 2009-37-2

上海市教委预算内科研基金资助项目, No. 09JW44

上海市重点学科基金资助项目, No. S30302

作者贡献分布: 李琦与范忠泽对此文所作贡献均等; 本课题由李琦与范忠泽设计; 研究过程由刘宁宁、赵成根、周宁及李琦共同完成; 研究所用试剂及分析工具由李琦与范忠泽提供; 结果与数据分析由赵成根、王炎及孙珏完成; 论文写作由刘宁宁与李琦共同完成。

通讯作者: 范忠泽, 教授, 主任医师, 200062, 上海市兰溪路164号, 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科。lzwf@hotmail.com
电话: 021-62572723-4308 传真: 021-62161216

收稿日期: 2010-03-09 修回日期: 2010-04-29

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Establishment of a mouse model of chronic *Helicobacter pylori* infection-induced gastric adenocarcinoma and investigation of the effect of *Helicobacter pylori* infection on angiogenesis

Qi Li, Ning-Ning Liu, Cheng-Gen Zhao, Ning Zhou, Yan Wang, Jue Sun, Zhong-Ze Fan

Qi Li, Ning-Ning Liu, Cheng-Gen Zhao, Ning Zhou, Yan Wang, Jue Sun, Zhong-Ze Fan, Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30600844; the Scientific and Technological Innovation Project of Putuo District Science and Technology Commission of Shanghai, No. 2009-37-2; the Research Project of Shanghai Municipal Education Commission, No. 09JW44; and the Shanghai Leading Academic Discipline Project, No. S30302

Correspondence to: Professor Zhong-Ze Fan, Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 164 Lanxi Road, Shanghai 200062, China. lzwf@hotmail.com

Received: 2010-03-09 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To investigate the carcinogenicity of long-term *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection in C57BL/6 mice and to investigate the role of

angiogenesis in the pathogenesis of *H.pylori* infection-induced gastric cancer.

METHODS: Eighty male C57BL/6 mice of SPF grade were equally and randomly divided into normal group and model group. The normal group was fed normally, while the model group was inoculated by oral gavage with *H.pylori* SS1. Mice were sacrificed at weeks 10, 25, 45 and 72 after the last inoculation. *H.pylori* infection was analyzed by rapid urease test and Giemsa staining. The pathological changes in the gastric mucosa of mice were assessed by hematoxylin-eosin staining. Microvessel density (MVD) was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: No *H.pylori* infection was detected in the gastric antrum, gastric body and duodenal mucosa in the normal group. The rates of *H.pylori* colonization were 88.9%, 100%, 100% and 100% at weeks 10, 25, 45 and 72 in the model group. At week 72, the incidence rates of chronic gastritis, atrophic gastritis, intestinal metaplasia, dysplasia and gastric cancer were 100%, 88.9%, 77.8%, 33.3% and 22.2% in the model group, respectively. The MVD in the gastric mucosa in the model group was 18.56 ± 2.62 , significantly higher than that in the normal group ($P < 0.01$).

CONCLUSION: A mouse model of chronic *H.pylori* infection-induced gastric adenocarcinoma has been established successfully. *H.pylori* infection can increase the MVD in the gastric mucosa in C57BL/6 mice and therefore play an important role in the development of gastric cancer.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Mouse model; Gastric cancer; Microvessel density

Li Q, Liu NN, Zhao CG, Zhou N, Wang Y, Sun J, Fan ZZ. Establishment of a mouse model of chronic *Helicobacter pylori* infection-induced gastric adenocarcinoma and investigation of the effect of *Helicobacter pylori* infection on angiogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1637-1642

■背景资料

幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染是胃癌重要致病因素, 1994年国际癌症研究机构宣布*H.pylori*是人类胃癌的I类致癌原, 但还缺乏直接证据, 其引起胃癌的确切机制尚不清楚。实验方面,*H.pylori*感染小鼠直接诱发胃癌的报道较少, 且观点不一。

■同行评议者

刘改芳, 主任医师, 河北医科大学第三医院消化内科

■研发前沿

建立稳定的*H.pylori*感染诱发胃癌的动物模型,明确*H.pylori*感染诱发胃癌的机制,是目前研究的热点。

摘要

目的: 研究*H.pylori*长期感染C57BL/6小鼠致胃黏膜病变及其致癌性,并从血管新生的角度探讨*H.pylori*感染致胃癌发生的可能机制。

方法: 将80只SPF级C57BL/6小鼠随机分为正常组和模型组,每组40只。正常组正常饲养,模型组经口直接灌服*H.pylori*标准株SS1,距末次灌胃后10 wk、25 wk、45 wk、72 wk分4批处死,每批每组各处死10只小鼠。快速尿素酶试验、Giemsa染色法观察*H.pylori*在胃黏膜的定植情况,HE染色观察小鼠胃黏膜病理变化,免疫组织化学法观察微血管密度(microvessel density, MVD)的变化。

结果: 正常组动物的胃窦、胃体及十二指肠黏膜的尿素酶实验、Giemsa染色结果均呈阴性,在末次接种*H.pylori*后第10周、第25周、第45周、第72周,模型组*H.pylori*的定植率分别为88.9%、100%、100%、100%;72 wk时,模型组慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生、异型增生和胃癌的发生率分别为100%, 88.9%, 77.8%, 33.3%和22.2%,胃黏膜组织中MVD为 18.56 ± 2.62 ,较正常组(2.50 ± 1.54)明显升高($P < 0.01$)。

结论: 成功建立了*H.pylori*长期感染诱发C57BL/6小鼠胃癌模型,且*H.pylori*可增加小鼠胃黏膜MVD,可能在胃黏膜的癌变中发挥作用。

关键词: 幽门螺杆菌; 动物模型; 胃癌; 微血管密度

李琦, 刘宁宁, 赵成根, 周宁, 王炎, 孙珏, 范忠泽. 幽门螺杆菌长期感染诱发C57BL/6小鼠胃癌模型的建立及对血管新生的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1637-1642
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1637.asp>

0 引言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,其发病率居恶性肿瘤的第2位,死亡率居恶性肿瘤的首位^[1]。*H.pylori*感染与胃癌的发病密切相关,已成为国内外研究的热点^[2-5],单独用*H.pylori*感染诱发胃癌的报道较少,而且实验结论不一,重复性差,如能建立稳定的*H.pylori*长期感染诱发胃癌的动物模型,将有助于揭示*H.pylori*感染致胃癌的机制,并为胃癌的防治提供可靠的研究模型。有研究表明,血管生成与胃癌的发生发展关系密切,但其在*H.pylori*感染致癌中的作用尚不明确。本实验旨在研究*H.pylori*长期感染C57BL/6小鼠致胃黏膜病变及其致癌性并从血管新生的角度探

讨*H.pylori*感染致胃癌发生的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 *H.pylori*悉尼株(Sydney Strain 1, *H.pylori* SS1), 含有vacA和cagA基因, 购自上海交通大学附属仁济医院消化病研究所; 无特殊病原菌(SPF)C57BL/6小鼠80只, 6-8周龄, ♀, 体质量20-30 g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司[生产许可证号为SCXK(沪)2003-0002], 饲养于上海中医药大学附属普陀医院动物房[动物实验室许可证号SYXK(沪)2005-0008]; 哥伦比亚琼脂培养基, 英国Oxoid公司; 革兰氏染色试剂盒, 四川迈克科技有限公司; *H.pylori*测定试剂盒(尿素酶法), 珠海丽珠试剂有限公司; 兔抗鼠CD34多克隆抗体, 武汉博士德公司; EnVision试剂(HRP)即用型, 丹麦Dako公司; 二氨基联苯胺盐酸盐(DAB), 美国Sigma公司. RM2145型切片机, 德国Leico公司; 三气培养箱, 美国Napco公司。

1.2 方法

1.2.1 *H.pylori*培养: 取出冻存的*H.pylori* SS1菌株菌株, 在生物安全柜内, 接种3-5环菌液于哥伦比亚血琼脂培养基上连续划线接种, 接种的平皿放入三气培养箱中(50 mL/L O_2 , 100 mL/L CO_2 , 850 mL/L N_2), 湿度保持90%以上, 培养72 h。

1.2.2 *H.pylori*感染小鼠动物模型的制作: 将80只小鼠随机分成2组(正常组、模型组), 每组40只。将*H.pylori*菌落用接种环刮下, 经涂片鉴定后, 混悬于PBS中, 分光光度计测定菌液浓度, 当 $A_{660} = 1$ 时, 细菌浓度为 $1 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$ (colony-forming unites), 用PBS将细菌浓度调至 $1 \times 10^9 \text{ CFU/mL}$ 。模型组每只小鼠灌服*H.pylori*菌液1 mL, 间隔1 d, 共感染5次。正常组以1 mL灭菌PBS代替。所有实验组小鼠灌喂处理前禁食12 h, 禁饮水4 h, 灌喂后继续禁食、禁饮水4 h。

1.2.3 动物的处理: 距末次灌服菌液10、25、45、72 wk分4批, 每批每组各处死10小鼠。正中开腹取出全胃(包括胃窦、胃体、十二指肠等), 沿大弯切开, 暴露胃黏膜, 先肉眼观察小鼠胃黏膜大体特征, 然后分离出胃黏膜组织。

1.2.4 *H.pylori*的检测: 快速尿素酶试验, 将新鲜的小鼠胃黏膜组织放入反应孔中, 组织放入后30 min内反应孔由桔黄色变为红或紫红色者为阳性。Giemsa染色, 石蜡切片入二甲苯中脱蜡, 各级酒精梯度脱水。2% Giemsa染色液中染色30 min, 100%乙醇脱水, 二甲苯透明, 封片。*H.pylori*菌体呈深蓝色。两种方法均显示为阳性者确定

为*H.pylori*阳性感染。

1.2.5 组织病理学检查: 组织块用40 g/L甲醛常规固定,乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片。60℃烤片2 h。HE染色:组织切片经脱蜡和梯度乙醇处理脱水,苏木素染色液中染色,盐酸酒精分色。冲洗后伊红染色5 min,常规脱水、透明、封片。胞核染成蓝色,胞质和*H.pylori*均染成淡红色。

1.2.6 病理改变的判定标准: 慢性胃炎:高倍镜下观察10个视野固有层有慢性炎症细胞(淋巴细胞、浆细胞、嗜酸性粒细胞)和中性粒细胞的浸润。萎缩性胃炎:黏膜固有层腺体(幽门腺或胃底腺)萎缩,减少或消失,伴或不伴炎症细胞浸润,黏膜肌增厚,有较多的肌纤维伸向固有层。或黏膜固有层腺体呈囊状扩张,腺上皮细胞萎缩甚至消失。肠化生:肠化生即萎缩的腺体被肠腺所替代,在细胞学上有4个特点:(1)出现吸收细胞、杯状细胞和潘式细胞;(2)中性黏液减少或消失,代之以酸性黏液;(3)细胞的刷状缘出现了小肠的双糖酶和碱性磷酸酶、岩藻糖酶等;(4)出现异常蛋白:甲胎蛋白、癌胚抗原等。异型增生:异型增生又称为不典型增生,包括腺体结构的异型性及胃黏膜上皮细胞形态的变化。腺癌:腺体明显增生,细胞间异型性显著,基底膜破坏或出现腺上皮浸润。所有组织切片由一位病理医生进行病变诊断及病变程度鉴定,后由专人采取盲法阅读片。

1.2.7 免疫组织化学EnVision法检测模型组小鼠胃黏膜MVD: 取出的小鼠胃黏膜在140 g/L甲醛固定液中固定4 h。常规洗涤、各级酒精梯度脱水;二甲苯透明;浸蜡、包埋、切片。常规4 μm石蜡切片,58℃烤24 h,常规二甲苯脱蜡至水;微波抗原修复,室温自然冷却;羊血清封闭;加入一抗;滴加EnVision二抗(HRP-R),显色;苏木素复染,常规树脂封片;镜下观察,阳性产物为棕黄色或棕褐色,背景为蓝紫色。每批染色均用已知的阳性切片做阳性对照,用PBS代替一抗做阴性对照。

1.2.8 免疫组织化学图像MVD分析: 按照Weidner^[6]的方法,即在低倍视野(×40)下扫描整个黏膜组织切片,选择最密集的微血管标记区,低倍视野下确定微血管密集区后,然后在高倍镜下(×400,因小鼠胃黏膜较小,故选取400倍视野计数)选取3个不重复视野进行计数,求其平均数即作为该标本的MVD值。统计微血管的标准:CD34阳性染色定位于血管内皮细胞,呈棕黄或棕褐色,黏膜组织内孤立的棕黄色或棕褐色内

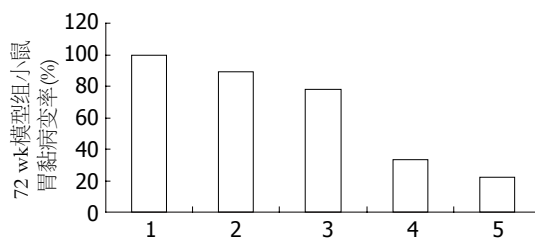


图1 72 wk时模型组小鼠胃黏膜病理改变: 1: 慢性胃炎; 2: 萎缩性胃炎; 3: 肠化生; 4: 异型增生; 5: 胃癌。

皮细胞或内皮细胞簇均计数为一个血管,肌层较厚及管腔红细胞数大于8个的血管不被计数。

统计学处理 采用《中国医学百科全书·医学统计学》统计软件包PEMS3.1医学统计软件进行数据处理,两样本均数比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 有效动物 在实验过程中,第10周时,模型组第3号由于灌喂不当死亡。第72周时,模型组第35号由于灌喂不当死亡,余动物均完成实验。

2.2 小鼠胃黏膜*H.pylori*定植情况 正常组动物的胃窦、胃体及十二指肠黏膜的尿素酶实验、Giemsa染色结果均呈阴性。在接种*H.pylori*后第10周时,模型组小鼠胃窦、胃体黏膜尿素酶阳性率、Giemsa染色示定植率均为88.9%; 25、45、72 wk时,阳性率均为100%,说明*H.pylori*可长期感染C57BL/6小鼠。

2.3 胃黏膜的病理组织学改变 模型组动物在接种*H.pylori*后第10周变化:以幽门黏膜为中心的胃黏膜上皮细胞间及固有层可见大量淋巴细胞及中性粒细胞浸润,以淋巴细胞浸润为主,*H.pylori*存在的部位,炎症反应明显; 25 wk变化:模型组溃疡旁黏膜有较重炎症,胃窦黏膜下层及固有层可见大量淋巴细胞浸润及淋巴滤泡形成,胃体部黏膜下层及固有层也可见大量淋巴细胞浸润; 45 wk变化:模型组胃窦黏膜呈现慢性萎缩性胃炎、肠化生表现,有轻度的不典型增生表现,胃体部黏膜仍以慢性炎症表现为主,未见萎缩、肠化生及不典型增生等癌前病变表现; 72 wk变化:模型组胃窦黏膜有9只呈现慢性胃炎(发生率100%)、8只呈现慢性萎缩性胃炎(发生率88.9%)、7只有肠化生表现(发生率77.8%),3只有轻度的不典型增生表现(发生率33.3%),2只呈腺癌表现(发生率22.2%),提示*H.pylori*感染可诱发C57BL/6小鼠慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌的发生(图1, 2)。

■ 相关报道

已有报道*H.pylori*感染可诱发蒙古沙土鼠(MG)胃癌发生;血管新生在化学致癌剂诱发胃癌发生过程中发挥重要作用。

■创新盘点

本研究在国内首次报道*H.pylori*长期感染可诱发C57BL/6小鼠胃黏膜癌变,并增加小鼠胃黏膜MVD,可能在胃黏膜的癌变中发挥作用。

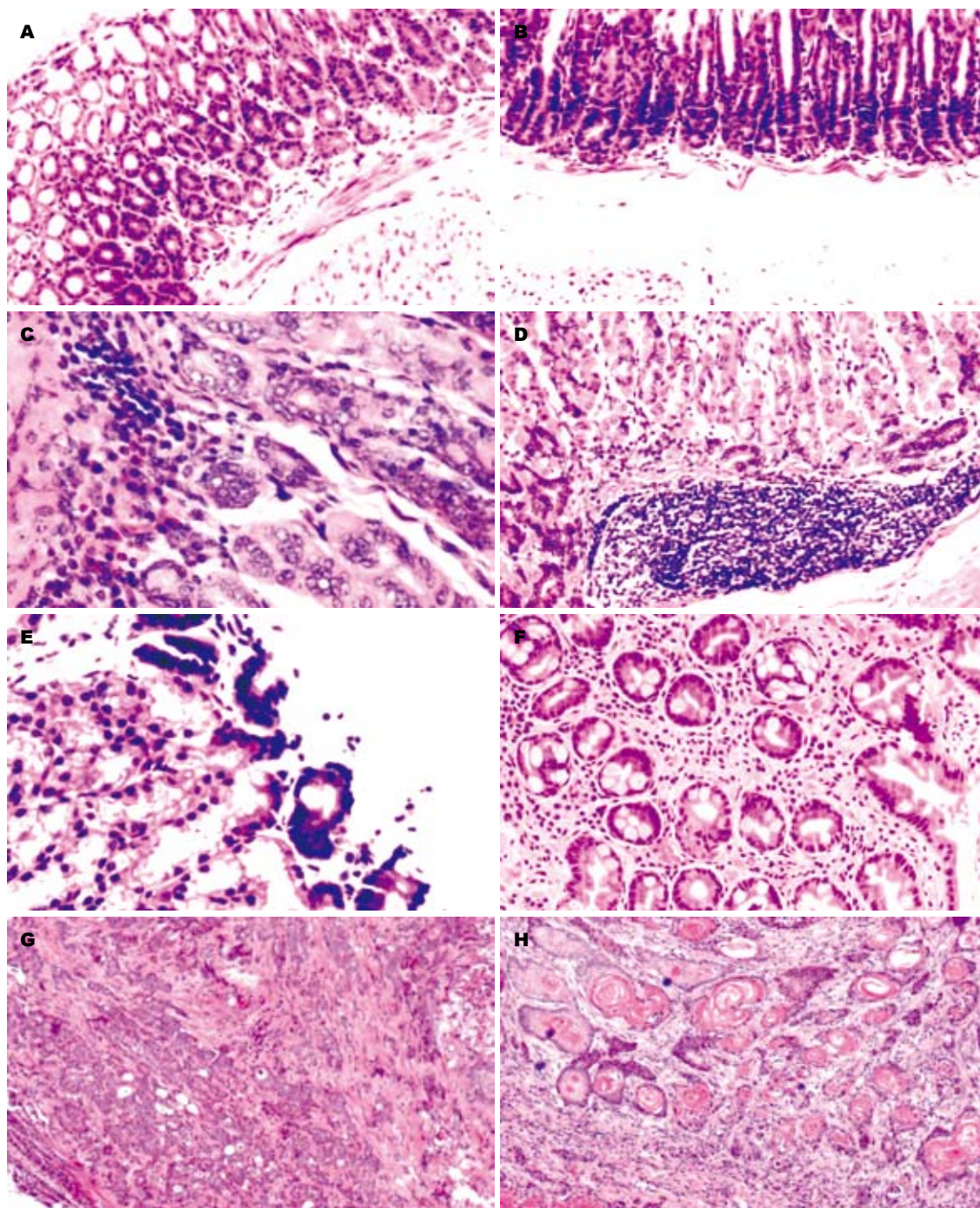


图2 小鼠胃黏膜不同病理表现(HE × 200). A: 正常胃黏膜; B: 胃黏膜萎缩; C: 胃黏膜慢性炎症; D: 胃黏膜淋巴滤泡; E: 胃黏膜异型增生; F: 胃黏膜肠化生; G: 胃黏膜腺瘤; H: 胃黏膜腺癌。

2.4 *H.pylori*感染对C57BL/6小鼠胃黏膜MVD的影响 免疫组织化学结果显示,正常组、模型组小鼠胃黏膜MVD分别为 2.50 ± 1.54 、 18.56 ± 2.62 。模型组与正常组比较, MVD明显增高($P < 0.01$); 这表明, *H.pylori*感染可使小鼠胃黏膜MVD增加, 可能在胃癌的发病中发挥作用(图3, 4)。

3 讨论

*H.pylori*是人类常见的病原菌, 是一种微需氧的

革兰氏阴性细菌。 *H.pylori*是胃炎、消化性溃疡的主要病因, 并与胃腺癌密切相关^[7-12]。1994年世界卫生组织下属的国际癌症研究机构宣布 *H.pylori*是人类胃癌的 I 类(即肯定的)致癌原^[13]。1997年Lee等^[14]鉴定的*H.pylori* SS1目前已被认为是理想的动物模型接种菌株。1998年Watanabe等^[15]采用*H.pylori*感染蒙古沙土鼠(mongolian gerbil, MG), 成功诱发了胃癌, 而且其病理演化过程与人胃癌发生基本相似, 首次从实验动

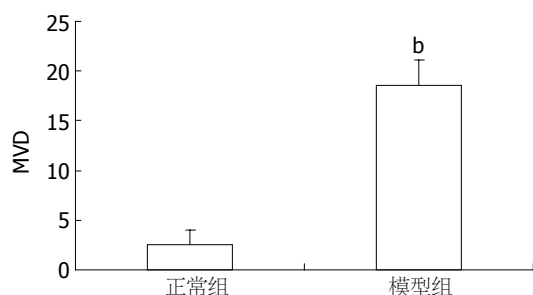


图 3 *H. pylori*感染对C57BL/6小鼠胃黏膜MVD的影响。
^b $P < 0.01$ vs 正常组。

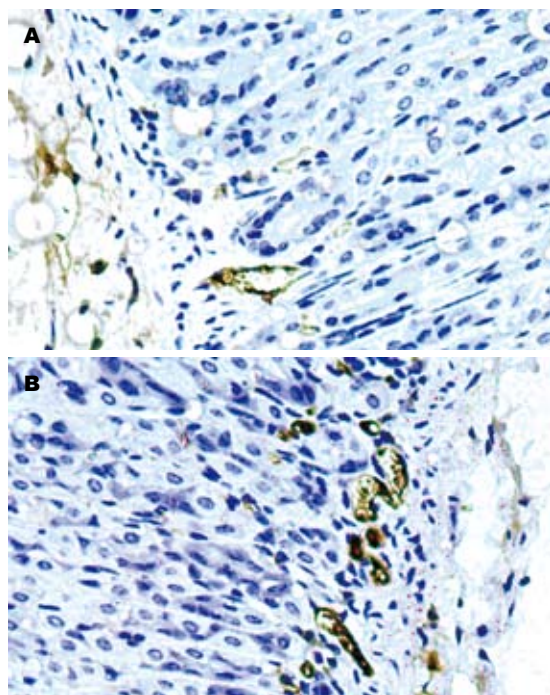


图 4 *H. pylori*感染对C57BL/6小鼠胃黏膜MVD的影响(EnVision法×400)。A: 正常组; B: 模型组。

物上直接证实*H. pylori*感染是胃癌的发病因素。Correa等^[16]描述了胃癌发生的自然病理过程, 由正常胃黏膜-浅表性胃炎-肠上皮化生-非典型增生-胃癌。2003年, 我国学者郑青等^[17]用*H. pylori* ATCC43504及从胃癌患者胃内分离出的*H. pylori* 161菌株感染MG, 均成功诱发胃癌。也有研究显示, 单独感染并不能诱发小鼠胃癌, 这可能是由于*H. pylori*菌株、宿主及环境因素的不同, 胃癌发生率及组织类型也不一致。而且胃癌诊断标准, 尤其是高分化腺癌的诊断标准不明确, 使实验结果难以一致^[18]。

本研究采用*H. pylori*标准株SS1经口接种, 结果显示, 在末次接种后的第10、25、45、72周, 模型组*H. pylori*的定植率分别为88.9%、100%、100%、100%。表明C57BL/6小鼠的易感性好, 成功率高, 模型稳定, 具有很好的科研价值, 且价格

便宜, 容易饲养, 具有良好的推广应用前景。72 wk时, 模型组慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌的发生率分别为100%、88.9%、77.8%、33.3%和22.2%, 从动物模型角度证实*H. pylori*感染可诱发C57BL/6小鼠胃癌的发生。

无控制侵袭性生长是恶性肿瘤的主要特征, 这种生长不仅依赖于肿瘤细胞的增殖, 而且与肿瘤组织中血管生成密切相关。新生肿瘤血管不仅为肿瘤细胞提供营养物质和氧气, 运走代谢废物, 而且还以旁分泌的形式刺激肿瘤的生长。血管生成在恶性肿瘤的发生发展中起到重要作用。我们前期研究表明, *H. pylori*可诱导人胃癌MKN45细胞COX-2的表达进而促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达, 可能在胃癌发生发展中发挥重要作用^[19]。陶厚权等^[20]用化学致癌剂*N*-甲基-*N*'-硝基-亚硝基胍(MNNG)诱发建立大鼠胃癌前病变及胃癌模型, 发现胃黏膜腺体处于增生期, 血管生成很少, 至异型增生阶段, 尤其是中、重度异型增生阶段或黏膜内癌时, 血管生成明显增多并呈明显的异质性分布, 至浸润性癌期, 浸润前缘周围血管异常丰富, 肿瘤组织间质也有血管生成。说明血管生成在胃癌发生早期即已启动, 随着病变损害向进展期发展而愈加明显, 与胃癌的发生发展关系密切。

本实验采用特异性CD34抗体标记血管内皮细胞, 发现*H. pylori*感染C57BL/6小鼠72 wk时, 胃黏膜组织中MVD较正常组明显升高, 说明*H. pylori*长期感染可以增加胃黏膜的MVD, 胃黏膜血液供应的增加可能预示着其代谢活动增强, 损害严重, 所需营养增加, 这可能是胃黏膜继发性癌变的重要物质基础。

4 参考文献

- 1 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测. 中华肿瘤杂志 2004; 26: 4-9
- 2 李琦, 范忠泽, 孙珏, 刘宁宁, 周利红, 吴琼, 王炎, 隋华, 高虹. 幽门螺杆菌对人胃癌MKN45细胞p38MAPK信号转导通路激活作用的研究. 中国癌症杂志 2008; 18: 801-805
- 3 Shabelnik MY, Kostyuk OV, Merentsev SV, Tarasova TO, Sidorenko SP. Helicobacter pylori infection of gastric cancer cells elevates the level of expression and activation of protein kinase D2. Exp Oncol 2009; 31: 134-139
- 4 张尤历, 陆芬英, 王文兵, 张宇川, 刘勇攀, 吴莺. 幽门螺杆菌对人胃癌细胞SGC-7901中SHP-2及细胞骨架的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2916-2921
- 5 陆芬英, 张尤历, 王文兵, 陈永昌, 张宇川, 刘勇攀, 吴莺. 幽门螺杆菌提取物体外对人胃癌细胞SGC-7901形

■应用要点

建立*H. pylori*长期感染诱发小鼠胃癌模型, 将有助于揭示*H. pylori*感染致胃癌的机制, 并为胃癌的防治提供可靠的研究模型。

■同行评价

本研究选题立足于临床基础研究,方法科学严谨,资料齐全,表达清晰,层次清楚,具有较高的科研价值和临床意义。

- 6 Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36: 169-180
- 7 Sachs G, Wen Y, Scott DR. Gastric infection by *Helicobacter pylori*. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 455-461
- 8 Belair C, Darfeuille F, Staedel C. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: possible role of microRNAs in this intimate relationship. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 806-812
- 9 Li Q, Liu N, Shen B, Zhou L, Wang Y, Wang Y, Sun J, Fan Z, Liu RH. *Helicobacter pylori* enhances cyclooxygenase 2 expression via p38MAPK/ATF-2 signaling pathway in MKN45 cells. *Cancer Lett* 2009; 278: 97-103
- 10 李琦, 范忠泽, 孙珏, 刘宁宁, 王炎, 周利红, 吴琼, 隋华, 李先茜, 高虹. 幽门螺杆菌诱导人胃癌MKN45细胞COX-2表达的信号转导研究. *肿瘤* 2009; 29: 108-112
- 11 朱克祥, 李玉民, 李汛, 周文策, 单勇, 刘涛, 何雯婷. P53Arg72Pro多态性及*H. pylori*感染与胃癌高发区甘肃河西地区胃癌的关系. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3734-3739
- 12 王艳丽, 宫月华, 徐莹, 陈铁军, 柳云恩, 袁媛. 幽门螺杆菌致胃上皮细胞株GES-1和胃癌细胞株SGC-7901的氧化性损伤. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3590-3594
- 13 Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241
- 14 Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC, Robertson B, Daskalopoulos G, Dixon MF. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection: introducing the Sydney strain. *Gastroenterology* 1997; 112: 1386-1397
- 15 Watanabe T, Tada M, Nagai H, Sasaki S, Nakao M. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology* 1998; 115: 642-648
- 16 Correa P. Is gastric carcinoma an infectious disease? *N Engl J Med* 1991; 325: 1170-1171
- 17 郑青, 陈晓宇, 施尧, 萧树东. 幽门螺杆菌长期感染蒙古沙土鼠建立胃癌模型的研究. *中华消化杂志* 2003; 23: 92-95
- 18 卢舜飞, 吴勤动. 幽门螺杆菌胃癌动物模型的研究进展. *国外医学·消化系疾病分册* 2005; 25: 142-145
- 19 刘宁宁, 王炎, 刘宣, 范忠泽, 孙珏, 李琦. COX-2介导幽门螺杆菌诱导的人胃癌细胞VEGF表达. *中国癌症杂志* 2010; 20: 1-5
- 20 陶厚权, 邹寿椿, 王瑞年, 林言箴. 血管生成与胃癌发生之间关系的实验研究. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 43-46

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

汤姆森—路透公布2008年WJG影响因子2.081

本刊讯 据汤姆森-路透科技信息集团2009-06-19发布《期刊引证报告》(*Journal Citation Reports*)的统计结果: *World Journal of Gastroenterology(WJG)*的总被引次数(TC): 10 822; 影响因子(IF): 2.081; 即年指数: 0.274; 论文数量: 1112; 半衰期: 3.1; 特征因子(EF): 0.05006. 特征因子这个指标是今年期刊引证报告里新加的一个指标. 与影响因子不同的是, 这个指标不仅考察了引文的数量, 而且考虑了施引期刊的影响力, 即: 某期刊如果越多地被高影响力的期刊引用, 则该期刊的影响力也越高. 正如Google考虑超链接的来源, 特征因子也充分考虑引文的来源, 并在计算中赋予不同施引期刊的引文以不同的权重. 特征因子分值的计算基于过去5年中期刊发表的论文在期刊引证报告统计当年的被引用情况. 与影响因子比较, 期刊特征因子分值的优点主要有: (1)特征因子考虑了期刊论文发表后5年的引用时段, 而影响因子只统计了2年的引文时段, 后者不能客观地反映期刊论文的引用高峰年份; (2)特征因子对期刊引证的统计包括自然科学和社会科学, 更为全面、完整; (3)特征因子的计算扣除了期刊的自引; (4)特征因子的计算基于随机的引文链接, 通过特征因子分值可以较为合理地测度科研人员用于阅读不同期刊的时间. 在55种国际胃肠病学和肝病学期刊中, *WJG*的EF, TC和IF分别名列第6, 9, 32位. (*WJG*编辑部主任: 程剑侠 2009-06-19)

骨髓间充质干细胞共培养对肝星状细胞增殖、凋亡和RohA表达的调控

陈国忠, 姜海行, 陆正峰, 肖健, 梁梓宇, 覃山羽

陈国忠, 姜海行, 陆正峰, 肖健, 梁梓宇, 覃山羽, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
陈国忠, 广西医科大学在读博士, 主要从事干细胞及肝损伤修复机制研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 0640133、No. 0897008
广西“新世纪十百千人才工程”专项基金资助项目, No. 2006206

作者贡献分布: 此课题由姜海行、陈国忠及覃山羽设计; 研究过程由陈国忠、陆正峰、肖健及梁梓宇操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由姜海行提供; 数据分析由陈国忠完成; 本论文写作由陈国忠完成。

通讯作者: 姜海行, 教授, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学第一附属医院消化内科. jihaxi@263.net
电话: 0771-5356501 传真: 0771-5353668

收稿日期: 2010-02-26 修回日期: 2010-04-29
接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Bone marrow mesenchymal stem cells modulate cell proliferation and apoptosis and RohA expression in rat hepatic stellate cells

Guo-Zhong Chen, Hai-Xing Jiang, Zheng-Feng Lu, Jian Xiao, Zi-Yu Liang, Shan-Yu Qin

Guo-Zhong Chen, Hai-Xing Jiang, Zheng-Feng Lu, Jian Xiao, Zi-Yu Liang, Shan-Yu Qin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, Nos. 0640133 and 0897008; and the “New Century Talent Project” of Guangxi, No. 2006206

Correspondence to: Professor Hai-Xing Jiang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. jihaxi@263.net

Received: 2010-02-26 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To observe the regulatory effects of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) on cell proliferation and apoptosis and RohA expression in rat hepatic stellate cells (HSCs) and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: BMSCs were isolated from Sprague-Dawley rats, cultured and purified *in vitro*. Activated HSCs were cultured on plastic plates. A

co-culture system was established by culturing BMSCs in the Transwell insert and HSCs on the plastic plates (6 wells). Normal rat fibroblasts, BMSCs and HSCs were cultured alone as controls. A part of cells were pretreated with rabbit polyclonal anti-c-met antibody according to experimental needs. Cell proliferation and apoptosis were determined by MTT assay and flow cytometry, respectively. The expression of RohA mRNA and protein in HSCs was determined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively. Cell supernatants were harvested to determine the concentration of hepatocyte growth factor (HGF) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: BMSCs inhibited the proliferation of HSCs. After 24 h and 48 h of co-culture, the reduced rates of HSC proliferation were 12.21% and 35.43%, respectively. The reduced rates of HSC proliferation in the experimental group were significantly higher than those in the other three groups (all $P < 0.01$). The apoptosis rate of HSCs at 48 h was 25.80% in the experimental group, significantly higher than those in the other three groups (all $P < 0.01$). After 48 h of co-culture, BMSCs significantly inhibited the expression of RohA mRNA and protein in HSCs when compared with the other three groups (all $P < 0.01$). The concentrations of HGF in co-culture supernatants in the experimental group at 24 and 48 h were 250 ng/L and 570 ng/L, respectively, significantly higher than those in the supernatants of BMSCs and HSCs cultured alone (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: BMSCs inhibit proliferation, promote apoptosis and reduce RohA expression in rat activated HSCs perhaps in an HGF paracrine-dependent manner.

Key Words: Bone marrow mesenchymal stem cells; Hepatic stellate cells; Transwell co-culture; Apoptosis; Hepatocyte growth factor; RohA

Chen GZ, Jiang HX, Lu ZF, Xiao J, Liang ZY, Qin SY.

■背景资料

骨髓间充质干细胞(BMSCs)是骨髓内的一种非造血干细胞,有自我复制和高度增殖的能力,又有分化的潜能。目前研究表明, BMSCs对多种原因引起的肝损伤具有显著修复作用,可改善甚至逆转肝纤维化,但其具体的机制还不清楚。

■同行评议者

潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院病理实验科

■研究前沿

在BMSCs治疗肝损伤肝纤维化研究中,研究的热点重点一是BMSCs向肝细胞转化,二是BMSCs与HSCs之间是如何相互作用。前者已取得突破,后者还未明确,研究还不多。

Bone marrow mesenchymal stem cells modulate cell proliferation and apoptosis and RohA expression in rat hepatic stellate cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(16): 1643-1649

摘要

目的: 观察体外大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)共培养对肝星状细胞(HSCs)增殖、凋亡和RohA表达的影响,探讨BMSCs旁分泌HGF在其中的作用机制。

方法: 贴壁筛选法培养、纯化SD大鼠BMSCs,传代至第4代使用;大鼠肝星状细胞(HSC-T6)系及纤维原细胞系冻融后传代使用。应用6孔塑料细胞培养盒,每孔使用半透膜(transwell insert)建立上下双层细胞共培养体系,常规培养。实验分4组:空白对照组、阴性对照组、BMSCs实验组、预处理实验组(c-met多克隆抗体预处理)。用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测HSCs细胞增殖能力;流式细胞仪检测细胞凋亡;RT-PCR、Western blot检测BMSCs与HSCs共培养后HSCs内RohA mRNA和蛋白的表达。酶联免疫吸附法(ELISA)检测BMSCs与HSCs共培养上清液中肝细胞生长因子(HGF)浓度。

结果: BMSCs对HSCs增殖具有抑制作用, BMSCs与HSCs共培养后24 h、48 h的增殖抑制率分别为12.21%、35.43%,与空白对照组、实验对照组和C-met抗体预处理组比较有显著性差异($P<0.01$)。Annexin-V-FITC/PI双染法检测BMSCs与HSCs共培养48 h后HSCs的凋亡率为25.80%,与空白对照组、实验对照组与c-met抗体预处理组比较有显著性差异($P<0.01$)。BMSCs与HSCs共培养48 h, BMSCs组RohA mRNA的表达抑制明显,且显著低于空白对照组、实验对照组与C-met抗体预处理组,有显著性差异($P<0.01$)。BMSCs与HSCs共培养48 h RohA蛋白的表达明显抑制,且显著低于空白对照组、实验对照组与C-met抗体预处理组,有显著性差异($P<0.01$)。ELISA检测BMSCs与HSCs共培养24 h、48 h上清液中HGF浓度分别为250 ng/L与570 ng/L,明显高于单独BMSCs培养和单独HSCs培养,有显著性差异($P<0.01$)。

结论: BMSCs与HSCs共培养能抑制HSCs的增殖,促进凋亡,抑制RohA表达,其机制可能是通过BMSCs旁分泌HGF发挥抑制大鼠HSCs增殖,促进凋亡的作用。

关键词: 骨髓间充质干细胞;肝星状细胞;共培养;

细胞凋亡;肝细胞生长因子;RohA

陈国忠, 姜海行, 陆正峰, 肖健, 梁梓宇, 覃山羽. 骨髓间充质干细胞共培养对肝星状细胞增殖、凋亡和RohA表达的调控. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1643-1649

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1643.asp>

0 引言

肝纤维化是肝硬化发展的必然阶段,肝纤维化原认为是不可逆转^[1,2],但近些年的研究表明肝纤维化是可逆的^[3,4]。星状细胞激活后造成胶原纤维和细胞外基质大量增生沉积,最终导致肝纤维化和肝硬化。因此肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)激活是肝纤维化的中枢事件。星状细胞的增殖和凋亡受到多种因素的影响,多个信号通路参与其中^[5-8]。诱导和促进活化的星状细胞凋亡是治疗肝纤维化的关键。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)有多分化的潜能。多个研究表明, BMSCs对多种原因引起的肝损伤具有显著修复作用,可改善甚至逆转肝纤维化^[3,9,10],但其具体的机制还不清楚。本研究观察BMSCs对HSCs增殖、凋亡和RohA蛋白表达的影响及BMSCs旁分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)在其中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠6只,周龄6-8 wk,由广西医科大学实验动物中心提供。肝星状细胞系(HSC-T6)及纤维原细胞系(由中山大学附属肿瘤医院细胞库提供);DMEM-LG培养液(购于美国Gibco公司);特级胎牛血清(购于美国Hyclone公司);MTT试剂盒(武汉谷歌生物科技有限公司);肝细胞生长因子ELISA试剂盒(美国R&D system公司);小鼠抗RohA单克隆抗体(美国Santa Cruz公司);兔抗c-met多克隆抗体(武汉博士德公司);HRP标记的山羊抗小鼠IgG(美国Santa Cruz公司);TRIzol(美国Invitrogen公司);逆转录试剂盒(美国MBI公司);ECL发光试剂盒(美国Thermo公司);PVDF膜(美国Millipore公司);Transwell insert半透膜(美国Corning Costar公司)。

1.2 方法

1.2.1 BMSCs的分离、培养与功能鉴定: 按文献[11,12]方法在无菌条件下分离SD大鼠股骨骨髓细胞,于37℃、饱和湿度、50 mL/L CO₂培养箱中培养,利用BMSCs与其他贴壁细胞的贴壁差异性严格控制传代时胰酶的量 and 消化时间,传

代纯化BMSCs, 显微镜下观察细胞形态. 取第4代细胞(Passge 4, P4), 2.5 g/L胰酶消化, 调整细胞浓度 $1 \times 10^5/\text{cm}^2$ 接种于50 mL一次性培养瓶中, 备实验用. 取第4代细胞, 置于37 °C、饱和湿度、50 mL/L CO₂培养箱中培养, 每2 d换液1次, 连续培养14 d, 倒置相差显微镜下观察细胞形态.

1.2.2 HSC-T6的培养、传代与活化鉴定: 大鼠HSC-T6系冻融后传代使用. 于L-DMEM培养液(含100 mL/L胎牛血清)、37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中培养, 8 h即可贴壁生长, 2-3 d后细胞80%-90%铺满瓶底即可再次传代, 传至3-4代细胞生长活跃, 增殖明显可用于实验. 采用免疫组织化学法检测 α -SMA表达. 倒置相差显微镜下观察活体细胞形态学改变.

1.2.3 纤维原细胞的培养、传代: 纤维原细胞系冻融后传代使用方法同上.

1.2.4 细胞共培养: 参照文献[13,14]方法应用6孔塑料细胞培养盒, 在半透膜(Transwell insert)上层接种BMSCs或纤维原细胞(1×10^5 cells/well), 在下层接种HSC-T6细胞(1×10^5 cells/well), 建立上下双层细胞共培养体系, 常规培养. 实验分组: (1)空白对照组: HSCs单独培养(其上层只含培养基); (2)阴性对照组: HSCs与纤维原细胞共培养; (3)实验组: BMSCs与HSCs共培养; (4)c-met预处理组: 兔抗c-met多克隆抗体500 $\mu\text{g/L}$ 预先封闭HSCs表面HGF受体6 h后, BMSCs与HSCs共培养. 培养48 h后倒置相差显微镜下动态观察活体细胞形态学改变.

1.2.5 MTT法检测HSCs增殖抑制率: 细胞共培养0、24、48 h后用0.25%胰酶消化贴壁细胞, 细胞计数板计数, 调整各时段细胞浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 吹打, 混匀, 取96孔板, 每孔加入100 μL (2 000个细胞), 每时段设3个复孔, 设立空白孔, 加入100 μL 无细胞的完全培养基, 置于37 °C、50 mL/L CO₂温箱中培养48 h后每孔加MTT溶液(5 g/L)20 μL , 继续孵育4 h, 终止培养, 弃去培养液, 每孔加二甲基亚砜(DMSO)150 μL , 避光振荡10 min, 使蓝色结晶物充分溶解. 选择490 nm波长测定各孔吸光值, 以仅加入MTT溶液处理的空白孔为对照, 在酶联免疫监测仪上比色测定并记录各孔光吸收值(A值). 细胞生长抑制率 = $(1 - \text{实验组} A \text{值} / \text{对照组} A \text{值}) \times 100\%$.

1.2.6 ELISA检测共培养上清液HGF浓度: 除空白孔外, 分别将上清液及不同浓度标准品(100 $\mu\text{L}/\text{孔}$)加入相应孔中, 37 °C孵箱孵育90 min; 手工洗板5次; 加入生物素化抗体工作液(100

$\mu\text{L}/\text{孔}$), 37 °C孵箱孵育60 min; 手工洗板4次; 加入酶结合物工作液(100 $\mu\text{L}/\text{孔}$), 37 °C孵箱孵育30 min; 手工洗板5次; 加入显色剂100 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 避光37 °C孵育15-20 min; 加入终止液100 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 混匀, 即刻用酶标仪(取主波长450 nm, 辅助波长630 nm)测量 A_{450} 值(5 min内).

1.2.7 流式细胞仪检测细胞凋亡: Annexin-V-FITC/PI双染法收集各组HSCs, 计数, 按照Annexin-V-FITC/P细胞凋亡试剂盒说明操作.

1.2.8 HSCs总RNA提取和RT-PCR: 收集48 h时段HSCs计数, 每 5×10^6 个细胞加1 mL的TRIzol, 振荡混匀. TRIzol一步抽提法提取总RNA. 按逆转录试剂盒说明进行逆转录, 并根据以下条件进行目的基因的扩增: 95 °C预变性5 min进入循环, 95 °C变性45 s, 55 °C退火45 s, 72 °C 1 min, 共35个循环后, 72 °C延伸5 min, 以GAPDH为内参照. 扩增引物由上海生工生物工程公司合成. RohA的上游引物5'-TGGTGATGGAGCTTGTGGTAAG-3', 下游引物5'-AACATCAGTGTCTGGGTAGGAG-3'; GAPDH上游引物: 5'-GCCAGTAGACTCCACGACAT-3', 下游引物5'-GCAAGTTCAACGGCACAG-3'. 取6 μL PCR产物及6 μL DNA Marker进行1.7%琼脂糖凝胶电泳, 采用凝胶图像分析仪进行吸光度扫描, 观察条带的灰度强弱, 以RohA基因/GAPDH的灰度比值表示相对目的基因mRNA水平.

1.2.9 HSCs总蛋白提取和Western blot检测: 用细胞裂解液提取48 h时段HSCs总蛋白, 考马斯亮蓝比色法测定蛋白含量, 上样量为80 μg , 蛋白进行15% SDS-PAGE凝胶电泳, PVDF转膜, 非特异性封闭; 加入一抗小鼠抗RohA(1 : 500稀释), 4 °C过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗进行杂交. ECL发光剂1-5 min, 曝光、显影、定影. 数码成像分析系统软件对结果进行分析, 以RohA蛋白/GAPDH的灰度比值表示相对目的蛋白水平.

统计学处理 数据资料以mean $\pm$ SD表示应用统计软件SPSS13.0进行分析, 以 $P < 0.05$ 为有统计学差异, $P < 0.01$ 为有显著性差异.

2 结果

2.1 BMSCs抑制HSCs的增殖 用MTT法检测了共培养0、24、48 h时间段BMSCs对HSCs细胞增殖的影响, 24、48 h的HSCs增殖抑制率分别为 $12.21\% \pm 2.55\%$ 、 $35.43\% \pm 6.17\%$. BMSCs在24 h已抑制大鼠HSCs的增殖, 48 h明显抑制大

■相关报道

Parekkadan等通过Transwell共培养体系, 将BMSCs和HSCs共培养, BMSCs可分泌HGF抑制胶原增殖和沉着, 同时诱导活化的星状细胞凋亡. Shi等研究发现在共培养体系中BMSCs不可逆地抑制星状细胞的增殖, 继而凋亡. 这种效应可能是由BMSCs分泌的NGF和HGF活化JNK信号通路产生的.

■创新盘点

本文首次运用Transwell构建非接触共培养体系,研究BMSCs旁分泌HGF对HSCs的增殖、凋亡及RohA表达的调控作用,为BMSCs抗肝纤维化作用提供理论依据。

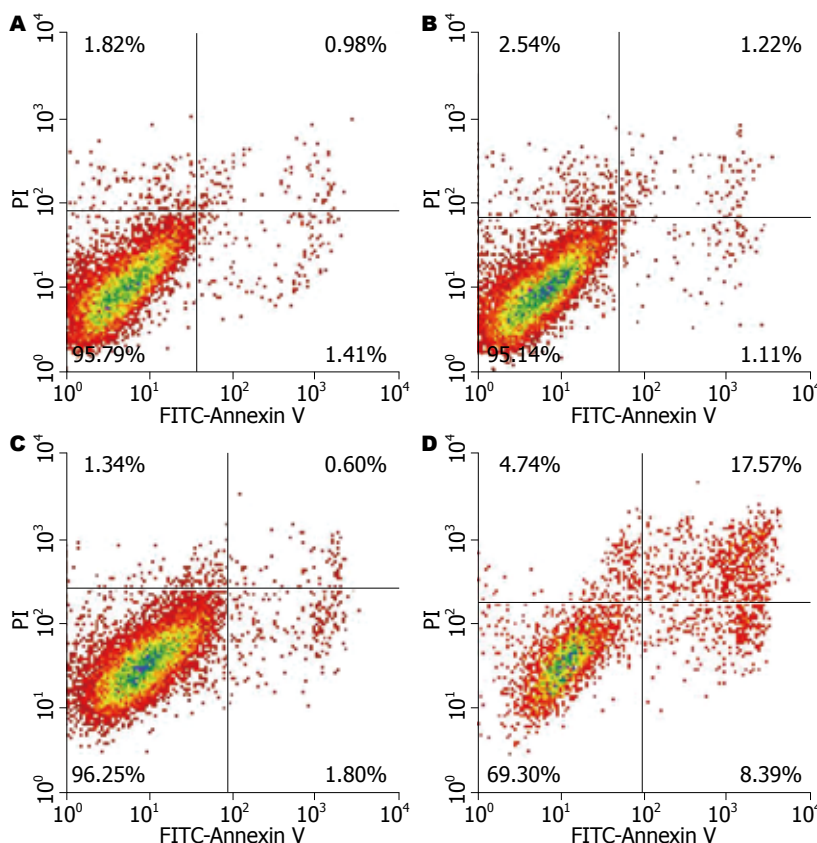


图1 HSCs流式Annexin V-FITC/PI凋亡图。A: HSCs; B: BMSCs+纤维原细胞; C: c-met多克隆抗体预处理后BMSCs+HSCs; D: BMSCs+HSCs。

鼠HSCs的增殖并呈现时间依赖性,与对照组和c-met抗体预处理组比较有显著性差异($P<0.01$,表1)。

2.2 BMSCs与HSCs共培养后HSCs凋亡 BMSCs与HSCs共培养后,采用流式细胞仪Annexin V-FITC/PI双染法检测BMSCs与HSCs共培养48 h后HSCs的凋亡率(图1),空白对照组凋亡率为 $2.30\% \pm 0.31\%$ 、实验对照组为 $2.25\% \pm 0.18\%$ 、BMSCs组为 $25.80\% \pm 3.60\%$ 、c-met抗体预处理组为 $2.40\% \pm 0.22\%$ 。BMSCs组与c-met预处理组、空白对照组和阴性对照组比较有显著性差异($P<0.01$,图1)。

2.3 BMSCs与HSCs共培养后RohA mRNA的表达 BMSCs与HSCs共培养后HSCs RohA mRNA的表达,空白对照组为 0.98 ± 0.05 、实验对照组为 0.96 ± 0.03 、BMSCs组为 0.40 ± 0.03 、c-met抗体预处理组为 1.01 ± 0.06 。BMSCs组共培养48 h时表达量明显低于空白对照组、实验对照组与c-met预处理组,与上述3组比较有显著性差异($P<0.01$,图2)。

2.4 BMSCs与HSCs共培养后RohA蛋白的表达 BMSCs与HSCs共培养后HSCs RohA蛋白的表达,空白对照组为 1.06 ± 0.13 、实验对照组为 1.09 ± 0.11 、BMSCs组为 0.43 ± 0.05 、c-met抗体预处理组为 1.12 ± 0.15 。BMSCs组共培养48 h

表1 共培养后星状细胞增殖抑制率(%, mean $\pm$ SD, $n=3$)

分组	0 h	24 h	48 h
实验对照组	3.42 ± 0.92	4.04 ± 1.55	5.00 ± 1.26
BMSCs组	3.38 ± 0.86	12.21 ± 2.55^b	35.43 ± 6.17^b
c-met抗体预处理组	3.13 ± 1.02	5.78 ± 1.36	6.60 ± 1.26

^b $P<0.01$ vs 对照组和c-met抗体预处理组。

时表达量明显低于空白对照组、实验对照组与c-met预处理组(图2), BMSCs组与其他3组比较有显著性差异($P<0.01$,图3)。

2.5 上清液中HGF浓度的测定 为明确BMSCs旁分泌HGF,对BMSCs与HSCs共培养、单独BMSCs、单独HSCs共培养体系24、48 h时间段上清液中HGF浓度进行检测,共培养组HGF浓度明显高于单独BMSCs培养和单独HSCs培养,有显著性差异($P<0.01$); BMSCs与HSCs共培养组48 h与其自身24h时段比较,有显著性差异($P<0.01$,图4)。

3 讨论

HSCs是肝窦周间质细胞,肝脏慢性损伤时,HSCs受到多种细胞因子^[3,8,15],如转换生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)等

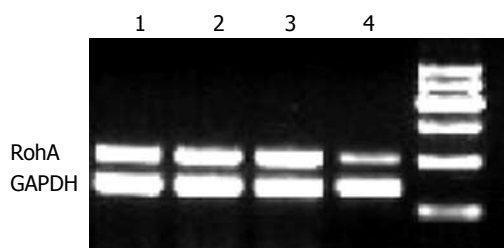


图 2 HSCs RohA mRNA表达. 1: 空白对照组; 2: 实验对照组; 3: c-met抗体预处理组; 4: BMSCs实验组.

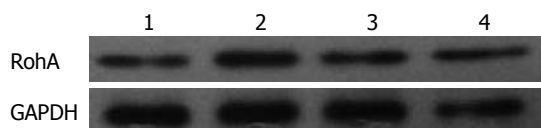


图 3 HSCs RohA蛋白表达. 1: 空白对照组; 2: 实验对照组; 3: c-met抗体预处理组; 4: BMSCs实验组.

刺激而活化, 增殖加速, 大量合成细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 并沉积在肝内, 并通过产生基质金属蛋白酶抑制因子, 抑制ECM的降解, 导致肝内ECM合成和降解失去平衡, 最终导致肝纤维化和肝硬化形成. 促进激活的HSCs凋亡是治疗或逆转肝纤维化的重要手段. BMSCs移植治疗肝纤维化目前还处在临床前的研究, 多项研究表明^[9,11,16,17], BMSCs移植能抑制肝内细胞炎症, BMSCs转化为肝样细胞, 可改善肝功能, 减轻或逆转肝纤维化, 显示了不错的治疗效果, 但其机制尚不清楚.

大量研究证实肝纤维化过程伴随Rho信号通路的激活与上调, 阻断或抑制Rho-Kinase能有效减缓乃至逆转许多组织的纤维化发展进程^[7,18-20]. Rho/ROCK信号通路可作为“分子开关”, 通过多重级联反应、与其他信号通路的“交谈”并通过其下游通路介导多种信号转导, 产生多种细胞效应. 我们前期研究^[16]发现, Rho-ROCK信号转导通路参与CCl₄导致的急性肝损伤发生、发展和修复全过程, BMSCs可能通过抑制RohA-ROCK信号转导通路加速受损肝脏修复.

为探讨BMSCs是否能够调控HSCs增殖、凋亡和RohA表达, 我们用活化的肝星状细胞系, 模拟体内肝纤维化的状态. 利用孔径0.4 μm的Transwell仅透过培养液而不能通过细胞的特点, BMSCs与HSCs共培养, 采用1:1比例, 建立BMSCs与HSCs非直接接触的共培养体系. 结果表明在共培养体系中, BMSCs通过非接触抑制HSCs增殖, 促进HSCs凋亡, RohA信号表达明显

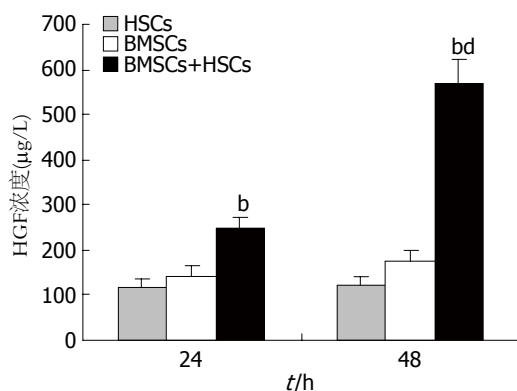


图 4 上清液HGF浓度. ^b $P<0.01$ vs 单独BMSCs培养组、单独HSCs培养组; ^{bd} $P<0.01$ vs 24 h自身对照.

应用要点

BMSCs与HSCs共培养能抑制HSCs的增殖, 促进凋亡, 抑制RohA表达, 其机制是通过BMSCs旁分泌HGF发挥作用. 可为BMSCs移植治疗肝纤维化提供临床运用的理论依据.

受到抑制. 鉴于共培养中72 h HSCs死亡率较高, 而我们实验中途中不更换新鲜培养基, 原有培养基较难维持细胞72 h生长, 选择48 h时间段实验结果能更好反映实验真实状况, 因此我们实验选取的共培养时间段为48 h, 细胞接种密度调整为 1×10^5 , 与Parekkadan等^[13]研究相似. 也有研究^[6,21]报道共培养时间是72 h, 但接种密度为 1×10^4 或 2×10^4 . 虽然上述几个研究接种密度和培养时间不同, 但各个研究得出的结果较一致.

BMSCs能分泌多种细胞因子^[13,22], 如HGF、神经细胞生长因子(nerve growth factor, NGF)、胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor, IGF-1)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)和白介素、干细胞因子. 活化的HSCs也分泌多种细胞因子^[13,23,24]. HGF是由间皮细胞分泌的生长因子, 对细胞的生长、增殖起着重要作用^[25,26]在肿瘤增殖、转移中也起着重要作用^[27]. HGF对活化的肝星状细胞有抑制、促进凋亡作用^[28,29]. HGF功能的发挥, 需要和靶细胞表面的c-met受体结合后才能发挥其作用^[30], HGF/c-met信号通路是HGF功能发挥的途径.

BMSCs在共培养体系中对活化的星状细胞有抑制增殖、促进凋亡和下调RohA表达的作用, 我们推测BMSCs旁分泌的HGF发挥了重要作用. 为此我们检测了24、48 h时间段BMSCs和HSCs共培养体系、BMSCs单独培养、HSCs单独培养中上清液中HGF的浓度, 结果表明共培养体系中HGF浓度明显高于后二者, 且在48 h内浓度最高. 有研究表明HGF作用是HSCs凋亡的主要因素^[13], 但也有研究^[6,31]表明, BMSCs旁分泌的神经细胞生长因子在HSCs凋亡中发挥了重要作用. 为明确共培养体系对肝星状细胞增殖抑制、促进凋亡作用是否有其他因素的作用, c-met多克隆抗体预先封闭HSCs表面c-met受

同行评价

本文立题和研究结果均有一定创新和科学价值。

体后再与BMSCs共培养, 48 h后检测HSCs的增殖、凋亡和RohA表达。结果显示, c-met多克隆抗体封闭HSCs表面c-met受体后, 抑制HGF/c-met信号通路, 取消了BMSCs对HSCs的上述作用。因此我们认为BMSCs旁分泌的HGF在抑制活化的星状细胞增殖, 促进凋亡、抑制RohA表达中起重要作用。

有研究^[32,33]表明HGF/c-met信号通路活化后是通过抑制NF- κ B信号通路来促使HSCs凋亡, 其是否和RohA信号通路发生“交谈”或RohA信号通路本身受抑制的结果, 这些均有待进一步研究。

总之, 采用BMSCs与HSCs非接触共培养体系中, HSCs的增殖受到明显抑制, 并促进HSCs的凋亡, RohA表达受到抑制, BMSCs旁分泌的HGF在其中起重要作用, 可能是BMSCs移植治疗急慢性肝损伤模型中疗效产生机制, 是BMSCs抗肝纤维化作用的部分分子机制。

参考文献

- Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut* 2000; 46: 443-446
- Kershenobich D. [Liver fibrosis and cirrhosis: are they reversible?] *Rev Gastroenterol Mex* 2004; 69 Suppl 3: 149-151
- Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2009; 8: 283-291
- Gieling RG, Burt AD, Mann DA. Fibrosis and cirrhosis reversibility - molecular mechanisms. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 915-937, xi
- Kim WH, Matsumoto K, Bessho K, Nakamura T. Growth inhibition and apoptosis in liver myofibroblasts promoted by hepatocyte growth factor leads to resolution from liver cirrhosis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1017-1028
- Lin N, Hu K, Chen S, Xie S, Tang Z, Lin J, Xu R. Nerve growth factor-mediated paracrine regulation of hepatic stellate cells by multipotent mesenchymal stromal cells. *Life Sci* 2009; 85: 291-295
- Shi J, Wei L. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2007; 55: 61-75
- Zhou Y, Zheng S, Lin J, Zhang QJ, Chen A. The interruption of the PDGF and EGF signaling pathways by curcumin stimulates gene expression of PPARgamma in rat activated hepatic stellate cell in vitro. *Lab Invest* 2007; 87: 488-498
- Abdel Aziz MT, Atta HM, Mahfouz S, Fouad HH, Roshdy NK, Ahmed HH, Rashed LA, Sabry D, Hassouna AA, Hasan NM. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on experimental liver fibrosis. *Clin Biochem* 2007; 40: 893-899
- Baertschiger RM, Serre-Beinier V, Morel P, Bosco D, Peyrou M, Clément S, Sgroi A, Kaelin A, Buhler LH, Gonelle-Gispert C. Fibrogenic potential of human multipotent mesenchymal stromal cells in injured liver. *PLoS One* 2009; 4: e6657
- 穆丽雅, 韩明子, 祁金锋. 门静脉和尾静脉注入小鼠骨髓干细胞向肝脏迁移的比较. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1408-1411
- 苏思标, 姜海行, 王东旭, 覃山羽, 梁梓宇. 骨髓间充质干细胞调控肝星状细胞RhoA、P27的表达. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3283-3291
- Parekkadan B, van Poll D, Megeed Z, Kobayashi N, Tilles AW, Berthiaume F, Yarmush ML. Immunomodulation of activated hepatic stellate cells by mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363: 247-252
- Shi L, Li G, Wang J, Sun B, Yang L, Wang G, Wang D, Mu L, Chen H, Jin L, Kostulas N, Li H. Bone marrow stromal cells control the growth of hepatic stellate cells in vitro. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2969-2974
- Wang X, Tang X, Gong X, Albanis E, Friedman SL, Mao Z. Regulation of hepatic stellate cell activation and growth by transcription factor myocyte enhancer factor 2. *Gastroenterology* 2004; 127: 1174-1188
- 梁昌宇, 覃山羽, 姜海行, 王东旭, 苏思标, 梁梓宇. 骨髓间充质干细胞对大鼠急性肝损伤修复的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1178-1184
- Pulavendran S, Vignesh J, Rose C. Differential anti-inflammatory and anti-fibrotic activity of transplanted mesenchymal vs. hematopoietic stem cells in carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 513-519
- Trebicka J, Hennenberg M, Laleman W, Shelest N, Biecker E, Schepke M, Nevens F, Sauerbruch T, Heller J. Atorvastatin lowers portal pressure in cirrhotic rats by inhibition of RhoA/Rho-kinase and activation of endothelial nitric oxide synthase. *Hepatology* 2007; 46: 242-253
- Zhou Q, Hennenberg M, Trebicka J, Jochem K, Leifeld L, Biecker E, Sauerbruch T, Heller J. Intrahepatic upregulation of RhoA and Rho-kinase signalling contributes to increased hepatic vascular resistance in rats with secondary biliary cirrhosis. *Gut* 2006; 55: 1296-1305
- Shiotani S, Shimada M, Suehiro T, Soejima Y, Yosizumi T, Shimokawa H, Maehara Y. Involvement of Rho-kinase in cold ischemia-reperfusion injury after liver transplantation in rats. *Transplantation* 2004; 78: 375-382
- 胡昆鹏, 林楠, 林继宗, 邓美海, 汤照峰, 项鹏, 许瑞云. 人骨髓间质干细胞对肝星状细胞的体外调控. *中国组织工程研究与临床康复* 2009; 13: 5257-5260
- Crisostomo PR, Wang Y, Markel TA, Wang M, Lahm T, Meldrum DR. Human mesenchymal stem cells stimulated by TNF-alpha, LPS, or hypoxia produce growth factors by an NF kappa B- but not JNK-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294: C675-C682
- Shi MN, Zheng WD, Zhang LJ, Chen ZX, Wang XZ. Effect of IL-10 on the expression of HSC growth factors in hepatic fibrosis rat. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4788-4793
- Sanz S, Pucilowska JB, Liu S, Rodríguez-Ortigosa CM, Lund PK, Brenner DA, Fuller CR, Simmons JG, Pardo A, Martínez-Chantar ML, Fagin JA, Prieto J. Expression of insulin-like growth factor I by activated hepatic stellate cells reduces fibrogenesis and enhances regeneration after liver injury. *Gut* 2005; 54: 134-141
- Forte G, Minieri M, Cossa P, Antenucci D, Sala M, Gnocchi V, Fiaccavento R, Carotenuto F, De Vito P, Baldini PM, Prat M, Di Nardo P. Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells:

- proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells* 2006; 24: 23-33
- 26 Giannopoulou M, Dai C, Tan X, Wen X, Michalopoulos GK, Liu Y. Hepatocyte growth factor exerts its anti-inflammatory action by disrupting nuclear factor-kappaB signaling. *Am J Pathol* 2008; 173: 30-41
 - 27 Wang X, Le P, Liang C, Chan J, Kiewlich D, Miller T, Harris D, Sun L, Rice A, Vasile S, Blake RA, Howlett AR, Patel N, McMahon G, Lipson KE. Potent and selective inhibitors of the Met [hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) receptor] tyrosine kinase block HGF/SF-induced tumor cell growth and invasion. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 1085-1092
 - 28 Wang J, Bian C, Liao L, Zhu Y, Li J, Zeng L, Zhao RC. Inhibition of hepatic stellate cells proliferation by mesenchymal stem cells and the possible mechanisms. *Hepatol Res* 2009; 39: 1219-1228
 - 29 Suzumura K, Hirano T, Son G, Iimuro Y, Mizukami H, Ozawa K, Fujimoto J. Adeno-associated virus vector-mediated production of hepatocyte growth factor attenuates liver fibrosis in mice. *Hepatol Int* 2008; 2: 80-88
 - 30 Huh CG, Factor VM, Sánchez A, Uchida K, Conner EA, Thorgeirsson SS. Hepatocyte growth factor/c-met signaling pathway is required for efficient liver regeneration and repair. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 4477-4482
 - 31 Kendall TJ, Hennedige S, Aucott RL, Hartland SN, Vernon MA, Benyon RC, Iredale JP. p75 Neurotrophin receptor signaling regulates hepatic myofibroblast proliferation and apoptosis in recovery from rodent liver fibrosis. *Hepatology* 2009; 49: 901-910
 - 32 Watson MR, Wallace K, Gieling RG, Manas DM, Jaffray E, Hay RT, Mann DA, Oakley F. NF-kappaB is a critical regulator of the survival of rodent and human hepatic myofibroblasts. *J Hepatol* 2008; 48: 589-597
 - 33 Chen A, Zheng S. Curcumin inhibits connective tissue growth factor gene expression in activated hepatic stellate cells in vitro by blocking NF-kappaB and ERK signalling. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 557-567

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010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, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{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-甲基乙酰胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ, Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), 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}, Vd, 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。

β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65在溃疡性结肠炎大鼠中的表达及乌梅丸的干预作用

梁丽, 范恒, 段雪云, 陈小艳, 张丽娟, 唐庆, 廖奕, 刘星星, 钟敏

■背景资料

溃疡性结肠炎是慢性炎症性肠病的一种, 其确切的发病原因和机制还不明确, 治疗上也比较棘手, 因此对本病发病机制和治疗上的研究显得尤为重要。

梁丽, 范恒, 陈小艳, 张丽娟, 唐庆, 廖奕, 刘星星, 钟敏, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

段雪云, 湖北中医学院附属医院药剂科 湖北省武汉市 430061
梁丽, 华中科技大学同济医学院附属协和医院在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金面上资助项目, No. 30772878

作者贡献分布: 此课题由范恒设计, 范恒指导; 研究过程由梁丽、段雪云、陈小艳、张丽娟、唐庆、廖奕、刘星星及钟敏操作完成; 数据分析由梁丽完成; 本论文写作由梁丽与范恒完成。

通讯作者: 范恒, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@yahoo.com.cn

电话: 027-85726395

收稿日期: 2010-01-29 修回日期: 2010-04-17

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-06-08

Wumeiwan treatment alters the expression of β 2AR, β -arrestin 2 and NF- κ B p65 in rat ulcerative colitis

Li Liang, Heng Fan, Xue-Yun Duan, Xiao-Yan Chen, Li-Juan Zhang, Qing Tang, Yi Liao, Xing-Xing Liu, Min Zhong

Li Liang, Heng Fan, Xiao-Yan Chen, Li-Juan Zhang, Qing Tang, Yi Liao, Xing-Xing Liu, Min Zhong, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Xue-Yun Duan, Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30772878

Correspondence to: Associate Professor Heng Fan, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@yahoo.com.cn

Received: 2010-01-29 Revised: 2010-04-17

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effects of Wumeiwan treatment on the expression of β 2-adrenergic receptor (β 2AR), β -arrestin 2, NF- κ B p65 in ulcerative colitis in rats.

METHODS: Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: control group,

model group, mesalazine group and Wumeiwan group. Ulcerative colitis was induced in rats with 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid. The control group and model group were administered intragastrically with 3 mL of normal saline, while the mesalazine group and Wumeiwan group were intragastrically given mesalazine at a dose of 50 mg/100 g body weight and 3 mL of Wumeiwan (0.515 g/mL), respectively. All rats were treated for 15 d. Spleen and colon tissue samples were taken to detect the expression of β 2AR, β -arrestin 2 and NF- κ B p65 by Western blot and immunohistochemistry.

RESULTS: The expression levels of β 2AR and β -arrestin 2 were significantly lower in the model group than in the control group ($12.54\% \pm 1.28\%$ vs $15.28\% \pm 1.71\%$, $12.67\% \pm 1.42\%$ vs $15.28\% \pm 1.58\%$). Treatment with either Wumeiwan or mesalazine significantly increased the expression of β 2AR and β -arrestin 2 ($16.27\% \pm 1.40\%$, $16.18\% \pm 1.12\%$; $17.05\% \pm 1.48\%$, $16.77\% \pm 1.40\%$), and there were no significant differences in the expression levels of β 2AR and β -arrestin 2 between the Wumeiwan and mesalazine groups. The expression level of NF- κ B p65 was significantly higher in the model group than in the control group ($17.79\% \pm 1.24\%$ vs $13.82\% \pm 1.13\%$). Treatment with either Wumeiwan or mesalazine significantly decreased the expression of NF- κ B p65 ($16.61\% \pm 1.42\%$, $15.39\% \pm 1.21\%$), and there was no significant difference in the expression level of NF- κ B p65 between the Wumeiwan and mesalazine groups.

CONCLUSION: Both Wumeiwan and mesalazine have significant efficacy in the treatment of ulcerative colitis in rats.

Key Words: Ulcerative colitis; Rat model; β 2-adrenergic receptor; β -arrestin 2; NF- κ B p65; Wumeiwan

Liang L, Fan H, Duan XY, Chen XY, Zhang LJ, Tang Q, Liao Y, Liu XX, Zhong M. Wumeiwan treatment alters the expression of β 2AR, β -arrestin 2 and NF- κ B p65 in rat ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1650-1655

■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科

摘要

目的: 检测溃疡性结肠炎大鼠在药物治疗前后 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达水平。

方法: SD大鼠随机分为4组: 空白组、模型组、美沙拉秦西药组和乌梅丸中药组。模型组成功建立后空白组和模型组以生理盐水3 mL灌胃, 美沙拉秦组用50 g/L的美沙拉秦混悬液50 mg/100 g灌胃, 乌梅丸组给予0.515 g/mL的乌梅丸液3 mL灌胃, 各组均连续给药15 d后, 取脾脏和结肠组织分别用Western blot法和免疫组织化学法检测 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达。

结果: 在正常组织中 β 2AR、 β -arrestin2的表达较多($15.28\% \pm 1.71\%$, $15.28\% \pm 1.58\%$), 模型组二者的表达明显下降($12.54\% \pm 1.28\%$, $12.67\% \pm 1.42\%$), 经治疗后, 乌梅丸组和美沙拉秦组中二者的表达显著增加($16.27\% \pm 1.40\%$, $16.18\% \pm 1.12\%$; $17.05\% \pm 1.48\%$, $16.77\% \pm 1.40\%$), 免疫组织化学法检测显示表达率有统计学意义。而NF- κ B p65在正常组织中表达较少, 模型组NF- κ B p65的表达明显增加($17.79\% \pm 1.24\%$), 经药物治疗后其在乌梅丸组和美沙拉秦组中表达明显下降($16.61\% \pm 1.42\%$, $15.39\% \pm 1.21\%$), 免疫组织化学法检测显示表达率有统计学意义。

结论: 对于溃疡性结肠炎的治疗, 乌梅丸和美沙拉秦均有明显疗效。

关键词: 溃疡性结肠炎; 大鼠模型; β 2AR; β -arrestin2; NF- κ B p65; 乌梅丸

梁丽, 范恒, 段雪云, 陈小艳, 张丽娟, 唐庆, 廖奕, 刘星星, 钟敏.
 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65在溃疡性结肠炎大鼠中的表达及乌梅丸的干预作用. 世界华人消化杂志. 2010; 18(16): 1650-1655
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1650.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎是慢性炎症性肠病的一种, 其确切的发病原因和机制还不明确, 是发生于遗传易感个体的异常免疫应答反应, 也是环境、微生物及肠道免疫系统相互作用的结果^[1]。近年来在炎症性肠病发病机制的研究主要集中在免疫方面, 在炎症性肠病发病机制中存在的大量单核细胞及有活性的巨噬细胞是细胞因子的主要来源。促炎症反应细胞因子如IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、IFN、TNF等, 抗炎细胞因子如IL-4、IL-10、IL-13等均与溃疡性结肠炎的发病及病

程进展有关^[2]。NF- κ B的活化可以控制各种促炎症细胞因子的基因转录, 这证明他在溃疡性结肠炎的发病中起重要作用^[3]。NF- κ B是一种转录因子, 在基因表达的先天免疫应答、细胞增殖和分化中起重要作用。 β -arrestins是Arrestin家族中普遍表达的一员, 是G蛋白偶联受体信号的主要调节剂, 可以与活化的G蛋白偶联受体结合导致受体失敏化和内化。近来发现 β -arrestin在调节多种信号途径及介导信号途径间的交叉对话中起重要作用。而且许多证据显示 β -arrestin2可在脾脏中表达, 并参与许多重要的免疫反应过程。同时 β 2AR可通过 β -arrestin2稳定胞质中IKBa来抑制NF- κ B的活化, 而NF- κ B的活化依赖于胞质中NF- κ B/IKBa复合物的水平, 因此 β 2AR的减少会导致 β -arrestin2的下调^[4]。 β 2AR既可以促进炎症反应又可以抑制炎症反应这依赖于 β -arrestin2的表达, 而且 β -arrestin依赖的 β 2AR信号的选择性活化作用可以作用于抗炎药物的治疗中^[5]。本实验通过验证药物治疗前后 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65表达水平的变化来证实乌梅丸在免疫机制方面的疗效。为溃疡性结肠炎提供新的有效的治疗途径和方法。

1 材料和方法

1.1 材料 24只♂SPF级SD大鼠, 购自华中科技大学同济医学院实验动物中心, 体质量 $300 \text{ g} \pm 50 \text{ g}$; 2, 4, 6-三硝基苯磺酸(50 g/L)购自Sigma公司。美沙拉秦(0.5 g/袋)购自武汉协和医院, 乌梅丸各味中药生药购自武汉协和医院, 在湖北省中医院药剂科经药用砂锅, 煎药器, 挥发油提取器煎煮浓缩并消毒后备用。

1.2 方法

1.2.1 造模及药物干预: 将24只大鼠随机分为4组: 空白对照组、模型组、美沙拉秦西药组和乌梅丸中药组。除空白对照组外, 其他组大鼠均在禁食不禁饮24 h条件下, 给予2, 4, 6-三硝基苯磺酸灌肠, 具体方法为: 用10%的水合氯醛以3 mL/kg分别从腹腔注射进行麻醉后, 将导尿管缓缓插入大鼠肛门8 cm将抽取好的50%的乙醇溶液注入0.25 mL后继续注入2, 4, 6-三硝基苯磺酸液0.6 mL, 使药液缓慢进入肠道, 将大鼠提尾倒置30 s, 待清醒后自由饮食, 自由进水。模型建立成功后, 空白对照组和模型组每组每只均以蒸馏水3 mL灌胃, 美沙拉秦组以50 g/L的美沙拉秦混悬液50 mg/100 g灌胃, 乌梅丸组予以乌梅丸液(0.515 g/mL)3 mL灌胃, 各组均灌胃15 d。

■ 相关报道

在转染细胞研究中发现, β -arrestin的N端可以与IKB直接相互作用阻止IKB的降解而抑制NF- κ B的活性。

■创新盘点

本文通过研究结肠和脾脏组织中 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达来阐明溃疡性结肠炎的发病机制,并进行药物治疗疗效比较。

1.2.2 Western blot法检测大鼠脾脏 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达:将脾脏组织加HANK液充分研磨后,加1.8%氯化钠溶液裂解红细胞,用双蒸水中和后,1 200 r/min离心2 min,弃上清获得T淋巴细胞,加入1 mL RIPA,充分吹打,然后冰上放置20 min后,再吹10 min,将匀浆液吸出放到1.5 mL离心管中。超声3次,每次3 s; 9 000 r/min,离心10 min,取适量上清置于新的1.5 mL离心管中,得到T淋巴细胞细胞核蛋白。将提取的T淋巴细胞细胞核蛋白在200 V电压下进行SDS-PAGE电泳;转膜后使一抗与靶蛋白的结合再用酶标记二抗与一抗的结合后进行化学发光。

1.2.3 免疫组织化学法检测大鼠结肠组织 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达:将各组大鼠结肠组织制备厚度3 μ m切片,65 $^{\circ}$ C烤片4 h后,依次用二甲苯I、二甲苯II、无水乙醇I、无水乙醇II、95%乙醇、90%乙醇、85%乙醇、75%乙醇各10 min脱蜡、水化;然后用1 $\times$ PBS缓冲液(0.01 mol/L, pH7.2)洗涤切片3次,每次5 min;高压抗原修复后待修复液自然冷却,再用1 $\times$ PBS缓冲液(0.01 mol/L, pH7.2)洗涤切片3次,每次5 min; 3% H_2O_2 (以PBS缓冲液或甲醇配置)滴加在组织切片上,室温(24 $^{\circ}$ C)静置10 min; PBS洗3次各5 min;滴加正常山羊血清封闭液,室温10 min。甩去多余液体。滴加一抗50 μ L,置于湿盒内,4 $^{\circ}$ C过夜; 1 $\times$ PBS洗3次各5 min;滴加复合二抗,室温静置20 min; 1 $\times$ PBS洗3次各5 min; DAB显色,在显微镜下掌握染色程度约3-5 min;自来水终止显色;苏木精复染,1%盐酸酒精分化(分化时间为1 s);自来水冲洗10 min;脱水,透明;中性树胶封片,镜检。其中黄色或棕黄色染色为阳性染色。

2 结果

2.1 模型评价 造模后24 h大鼠出现稀便、脓血便、竖毛、毛色欠光滑、喜扎堆、懒动、活动迟缓,眼球转动不灵活。用放大镜(50 $\times$)观察病变肠黏膜可发现充血糜烂面,并有溃疡形成。进行组织病理学分析可观察到固有膜有弥漫性、慢性炎症细胞及中性粒细胞、嗜酸性粒细胞浸润;上皮细胞间有中性粒细胞浸润及隐窝炎,甚至形成隐窝脓肿;隐窝上皮增生、杯状细胞减少;黏膜表面糜烂、溃疡形成和肉芽组织增生。

2.2 脾脏 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达在正常组织中 β 2AR的表达较高,模型组其表达明显下降。经乌梅丸和美沙拉秦治疗后, β 2AR的

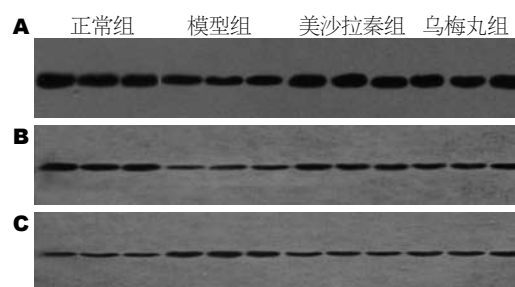


图1 大鼠脾脏 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的表达。A: β 2AR; B: β -arrestin2; C: NF- κ B p65。

表达显著增加(图1A)。在正常组织中 β -arrestin2的表达较多,模型组中其表达明显下降,经治疗后, β -arrestin2的表达增加,其中乌梅丸组与美沙拉秦组无显著差异(图1B)。NF- κ B p65在正常组织中表达较少,模型组NF- κ B p65的表达明显增加,经药物治疗后其表达下降,而乌梅丸组与美沙拉秦组比较无显著差异(图1C)。

2.3 免疫组织化学法检测大鼠结肠组织 β 2AR、 β -arrestin2、NF- κ B p65的结果 对照组、模型组、美沙拉秦组和乌梅丸组结肠黏膜 β 2AR的表达率分别为15.28% $\pm$ 1.71%、12.54% $\pm$ 1.28%、16.18% $\pm$ 1.12%和16.27% $\pm$ 1.40%。美沙拉秦组和乌梅丸组治疗后结肠黏膜 β 2AR的表达率明显高于模型组,且美沙拉秦西药组和乌梅丸组表达差异无统计学意义($P>0.05$,图2)。各组结肠黏膜 β -arrestin2的表达率分别为15.28% $\pm$ 1.58%、12.67% $\pm$ 1.42%、16.77% $\pm$ 1.40%和17.05% $\pm$ 1.48%。美沙拉秦西药组和乌梅丸组治疗后结肠黏膜 β -arrestin2的表达率明显高于模型组,且美沙拉秦西药组和乌梅丸组表达差异无统计学意义($P>0.05$,图3)。各组结肠黏膜NF- κ B p65的表达率分别为13.82% $\pm$ 1.13%、17.79% $\pm$ 1.24%、15.39% $\pm$ 1.21%和16.61% $\pm$ 1.42%。美沙拉秦西药组和乌梅丸组治疗后结肠黏膜NF- κ B p65的表达率明显低于模型组,且美沙拉秦西药组和乌梅丸组表达差异无统计学意义($P>0.05$,图4)。

3 讨论

Arrestin也称为48 kDa蛋白或S抗原,具有视觉和非视觉两种结构形式,其家族有4个成员,其中 β -arrestin2是一种多功能适应性蛋白,在哺乳动物组织中普遍表达^[6]。 β -arrestin能以不同的形态与不同的受体相互作用发生在不同的结合场所,其构象变化会影响 β -arrestin与不同结合配体的易接受性^[7]。Arrestin与20多种不同蛋白如:SRC家族激酶、泛素连接酶、蛋白磷酸酶等相互作用

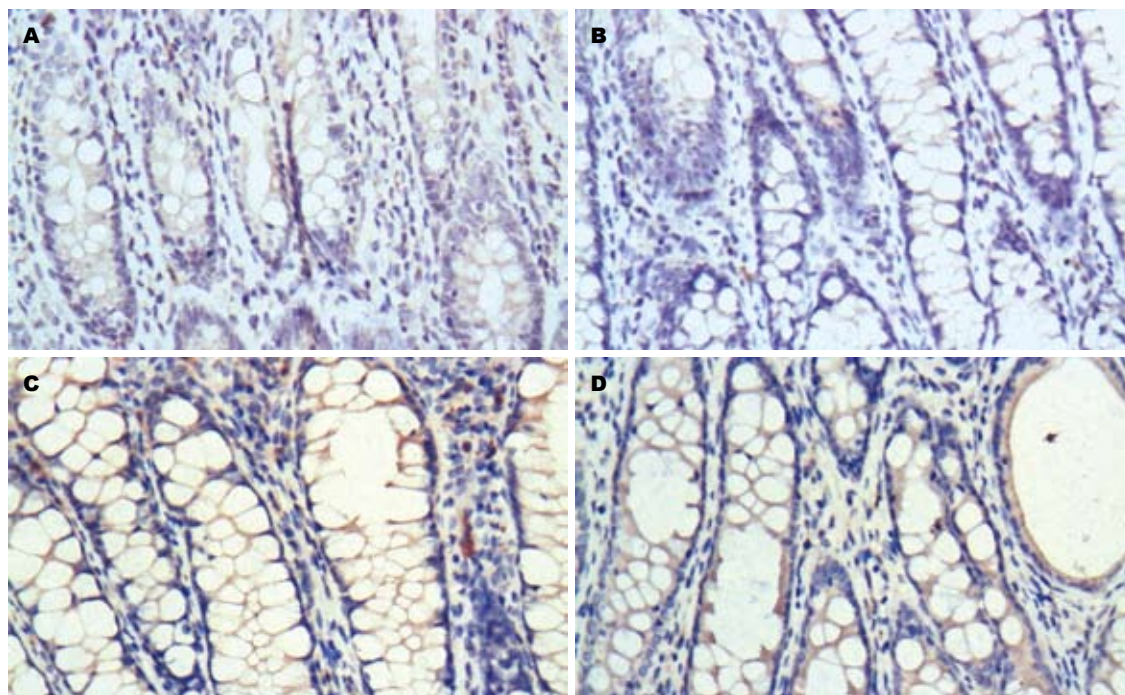


图 2 各组大鼠结肠组织 β 2AR的表达. A: 正常组; B: 模型组; C: 美沙拉秦组; D: 乌梅丸组.

■应用要点

本研究发现乌梅丸和美沙拉秦均可以有效治疗溃疡性结肠炎, 药物安全, 疗效理想, 值得临床研究.

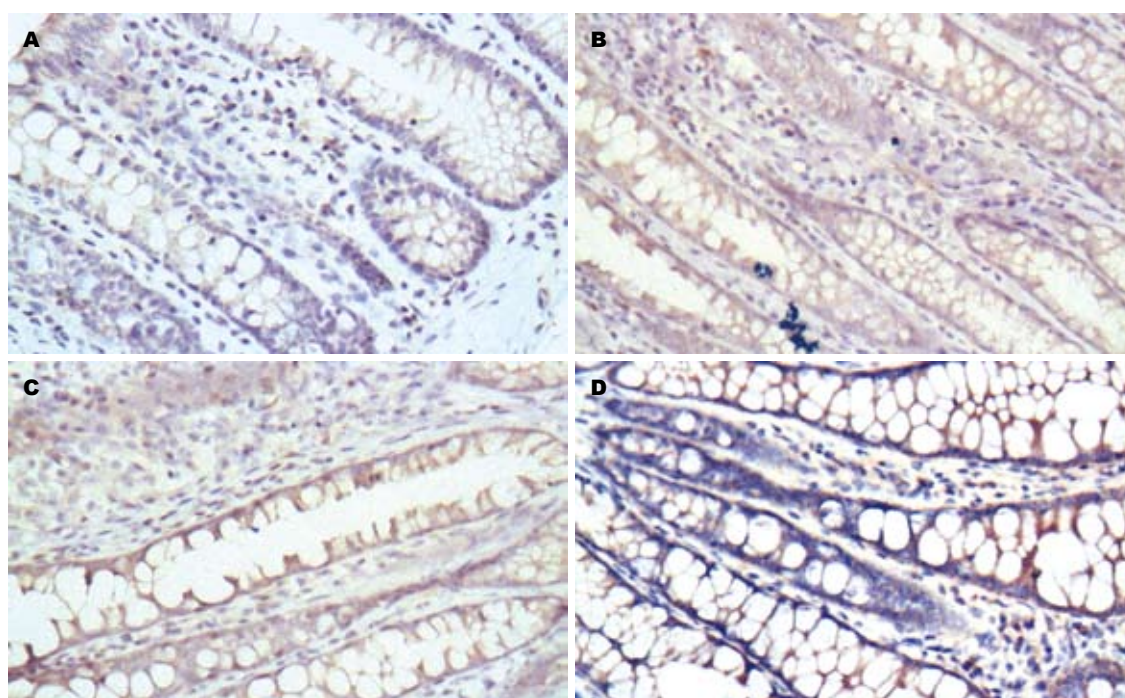


图 3 各组大鼠结肠组织 β -arrestin2的表达. A: 正常组; B: 模型组; C: 美沙拉秦组; D: 乌梅丸组.

用, 并作为支架蛋白使信号易于进入两种MAP激酶级联, 导致ERK1/2和JNK3的活化^[8]. 不同的细胞作用, 从分化、增殖到迁移、炎症都由MAPK信号来调节, 因此Arrestin是决定细胞存亡与行为的关键因子^[8,9]. β -arrestin是多功能构架蛋白, 参与G蛋白偶联受体多信号作用^[10]. G蛋白偶联受体通过磷酸化调节引起Arrestin募集反应

导致受体失敏化及Arrestin依赖途径的激活^[11]. Arrestin又可作为接头或支架蛋白, 与活化的磷酸化G蛋白偶联受体合成来终止G蛋白的活化及信号转导^[12]. β -arrestin起初被认为是G蛋白偶联受体信号的终止子, 他们结合受体并抑制与G蛋白的结合而导致效应器如第二信使产生的酶失活, 后来发现其有信号转导作用, 可介导抗细胞

同行评价

本研究为临床上开展中药治疗溃疡性结肠炎提供了重要理论依据。

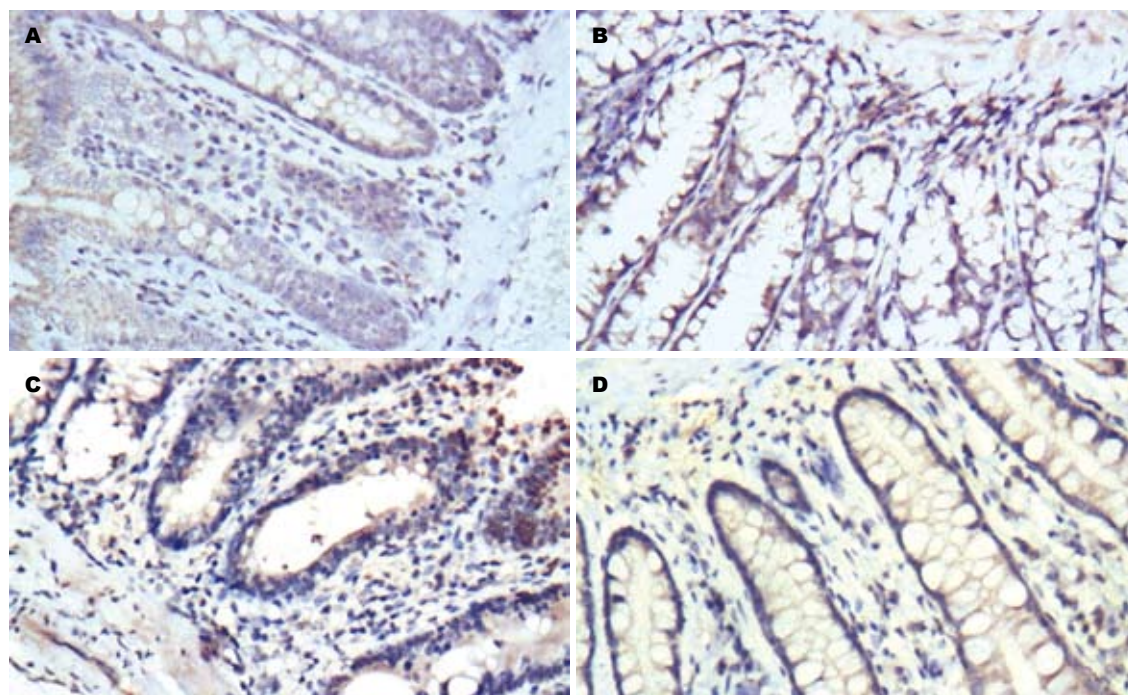


图4 各组大鼠结肠组织NF- κ B的表达。A: 正常组; B: 模型组; C: 美沙拉秦组; D: 乌梅丸组。

凋亡的细胞保护作用^[13]。

β -arrestin2可以作为支架蛋白在GPCR诱导的NF- κ B活性中起重要作用^[14]。 β 2AR能通过 β -arrestin依赖途径传递信号^[15]。 β 2AR又可以活化或抑制NF- κ B活性。NF- κ B是转录因子家族中的一员,可作为同源或异源二聚体存在,在基因表达的先天免疫应答、细胞增殖和分化中起重要作用。在转染细胞研究中发现, β -arrestin的N端可以与IF κ B直接相互作用阻止IF κ B的降解而抑制NF- κ B的活性。IF κ B与 β -arrestin2的相互作用可通过 β 2AR的活化来增强。 β 2AR既可以促进炎症反应又可以抑制炎症反应,这依赖于 β -arrestin2的表达^[5]。脱磷酸后的 β -arrestin2又可以抑制NF- κ B的活性而促进细胞凋亡^[13]。因此 β -arrestin依赖的 β 2AR信号的选择性活化作用可以作用于抗炎药物的治疗中^[5]。

几种GPCR配体也能有效的诱导NF- κ B的活化。 β -arrestin2在GPCR诱导的NF- κ B的活化中起正性作用。 β 2AR诱导的IKBa稳定性可通过 β -arrestin2来实现^[14]。刺激可以抑制 β 2AR的表达而导致 β -arrestin2表达的下调,稳定了胞质IKBa并抑制NF- κ B的活化。 β 2AR受刺激后在巨噬细胞中可通过抑制IKBa的降解来作为负调节蛋白活化NF- κ B。证实 β -arrestin2的表达由 β 2AR来调节。 β 2AR的被动表达可抑制IKBa稳定作用引起NF- κ B活化抑制^[4]。这与本实验研究结果相一致,即经药物治疗后 β 2AR和 β -arrestin2的表达水平

明显上升而促进NF- κ B表达下降最终引起NF- κ B活化抑制而使得促炎性细胞因子表达下降而抑制炎症反应起到治疗溃疡性结肠炎的作用。选择性NF- κ B活化途径可能与多种炎症性疾病包括溃疡性结肠炎相关,因此选择性途径抑制剂可有效应用于炎症性疾病的治疗^[16]。

乌梅丸由乌梅、细辛、干姜、黄连、当归、附子、蜀椒、桂枝、党参、黄柏组成^[17]。乌梅丸出自仲景《伤寒论·厥阴病篇》,方中以乌梅酸敛收固,附子、干姜、桂枝扶阳以胜寒,蜀椒、细辛通阳以破阴,附子、干姜、蜀椒、桂枝、细辛,辛热以助其阳,温以祛寒;黄连、黄柏之苦寒以坚其阴,清以泻热,党参、当归益气养血,诸药合用,使寒热邪去,阴阳协调,气血恢复。全方酸收熄风,辛热助阳,酸苦坚阴,寒热温凉,温清敛补,攻补兼施,诸药配伍,调理阴阳寒热虚实,使之归复于平和。本实验研究发现,乌梅丸治疗后溃疡性结肠炎大鼠病变结肠黏膜明显修复好转,其改善程度相当于美沙拉秦,可升高大鼠淋巴细胞 β -arrestin2、 β 2AR的表达水平,降低大鼠结肠黏膜中NF- κ B的水平,起到了对免疫功能的调节和对结肠黏膜的保护作用。本研究发现,乌梅丸对于改善腹泻、稀便、黏液脓血便、竖毛等临床症状也具有良好的作用。

促炎症介质在炎症性肠病的发病中是重要的,可通过活化NF- κ B来调节。NF- κ B在免疫和炎症反应中起重要作用,在炎症性肠病患者结

肠上皮细胞和巨噬细胞中NF- κ B可被活化. 乌梅丸可通过抑制促炎症分子的表达及转录因子NF- κ B的表达来减轻2, 4, 6-三硝基苯磺酸诱导的大肠炎的炎症反应. 可通过抑制NF- κ B的活化来减轻结肠损伤, 改善大肠炎症状. 总之, 由于其显著的抗炎作用, 乌梅丸可作为一种有效的治疗溃疡性结肠炎的药物^[18].

4 参考文献

- 1 Stefanelli T, Malesci A, Repici A, Vetrano S, Danese S. New insights into inflammatory bowel disease pathophysiology: paving the way for novel therapeutic targets. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 413-418
- 2 Polińska B, Matowicka-Karna J, Kemona H. [The cytokines in inflammatory bowel disease] *Postępy Hig Med Dosw* (Online) 2009; 63: 389-394
- 3 Li Z, Zhang de K, Yi WQ, Ouyang Q, Chen YQ, Gan HT. NF-kappaB p65 antisense oligonucleotides may serve as a novel molecular approach for the treatment of patients with ulcerative colitis. *Arch Med Res* 2008; 39: 729-734
- 4 Kizaki T, Izawa T, Sakurai T, Haga S, Taniguchi N, Tajiri H, Watanabe K, Day NK, Toba K, Ohno H. Beta2-adrenergic receptor regulates Toll-like receptor-4-induced nuclear factor-kappaB activation through beta-arrestin 2. *Immunology* 2008; 124: 348-356
- 5 Defea K. Beta-arrestins and heterotrimeric G-proteins: collaborators and competitors in signal transduction. *Br J Pharmacol* 2008; 153 Suppl 1: S298-S309
- 6 Barki-Harrington L, Rockman HA. Beta-arrestins: multifunctional cellular mediators. *Physiology* (Bethesda) 2008; 23: 17-22
- 7 DeFea KA. Beta-arrestin multimers: does a crowd help or hinder function? *Biochem J* 2008; 413: e1-e3
- 8 Gurevich VV, Gurevich EV, Cleghorn WM. Arrestins as multi-functional signaling adaptors. *Handb Exp Pharmacol* 2008; 15-37
- 9 Brown MD, Sacks DB. Protein scaffolds in MAP kinase signalling. *Cell Signal* 2009; 21: 462-469
- 10 Patel PA, Tilley DG, Rockman HA. Physiologic and cardiac roles of beta-arrestins. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46: 300-308
- 11 Tobin AB, Butcher AJ, Kong KC. Location, location...site-specific GPCR phosphorylation offers a mechanism for cell-type-specific signalling. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29: 413-420
- 12 Raghuvanshi SK, Nasser MW, Chen X, Strieter RM, Richardson RM. Depletion of beta-arrestin-2 promotes tumor growth and angiogenesis in a murine model of lung cancer. *J Immunol* 2008; 180: 5699-5706
- 13 Ahn S, Kim J, Hara MR, Ren XR, Lefkowitz RJ. {beta}-Arrestin-2 Mediates Anti-apoptotic Signaling through Regulation of BAD Phosphorylation. *J Biol Chem* 2009; 284: 8855-8865
- 14 Sun J, Lin X. Beta-arrestin 2 is required for lysophosphatidic acid-induced NF-kappaB activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 17085-17090
- 15 Drake MT, Violin JD, Whalen EJ, Wisler JW, Shenoy SK, Lefkowitz RJ. beta-Arrestin-biased Agonism at the 2-Adrenergic receptor. *J Biol Chem* 2008; 283: 5669-5676
- 16 Dejardin E. The alternative NF-kappaB pathway from biochemistry to biology: pitfalls and promises for future drug development. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1161-1179
- 17 范恒, 段雪云, 庄雄, 吕建芳, 寿折星. 乌梅丸对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织NF- κ B p65的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 896-899
- 18 Li JH, Yu JP, Yu HG, Xu XM, Yu LL, Liu J, Luo HS. Melatonin reduces inflammatory injury through inhibiting NF-kappaB activation in rats with colitis. *Mediators Inflamm* 2005; 2005: 185-193

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作. 经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目. 《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页). (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

IL-10基因启动子区单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒感染后疾病转归的关系

刘娟娟, 高英堂, 杜智, 杨斌, 经翔, 王毅军, 王凤梅, 刘彤

■背景资料

HBV感染是肝病发生的最主要原因之一, 部分感染者最终发展为慢性肝炎、肝硬化或原发性肝癌。随着人类SNP研究工作的进展, 基因多态性的研究有望为筛选HBV感染高危人群以及肝病的防治工作提供可靠依据。

刘娟娟, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300170
高英堂, 杜智, 杨斌, 王凤梅, 刘彤, 天津市第三中心医院 天津市
天津市人工细胞重点实验室 天津市 300170
经翔, 王毅军, 天津市第三中心医院肝胆外科 天津市 300170
刘娟娟, 天津医科大学硕士, 主要从事单核苷酸多态性与肝病之间关系的基础研究。

天津市科委攻关专项基金资助项目, No. 05YFSZSF02500

作者贡献分布: 刘娟娟与高英堂对此文所作贡献均等; 此课题的设计与写作由高英堂、杜智及刘娟娟完成; 标本采集由刘娟娟、刘彤、经翔及王毅军完成; 研究过程由刘娟娟、杨斌及王凤梅完成; 数据分析由刘娟娟与高英堂完成。

通讯作者: 高英堂, 研究员, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院. gaoyt816@163.com

电话: 022-84112148 传真: 022-24382234

收稿日期: 2010-03-08 修回日期: 2010-04-30

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Relationship between IL-10 gene promoter polymorphisms and outcome of hepatitis B virus infection

Juan-Juan Liu, Ying-Tang Gao, Zhi Du, Bin Yang, Xiang Jing, Yi-Jun Wang, Feng-Mei Wang, Tong Liu

Juan-Juan Liu, the Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China
Ying-Tang Gao, Zhi Du, Bin Yang, Feng-Mei Wang, Tong Liu, Tianjin Key Laboratory of Artificial Cell, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Xiang Jing, Yi-Jun Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Supported by: the Key Project of Tianjin Science and Technology Commission, No. 05YFSZSF02500

Correspondence to: Ying-Tang Gao, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. gaoyt816@163.com

Received: 2010-03-08 Revised: 2010-04-30

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between interleukin-10 (IL-10) gene promoter polymorphisms at positions -1082 and -819 and the outcome of hepatitis B virus (HBV) infection.

METHODS: TaqMan SNP genotyping and sequencing assays were employed to determine the distribution of genotypes and alleles of the IL-10 gene at positions -1082 and -819 in 187

healthy control subjects, 94 self-limited HBV patients, 130 patients with chronic hepatitis B, 119 patients with HBV-induced liver cirrhosis and 170 patients with HBV-related hepatocellular carcinoma (HCC).

RESULTS: Of the 700 subjects, 82.29% had the AA genotype, 16.00% had the AG genotype, and 1.71% had the GG genotype in the IL-10 gene promoter at position -1082. The frequencies of A and T alleles were 90.29% and 9.71%, respectively. The TT, TC and CC genotypes in the IL-10 gene promoter at position -819 accounted for 41.43%, 48.14%, and 10.43%, respectively. The frequencies of T and C alleles were 65.64% and 34.36%, respectively. There were no significant differences in genotype or allele distribution at the two positions among different groups. IL-10-1082 AG genotype and G allele decreased the risk of chronic hepatitis B and cirrhosis. IL-10-819 TC genotype was associated with a decreased risk of HCC. IL-10-819 CC genotype and C allele decreased the risk of chronic hepatitis B, cirrhosis and HCC. AC haplotype decreased the risk of cirrhosis and HCC, while GC haplotype decreased the risk of chronic hepatitis B and cirrhosis. The frequency of IL-10-819 C was significantly higher in patients with HBV DNA levels $< 10^3$ copies/mL than those with HBV DNA levels $\geq 10^3$ copies/mL ($P = 0.025$). No significant differences were noted in genotypes or allele frequencies among HCC or cirrhosis subjects with different grades of Child-Pugh classification, different levels of alpha-fetoprotein or different HBsAg status.

CONCLUSION: IL-10-1082 AG genotype and G allele, IL-10-819 TC and CC genotype and C allele, as well as IL-10-1082/-819 AC and GC haplotypes may play a protective role in the disease progression after HBV infection. IL-10-819 C allele may contribute to virus elimination in HBV-infected patients.

Key Words: Interleukin-10; Single nucleotide polymorphism; Hepatitis B virus; Disease outcome

■同行评议者

任浩, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

Liu JJ, Gao YT, Du Z, Yang B, Jing X, Wang YJ, Wang FM, Liu T. Relationship between IL-10 gene promoter polymorphisms and outcome of hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1656-1663

摘要

目的: 探讨IL-10基因-1082、-819位点的单核苷酸多态性与HBV感染后疾病转归的关系。

方法: 采用TaqMan SNP基因分型和基因测序的方法检测187例健康人群、94例感染HBV后自愈者、130例慢性乙型肝炎患者、119例乙型肝炎肝硬化患者以及170例HBV相关性肝癌患者IL-10-1082、-819位点的基因型及等位基因的分布及其差异。

结果: 全部700例研究对象-1082位点的基因型分布为AA基因型占82.29%、AG占16.00%、GG占1.71%; 等位基因频率: A为90.29%, G为9.71%。-819位点的基因型分布为TT占41.43%、TC占48.14%、CC占10.43%; 等位基因频率: T为65.64%, C为34.36%。两位点等位基因和基因型分布在各组无统计学差异。以自愈组为对照, -1082 AG基因型和G等位基因对慢乙型肝炎和肝硬化组的风险度降低, -819 TC对肝癌组风险度降低, CC基因型和C等位基因对三个肝病组的风险度均有降低的趋势。分析-1082/-819单倍型在各组中的分布, 以健康组和自愈组为对照, AC单倍型对肝硬化和肝癌组的风险度均降低, 且与自愈组对照时降低程度更大; 以自愈组为对照, GC单倍型对慢乙型肝炎和肝硬化组的风险度降低。在不同临床特征的组别之间比较发现, 对于-819位点, DNA $<10^3$ 拷贝/mL的患者C等位基因频率显著高于DNA $\geq 10^3$ 拷贝/mL患者($P = 0.025$)。而在肝癌和肝硬化组的211例不同Child-Pugh肝功能分级、277例不同AFP水平以及所有患者组的389例不同HBsAg表达之间的比较无统计学差异。

结论: IL-10-1082 AG基因型和G等位基因, -819 TC、CC基因型和C等位基因, -1082/-819 AC、GC单倍型对HBV感染后疾病进展可能有一定的保护作用, -819位点C等位基因更有利于HBV感染患者病毒的清除。

关键词: 白介素-10; 单核苷酸多态性; 乙型肝炎病毒; 疾病转归

刘娟娟, 高英堂, 杜智, 杨斌, 经翔, 王毅军, 王凤梅, 刘彤. IL-10基因启动子区单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒感染后疾病转归的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18(16): 1656-1663

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1656.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染可引起多种临床表现, 包括病毒清除后自愈、无症状病毒携带和持续感染进展为慢性肝炎、肝硬化或原发性肝癌等严重肝病^[1,2]。近年研究表明, 宿主基因白介素-10(interleukin-10, IL-10)启动子区的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)能够影响HBV感染后的疾病进程^[3,4]。有些学者的研究发现, IL-10低表达的等位基因或单倍型(-592A, -1082/-592 AA等)不利于HBV感染后病程好转^[5,6]; 有些研究则表明IL-10中、高表达等位基因、基因型或单倍型(-1082G, -819C, -592CC, -1082/-819/-592 ACC等)可以加剧HBV感染后疾病进展^[3,4,7-9]; 而Li等^[10]的研究则未发现IL-10基因多态性与HBV感染有任何关联。可见目前IL-10启动子区SNP对HBV感染后疾病进展的影响尚存在争议。因此, 本研究通过检测其在各类HBV感染者中的分布特点, 进一步探讨其与HBV感染后疾病转归的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 参照2005年中华医学会《慢性乙型肝炎防治指南》和2009年《原发性肝癌规范化诊治专家共识》的诊断标准, 收集天津市第三中心医院2003-12/2009-06慢性乙型肝炎患者130例、乙型肝炎肝硬化患者119例和乙型肝炎病毒相关性肝癌患者170例。健康对照组187例和乙型肝炎自愈组94例来自天津市第三中心医院健康查体, 健康对照组HBV免疫学标志物均为阴性, 且血常规、生化指标均正常; 自愈者均无肝病史, 具有曾感染HBV证据(HBsAb、HBeAb和HBcAb三种抗体至少两种阳性, HBsAg、HBeAg和HBV-DNA均为阴性)且未经治疗而健康者。各研究对象均抽取空腹外周静脉血3 mL, 血清用于检测HBV免疫学指标、肝功能、HBV DNA和AFP等临床指标, 血凝块用于提取白细胞DNA。以上所有对象均为天津地区汉族人。本研究经天津市第三中心医院伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取: 用牙签将血凝块捣碎, 吸取100 μ L置于离心管中, 加入800 μ L溶血试剂[0.3 mol/L蔗糖, 1 mmol/L Tris-HCl(pH8.0), 5 mmol/L MgCl₂, 20 mmol/L Triton X-100], 震荡后8 000

■ 研发前沿

SNP与HBV感染研究一直是国内外学者研究的热点和重点, SNP分布具有较强的地域和种族特征, 因此对二者进行研究可能会为HBV感染后疾病发展的机制提供一定线索。

■ 相关报道

Turner等通过对IL-10启动子SNP与血清中IL-10表达水平的关系进行分析表明, IL-10-1082G、-819C、-592C相对于-1082A、-819T、-592A为高表达型等位基因。

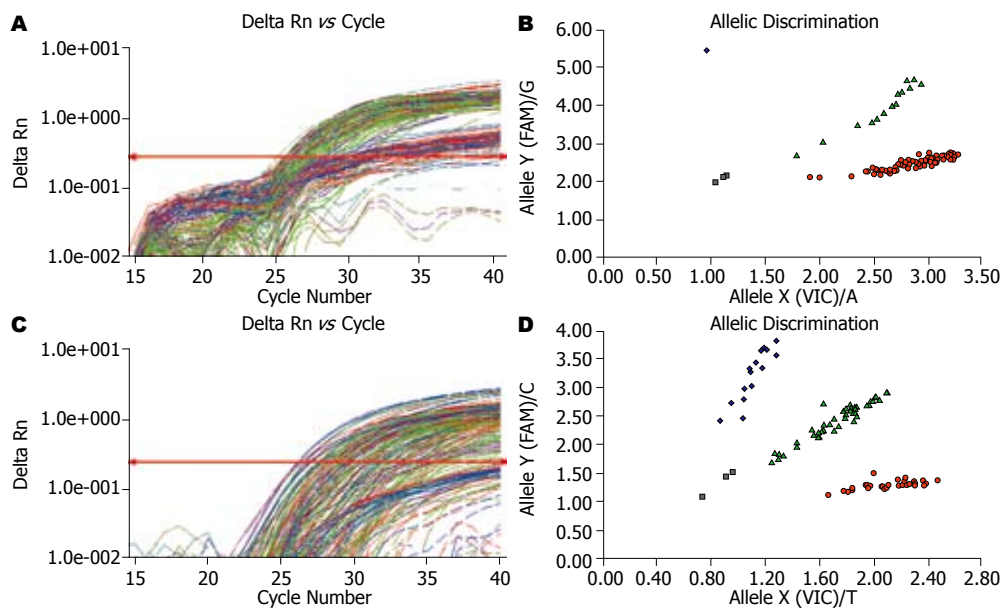


图1 采用Taqman MGB探针SNP基因分型的方法检测IL-10-1082、-819位点的多态性分布。A, C: IL-10-1082、-819位点PCR扩增图; B, D: 两位点SNP分析图; “●”代表-1082AA或-819TT基因型; “◆”代表-1082GG或-819CC基因型; “▲”代表-1082AG或-819TC基因型; “■”代表NTC空白对照。

r/min离心5 min; 吸出上清, 将沉淀捣碎并加入500 μ L消化液[0.1 mol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0), 30 mmol/L EDTA, 20 mmol/L SDS]和13.5 μ L蛋白酶K(5.4 μ mol/L), 震荡后60 $^{\circ}$ C水浴3 h; 再加500 μ L Tris饱和酚混匀, 12 000 r/min离心5 min; 吸取上层水相, 加入300 μ L氯仿: 异戊醇(24:1), 12 000 r/min离心10 min; 吸取上清, 加入1/10体积NaAC(3 mol/L, pH5.2)和等体积预冷的异丙醇, 12 000 r/min离心15 min, 弃上清, 沉淀加入250 μ L乙醇(700 mL/L)洗涤; 12 000 r/min离心5 min弃上清, DNA沉淀溶于50 μ L TE(pH 8.0), 取2 μ L进行1.5%琼脂糖凝胶电泳检测其质量, 紫外分光光度计测定DNA浓度。

1.2.2 PCR扩增: 参照TaqMan[®] SNP Genotyping Assays Protocol(美国应用生物系统公司), PCR扩增体系为10 μ L, 含DNA模板1.5 μ L、2 $\times$ TaqMan Genotyping Master Mix 5 μ L、40 $\times$ TaqMan SNP Genotyping Assay Mix(-1082A/G: rs1800896, C_1747360_10; -819T/C: rs1800871, C_1747362_10)0.25 μ L和dH₂O 3.25 μ L。采用ABI PRISM[®] 7000 SDS进行PCR扩增, 每96孔板设置三个空白对照(NTC)。反应条件为: 95 $^{\circ}$ C热变性10 min; 92 $^{\circ}$ C变性15 s, 60 $^{\circ}$ C退火1 min, 共40个循环。

1.2.3 IL-10-1082、-819基因型检测: 在上述PCR基础上, 利用ABI PRISM[®] 7000 SDS进行等位基因识别分析, 两个位点均设置FAM、VIC探针和样品孔、3个NTC空白对照, 点击Post-Read按钮,

读取荧光信号, 通过X、Y轴散点图分析各样本的基因型。

1.2.4 DNA测序分析: 为验证TaqMan[®] SNP基因分型方法的准确性, 随机挑取不同基因型和单倍型的25个样品进行测序, 对4个杂合子样品进行克隆, 每个样品再挑取5个克隆测序。参照人IL-10序列(GenBank Accession No. NG_012088)设计引物, 正向引物: 5'-AATCCAAGACAACACTACTAAGG-3'(3 909-3 931 nt); 反向引物: 5'-AGGCAGTCACCTTAGGTCTCTGG-3'(4 556-4 534 nt)。PCR扩增体系为100 μ L, 包括2 $\times$ PCR Master Mix 50 μ L、上下游引物各2 μ L、酶4 μ L(1 U/ μ L)、DNA模板2 μ L和dH₂O 40 μ L。PCR扩增条件: 94 $^{\circ}$ C预变性2 min; 94 $^{\circ}$ C变性45 s, 58 $^{\circ}$ C退火45 s, 72 $^{\circ}$ C延伸45 s, 共35个循环; 72 $^{\circ}$ C延伸5 min。扩增产物长度为648 bp, 取5 μ L进行2.5%琼脂糖凝胶电泳, 剩余产物由上海博亚公司测序。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计学分析, 总体和各组样本基因型分布均经Hardy-Weinberg平衡检验。以行 $\times$ 列或连续校正卡方(χ^2)检验分析基因型和等位基因在不同组别之间的差异, 双侧检验 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 PCR扩增和SNP分析 基因组DNA的IL-10-1082、-819双探针PCR扩增曲线良好(图1A和图1C)。SNP基因分型见图1B和图1D, 根据美国应

表 1 IL-10-1082位点基因型、等位基因在各组中的频率分布

基因型 /等位基因	分组				
	健康对照组n(%)	自愈组n(%)	慢乙型肝炎组n(%)	肝硬化组n(%)	肝癌组n(%)
IL-10-1082					
AA	160(85.56)	73(77.66)	112(86.15)	100(84.03)	131(77.06)
AG	24(12.83)	20(21.28)	16(12.31)	17(14.29)	35(20.59)
GG	3(1.61)	1(1.06)	2(1.54)	2(1.68)	4(2.35)
A	344(91.98)	166(88.30)	240(92.31)	217(91.18)	297(87.35)
G	30(8.02)	22(11.70)	20(7.69)	21(8.82)	43(12.65)
与健康对照比较		OR(95%CI)	OR(95%CI)	OR(95%CI)	OR(95%CI)
AA		1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)
AG		1.826(0.949-3.516)	0.952(0.484-1.874)	1.133(0.580-2.214)	1.781(1.009-3.145)
GG		0.731(0.075-7.143)	0.952(0.157-5.793)	1.067(0.175-6.495)	1.628(0.358-7.406)
A		1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)
G		1.520(0.850-2.716)	0.956(0.530-1.723)	1.110(0.619-1.988)	1.660(1.016-2.714)
与自愈组比较			OR(95%CI)	OR(95%CI)	OR(95%CI)
AA			1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)
AG			0.521(0.254-1.072)	0.621(0.304-1.267)	0.975(0.525-1.812)
GG			1.304(0.116-14.638)	1.460(0.130-16.408)	2.229(0.245-20.317)
A			1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)
G			0.629(0.333-1.189)	0.730(0.388-1.373)	1.092(0.632-1.889)

■创新盘点

IL-10中、高表达的等位基因、基因型或单倍型对HBV感染后疾病进展有一定的保护作用; IL-10-819C等位基因更有利于HBV清除。

用生物系统公司提供的信息, 等位基因分型图谱中X轴代表VIC探针(-1082A或-819T), Y轴代表FAM探针(-1082G或-819C), 样品集中分布在4个区域, 3个NTC空白对照在接近原点的对角线上, 靠近X轴的代表-1082AA或-819TT纯合子, 靠近Y轴的代表-1082GG或-819CC纯合子, 对角线上的一组为杂合子(-1082AG或-819TC). 参照空白对照, 各样本均能明确分析基因型。

为验证TaqMan® SNP基因分型方法的准确性, 随机挑取两位点各种基因型的25个样品进行PCR产物直接测序和4个杂合子样品的20个克隆测序, 测序结果与TaqMan SNP基因分型结果完全一致(图2)。

2.2 各组基因型、等位基因及单倍型频率分析 全部700例研究对象的基因型和等位基因分布: -1082位点的基因型分布为AA基因型占82.29%、AG为16.00%、GG占1.71%; 等位基因频率: A为90.29%, G为9.71%。-819位点的基因型分布为TT占41.43%、TC占48.14%、CC占10.43%; 等位基因频率: T为65.64%, C为34.36%。各组IL-10-1082、-819基因型和等位基因分布情况见表1, 2, 各组样本均符合Hardy-Weinberg平衡, 两位点等位基因和基因型分布在各组无统计学差异。以健康人群为对照计算其他各组的OR值, 未发现风险度的明显升高或降低, 当以自愈组为对照计算其他各组的OR值时, -1082

AG基因型和G等位基因对慢乙型肝炎和肝硬化组的风险度降低, -819 TC对肝癌组风险度降低, CC基因型和C等位基因对三个肝病组的风险度均有降低的趋势。如表3所示, 分析-1082/-819单倍型在各组中的分布, 以健康和自愈组为对照, AC单倍型对肝硬化和肝癌组的风险度均降低, 且与自愈组对照时降低程度更大; 以自愈组为对照, GC单倍型对慢乙型肝炎和肝硬化组的风险度降低。

2.3 IL-10-1082、-819基因型和等位基因频率在不同临床特征的组别之间的比较 三种基因型在男/女性别中的分布: -1082位点AA为81.46%/83.20%、AG为16.44%/15.23%、GG为1.80%/1.57%; -819位点TT为44.14%/36.72%、TC为45.05%/53.91%、CC为10.81%/9.37%; 均无统计学差异。如表4, 5所示, 在已知HBV DNA载量的379例肝病患者中, IL-10-819位点等位基因分布在DNA<10³拷贝/mL/≥10³拷贝/mL患者中具有统计学差异, 前者C等位基因频率显著高于后者($P = 0.025$)。另外, 两个位点的基因型和等位基因在肝癌和肝硬化组的211例不同Child-Pugh肝功能分级、277例不同AFP水平以及所有患者组的389例不同HBsAg表达之间的比较无统计学差异。

3 讨论

现有资料表明, 由于相关遗传因素、环境因素

■应用要点

分析IL-10基因多态性对天津地区汉族人感染HBV后疾病进展的影响,有助于对本地区肝病发生的病因学进行深入研究,在筛选HBV易感人群并采取有效的保护和干预措施等方面都具有潜在的应用前景。

表 2 IL-10-819位点基因型、等位基因在各组中的频率分布

基因型 /等位基因	分组				
	健康对照组n(%)	自愈组n(%)	慢乙型肝炎组n(%)	肝硬化组n(%)	肝癌组n(%)
IL-10-819					
TT	75(40.11)	32(34.04)	51(39.23)	53(44.54)	79(46.47)
TC	92(49.20)	45(47.87)	68(52.31)	59(49.58)	73(42.94)
CC	20(10.69)	17(18.09)	11(8.46)	7(5.88)	18(10.59)
T	242(64.71)	109(57.98)	170(65.38)	165(69.33)	231(67.94)
C	132(35.29)	79(42.02)	90(34.62)	73(30.67)	109(32.06)
与健康对照比较	OR(95%CI)				
TT	1.0(-)				
TC	1.146(0.664-1.980)				
CC	1.992(0.925-4.293)				
T	1.0(-)				
C	1.329(0.928-1.903)				
与自愈组比较	OR(95%CI)				
TT	1.0(-)				
TC	0.948(0.530-1.695)				
CC	0.406(0.169-0.977)				
T	1.0(-)				
C	0.730(0.496-1.075)				

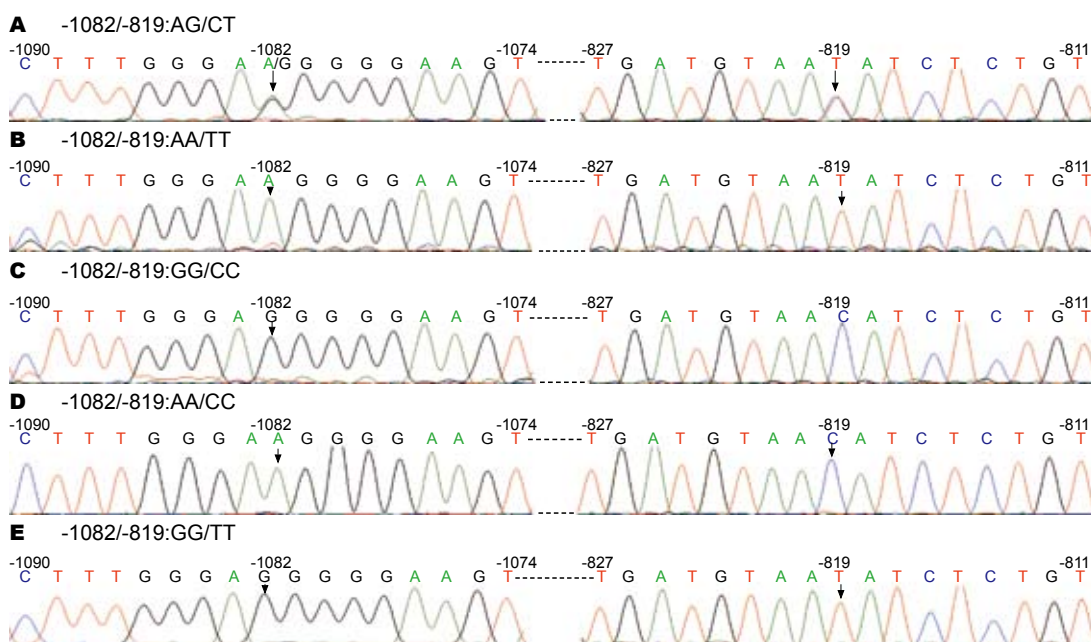


图 2 IL-10基因测序结果: A: IL-10-1082/-819 AG/CT基因型; B: IL-10-1082/-819 AA/TT基因型; C: IL-10-1082/-819 GG/CC基因型; D: IL-10-1082/-819 AA/CC基因型; E: IL-10-1082/-819 GG/TT基因型。

和生活习惯等选择压力,导致IL-10的等位基因和基因型分布具有较强的地域和人种特征^[11]。以-1082位点为例,本文分析中国天津市187例健康汉族人的A等位基因频率为91.98%,AA、AG和GG基因型频率分别为85.56%、12.83%和1.61%;同样,全部700例汉族人的等位基因和基因型分布与此相近(无统计学差异),IL-10-1082 GG基因

型频率与其他汉族人^[8,10]、韩国人^[3]、日本人^[9]相似(0%-2%),而明显低于美洲人群(约10%)^[4]和欧洲人群(10%-25%)^[12,13]。启动子多态性与IL-10的表达水平密切相关,-1082G、-819C、-592C相对于-1082A、-819T、-592A为高表达型等位基因^[14],而高表达的IL-10可能与自限性HBV感染呈正相关^[15]。以上因素可能会导致亚洲人群

■同行评价

本研究科学性较好, 说服力强, 具有一定的临床意义。

表 3 IL-10-1082/-819单倍型在各组中的频率分布

单倍型	分组				
	健康对照组n(%)	自愈组n(%)	慢乙型肝炎组n(%)	肝硬化组n(%)	肝癌组n(%)
-1082/-819					
AT	242(64.71)	109(57.98)	169(65.00)	166(69.75)	231(67.94)
AC	102(27.27)	57(30.32)	71(27.31)	51(21.43)	66(19.41)
GC	30(8.02)	22(11.70)	19(7.31)	21(8.82)	43(12.65)
GT	0(0.00)	0(0.00)	1(0.38)	0(0.00)	0(0.00)
与健康对照比较		OR(95%CI)	OR(95%CI)	OR(95%CI)	OR(95%CI)
AT		1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)
AC		1.241(0.836-1.842)	0.997(0.695-1.430)	0.729(0.494-1.076)	0.678(0.474-0.970)
GC		1.628(0.898-2.951)	0.907(0.494-1.665)	1.020(0.565-1.844)	1.502(0.911-2.475)
与自愈组比较			OR(95%CI)	OR(95%CI)	OR(95%CI)
AT			1.0(-)	1.0(-)	1.0(-)
AC			0.803(0.526-1.227)	0.588(0.375-0.920)	0.546(0.359-0.833)
GC			0.557(0.288-1.077)	0.627(0.329-1.195)	0.922(0.526-1.618)

表 4 IL-10-1082位点基因型和等位基因在不同临床特征的组别之间的比较

按临床特征分组	AA	AG	GG	A	G
DNA(拷贝/mL)					
<10 ³	158(80.20)	33(16.75)	6(3.05)	349(88.58)	45(11.42)
≥10 ³	152(83.52)	28(15.38)	2(1.10)	332(91.21)	32(8.79)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.882(0.509-1.531)	0.346(0.069-1.743)	1.0(-)	0.748(0.464-1.205)
P值		0.363		0.231	
Child-Pugh分级					
A	65(74.71)	19(21.84)	3(3.45)	149(85.64)	25(37.36)
B+C	100(80.65)	22(17.74)	2(1.61)	222(89.52)	26(10.48)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.753(0.378-1.499)	0.433(0.070-2.664)	1.0(-)	0.698(0.388-1.255)
P值		0.502		0.228	
AFP(ng/mL)					
<400	164(78.10)	42(20.00)	4(1.90)	370(88.10)	50(11.90)
>400	55(82.09)	10(14.93)	2(2.98)	120(89.55)	14(10.45)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.710(0.334-1.509)	1.491(0.266-8.365)	1.0(-)	0.863(0.461-1.617)
P值		0.58		0.646	
HBsAg					
(-)	28(77.78)	8(22.22)	0(0)	64(88.89)	8(11.11)
(+)	289(81.87)	56(15.86)	8(2.27)	634(89.80)	72(10.20)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.678(0.294-1.565)	无	1.0(-)	0.909(0.419-1.971)
P值		0.308		0.808	

IL-10的平均水平低于欧美人群, 成为中国患肝病者比欧美国家明显较多的原因之一。

人体感染HBV后病程如何演化是宿主和病毒等多种因素共同作用的结果, IL-10作为影响HBV感染的细胞因子之一, 越来越得到重视。本文研究结果显示, IL-10-1082、-819基因型、等位基因频率在健康对照组、自愈组、慢乙型肝炎、肝硬化和肝癌组之间无统计学差异, 与Li等^[10]的研究结果相似, 其通过检测IL-10-1082、-819、-592三个位点的多态性在HBV感染后自愈组、无症状携带和慢乙型肝炎组中的分布, 未发现任何差异。考虑到并不清楚健康人将来若感染HBV会如何进展, 因此, 以感染HBV后自愈者作为对照组分析各肝病组可能更合理, 更

IL-10的平均水平低于欧美人群, 成为中国患肝病者比欧美国家明显较多的原因之一。

表 5 IL-10-819位点基因型和等位基因在不同临床特征的组别之间的比较

按临床特征分组	TT	TC	CC	T	C
DNA(拷贝/mL)					
<10 ³	79(40.10)	98(49.75)	20(10.15)	256(64.97)	138(35.03)
≥10 ³	92(50.55)	80(43.96)	10(5.49)	264(72.53)	100(27.47)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.701(0.460-1.068)	0.429(0.190-0.971)	1.0(-)	0.703(0.516-0.958)
P值		0.062		0.025	
Child-Pugh分级					
A	41(47.13)	35(40.23)	11(12.64)	117(67.24)	57(32.76)
B+C	61(49.19)	56(45.16)	7(5.65)	178(71.77)	70(28.23)
OR(95%CI)	1.0(-)	1.075(0.603-1.918)	0.428(0.153-1.194)	1.0(-)	0.807(0.530-1.229)
P值		0.195		0.318	
AFP(ng/mL)					
<400	92(43.81)	99(47.14)	19(9.05)	283(67.38)	137(32.62)
>400	33(49.25)	29(43.28)	5(7.47)	95(70.90)	39(29.10)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.817(0.460-1.450)	0.734(0.254-2.123)	1.0(-)	0.848(0.554-1.297)
P值		0.724		0.447	
HBsAg					
(-)	12(33.33)	22(61.11)	2(5.56)	46(63.89)	26(36.11)
(+)	156(44.19)	164(46.46)	33(9.35)	476(47.42)	230(32.58)
OR(95%CI)	1.0(-)	0.573(0.274-1.198)	1.269(0.271-5.940)	1.0(-)	0.855(0.515-1.418)
P值		0.232		0.543	

能准确说明在感染HBV这一共同环境因子时不同基因型对肝病进展的风险。本研究以自愈组为对照,发现IL-10-1082/-819 AC单倍型对肝硬化和肝癌组的风险度降低,GC单倍型对慢乙型肝炎组和肝硬化组的风险度降低,说明中、高水平的IL-10对持续性肝病的发生有一定的保护作用。AC、GC单倍型可以导致IL-10中、高表达^[16],在肝脏通过抑制胶原基因的转录,发挥抗纤维化的作用^[17];而且,IL-10作为一种重要的抗炎因子,可以通过减少肝组织局部中性粒细胞的浸润和活化而降低中性粒细胞与肝窦内皮细胞的黏附以减轻肝细胞的损伤,还可以降低局部炎性细胞因子的活性,负向调节细胞因子的表达,加强对肝细胞的保护^[18]。因此,从IL-10的作用机制分析也支持我们的研究结果。

进一步研究IL-10基因多态性与临床特征的关系,发现不同DNA拷贝数的肝病患者IL-10-819 C等位基因频率在DNA<10³拷贝/mL组明显高于DNA≥10³拷贝/mL组,说明中、高水平的IL-10可能有利于HBV清除。与本结果相似的是,Cheong等^[5]在研究-592位点的多态性时发现,-592CC基因型(与-819C紧密连锁)在HBV清除组高于病毒持续组。另外也有文献报道高

水平IL-10的产生在HBV感染时可能会增强病毒复制^[8]。对于此方面的研究,我们正在收集更多各类肝病患者进行IL-10多态性分析并检测相应标本血清中IL-10的水平。

总之,IL-10-1082、-819多态性显示在天津市汉族人群中具有较多的IL-10低表达的基因型(-1082AA),而高表达基因型(-1082GG)较少,与其他报道的亚洲人群分布特征相似而明显不同于美洲和欧洲地区人群。IL-10中、高表达的等位基因、基因型或单倍型(-1082G、-819C等位基因,-1082AG、-819TC、CC基因型,-1082/-819AC、GC单倍型)对HBV感染后疾病进展有一定的保护作用;同时,通过分析其多态性在不同临床特征组别中的分布特点,发现-819C等位基因更有利于HBV清除。为进一步验证其准确性,还需要多中心、大样本的临床观察和血清IL-10含量测定等深入研究。

4 参考文献

- 1 Rizzetto M, Ciancio A. Chronic HBV-related liver disease. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 72-84
- 2 Shi YH, Shi CH. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3099-3105
- 3 Shin HD, Park BL, Kim LH, Jung JH, Kim JY, Yoon

- JH, Kim YJ, Lee HS. Interleukin 10 haplotype associated with increased risk of hepatocellular carcinoma. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 901-906
- 4 Truelove AL, Oleksyk TK, Shrestha S, Thio CL, Goedert JJ, Donfield SM, Kirk GD, Thomas DL, O'Brien SJ, Smith MW. Evaluation of IL10, IL19 and IL20 gene polymorphisms and chronic hepatitis B infection outcome. *Int J Immunogenet* 2008; 35: 255-264
- 5 Cheong JY, Cho SW, Hwang IL, Yoon SK, Lee JH, Park CS, Lee JE, Hahm KB, Kim JH. Association between chronic hepatitis B virus infection and interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1163-1169
- 6 Chan HL, Tse AM, Chim AM, Wong VW, Choi PC, Yu J, Zhang M, Sung JJ. Association of cytokine gene polymorphisms and liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 783-789
- 7 Tseng LH, Lin MT, Shau WY, Lin WC, Chang FY, Chien KL, Hansen JA, Chen DS, Chen PJ. Correlation of interleukin-10 gene haplotype with hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Tissue Antigens* 2006; 67: 127-133
- 8 Peng XM, Huang YS, Ma HH, Gu L, Xie QF, Gao ZL. Interleukin-10 promoter polymorphisms are associated with the mode and sequel of HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Liver Int* 2006; 26: 326-333
- 9 Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, Kajiya Y, Kitajima K, Nakao K, Daikoku M, Yatsuhashi H, Koga M, Yano M, Eguchi K. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2086-2092
- 10 Li C, Zhi-Xin C, Li-Juan Z, Chen P, Xiao-Zhong W. The association between cytokine gene polymorphisms and the outcomes of chronic HBV infection. *Hepatol Res* 2006; 36: 158-166
- 11 Le Souëf PN, Candelaria P, Goldblatt J. Evolution and respiratory genetics. *Eur Respir J* 2006; 28: 1258-1263
- 12 Trajkov D, Arsov T, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Spiroski M. Cytokine gene polymorphisms in population of ethnic Macedonians. *Croat Med J* 2005; 46: 685-692
- 13 Forte GI, Scola L, Misiano G, Milano S, Mansueto P, Vitale G, Bellanca F, Sanacore M, Vaccarino L, Rini GB, Caruso C, Cillari E, Lio D, Mansueto S. Relevance of gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 gene polymorphisms to susceptibility to Mediterranean spotted fever. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 811-815
- 14 Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997; 24: 1-8
- 15 Thursz M. Genetic susceptibility in chronic viral hepatitis. *Antiviral Res* 2001; 52: 113-116
- 16 Edwards-Smith CJ, Jonsson JR, Purdie DM, Bansal A, Shorthouse C, Powell EE. Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis C to interferon alfa. *Hepatology* 1999; 30: 526-530
- 17 Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, McAulay M, Millward-Sadler H, Sheron N. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology* 1998; 28: 1597-1606
- 18 Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, Kfir B, Sulkes J, Tambur AR, Tur-Kaspa R, Klein T. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 144-150

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊,并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前,我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录,全文免费向公众开放,见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任:程剑侠 2009-03-26)

LMP2/LMP7基因多态性与乙型肝炎病毒感染结局的关系

施超, 刘黎, 钱燕华, 崔倩, 顾静, 董美华, 林玉娣, 喻荣彬

■背景资料

人群感染HBV后临床表现多样性的原因,除病毒本身和环境因素外,宿主的遗传因素可能是影响乙型肝炎发生、发展和预后的重要因素之一。近年来有关LMP基因多态性与HBV感染的关系受到人们关注。

施超, 刘黎, 崔倩, 喻荣彬, 南京医科大学流行病与卫生统计学系 江苏省南京市 210029

钱燕华, 顾静, 董美华, 林玉娣, 无锡市疾病预防控制中心 江苏省无锡市 214023

施超, 2007级在读硕士, 主要从事病毒性肝炎分子流行病学研究。国家科技重大专项基金资助项目, No. 2009ZX1004-904

江苏省预防医学科研基金资助项目, No. Y2006003
无锡市社会发展科技指导性计划基金资助项目, No. CLZ00632

作者贡献分布: 此课题由喻荣彬与钱燕华设计; 现场调查由顾静、董美华及林玉娣完成; 实验室检测由施超、刘黎及崔倩完成; 数据分析和论文写作由施超与刘黎完成。

通讯作者: 喻荣彬, 教授, 210029, 江苏省南京市汉中140号, 南京医科大学流行病与卫生统计学系。rongbinyu@njmu.edu.cn
电话: 025-86862815

收稿日期: 2010-02-06 修回日期: 2010-04-27

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-06-08

Association between LMP2/LMP7 gene polymorphisms and outcome of hepatitis B virus infection

Chao Shi, Li Liu, Yan-Hua Qian, Qian Cui, Jing Gu, Mei-Hua Dong, Yu-Di Lin, Rong-Bin Yu

Chao Shi, Li Liu, Qian Cui, Rong-Bin Yu, Department of Epidemiology and Biostatistics, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Yan-Hua Qian, Jing Gu, Mei-Hua Dong, Yu-Di Lin, Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China

Supported by: the Preventive Medicine Research Fund of Jiangsu Province, No. Y2006003; the Science and Technology Fund of Wuxi, No. CLZ00632; and the the National Science and Technology Major Project of the Ministry of Science and Technology of China, No. 2009ZX1004-904

Correspondence to: Professor Rong-Bin Yu, Department of Epidemiology and Biostatistics, Nanjing Medical University, 140 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. rongbinyu@njmu.edu.cn

Received: 2010-02-06 Revised: 2010-04-27

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To investigate the possible association between LMP2/LMP7 gene polymorphisms and outcome of hepatitis B virus (HBV) infection.

METHODS: Peripheral blood leukocytes were isolated from 287 patients with persistent HBV infection, including 100 asymptomatic HBV carriers (AsC group) and 187 patients with active liver diseases such as chronic hepatitis B and

liver cirrhosis (ALD group), and 278 healthy volunteers for extraction of genomic DNA. LMP gene polymorphisms were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

RESULTS: The prevalence of LMP7 codon 145 Gln/Lys heterozygote, Lys/Lys homozygote, and Gln/Lys plus Lys/Lys genotypes was significantly higher in the AsC group than in healthy controls ($OR = 3.35, 3.46$ and 3.37 ; $95\%CI: 2.02-5.58, 1.41-8.48$ and $2.06-5.52$; all $P < 0.001$). Similarly, the prevalence of LMP7 codon 145 Gln/Lys heterozygote, Lys/Lys homozygote, and Gln/Lys plus Lys/Lys genotypes was significantly higher in the ALD group than in healthy controls ($OR = 2.22, 4.33$ and 2.49 ; $95\%CI: 1.48-3.32, 2.15-8.73$ and $1.69-3.65$; all $P < 0.001$). However, there was no significant difference in LMP2/LMP7 polymorphisms between the AsC and ALD groups.

CONCLUSION: The LMP7 gene polymorphisms may be associated with susceptibility to asymptomatic HBV infection and active liver diseases, but not with the clinical outcome of persistent HBV infection.

Key Words: Hepatitis B virus; Infection; Outcome; LMP gene; Polymorphism

Shi C, Liu L, Qian YH, Cui Q, Gu J, Dong MH, Lin YD, Yu RB. Association between LMP2/LMP7 gene polymorphisms and outcome of hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1664-1668

摘要

目的: 探讨低相对分子质量蛋白酶体(LMP)基因单核苷酸多态性(SNP)与HBV感染结局之间的关联。

方法: 提取287例HBV持续感染者(包括无症状HBV携带者、慢性乙型肝炎及乙型肝炎后肝硬化患者)及278例健康对照外周血基因组DNA, 用PCR-RFLP方法分析LMP2/LMP7基因Codon60/Codon145两个多态性位点的基因型。

■同行评议者

李定国, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院消化内科

结果: LMP7基因多态性位点在健康对照与无症状HBV携带者之间的差异有统计学意义($P<0.05$), 与携带Gln/Gln基因型者比较, 携带Gln/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加3.35倍(95%CI: 2.02-5.58), 携带Lys/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加3.46倍(95%CI: 1.41-8.48), 携带至少1个Lys等位基因者(即Gln/Lys和Lys/Lys基因型)乙型肝炎患病风险增加3.37倍(95%CI: 2.06-5.52); LMP7基因多态性位点在健康对照与进展性肝炎(包括慢性乙型肝炎和肝硬化)患者之间的差异有统计学意义($P<0.05$), 与携带Gln/Gln基因型者比较, 携带Gln/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加2.22倍(95%CI: 1.48-3.32), 携带Lys/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加4.33倍(95%CI: 2.15-8.73), 携带至少1个Lys等位基因者(即Gln/Lys和Lys/Lys基因型)乙型肝炎患病风险增加2.49倍(95%CI: 1.69-3.65); LMP2/LMP7基因多态性位点在无症状HBV携带者与进展性肝炎患者间的差异无统计学意义($P>0.05$).

结论: LMP7基因可能是无症状HBV携带和进展性肝炎的易感基因; LMP基因多态性与HBV感染的结局可能无明显相关性.

关键词: 乙型肝炎病毒; 感染; 临床结局; LMP基因; 单核苷酸多态性

施超, 刘黎, 钱燕华, 崔倩, 顾静, 董美华, 林玉娣, 喻荣彬. LMP2/LMP7基因多态性与乙型肝炎病毒感染结局的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1664-1668
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1664.asp>

0 引言

人类对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)普遍易感, 成人感染HBV后绝大多数可以清除病毒, 只有5%-10%的人会持续感染并发展成不同程度的慢性肝病. 感染HBV后临床表现多样性的原因, 除病毒本身和环境因素外, 宿主的遗传因素可能是影响乙型肝炎发生、发展和预后的重要因素之一^[1,2]. 低相对分子质量蛋白酶体(low molecular-weight protein, LMP)是1982年Monaco^[3]在分析鼠MHC-II类分子的免疫沉淀复合物时得到的产物, 能够水解抗原成为适合的肽段, 经转运后与MHC-I类分子连接, 并表达于细胞表面, 被CD8⁺ T淋巴细胞所识别, 因此LMP对于机体内源性和外源性抗原的免疫应答有着极其重要的作用. 目前已有研究表明, LMP基因的多态性与一系列免疫相关性疾病的发生有着密切关联^[4,5], 有报道称LMP基因多态性与

HBV感染有关联^[6,7]. 但尚无开展LMP基因多态性与HBV感染不同结局的关联性研究, 为此本研究选取LMP2、LMP7基因中具有氨基酸改变的两个多态性位点, 探讨LMP基因多态性与HBV感染不同结局的关联性.

1 材料和方法

1.1 材料 HBV持续感染组均为2006-12/2009-09于无锡市传染病医院和无锡市101医院住院或门诊就诊的患者. 诊断依据中华医学会肝病学会和感染病学分会2005年制定的《慢性乙型肝炎防治指南》, 将HBV持续感染组分为两组: (1)无症状HBV携带(asymptomatic carriers, AsC): HBsAg阳性持续1年以上、HbsAb阴性、ALT水平正常(≤ 40 U/L), 共100例; (2)慢性进展性肝病(active liver disease, ALD): 包括慢性乙型肝炎和肝硬化患者, HBsAg阳性、HbsAb阴性、ALT水平异常升高(>40 U/L)、慢性肝炎病程1年以上, 共187例. 所有研究对象均为无亲缘关系的汉族人, 均无原发性心、肺、肾及高血压等病史, 排除其他慢性肝病的致病因素存在, 如非HBV感染、自身免疫性肝炎、酒精性肝炎、脂肪肝等. 按照和HBV持续感染组性别、年龄成组匹配原则, 对照组选自本地健康体检人员, 共278例. 所有研究对象在填写知情同意后, 采用专门设计的问卷进行流行病学调查, 并采集静脉血5 mL置-20℃冷藏备检.

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取: 采用酚/氯仿抽提法提取HBV持续感染者、健康正常人外周血DNA共565例, 标准方案参照文献[8]制定.

1.2.2 多态性位点的选择及引物设计: LMP2/LMP7基因位于染色体6p21.3区, 根据文献选择分别位于第四和第一外显子的两个SNP位点^[6,9], 每个多态碱基的改变均引起所编码氨基酸的改变. 所选SNP最小等位基因频率大于10%. 从NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>)数据库中检索到LMP2/LMP7基因Codon60/Codon145两个多态性位点的基因序列, 利用PIRA-PCR(http://cedar.genetics.soton.ac.uk/public_html/primer2.html)网站, 分别设计每个位点的PCR扩增引物(表1). 引物由上海英骏生物技术有限公司合成.

1.2.3 PCR反应体系及反应条件: 首先使用MJ PTC-200型PCR扩增仪进行梯度PCR, 确定退火温度(表1)后进行多态性位点PCR扩增, PCR扩增

■ 研发前沿

已有研究表明, LMP基因多态性与一系列免疫相关性疾病的发生有着密切关联, 有报道称LMP基因多态性与HBV感染有关联, 但尚无LMP基因多态性与HBV感染不同结局的关联性研究报道.

■ 相关报道

戴悦等研究显示, LMP7基因的多态性与HBV感染有着显著关联, 携带Gln/Lys和Lys/Lys基因型者乙型肝炎患病风险分别增加2.11和2.66倍. Xu等研究也得出类似的结论. 本文则对LMP2/LMP7基因多态性与HBV感染不同结局的关系进行了探讨.

■创新盘点

本次研究得出LMP7基因Codon145位点多态性在无症状HBV携带者和正常人群之间、进展性肝炎患者和正常人群之间的频率分布差异均有统计学意义,提示LMP7可能是无症状HBV携带和进展性肝炎的易感基因。

表 1 LMP2/LMP7基因多态性位点的确认及引物设计

基因	碱基和氨基酸替换	PCR引物	退火温度(°C)	内切酶和片段长度(bp)	SNP位点rs号
LMP2	60(GCA→ACA) Arg→His	5-GTGAACCGAGTGTGTTGACAAGC-3 5-GCCAGCAAGAGCCGAAACAAG-3	56	<i>Hin</i> 6 I (39+213)	rs17587
LMP7	145(CAG→AAG) Gln→Lys	5-TCATGGCGCTACTAGATGTATG-3 5-AACTCTTTGTCCTAACTTGCAC-3	54	<i>Bsm</i> I (146+205)	rs2071543

表 2 对照组、无症状HBV携带和进展性肝炎三组人群一般状况分析

	对照组(<i>n</i> = 278)	AsC组(<i>n</i> = 100)	ALD组(<i>n</i> = 187)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	40.15 ± 9.13	39.51 ± 13.99	41.20 ± 14.64	0.479 ^A
性别 <i>n</i> (%)				
男	168(60.4)	69(69.0)	128(68.4)	0.124 ^B
女	110(39.6)	31(31.0)	59(31.6)	
ALT(U/L)	23.59 ± 24.74	25.49 ± 7.75	223.05 ± 197.98	0.000 ^A
AST(U/L)	22.63 ± 10.19	32.13 ± 16.66	221.61 ± 248.53	0.000 ^A

^AOne-Way ANOVA; ^B χ^2 检验。

体系及程序如下: ddH₂O 14.2 μ L, 10 $\times$ PCR缓冲液(含1.5 mmol/L Mg²⁺)1.2 μ L, 10 mmol/L dNTP 0.2 μ L, Taq酶0.2 μ L(10 U/ μ L), 上、下游引物各0.2 μ L(20 μ mol/L), DNA模板1 μ L(50 ng). PCR扩增程序: 94 °C预变性2 min, 94 °C变性40 s→退火40 s, 退火温度分别为56 °C(LMP2-Codon60)、54 °C(LMP7-Codon145)→72 °C延伸40 s, 共30个循环, 最后在72 °C条件下延伸10 min。

1.2.4 RFLP法判断LMP2/LMP7基因型: 两种PCR产物分别采用限制性内切酶*Hin*6 I 和*Bsm* I (NEB公司), 对LMP2-Codon 60与LMP7-Codon 145两个位点进行酶切基因分型。反应体系均为8 μ L, 其中ddH₂O 4 μ L、PCR产物约3 μ L、内切酶0.3 μ L(10 U/ μ L)、加内切酶相应的10 $\times$ Buffer 0.7 μ L, 分别在37 °C和65 °C下水浴8 h. 最后进行琼脂糖凝胶电泳, 根据电泳条带判断每一个体LMP2/LMP7的基因型。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计学分析。以方差分析(One-Way ANOVA)比较对照组、无症状HBV携带组和慢性进展性肝病三组之间年龄、ALT和AST的差异, 以 χ^2 检验比较三组之间性别分布以及Hardy-Weinberg平衡检验。多态性与HBV不同临床结局之间的关联以比值比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence interval, CI)表示, 采用非条件Logistic回归模型分析, 调整年龄、性别等因素。均为双侧概率检验, *P*<0.05表示具有统计学意义。

2 结果

对照组、无症状HBV携带组和进展性肝炎组之间的年龄、性别构成差异无统计学意义, 三组之间ALT、AST差异有统计学意义(*P*<0.05, 表2)。

对照组LMP2和LMP7基因型的频率分布符合Hardy-Weinberg平衡(*P* = 0.284, *P* = 0.947), 说明具有人群代表性。LMP2-Codon 60位点和LMP7-Codon145位点的基因型分布及其与HBV感染不同临床结局的关系见表3。

在调整年龄和性别后, LMP2-Codon60位点多态性在对照组与无症状HBV携带组之间: Arg/Arg→Arg/His、Arg/Arg→His/His、Arg/Arg→Arg/His+His/His基因型频率的比较, 差异均无统计学意义(*P*>0.05)。LMP7-Codon145位点多态性在对照组与无症状HBV携带组之间: Gln/Gln→Gln/Lys基因型频率比较, 差异有统计学意义(*OR* = 3.35, 95%CI: 2.02-5.58, *P*<0.001); Gln/Gln→Lys/Lys基因型频率的比较, 差异有统计学意义(*OR* = 3.46, 95%CI: 1.41-8.48, *P* = 0.007); Arg/Arg→Gln/Lys+Lys/Lys基因型频率的比较, 差异有统计学意义(*OR* = 3.37, 95%CI: 2.06-5.52, *P*<0.001)。

在调整年龄和性别后, LMP2-Codon60位点多态性在对照组与进展性肝炎组之间: Arg/Arg→Arg/His、Arg/Arg→His/His、Arg/Arg→Arg/His+His/His基因型频率的比较, 差异均无统计学意义(*P*>0.05)。LMP7-Codon145位点多态性在

表 3 LMP2/LMP7基因型频率在HBV感染不同结局组间的比较

Genotype	对照组	AsC组	ALD组	AsC组 vs 对照组 ^a		ALD组 vs 对照组 ^a		AsC组 vs ALD组 ^a	
	<i>n</i> = 278(%)	<i>n</i> = 100(%)	<i>n</i> = 187(%)	<i>P</i> 值	OR(95%CI)	<i>P</i> 值	OR(95%CI)	<i>P</i> 值	OR(95%CI)
LMP2									
Arg /Arg	192(69.1)	70(70.0)	133(71.1)	—	1.00(reference)	—	1.00(reference)	—	1.00(reference)
Arg/His	81(29.1)	26(26.0)	45(24.1)	0.533	0.85(0.51–1.44)	0.296	0.80(0.52–1.22)	0.828	0.94(0.53–1.66)
His/ His	5(1.8)	4(4.0)	9(4.8)	0.207	2.41(0.62–9.40)	0.089	2.65(0.86–8.12)	0.806	1.16(0.35–3.92)
Arg/His+His/His	86(30.9)	30(30.0)	54(28.9)	0.798	0.94(0.57–1.55)	0.622	0.90(0.60–1.36)	0.911	0.97(0.57–1.66)
LMP7									
Gln /Gln	163(58.6)	30(30.0)	68(36.4)	—	1.00(reference)	—	1.00(reference)	—	1.00(reference)
Gln/ Lys	100(36.0)	60(60.0)	93(49.7)	0.000	3.35(2.02–5.58)	0.000	2.22(1.48–3.32)	0.135	0.66(0.38–1.14)
Lys/ Lys	15(5.4)	10(10.0)	26(13.9)	0.007	3.46(1.41–8.48)	0.000	4.33(2.15–8.73)	0.797	1.12(0.48–2.62)
Gln/Lys+Lys/Lys	115(41.4)	70(70.0)	119(63.6)	0.000	3.37(2.06–5.52)	0.000	2.49(1.69–3.65)	0.233	0.73(0.43–1.23)

^a采用Logistic回归模型对年龄、性别进行校正。

对照组与进展性肝炎组之间: Gln/Gln→Gln/Lys基因型频率比较, 差异有统计学意义($OR = 2.22$, 95%CI: 1.48-3.32, $P < 0.001$); Gln/Gln→Lys/Lys基因型频率的比较, 差异有统计学意义($OR = 4.33$, 95%CI: 2.15-8.73, $P < 0.001$); Arg/Arg→Gln/Lys+Lys/Lys基因型频率的比较, 差异有统计学意义($OR = 2.49$, 95%CI: 1.69-3.65, $P < 0.001$).

3 讨论

近年来有关LMP基因多态性与HBV感染的关系受到人们关注, 已有病例对照研究分析了LMP2/LMP7基因多态性与HBV感染的关系^[6,7]. 其中, 一个基于北京地区人群的研究显示, LMP7基因的多态性与HBV感染有着显著的关联^[7], 与携带Gln/Gln基因型者比较, 携带Gln/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加2.11倍(95%CI: 1.36-3.26)、携带Lys/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加2.66倍(95%CI: 1.17-6.02). 另外一个基于北京和山东人群的研究, 同样也发现LMP7基因的多态性与HBV感染有着显著的易感关联^[6], 与携带Gln/Gln基因型者比较, 携带Gln/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加1.58倍(95%CI = 1.15-2.17)、携带Lys/Lys基因型者乙型肝炎患病风险增加2.33倍(95%CI: 1.11-4.85).

本研究首次对LMP2/LMP7基因多态性与HBV感染不同结局之间的关系进行研究, 结果显示LMP7基因Codon145位点多态性在无症状HBV携带者和正常人群之间、进展性肝炎患者和正常人群之间的频率分布差异均有统计学意义($P < 0.05$); LMP2基因Codon60位点多态性在无

症状HBV携带者和正常人群之间、进展性肝炎患者和正常人群之间的频率分布差异均无统计学意义($P > 0.05$). 结果提示LMP7可能是无症状HBV携带和进展性肝炎的易感基因, 与之前研究结果基本一致, 究其原因, 可能是由于LMP7基因多态性能够改变其水解后肽段的长度或裂解片段的模式, 进而影响与MHC- I类分子连接. 例如LMP7能增强酶体对碱性、中性氨基酸残基后切割, 但不影响酸性残基后切割, 而在基因位点改变后所编码的LMP蛋白酶体水解抗原所得到的肽段羧基末端多为酸性氨基酸残基^[10]. 研究发现, 碱基及疏水性氨基酸残基与MHC- I类分子结合力强, 而酸性氨基酸残基与MHC- I类分子结合力弱^[11,12], 故LMP7基因多态性可决定肽段羧基端氨基酸的性质, 进而对抗原处理和递呈过程起到限制性作用, 使得在后一步TAP1/TAP2介导的抗原肽至内质网呈递过程中成为重要的限速步骤, 因而是HBV感染的易感因素之一.

然而, 研究结果也显示LMP2/LMP7基因多态性位点在无症状HBV携带与进展性肝炎两组人群中的差异均无统计学意义($P > 0.05$), 提示LMP基因与HBV感染不同临床结局之间可能不存在关联性. 乙型肝炎的发病是一个多种环境因素、多个病理进程、多种遗传因素相互作用的结果, 相对于遗传易感因素来说, 存在诸多因素影响其对疾病的作用, 如实验表明, LMP2和LMP7受IFN- γ 诱导而合成增加, 作为功能单位进入蛋白酶体, 从而改变了蛋白酶体的糜蛋白酶样水解活性^[13,14], 可能影响蛋白酶体在细胞内加

■名词解释

低相对分子质量蛋白酶体(LMP): 能够水解抗原成为适合的肽段, 经转运后与MHC- I类分子连接, 表达于细胞表面, 被CD8⁺ T细胞识别, 对于机体免疫应答有着极其重要的作用. LMP基因多态性与一些免疫相关性疾病的发生产生有着密切关联.

■同行评价

本文在阐明LMP2/LMP7基因多态性与HBV感染的相关性方面具有一定价值,对慢性乙型肝炎的预防、诊断和治疗也有潜在的指导意义,能够较好地反映我国胃肠病学临床和基础研究的先进水平。

工抗原的效率和肽谱,诱发不同的病理过程,因此LMP基因与HBV感染不同结局之间的关系,可能受到IFN- γ 基因多态性的影响。本实验初步发现LMP7基因多态性与HBV感染预后之间可能不存在明显的相关性,但由于本实验还有一些不足,因此还需要进一步考虑其他因素的影响,采用更大样本量进行全面、深入研究,以便更准确地了解HBV感染转归的影响因素。

4 参考文献

- 1 Rehmann B. Immune responses in hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 2003; 23: 21-38
- 2 Thursz M. Genetic susceptibility in chronic viral hepatitis. *Antiviral Res* 2001; 52: 113-116
- 3 Monaco JJ. A molecular model of MHC class-I-restricted antigen processing. *Immunol Today* 1992; 13: 173-179
- 4 Casp CB, She JX, McCormack WT. Genes of the LMP/TAP cluster are associated with the human autoimmune disease vitiligo. *Genes Immun* 2003; 4: 492-499
- 5 Pyo CW, Hur SS, Kim YK, Kim TY, Kim TG. Association of TAP and HLA-DM genes with psoriasis in Koreans. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 616-622
- 6 Xu C, Qi S, Gao L, Cui H, Liu M, Yang H, Li K, Cao B. Genetic polymorphisms of LMP/TAP gene and hepatitis B virus infection risk in the Chinese population. *J Clin Immunol* 2007; 27: 534-541
- 7 戴悦, 宁涛, 李坤, 慕素霞, 蒋明伟, 柴庆波, 盖郁慧, 汪欣. LMP2/LMP7基因多态性与人群中乙型肝炎病毒感染相关性研究. *北京大学学报(医学版)* 2005; 37:

508-512

- 8 Taniuchi S, Masuda M, Teraguchi M, Ikemoto Y, Komiyama Y, Takahashi H, Kino M, Kobayashi Y. Polymorphism of Fc gamma RIIa may affect the efficacy of gamma-globulin therapy in Kawasaki disease. *J Clin Immunol* 2005; 25: 309-313
- 9 Vargas-Alarcón G, Gamboa R, Vergara Y, Rodríguez-Zepeda JM, de la Peña A, Izaguirre R, Zúñiga J, Ruiz-Morales JA, Granados J. LMP2 and LMP7 gene polymorphism in Mexican populations: Mestizos and Amerindians. *Genes Immun* 2002; 3: 373-377
- 10 Lankat-Buttgereit B, Tampé R. The transporter associated with antigen processing: function and implications in human diseases. *Physiol Rev* 2002; 82: 187-204
- 11 Heink S, Fricke B, Ludwig D, Kloetzel PM, Krüger E. Tumor cell lines expressing the proteasome subunit isoform LMP7E1 exhibit immunoproteasome deficiency. *Cancer Res* 2006; 66: 649-652
- 12 Shen YQ, Zhang JQ, Miao FQ, Zhang JM, Jiang Q, Chen H, Shan XN, Xie W. Relationship between the downregulation of HLA class I antigen and clinicopathological significance in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3628-3631
- 13 Boes B, Hengel H, Ruppert T, Multhaup G, Koszinowski UH, Kloetzel PM. Interferon gamma stimulation modulates the proteolytic activity and cleavage site preference of 20S mouse proteasomes. *J Exp Med* 1994; 179: 901-909
- 14 Namiki S, Nakamura T, Oshima S, Yamazaki M, Sekine Y, Tsuchiya K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M. IRF-1 mediates upregulation of LMP7 by IFN-gamma and concerted expression of immunosubunits of the proteasome. *FEBS Lett* 2005; 579: 2781-2787

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《中国期刊引证报告(扩刊版)》发布《世界华人消化杂志》 2008年影响因子0.729

本刊讯 《中国期刊引证报告(扩刊版)》是依托中国科学技术信息研究所国家工程技术数字图书馆“知识服务”系统,在“万方数据-数字化期刊群”基础上,结合中国科技论文与引文数据库(CSTPCD),以我国正式出版的各种学科6108种中英文期刊为统计源期刊。对全部期刊的引文数据,严格按题名、作者、刊名、年、卷、期、页等进行分项切分后,进行规范化处理和有效链接,经统计分析,编制而成。2008年《世界华人消化杂志》总被引频次3683次,影响因子0.729,即年指标0.142,引用期刊数732,学科扩散指标0.533,被引半衰期4.303,H指数8。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

Val384Asp错义突变在家族性胃癌患者中的检出及其致病分子机制

王德强, 周建农, 宋磊, 李苏平, 丁建华, 李金田, 马国建, 陈森清, 张晓梅

王德强, 周建农, 宋磊, 南京医科大学附属江苏省肿瘤医院
普通外科 江苏省南京市 210029
李苏平, 丁建华, 南京医科大学附属江苏省肿瘤医院流行病学研究室 江苏省南京市 210029
李金田, 马国建, 陈森清, 张晓梅, 南京医科大学附属江苏省肿瘤医院分子生物学研究室 江苏省南京市 210029
王德强, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究.
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2007258
作者贡献分布: 王德强与周建农对此文所作贡献均等; 此课题由张晓梅、王德强、周建农、宋磊及丁建华设计; 研究过程由张晓梅、王德强、李金田及宋磊操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周建农、马国建及陈森清提供; 数据分析由李苏平与王德强完成; 本论文写作由张晓梅、王德强、周建农及宋磊完成.
通讯作者: 张晓梅, 副研究员, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学附属江苏省肿瘤医院分子生物学研究室.
zxm901@yahoo.com.cn
电话: 025-8686723
收稿日期: 2010-01-19 修回日期: 2010-04-10
接受日期: 2010-04-20 在线出版日期: 2010-06-08

Genotype frequencies of the Val384Asp missense mutation in the hMLH1 gene in patients with familial gastric cancer

De-Qiang Wang, Jian-Nong Zhou, Lei Song, Su-Ping Li, Jian-Hua Ding, Jin-Tian Li, Guo-Jian Ma, Sen-Qing Chen, Xiao-Mei Zhang

De-Qiang Wang, Jian-Nong Zhou, Lei Song, Department of General Surgery, Jiangsu Cancer Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Su-Ping Li, Jian-Hua Ding, Department of Epidemiology, Jiangsu Cancer Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Jin-Tian Li, Guo-Jian Ma, Sen-Qing Chen, Xiao-Mei Zhang, Department of Molecular Biology, Jiangsu Cancer Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2007258
Correspondence to: Xiao-Mei Zhang, Department of Epidemiology, Jiangsu Cancer Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. zxm901@yahoo.com.cn
Received: 2010-01-19 Revised: 2010-04-10
Accepted: 2010-04-20 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To investigate the etiological role of the missense mutation, Val384Asp, in the human mutL homolog 1 (hMLH1) gene in familial gastric cancer (FGC) based on a Chinese

population in Jiangsu Province.

METHODS: A case-control study was conducted. One hundred newly diagnosed or suspected FGC patients and 180 healthy controls were included in the study. Peripheral white blood cells were obtained from all subjects for DNA extraction. The Val384Asp missense mutation was detected using PCR-based denaturing high-performance liquid chromatography (DHPLC) and verified by DNA sequencing. Bioinformatic software was then used to analyze the etiological mechanism of the Val384Asp missense mutation.

RESULTS: About 5% healthy individuals were Val384Asp carriers. Significant differences were noted for the following comparisons: patients with newly diagnosed or suspected FGC *vs* healthy controls ($OR = 2.84$, 95%CI: 1.07-7.81, $P < 0.05$), patients with an onset age ≥ 50 *vs* healthy controls ($P < 0.05$), patients with precancerous disease history *vs* healthy controls ($P < 0.01$), and patients having a high-risk family history of GC *vs* healthy controls ($P < 0.05$). Bioinformatic analysis showed that the Val384Asp missense mutation might destroy the structure of hMLH1 protein and impair its function. Besides, the conversion of T→A may disrupt pre-mRNA splicing.

CONCLUSION: The Val384Asp missense mutation may be associated with genetic susceptibility to FGC. Detection of the Val384Asp missense mutation may be able to help identify individuals with increased risk of FGC.

Key Words: Familial gastric cancer; hMLH1 gene; Val384Asp

Wang DQ, Zhou JN, Song L, Li SP, Ding JH, Li JT, Ma GJ, Chen SQ, Zhang XM. Genotype frequencies of the Val384Asp missense mutation in the hMLH1 gene in patients with familial gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1669-1675

摘要

目的: 了解hMLH1基因Val384Asp错义突变在

■背景资料

目前可用于高危人群筛查的家族性胃癌相关的遗传指标仍十分有限。在前期研究中,本课题组曾在24例有癌症家族史的胃癌患者及其亲属中发现一显著分布的错义突变-错配修复(MMR)基因hMLH1, Val384Asp。随后的研究发现, Val384Asp是一个具有东亚人特异性的突变位点,而西方人群中未见报道。数位研究者在多种肿瘤患者中检出了该突变,并且证实该突变与其中几种的发病有密切关系,但Val384Asp与家族性肿瘤的关系,未见进一步的报道。

■同行评议者

刘改芳, 主任医师, 河北医科大学第三医院消化内科

■ 研发前沿

MMR基因与中国家族性胃癌可能存在密切关系,但目前相关研究甚少。MMR基因变异位点的功能学研究是目前的热点。

家族性胃癌发病中的作用及Val384Asp可能的致病分子机制。

方法:于江苏省淮安、泰兴及金坛三个肿瘤高发地区行现场调查,收集到100例2004年新发家族性或疑似家族性胃癌患者、180例健康人的外周血,应用PCR-DHPLC和DNA序列分析技术检测细胞的DNA,分析hMLH1基因的第12外显子,检测Val384Asp错义突变。生物信息学方法进行蛋白三维模型构建以及结构和功能学分析。

结果:家族性/疑似家族性胃癌患者Val384Asp检出率显著高于正常对照($OR = 2.84$, $95\%CI: 1.07-7.81$, $P < 0.05$)。分组分析显示,Val384Asp与胃癌相关癌前疾病有协同性($P < 0.01$),并在发病年龄 ≥ 50 岁的患者中显著分布($P < 0.05$)。此外,对胃癌家系进行患病风险的评估后,发现来自高风险家系的患者检出率较高($P < 0.05$)。蛋白三维模型显示,Val384Asp可以引起氢键的改变,可能影响hMLH1蛋白局部构象。功能学分析显示,降低蛋白功能和影响剪切调控是Val384Asp可能的致病机制。

结论:中国家族性胃癌家系中的Val384Asp携带者可能有更高的胃癌发病风险。

关键词:家族性胃癌; hMLH1基因; Val384Asp

王德强, 周建农, 宋磊, 李苏平, 丁建华, 李金田, 马国建, 陈森清, 张晓梅. Val384Asp错义突变在家族性胃癌患者中的检出及其致病分子机制. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1669-1675
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1669.asp>

0 引言

胃癌是人类常见的疾病,发病率在全部恶性肿瘤中位居第4位,致死率高居第2位^[1]。大多数胃癌为散发性,但约10%的胃癌呈家族聚集性^[2]。病理类型为弥漫型胃癌的家族聚集现象较肠型胃癌更为常见,弥漫型胃癌患者亲属的患病风险增加达7倍,远高于肠型的1.4倍^[3]。我国胃癌发病率仍处于上升期,上述风险性的增加不容忽视,但目前可用于高危人群筛查的家族性胃癌相关的遗传指标仍十分有限^[4]。在前期研究中,我们曾在24例有癌症家族史的胃癌患者及其亲属中发现一显著分布的错义突变-错配修复(mismatch repair, MMR)基因hMLH1, Val384Asp^[5]。随后的研究发现,Val384Asp是一个具有东亚人特异性的突变位点,而西方人群中未见报道^[6-9]。数位研究者在多种肿瘤患者中检出了该突变,并且证实该突变与其中几种的发病有密切关系^[10-12]。但

Val384Asp与家族性肿瘤的关系,未见进一步的报道。在此,我们通过广泛地收集家族性或疑似家族性胃癌样本,对Val384Asp可能的病因学作用作一研究。

1 材料和方法

1.1 材料 选择分处于江苏省北部、中部和南部的淮安、泰州和金坛三个肿瘤高发地区,基于当地疾控中心的肿瘤登记制度,按如下标准筛选研究对象:家族性胃癌的临床诊断标准^[13]:(1)胃癌患者数 ≥ 3 例,且为一级亲属者 ≥ 1 例;(2)至少连续两代发病;(3)发病年龄 < 50 岁者 ≥ 1 例。有胃癌或胃癌相关肿瘤家族史但不符合上述标准的为疑似家族性胃癌患者^[14]。7例家族性、93例疑似家族性2004年新发、仍生存且同意采血的胃癌患者入选。参考大肠癌及HNPCC家系的发病风险预测标准分成两个级别^[15]:(1)高风险家系来源45例,即符合以下任一项:家系中胃癌或胃癌相关肿瘤患者数 ≥ 3 例;一个直系亲属或2级亲属患有 ≥ 2 种胃癌相关肿瘤;一个直系亲属的发病年龄 < 50 岁;(2)其余55例不符合上述条件但有明确家族史,为中等风险家系来源。此外,胃溃疡、萎缩性胃炎、残胃炎及胃息肉为公认的胃癌相关癌前疾病^[16,17],本研究有癌前疾病史的患者55例。正常对照为同一地区的健康人,无胃癌相关癌前疾病,各例之间无血缘关系,其一级亲属中无明确的癌症患者,男126例,女54例,年龄16-70岁。

1.2 方法

1.2.1 基因型分析:PCR引物序列:5'-ACAGACTTTGCTACCAGGACTTG23'(上游),5'-TGTCTTATCCTCTGTGACAATGG23'(下游)。扩增产物位于hMLH1基因第12外显子上游24位碱基至第12外显子内编码基因的第1251位碱基,长度216 bp。25 μ L PCR反应体系,内含50-100 ng基因组DNA,0.2 mmol/L dNTP,上下游引物各0.5 μ mol/L,2 U Taq DNA聚合酶。PT2200梯度扩增循环条件:94 $^{\circ}$ C预变性5 min,94 $^{\circ}$ C 20 s,59 $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,35个循环,72 $^{\circ}$ C延长5 min,94 $^{\circ}$ C变性4 min,按0.1 $^{\circ}$ C/s的梯度下降温度至25 $^{\circ}$ C,4 $^{\circ}$ C保存。1.2%琼脂糖凝胶电泳检测。PCR产物上DHPLC仪(WAVE系统,Transgenomic)分析。单次进样5-8 μ L,柱温62 $^{\circ}$ C,流动相为0.1 mol/L N-三乙基乙酰胺(TEAA,分析纯)和不同浓度梯度的乙腈,流速0.9 mL/min,260 nm紫外检测。对AA纯合变异基因型的筛选:通过测序得到一部分

表 1 家族性/疑似家族性胃癌患者中Val384Asp的检出及与正常对照的比较

分组	Val384Asp检测人数n(%)			P值	OR(95%CI)
	携带者	非携带者	合计		
正常对照	9(5.0)	171(95.0)	180	0.021	2.84(1.07–7.81)
病例组	13(13.0)	87(87.0)	100		

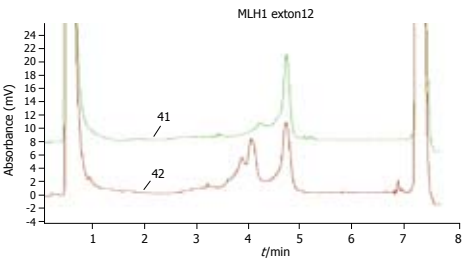


图 1 hMLH1基因第12外显子DHPLC图谱. 三峰为杂合子(突变); 双峰为纯合子(正常).

TT野生型PCR产物, 大量扩增后与DHPLC图谱中未出现异常洗脱峰的PCR产物两两混合(各取5-10 μ L), 94 $^{\circ}$ C变性4 min, 按0.1 $^{\circ}$ C/s的梯度下降温度至25 $^{\circ}$ C后得到杂交产物, 原AA型杂交为AT, 原TT型不变, 以上述方式上DHPLC仪分析. 对DHPLC图谱中出现异常洗脱峰的DNA样品作为检测重点, 重新进行PCR扩增并纯化产物后测序. 对于基因分型结果, 再随机挑选10%的样本重复实验.

1.2.2 蛋白模型建立及结构与功能分析: 在Protein Data Bank(PDB)和SWISS-MODEL的模板数据库搜索结构模板, 在SWISS-MODEL中以alignment mode模式进行构建, 并进行质量评价, 方法详见参考文献[18]. 进一步在Modbase^[19]中搜索, 与已有的模型进行比对, 在SWISS-MODEL专用软件DeepView中进行优化. 含Val384Asp的模型通过DeepView中的Mutation命令获得, 并通过能量最小化等处理后与正常结构进行对比. 功能学分析使用的软件包括: (1)ClustalW软件^[20]对比不同物种间hMLH1同源基因序列, 分析第384位氨基酸是否为一保守位点; (2)SIFT(Sort intolerant from tolerant)及PolyPhen(Polymorphism Phenotype)软件^[21,22]预测点突变对蛋白二级结构, 链间反应以及功能位点的影响; (3)ESEfinder3.0软件^[23]寻找外显子剪切增强子(exonic splicing enhancers, ESEs)基序, 分析基因变异对剪切调控的影响.

统计学处理 采用Stata9.0软件, Fisher exact χ^2 检测和风险度分析, $P<0.05$ 为有统计学差异.

■创新盘点
本研究了Val384Asp与国家族性/疑似家族性胃癌患者发病的关系, 并通过生物信息学方法初步探索了Val384Asp可能的致病机制.

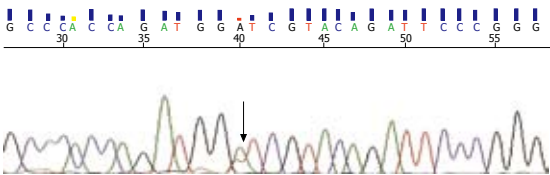


图 2 hMLH1基因第12外显子序列分析, 测序结果显示第1151位点发生T→A的颠换.

表 2 分组后Val384Asp检出率的组间比较

分组	Val384Asp检测人数n(%)			P值
	携带者	非携带者	合计	
有癌前疾病史	11(20.0)	44(80.0)	55	0.034
无癌前疾病史	2(4.4)	43(95.6)	45	
高风险家系	8(17.8)	37(82.2)	45	
中等风险家系	5(9.1)	50(90.9)	55	0.727
<50岁	2(9.1)	20(90.9)	22	
≥50岁	11(14.1)	67(85.9)	78	

2 结果

2.1 DHPLC和DNA序列分析 在正常对照中有9例出现一致的DHPLC异常峰型, 相同的峰型见于13例家族性/疑似家族性胃癌患者(图1). DNA序列分析表明这一异常峰型的出现是由于hMLH1基因第1151位碱基存在遗传性的T→A的颠换(杂合型, 图2), 使得该碱基所处的第384位密码子发生缬氨酸(Val)到天冬氨酸(Asp)的错义突变.

2.2 病例组与正常对照中Val384Asp检出率的比较 家族性/疑似家族性胃癌患者中Val384Asp检出率高于正常对照, 差异有统计学意义($P<0.05$). 风险度分析显示, 携带Val384Asp错义突变的个体患病风险显著升高, 增加值为184%($OR = 2.84$, 95%CI: 1.07-7.81, 表1).

2.3 病例组及对照组中Val384Asp分布的分层分析 组间比较表明, 有癌前疾病史的患者中Val384Asp检出率高于无癌前疾病史的患者, 差异有统计学意义($P<0.05$, 表2). 本研究仅检出1例纯合型突变. 我们以等位基因概念比较各组

■应用要点

本研究是对中国家族性胃癌遗传背景研究的有效补充,发现了Val384Asp可作为中国家族性/疑似家族性胃癌高危人群的候选筛查指标,进一步扩大样本量并在各家系中展开纵向研究以及体内外的功能学研究是必要的。

表 3 分组后与正常对照间Val384Asp等位基因频率的比较

分组	密码子(%)			P值	OR(95%CI)
	384GAT	384GTT	合计		
正常对照	9(2.5)	351(97.5)	360		1.00
有癌前疾病史	12(10.9) ⁿ	98(89.1)	110	0.001	4.78(1.78–13.18)
无癌前疾病史	2(2.2)	88(97.8)	90	1.000	0.89(0.09–4.39)
高风险家系	8(8.9)	82(91.1)	90	0.010	3.80(1.23–11.45)
中等风险家系	6(5.5) ⁿ	104(94.5)	110	0.129	2.25(0.64–7.25)
<50岁	2(4.5)	42(95.5)	44	0.341	1.86(0.19–9.39)
≥50岁	12(7.7) ⁿ	144(92.3)	156	0.013	3.25(1.22–8.92)

ⁿ包含1例纯合子。

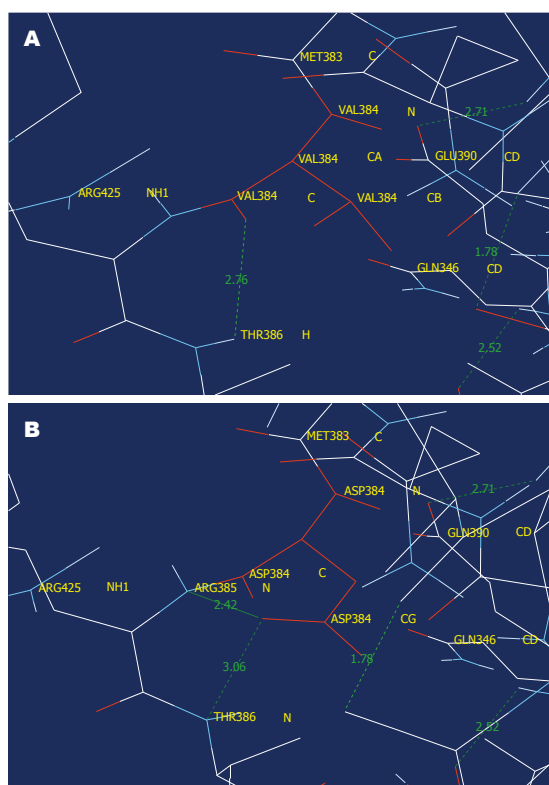


图 3 hMLH1蛋白三维结构(局部放大)。A: 野生型; B: 含Val384Asp的突变型。第384位的Val由Asp所替代,使氢键VAL384C...THR386H(2.76Å)改变为ASP384CG...THR386N(3.06Å);并出现额外的氢键ASP384CG...ARG385N(2.42Å)。

患者中Val384Asp等位基因频率与正常人群的差异,见表3。结果表明,Val384Asp在有癌前疾病史的患者中有特别高的检出率($P<0.01$);并在来自高风险家系的患者及发病年龄 ≥ 50 岁患者中的检出率均显著高于正常人群,差异有统计学意义($P<0.05$,表3)。

2.4 生物信息学方法发现的可能的致病机制 蛋白模型表明,第384位的Val由Asp所替代,将使hMLH1蛋白三维结构中的氢键(H-bond)发生改

变,表现为氢键VAL384C...THR386H(2.76Å)改变为ASP384CG...THR386N(3.06Å);并出现额外的氢键ASP384CG...ARG385N(2.42Å),见图3。ClustalW软件对比不同物种间hMLH1基因序列发现,第384位的Val还存在于小鼠或家鼠、果蝇(*Drosophila*)、斑马鱼(*zebrafish*)等生物中,可能是物种进化中的一个保守位点(输出结果未显示);SIFT及PolyPhen均显示该位点中缬氨酸(Val)到天冬氨酸(Asp)的替换可能影响hMLH1蛋白功能,影响评价分别为“intolerant”、“probably damaging”^[21,22](输出结果未显示);ESEfinder3.0软件分析该处碱基T→A的颠换对剪切调控的影响,发现突变碱基A可能改变作为剪切调控元件的外显子剪切增强子的活性(图4)。

3 讨论

家族性胃癌发病的遗传学基础因地区和人种不同而存在差异,表现为欧洲家系以钙黏附素基因(E-cadherin gene, CDH1)突变常见,但日本和韩国等东亚家系较少发现相关CDH1突变,而在MET, TP-53等基因中检出了大量胚系突变^[24-34]。中国的家族性胃癌还存在大量MMR基因胚系突变或多态位点^[14,35]。

MMR基因介导的错配修复是机体内DNA修复的一种重要机制,对维护基因组稳定起着关键作用^[36]。MMR基因异常与肿瘤的相关性已得到广泛证实,但其与家族性胃癌的关系仍存争议^[13]。有人认为家族性胃癌中MMR基因的异常主要表现为启动子序列的高甲基化,而基因变异较少见^[37]。但是,中国家族性胃癌相关的MMR基因变异可能是一经常性事件,因为中国以MMR基因变异为主要病因的遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)家系中,胃癌的发生率远高于西

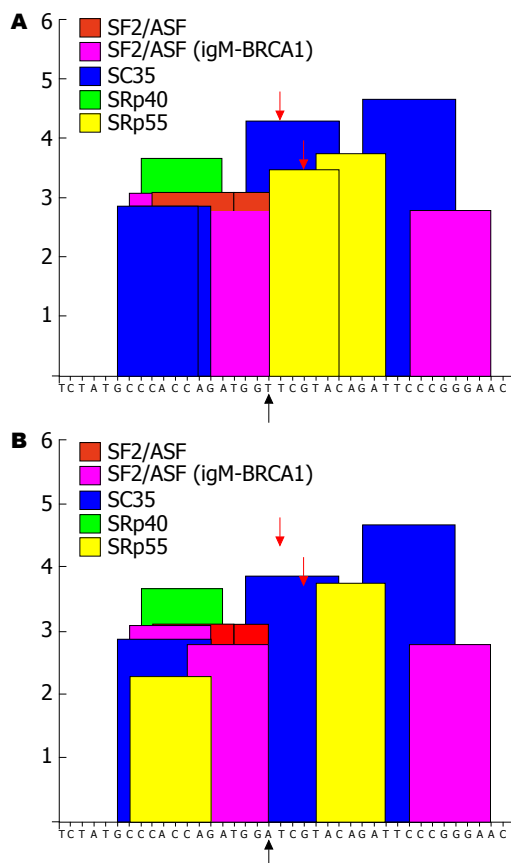


图4 Val384Asp与剪切调控(ESEfinder3.0输出结果). 黑色箭头所指为变异的碱基, 红色箭头见两个可能的外显子剪切增强子活性降低甚至完全丧失.

方, 是中国HNPCC最常见的肠外肿瘤, 常形成胃癌的家族聚集现象^[38,39], 提示MMR基因与中国家族性胃癌的密切关系.

Val384Asp位于MMR基因之一的hMLH1第12外显子上, 该错义突变具有种族特异性, 在中国、日本和韩国人群中均有分布, 突变碱基A的频率在3%-6%间, 但在德国及美国人群中尚无发现^[6-9]. Val384Asp与肿瘤的关系已得到广泛证实. Wang等首先于胃癌、大肠癌中发现了该突变, 并证实其为二者中低龄散发患者的遗传易感因素^[5,10]. 随后的研究发现, Val384Asp与非小细胞肺癌的发病也存在密切关系, 但却可能是前列腺癌的保护因素, 而与食管癌及乳腺癌的发病无显著关系^[10-12]. 但这些研究均局限于散发性肿瘤患者, 而Val384Asp在遗传影响度更高的家族性患者中是否有类似作用, 尚未见报道.

本研究显示, 在家族性及疑似家族性胃癌患者中, Val384Asp仍存在显著分布($P<0.05$), 使携带者的患病风险大为增加. 但通过对年龄的分层分析后发现, 与散发性胃癌中该多态主要分布于低龄患者的现象相反^[5,10], 其仅在高龄家族

性(疑似)胃癌患者中较对照有显著差异, 差异的具体原因尚不清楚, 但不能排除源于小样本相关偏倚的可能.

分析还显示Val384Asp与癌前疾病有协同作用. 胃癌的癌前疾病是指与胃癌相关的胃良性疾病, 有发生胃癌的危险性, 常是幽门螺杆菌感染相关的^[40]. 研究表明, 幽门螺杆菌对hMLH1, hMSH2等错配修复基因正常表达的抑制可能是其致癌的重要机制之一^[41]. Val384Asp则可能进一步加重这一状况. 因为既往研究认为, Val384Asp可能削弱hMLH1蛋白的功能, 导致DNA错配修复能力下降, 产生基因组的不稳定性. 这可能使癌前疾病中已有癌变倾向的上皮细胞对环境因素更易感, 基因突变频率增加.

另外, 流行病学研究证明, 影响肿瘤家族聚集性最重要的临床因素是一等亲中患病的人数和发病年龄. 以大肠癌为例, 一等亲中如有一人患大肠癌, 则罹患该病的危险比普通人群增加2-4倍; 如一等亲中有2人患大肠癌, 则罹患该病的危险比普通人群增加3-6倍; 如果某一等亲在<50岁时被诊断为大肠癌, 则与前述情况具有相似的危险; 而二等亲或三等亲患大肠癌, 罹患该病的危险比普通人群仅增加30%-50%^[42-44]. 与之类似, 胃癌家系之间因一等亲中患病的人数和发病年龄的差异, 其家系成员也应有不同的患病风险. 因此, 我们借鉴了大肠癌及HNPCC家系的发病风险预测标准对本研究的患者进行评估, 发现高风险家系来源的患者中有更显著的Val384Asp分布, 提示Val384Asp可协助家系危险性的评价.

Val384Asp的结构和功能学研究尚缺如, 本研究用生物信息学方法对此进行了分析. 生物信息学是一门新兴的交叉学科, 包含了大量权威机构精心设计的分析软件及各种数据库汇聚所得的巨量实用信息, 已成为生物学研究的得力辅助工具. 我们发现Val384可能是一个保守位点, 研究表明MMR蛋白保守区域中能够使氨基酸残基发生改变的变异常是致病性的^[45,46]. 三维结构模型显示Val384Asp将引起氢键的改变, 而氢键是蛋白结构特别是二级结构的重要组成部分, 提示相关改变可能影响蛋白功能. 其余软件的分析也进一步表明Val384Asp可能削弱hMLH1蛋白的功能, 并且MMR基因中类似变异对相应蛋白功能的下调已得到证实^[47]. 此外, 我们还发现Val384Asp的另一可能的致病机制, 即突变碱基对剪切调控的影响. 事实上, UniProt蛋白数

同行评价

本研究选题新颖, 层次和表达清晰, 资料齐全, 具有一定的流行病学和临床价值.

据库将Val384Asp定义为“不能分类的变异”(unclassified variants, Uvs), 而Uvs的致病机制正与剪切调控有关^[48,49]. 这种影响在一定条件下可能使相应外显子在转录后剪切修饰过程中部分或全部失落(skipping), 导致编码蛋白的功能严重缺陷^[50]. 上述发现有利于对Val384Asp病因学的解释, 但仍需体内外研究的确认.

总之, Val384Asp与我国家族性/疑似家族性胃癌患者的发病有一定的关联, 现有证据表明其可能是一低度外显、条件性致病的遗传风险因素, 是对我国家族性胃癌遗传背景研究的有效补充. 进一步扩大样本量并在各家系中展开纵向研究以及体内外的功能学研究是必要的.

4 参考文献

- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 80: 827-841
- Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol* 2006; 14: 21-33
- Lehtola J. Family study of gastric carcinoma; With special reference to histological types. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1978; 50: 3-54
- 任群, 王振宁, 罗阳, 敖杨, 鲁冲, 姜莉, 徐惠绵, 张学. 胃癌中18号染色体的杂合性丢失研究. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 310-313
- 王亚平, 周建农, 李忠佑, 王建东, 李金田, 高长明, 高萍. 中国人消化道肿瘤发病的遗传背景因素-错配修复基因hMLH1错义突变Val384Asp. *中华医学遗传学杂志* 2000; 17: 82-86
- Wang Y, Friedl W, Lamberti C, Nöthen MM, Kruse R, Propping P. A novel missense mutation in the DNA mismatch repair gene hMLH1 present among East Asians but not among Europeans. *Hum Hered* 1998; 48: 87-91
- Mei Q, Yan HL, Ding FX, Xue G, Huang JJ, Wang YZ, Sun SH. Single-nucleotide polymorphisms of mismatch repair genes in healthy Chinese individuals and sporadic colorectal cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 171: 17-23
- Kim JC, Roh SA, Koo KH, Ka IH, Kim HC, Yu CS, Lee KH, Kim JS, Lee HI, Bodmer WF. Genotyping possible polymorphic variants of human mismatch repair genes in healthy Korean individuals and sporadic colorectal cancer patients. *Fam Cancer* 2004; 3: 129-137
- Moslein G, Tester DJ, Lindor NM, Honchel R, Cunningham JM, French AJ, Halling KC, Schwab M, Goretzki P, Thibodeau SN. Microsatellite instability and mutation analysis of hMSH2 and hMLH1 in patients with sporadic, familial and hereditary colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1245-1252
- 张晓梅, 李金田, 朱明, 吴晓, 柳高萍, 周平, 王亚平. 错配修复基因hMLH1错义突变Val384Asp与四种肿瘤遗传易感性的研究. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 978-981
- Tanaka Y, Zaman MS, Majid S, Liu J, Kawakami K, Shiina H, Tokizane T, Dahiya AV, Sen S, Nakajima K. Polymorphisms of MLH1 in benign prostatic hyperplasia and sporadic prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 383: 440-444
- Shi X, Xu G, Zhao C, Ma J, Zhang Y, Lv S, Yang Q. A single-strand conformation polymorphism method by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence for detection of the T1151A mutation in hMLH1 gene. *Electrophoresis* 2003; 24: 2316-2321
- Barber M, Fitzgerald RC, Caldas C. Familial gastric cancer - aetiology and pathogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 721-734
- Zhang Y, Liu X, Fan Y, Ding J, Xu A, Zhou X, Hu X, Zhu M, Zhang X, Li S, Wu J, Cao H, Li J, Wang Y. Germline mutations and polymorphic variants in MMR, E-cadherin and MYH genes associated with familial gastric cancer in Jiangsu of China. *Int J Cancer* 2006; 119: 2592-2596
- Hampel H, Sweet K, Westman JA, Offit K, Eng C. Referral for cancer genetics consultation: a review and compilation of risk assessment criteria. *J Med Genet* 2004; 41: 81-91
- Hatakeyama M. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. *J Gastroenterol* 2009; 44: 239-248
- El-Zimaity H. Gastritis and gastric atrophy. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 682-686
- Arnold K, Bordoli L, Kopp J, Schwede T. The SWISS-MODEL workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling. *Bioinformatics* 2006; 22: 195-201
- Pieper U, Eswar N, Webb BM, Eramian D, Kelly L, Barkan DT, Carter H, Mankoo P, Karchin R, Marti-Renom MA, Davis FP, Sali A. MODBASE, a database of annotated comparative protein structure models and associated resources. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: D347-D354
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 2007; 23: 2947-2948
- Ng PC, Henikoff S. Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Res* 2001; 11: 863-874
- Ramensky V, Bork P, Sunyaev S. Human non-synonymous SNPs: server and survey. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 3894-3900
- Cartegni L, Wang J, Zhu Z, Zhang MQ, Krainer AR. ESEfinder: A web resource to identify exonic splicing enhancers. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 3568-3571
- Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P, Taite H, Scoular R, Miller A, Reeve AE. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 1998; 392: 402-405
- Brooks-Wilson AR, Kaurah P, Suriano G, Leach S, Senz J, Grehan N, Butterfield YS, Jeyes J, Schinas J, Bacani J, Kelsey M, Ferreira P, MacGillivray B, MacLeod P, Micek M, Ford J, Foulkes W, Australie K, Greenberg C, LaPointe M, Gilpin C, Nikkel S, Gilchrist D, Hughes R, Jackson CE, Monaghan KG, Oliveira MJ, Seruca R, Gallinger S, Caldas C, Huntsman D. Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J Med Genet* 2004; 41: 508-517
- Kim HC, Wheeler JM, Kim JC, Ilyas M, Beck NE, Kim BS, Park KC, Bodmer WF. The E-cadherin gene (CDH1) variants T340A and L599V in gastric and colorectal cancer patients in Korea. *Gut* 2000; 47:

- 262-267
- 27 Keller G, Vogelsang H, Becker I, Plaschke S, Ott K, Suriano G, Mateus AR, Seruca R, Biedermann K, Huntsman D, Döring C, Holinski-Feder E, Neutzling A, Siewert JR, Höfler H. Germline mutations of the E-cadherin(CDH1) and TP53 genes, rather than of RUNX3 and HPP1, contribute to genetic predisposition in German gastric cancer patients. *J Med Genet* 2004; 41: e89
- 28 Richards FM, McKee SA, Rajpar MH, Cole TR, Evans DG, Jankowski JA, McKeown C, Sanders DS, Maher ER. Germline E-cadherin gene (CDH1) mutations predispose to familial gastric cancer and colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 607-610
- 29 Yabuta T, Shinmura K, Tani M, Yamaguchi S, Yoshimura K, Katai H, Nakajima T, Mochiki E, Tsujinaka T, Takami M, Hirose K, Yamaguchi A, Takenoshita S, Yokota J. E-cadherin gene variants in gastric cancer families whose probands are diagnosed with diffuse gastric cancer. *Int J Cancer* 2002; 101: 434-441
- 30 Gayther SA, Gorringe KL, Ramus SJ, Huntsman D, Roviello F, Grehan N, Machado JC, Pinto E, Seruca R, Halling K, MacLeod P, Powell SM, Jackson CE, Ponder BA, Caldas C. Identification of germ-line E-cadherin mutations in gastric cancer families of European origin. *Cancer Res* 1998; 58: 4086-4089
- 31 Pharoah PD, Guilford P, Caldas C. Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology* 2001; 121: 1348-1353
- 32 Yamada H, Shinmura K, Okudela K, Goto M, Suzuki M, Kuriiki K, Tsuneyoshi T, Sugimura H. Identification and characterization of a novel germ line p53 mutation in familial gastric cancer in the Japanese population. *Carcinogenesis* 2007; 28: 2013-2018
- 33 Kim IJ, Park JH, Kang HC, Shin Y, Lim SB, Ku JL, Yang HK, Lee KU, Park JG. A novel germline mutation in the MET extracellular domain in a Korean patient with the diffuse type of familial gastric cancer. *J Med Genet* 2003; 40: e97
- 34 Shinmura K, Tani M, Isogaki J, Wang Y, Sugimura H, Yokota J. RER phenotype and its associated mutations in familial gastric cancer. *Carcinogenesis* 1998; 19: 247-251
- 35 赵成海, 刘宏旭, 卜献民. 错配修复基因hMLH3在家族性胃癌中的突变. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1030-1033
- 36 Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res* 2008; 18: 85-98
- 37 Yanagisawa Y, Akiyama Y, Iida S, Ito E, Nomizu T, Sugihara K, Yuasa Y, Maruyama K. Methylation of the hMLH1 promoter in familial gastric cancer with microsatellite instability. *Int J Cancer* 2000; 85: 50-53
- 38 Yuan Y, Ye J, Zheng S. Clinical and genetic features of International Collaborative Group-hereditary nonpolyposis colorectal cancer families and suspected hereditary nonpolyposis colorectal cancer families. *Chin Med J (Engl)* 2004; 117: 748-752
- 39 盛剑秋, 沈志刚, 樊翠珍. 遗传性非息肉病性大肠癌临床表型分析. 中华医学杂志 2002; 82: 110-115
- 40 Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2007; 133: 659-672
- 41 范凯, 马坚妹, 胡少为, 王朝晖, 刘敏, 吕申, 刘丽娜, 许国旺. 胃黏膜细胞hMSH2, hMLH1和p53基因表达与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2904-2907
- 42 Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994; 331: 1669-1674
- 43 Slaterry ML, Kerber RA. Family history of cancer and colon cancer risk: the Utah Population Database. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1618-1626
- 44 Ahsan H, Neugut AI, Garbowski GC, Jacobson JS, Forde KA, Treat MR, Waye JD. Family history of colorectal adenomatous polyps and increased risk for colorectal cancer. *Ann Intern Med* 1998; 128: 900-905
- 45 Nyström-Lahti M, Wu Y, Moisio AL, Hofstra RM, Osinga J, Mecklin JP, Järvinen HJ, Leisti J, Buys CH, de la Chapelle A, Peltomäki P. DNA mismatch repair gene mutations in 55 kindreds with verified or putative hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 763-769
- 46 Baudi F, Fersini G, Lavecchia A, Terracciano R, Leone F, Quaresima B, Faniello MC, De Paola L, Doldo P, Cuda G, Costanzo F, Venuta S. A novel missense germline mutation in exon 2 of the hMSH2 gene in a HNPCC family from Southern Italy. *Cancer Lett* 2005; 223: 285-291
- 47 Barnettson RA, Cartwright N, van Vliet A, Haq N, Drew K, Farrington S, Williams N, Warner J, Campbell H, Porteous ME, Dunlop MG. Classification of ambiguous mutations in DNA mismatch repair genes identified in a population-based study of colorectal cancer. *Hum Mutat* 2008; 29: 367-374
- 48 Auclair J, Busine MP, Navarro C, Ruano E, Montmain G, Desseigne F, Saurin JC, Lasset C, Bonadona V, Giraud S, Puisieux A, Wang Q. Systematic mRNA analysis for the effect of MLH1 and MSH2 missense and silent mutations on aberrant splicing. *Hum Mutat* 2006; 27: 145-154
- 49 Tournier I, Vezain M, Martins A, Charbonnier F, Baert-Desurmont S, Olschwang S, Wang Q, Buisine MP, Soret J, Tazi J, Frébourg T, Tosi M. A large fraction of unclassified variants of the mismatch repair genes MLH1 and MSH2 is associated with splicing defects. *Hum Mutat* 2008; 29: 1412-1424
- 50 Wang Z, Burge CB. Splicing regulation: from a parts list of regulatory elements to an integrated splicing code. *RNA* 2008; 14: 802-813

编辑 李军亮 电编 何基才

肝细胞癌survivin表达与临床相关性

林辉, 何自力, 钟德珩

■背景资料

survivin是一种特异性凋亡抑制因子, 是凋亡抑制蛋白家族中作用最强的分子。其与肿瘤发生、发展、侵袭、转移及细胞通路等密切相关, 已成为研究肿瘤分子生物学和肿瘤演进的一个重要领域。

林辉, 何自力, 钟德珩, 中南大学湘雅二医院普外科 湖南省湘潭市 410011

林辉, 湘潭市中心医院普外科 湖南省湘潭市 411000

何自力, 湖南省人民医院肝胆科 湖南省长沙市 410005

林辉, 副教授, 湘潭市中心医院普外二科主任, 主要从事普外肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由林辉与钟德珩设计; 研究过程由林辉、何自力及钟德珩完成; 试验部分由林辉及何自力完成; 数据分析由林辉、何自力及钟德珩完成; 本论文写作由林辉与何自力完成。

通讯作者: 林辉, 副教授, 411000, 湖南省湘潭市, 中南大学湘雅二医院普外科; 湘潭市中心医院普外科。linhui888168@sina.com
电话: 0731-58217866

收稿日期: 2010-04-07 修回日期: 2010-05-01

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Clinical significance of survivin expression in hepatocellular carcinoma

Hui Lin, Zi-Li He, De-Wu Zhong

Hui Lin, Zi-Li He, De-Wu Zhong, Department of General Surgery, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Hui Lin, Department of General Surgery, Xiangtan Central Hospital, Xiangtan 411000, Hunan Province, China

Zi-Li He, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan Province, China

Correspondence to: Associate Professor Hui Lin, Department of General Surgery, the Second Xiangya Hospital of Central South University; Department of General Surgery, Xiangtan Central Hospital, Xiangtan 411000, Hunan Province, China. linhui888168@sina.com

Received: 2010-04-07 Revised: 2010-05-01

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To analyze the clinical significance of survivin expression in hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: The expression of survivin was examined by immunohistochemistry and semi-quantitative RT-PCR in 76 HCC specimens. The correlation between survivin expression and clinicopathological parameters in HCC were analyzed. Survival data were analyzed using the Kaplan-Meier method and multivariate Cox proportional hazards model.

RESULTS: The positive rate of survivin protein

expression in HCC was 69.74% (53/76). The relative expression level of survivin mRNA in HCC tissue was significantly higher than that in tumor-adjacent normal tissue (0.782 ± 0.284 vs 0.251 ± 0.064 , $P < 0.01$). The positive expression of survivin was correlated with HbsAg positivity, Edmondson grade, portal vein tumor thrombus (PVTT) and tumor number in HCC, but not with cirrhosis, alpha-fetoprotein level, tumor size and pseudocapsule. The 1, 2, 3-year survival rates were 62.0%, 40.7% and 19.0% in survivin-positive group and 85.9%, 59.3% and 50.8% in survivin-negative group, respectively ($P = 0.025$). Multivariate Cox regression analysis showed that the positive expression of survivin, PTVV and tumor number were significant prognostic factors for HCC, and the risk ratios were 1.702, 1.994 and 6.391, respectively.

CONCLUSION: Overexpression of survivin may be involved in the development and progression of HCC. Detection of survivin expression will be helpful in selecting high-risk HCC patients. Survivin may be a promising target for HCC therapy.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Survivin; Immunohistochemistry; Semiquantitative RT-PCR

Lin H, He ZL, Zhong DW. Clinical significance survivin expression in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1676-1681

摘要

目的: 探讨survivin在肝细胞癌(HCC)组织中的表达及其与临床病理资料的关系。

方法: 采用免疫组织化学及半定量RT-PCR检测76例HCC组织中survivin表达情况, 分析其与临床病理资料的关系; 应用Kaplan-Meier法及多变量Cox比例风险模型, 分析survivin表达与预后的关系。

结果: 76例HCC组织中survivin阳性表达53例, 表达率69.74%; 肝癌组织survivin mRNA表达明显高于癌旁组织(0.782 ± 0.284 vs 0.251 ± 0.064 , $P < 0.01$); survivin阳性表达与HBsAg阳

■同行评议者

梁力建, 教授, 中山大学附属第一医院肝胆外科

性、Edmondson等级、门静脉癌栓及肿瘤数目相关, 与肝硬化、肿瘤大小、AFP水平及假包膜无关。survivin阳性组与阴性组术后的1, 2, 3年的生存率分别为62.0%、40.7%及19.0%和85.9%、59.3%及50.8% ($P = 0.025$)。在多变量回归COX分析显示: survivin阳性表达、门静脉癌栓及肿瘤数目是肝癌预后的高危因素, 危险度分别为值分别为1.702、1.994及6.391。

结论: survivin过表达可能参与了肝癌的形成和发展, survivin基因的检测有助于有高危肝癌患者的选择, survivin有望成为肝癌治疗的新靶点。

关键词: 肝细胞癌; survivin; 免疫组织化学; 半定量RT-PCR

林辉, 何自力, 钟德许. 肝细胞癌survivin表达与临床相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1676-1681
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1676.asp>

0 引言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球第五大恶性肿瘤, 死亡率居世界第三位^[1]。近年来, 我国肝癌发病率呈上升趋势, 已超过非洲居世界首位。全世界每年新增加的肝癌病例约60万例, 其中40%发生在我国^[2]。HCC早期缺乏典型的临床表现, 早期就可能就存在肝内转移, 导致术后的复发率居高不下。此外肝癌患者多伴有肝炎、肝硬化背景, 容易造成严重的肝功能损害, 使得肝癌的生存率低下, 即使是根治性手术切除, 5年生存率仅为20%-30%^[3]。因此, 研究肝癌发生发展的机制十分必要。survivin是1997年发现的一个肿瘤特异性凋亡抑制因子^[4], 是凋亡抑制蛋白家族(inhibition of apoptosis proteins, IAPs)中作用最强的分子^[5]。survivin与肿瘤发生、发展、侵袭、转移及细胞通路等密切相关^[6-8], 已成为研究肿瘤分子生物学和肿瘤演进的一个重要领域。我们自2006-01-01起, 监测76例HCC手术患者survivin的表达及预后, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 76例HCC患者的标本为中南大学湘雅二医院2006-01/2009-05手术切除获取。其中男66例, 女10例, 年龄在28-62(中位年龄38)岁。所有标本在离体30 min内新鲜取材, 液氮固定, -70 °C冰箱保存待用。手术后均进行了随访, 随访率100%。随访起始时间为手术治疗开始日起, 观察终止时

间为2009-12-31。引物(Sangon公司)RT-PCR试剂盒(Promega公司), 兔抗人survivin mAb(Biolegend公司), ECL试剂盒(GE公司)、蛋白提取试剂盒(Millipore公司)、TRIzol(Invitrogen公司)、Super Script试剂盒(Invitrogen公司)。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR: 引物设计, 根据survivin, β -actin的mRNA序列, 应用在线引物设计软件Primer3设计相关引物(表1)。按厂家说明书, 取肝癌组织50-100 mg用匀浆器彻底匀浆后, 在冰上加入1 mL TRIzol, 离心后加入0.2 mL氯仿。用Super Script试剂盒提取RNA。将逆转录产物cDNA于95 °C变性5 min后, 行PCR扩增。扩增产物行琼脂凝胶电泳, EB染色用凝胶图像分析仪分析结果。

1.2.2 免疫组织化学检测: 手术标本经4 mm厚连续切片。survivin的免疫组织化学染色行链霉素亲和素-过氧化酶复合物法(SP法)。survivin Ab(Sigma)工作液浓度为1:100, SP免疫组织化学试剂盒为Zymed公司产品, 实验程序严格按照说明书进行。TBS代替一抗作为阴性对照。survivin阳性判断标准以肿瘤细胞胞质中染成淡黄或棕黄色为阳性。

统计学处理 用SPSS16.0 for Windows统计软件包进行统计分析, 用Perason Chi-square检验各病理因素与survivin的关系, 用Kaplan-Meier法描述生存曲线, 用Log-rank法进行统计学意义检验, 用Cox比例危险度模型作多因素预后分析。 $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

2 结果

2.1 免疫组织化学检测肝癌survivin的表达 76例HCC患者的标本的survivin的阳性表达53例, 阳性表达率为69.74%。survivin在肝癌细胞的胞质和细胞核均呈阳性表达。肿瘤细胞的异形性越明显, 肿瘤胞质和细胞核的染色越深(图1)。

2.2 半定量RT-PCR检测survivin mRNA的表达 76例HCC组织survivin mRNA癌组织中表达为 0.782 ± 0.284 , 明显高于癌旁组织 0.251 ± 0.064 ($P < 0.01$, 图2)。

2.3 survivin与临床病理指标的关系 用Perason Chi-square检验各病理因素与survivin的关系, 结果显示survivin的阳性表达和HBsAg阳性、Edmondson等级、门静脉癌栓、及肿瘤数目相关, 而与肝硬化、AFP、假包膜、肿瘤大小等临床病理因素无相关性(表2)。

2.4 预后分析 本组76例HCC患者1、2、3年总

■ 研发前沿

近年来, survivin与肿瘤的关系也受到人们的关注, 其在结肠癌、卵巢癌、乳腺癌、黑色素瘤等呈过表达状态。但其在肝癌中的作用机制仍待研究。

■相关报道

survivin促进肿瘤发生发展的机制大致可分为三个方面: (1)促进细胞增殖; (2)抑制细胞凋亡; (3)转移与侵袭。

表 1 survivin, β -actin mRNA序列

目的基因	片段长度	引物序列
survivin	393 bp	上游: 5'-ctttctcaaggccaccgcac-3' 下游: 5'-caatccatggcagcagctgc-3'
β -actin	550 bp	上游: 5'-cgcgagaagatgaccagat-3' 下游: 5'-gcactgtgttgccgtacagg-3'

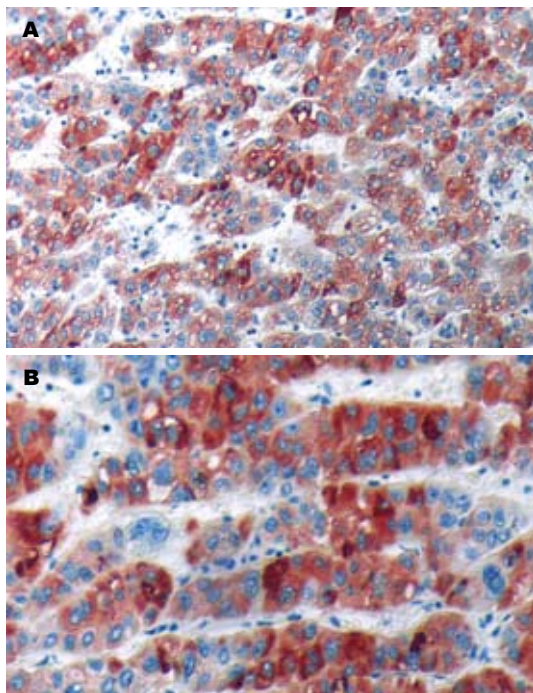
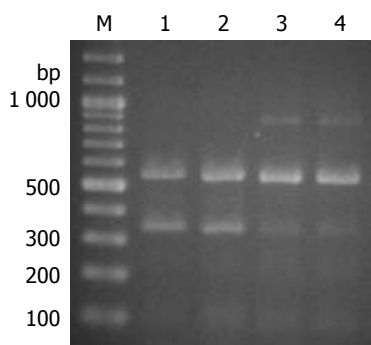
图 1 肝癌组织中survivin的表达(SP法). A: $\times 100$; B: $\times 200$.

图 2 RT-PCR检测survivin基因表达. M: Marker; 1, 2: HCC组; 3, 4: 癌旁组织组.

表 2 survivin阳性表达与各临床病理指标的关系

临床指标	survivin		P值
	+	-	
HbsAg			
+	40	8	0.001
-	13	15	
PVTT			
+	24	4	0.021 ^F
-	29	19	
Edmondson等级			
I - II	33	7	0.110
III - IV	20	16	
肿瘤数目			
单个	28	19	0.020 ^F
多个	25	4	
肝硬化			
+	46	19	0.726 ^F
-	7	4	
假包膜			
+	24	14	0.212
-	29	9	
AFP(μ g/L)			
>400	32	11	0.311
≤ 400	21	12	
肿瘤大小(cm)			
>5	25	8	0.317
≤ 5	28	15	

^F样本数小于5, 采用Fisher精确检验.

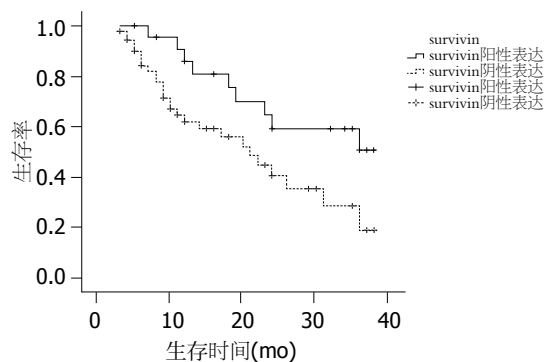


图 3 HCC患者survivin生存分析.

的生存率为69.4%、48.9%及32.2%. survivin基因阳性组1、2、3年生存率为62.0%、40.7%及19.0%, survivin基因蛋白阴性组1、2、3年生存率为85.9%、59.3%及50.8%, 两者有明显的差异性($P = 0.025$, 图3).

我们采用Kaplan-Meier法分析HCC预后的单因素相关因子, 结果显示: 其与survivin阳性表达、Edmondson分级、肉眼癌栓、显微癌栓及肿瘤数目相关; 而与HBsAg、肝硬化、AFP、假

包膜、肿瘤大小无关(表3); 多因素Cox回归分析结果显示: survivin基因蛋白表达、PVTT及肿瘤数目是反映肝癌预后的独立危险因素, 其危险度分别为1.702、1.994及6.391(表4).

3 讨论

原发性肝癌是我国常见恶性肿瘤之一, 每年我国死于原发性肝癌的患者约有11万, 居恶性肿

表 3 Kaplan-Meier分析HCC预后与各观察指标间的关系

分组	阳性定义	P值
survivin	胞质阳性表达	0.025
HbsAg	阳性	0.990
PVTT	存在	0.003
Edmondson等级	Ⅲ-Ⅳ	0.010
肿瘤数目	2个以上	0.000
肝硬化	存在	0.511
假包膜	存在	0.317
AFP(μg/L)	>400	0.130
肿瘤大小(cm)	>5	0.112

瘤病死率的第2位^[9]。其中HCC占原发性肝癌90%以上, 其起病隐匿, 侵袭性生长快速, 预后差, 近些年来其发病率和死亡率有逐年升高的趋势。目前, 随着分子生物学的迅猛发展, 新兴的分子靶向技术为肝癌的治疗带来了曙光。这些研究主要集中于血管信号的转导、原癌基因的抑制、肿瘤凋亡的促进及细胞周期的调控等等。他们之间相互穿插、融合, 共同参与肿瘤的发生与发展^[10,11]。由于survivin与肿瘤增殖、凋亡、转移、侵袭等密切相关, 目前为肿瘤研究的热点。survivin在成熟的组织中表达沉默, 在胸腺^[12]、胚胎^[13]、造血干细胞^[14]及分泌期子宫内膜等分裂旺盛的组织中有微弱表达, 在绝大多数肿瘤组织及转化的肿瘤细胞系中过量表达。survivin的这种高选择性分布特点其与参与细胞增殖分化有关^[15-17], 可能促进了肿瘤的发生发展^[18,19]。

目前认为survivin促进肿瘤发生发展的机制大致可分为三个方面: (1)促进细胞增殖。survivin能与CDK4结合后, 导致CDK2/cyclinE活化和Rb磷酸化, 加快G₁→S期的转换, 促进细胞分化^[20,21]; 能逃避G₂/M期凋亡监视点, 抵抗因DNA损伤或突变自身诱导的细胞凋亡, 通过有丝分裂促进细胞的异常增殖^[22,23]; 还能与纺锤体的微管结合, 维持了纺锤体的稳定性, 间接促进细胞增殖^[24,25]。(2)抑制细胞凋亡。survivin是抑制凋亡蛋白家族中作用最强的分子, 他通过抑制死亡受体途径直接抑制凋亡终末效应器caspase-3、caspase-7的活性, 阻断各种刺激诱导的细胞凋亡过程^[26,27]; 也能通过线粒体/细胞色素C途径干扰上游caspase-9的活化过程, 间接抑制其对下游效应分子caspase-3的活化^[28,29]; 他也能通过p21途径与CDK4形成复合体后, 释p21并通过p21与caspase-3结合而抑制其活性^[30]。(3)

表 4 多因素Cox回归分析

	Sig	Exp(B)	95%CI	
			Lower	Upper
survivin阳性表达	0.043	1.702	1.019	3.569
Edmondson等级	0.058	2.121	0.974	4.617
肿瘤数目	0.000	6.391	2.884	14.162
PVTT	0.037	1.994	1.238	4.236

转移与侵袭。survivin通过上调VEGF促进肿瘤血管的形成^[31]; 促进MMPs家族的表达^[32]、抑制HSP70从而间接抑制p38-MAPK信号传导通路等机制促进肿瘤侵袭和转移^[33]。

鉴于survivin在肿瘤发生发展中的重要作用, 我们试从临床病理的角度探讨survivin表达与肝癌的关系。2006-01/2009-05我们检测76例HCC标本的survivin的表达情况并观测其预后。survivin的阳性表达53例, 阳性率为69.74%。RP-PCR检测显示肝癌组织的survivin mRNA表达明显高于癌旁组织, 这些结果提示肝癌可能与survivin阳性表达相关。

同时我们也观测到, 在肿瘤胞质和细胞核中, survivin均有表达。细胞的异形性越明显, 肿瘤胞质和细胞核的survivin染色越深, 与Edmondson等级相关。提示在细胞恶性转化过程中, survivin可能作为一种转录因子参与胞质及胞核间移位。本试验采用肿瘤胞质的阳性表达为肿瘤预后的观测指标。进一步比较肝癌的临床病理资料和survivin阳性表达的关系。结果显示: 这种阳性表达与HBsAg阳性、Edmondson等级、门静脉癌栓、及肿瘤数目相关, 而与肝硬化、AFP、假包膜、肿瘤大小等临床病理因素无相关性。

关于survivin与HBsAg的研究, Marusawa等^[34]认为survivin与HBXIP的复合体可能参与乙型肝炎病毒抗凋亡的调节。Zhang等^[35]认为乙型肝炎病毒X蛋白能够上调survivin的表达。结合本试验的统计资料: survivin的表达与HBsAg阳性在x临床病例上具有相关性。我们推断survivin可能乙型肝炎病毒相互作用, 共同参与了肝癌的发生发展。survivin阳性表达还与门静脉癌栓及肿瘤数目相关。关于肝癌的门静脉癌栓与肿瘤数目的指标, 众多学者认为他们可以代表肝癌侵袭和转移程度和时效。survivin阳性表达与他们相关, 说明这种阳性表达可能与肝癌的侵袭和转移相关, 但具体机制仍待进一步研究。最后,

■创新盘点

本文系统地分析了survivin基因与肝癌预后的关系, 认为survivin基因的过表达与肝炎、Edmondson等级、门静脉癌栓及肿瘤数目相关, 提出survivin基因的过表达是肝癌预后的独立危险因素, 并探讨了survivin基因的过表达在肝癌中的可能作用机制。

■应用要点

本研究肝癌组织中survivin基因的表达与预后的相关性,对肝癌的基因治疗提供了重要的理论指导依据。

我们用Kaplan-Meier分析比较survivin阳性组和阴性组的1, 2, 3年生存率的差异,结果提示阳性组的生存率明显低于阴性组。多因素Cox回归分析提示survivin基因阳性表达是肝癌预后的独立危险因素。这些结果进一步说明survivin的阳性表达影响着肝癌的生存率,提示干预survivin基因的靶向治疗可能提高患者的生存及生活质量。

目前,survivin研究已经深入基础的各个方面。小分子抑制剂、siRNA等相关技术探讨survivin机制的研究不断取得新的进展。关于survivin基因的靶向治疗可能为肝癌的治疗提供一片广阔的天地。

4 参考文献

- Williams R, White J, Croce M, Dilawari R. Surgical options in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Am Surg* 2007; 73: 658-662; discussion 662-663
- Yeo W, Mo FK, Chan SL, Leung NW, Hui P, Lam WY, Mok TS, Lam KC, Ho WM, Koh J, Tang JW, Chan AT, Chan PK. Hepatitis B viral load predicts survival of HCC patients undergoing systemic chemotherapy. *Hepatology* 2007; 45: 1382-1389
- Ho MC, Huang GT, Tsang YM, Lee PH, Chen DS, Sheu JC, Chen CH. Liver resection improves the survival of patients with multiple hepatocellular carcinomas. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 848-855
- Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3: 917-921
- Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, Altieri DC. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998; 396: 580-584
- Andric M, Dozic B, Popovic B, Stefanovic D, Basta-Jovanovic G, Djogo N, Andjus P, Milasin J. Survivin expression in odontogenic keratocysts and correlation with cytomegalovirus infection. *Oral Dis* 2010; 16: 156-159
- Amin AT, Shiraishi N, Ninomiya S, Tajima M, Inomata M, Kitano S. Increased mRNA expression of epidermal growth factor receptor, human epidermal receptor, and survivin in human gastric cancer after the surgical stress of laparotomy versus carbon dioxide pneumoperitoneum in a murine model. *Surg Endosc* 2010; 24: 1427-1433
- Barrett RM, Osborne TP, Wheatley SP. Phosphorylation of survivin at threonine 34 inhibits its mitotic function and enhances its cytoprotective activity. *Cell Cycle* 2009; 8: 278-283
- Su H, Zhao J, Xiong Y, Xu T, Zhou F, Yuan Y, Zhang Y, Zhuang SM. Large-scale analysis of the genetic and epigenetic alterations in hepatocellular carcinoma from Southeast China. *Mutat Res* 2008; 641: 27-35
- Berthelot T, Lasne MC, Délérès G. New trends in molecular imaging of tumor angiogenesis. *Anticancer Agents Med Chem* 2008; 8: 497-522
- Guruvayoorappan C. Tumor versus tumor-associated macrophages: how hot is the link? *Integr Cancer Ther* 2008; 7: 90-95
- Kobayashi Y, Yukiue H, Sasaki H, Fukai I, Yokoyama T, Kiriya M, Yamakawa Y, Maeda M, Fujii Y. Developmentally regulated expression of survivin in the human thymus. *Hum Immunol* 2002; 63: 101-107
- Blum B, Bar-Nur O, Golan-Lev T, Benvenisty N. The anti-apoptotic gene survivin contributes to teratoma formation by human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2009; 27: 281-287
- Fan L, Lin C, Zhuo S, Chen L, Liu N, Luo Y, Fang J, Huang Z, Lin Y, Chen J. Transplantation with survivin-engineered mesenchymal stem cells results in better prognosis in a rat model of myocardial infarction. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 1023-1030
- Yie SM, Lou B, Ye SR, He X, Cao M, Xie K, Ye NY, Lin R, Wu SM, Xiao HB, Gao E. Clinical significance of detecting survivin-expressing circulating cancer cells in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 63: 284-290
- Vallböhmer D, Drebber U, Schneider PM, Baldus S, Bollschweiler E, Brabender J, Warnecke-Eberz U, Mönig S, Hölscher AH, Metzger R. Survivin expression in gastric cancer: Association with histomorphological response to neoadjuvant therapy and prognosis. *J Surg Oncol* 2009; 99: 409-413
- Lodi G, Franchini R, Bez C, Sardella A, Moneghini L, Pellegrini C, Bosari S, Manfredi M, Vescovi P, Carrassi A. Detection of survivin mRNA in healthy oral mucosa, oral leucoplakia and oral cancer. *Oral Dis* 2010; 16: 61-67
- Khan S, Aspe JR, Asumen MG, Almaguel F, Odumosu O, Acevedo-Martinez S, De Leon M, Langridge WH, Wall NR. Extracellular, cell-permeable survivin inhibits apoptosis while promoting proliferative and metastatic potential. *Br J Cancer* 2009; 100: 1073-1086
- Villapol S, Acarin L, Faiz M, Castellano B, Gonzalez B. Survivin and heat shock protein 25/27 colocalize with cleaved caspase-3 in surviving reactive astrocytes following excitotoxicity to the immature brain. *Neuroscience* 2008; 153: 108-119
- Ma J, Zhao M, Yu XD, Wang ZH. [MS-275, a histone deacetylase inhibitor, induces apoptosis and alters survivin gene expression in human myeloma cell line U266] *Ai Zheng* 2009; 28: 466-471
- Suzuki A, Hayashida M, Ito T, Kawano H, Nakano T, Miura M, Akahane K, Shiraki K. Survivin initiates cell cycle entry by the competitive interaction with Cdk4/p16(INK4a) and Cdk2/cyclin E complex activation. *Oncogene* 2000; 19: 3225-3234
- Saleem M, Murtaza I, Witkowski O, Kohl AM, Maddodi N. Lupeol triterpene, a novel diet-based microtubule targeting agent: disrupts survivin/cFLIP activation in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388: 576-582
- Dallaglio K, Palazzo E, Marconi A, Dumas M, Truzzi F, Lotti R, Bontè F, Pincelli C. Endogenous survivin modulates survival and proliferation in UVB-treated human keratinocytes. *Exp Dermatol* 2009; 18: 464-471
- Sun SC, Wei L, Li M, Lin SL, Xu BZ, Liang XW, Kim NH, Schatten H, Lu SS, Sun QY. Perturbation of survivin expression affects chromosome alignment and spindle checkpoint in mouse oocyte meiotic maturation. *Cell Cycle* 2009; 8: 3365-3372
- Xia F, Canovas PM, Guadagno TM, Altieri DC. A survivin-ran complex regulates spindle formation in tumor cells. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5299-5311
- Yamamoto T, Tanigawa N. The role of survivin as

- a new target of diagnosis and treatment in human cancer. *Med Electron Microsc* 2001; 34: 207-212
- 27 Wang J, Jin Y, Xu Z, Zheng Z, Wan S. Involvement of caspase-3 activity and survivin downregulation in cinobufocini-induced apoptosis in A 549 cells. *Exp Biol Med* (Maywood) 2009; 234: 566-572
 - 28 Carter BZ, Wang RY, Schober WD, Milella M, Chism D, Andreeff M. Targeting Survivin expression induces cell proliferation defect and subsequent cell death involving mitochondrial pathway in myeloid leukemic cells. *Cell Cycle* 2003; 2: 488-493
 - 29 Liu T, Biddle D, Hanks AN, Brouha B, Yan H, Lee RM, Leachman SA, Grossman D. Activation of dual apoptotic pathways in human melanocytes and protection by survivin. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2247-2256
 - 30 Suzuki A, Ito T, Kawano H, Hayashida M, Hayasaki Y, Tsutomi Y, Akahane K, Nakano T, Miura M, Shiraki K. Survivin initiates procaspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene* 2000; 19: 1346-1353
 - 31 Delvaeye M, De Vriese A, Zwerts F, Betz I, Moons M, Autiero M, Conway EM. Role of the 2 zebrafish survivin genes in vasculo-angiogenesis, neurogenesis, cardiogenesis and hematopoiesis. *BMC Dev Biol* 2009; 9: 25
 - 32 Ueda M, Yamashita Y, Takehara M, Terai Y, Kumagai K, Ueki K, Kanda K, Yamaguchi H, Akise D, Hung YC, Ueki M. Survivin gene expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3452-3459
 - 33 Jiang LB, Liu XQ, Li B, He XJ, Jin YL, Li LQ, Gao F, Wang NL. Heat shock proteins and survivin: relationship and effects on proliferation index of retinoblastoma cells. *Histol Histopathol* 2008; 23: 827-831
 - 34 Marusawa H, Matsuzawa S, Welsh K, Zou H, Armstrong R, Tamm I, Reed JC. HBXIP functions as a cofactor of survivin in apoptosis suppression. *EMBO J* 2003; 22: 2729-2740
 - 35 Zhang X, Dong N, Yin L, Cai N, Ma H, You J, Zhang H, Wang H, He R, Ye L. Hepatitis B virus X protein upregulates survivin expression in hepatoma tissues. *J Med Virol* 2005; 77: 374-381

■同行评价

本研究设计合理, 结果可靠, 具有一定的学术价值。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010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 A_r (A 大写斜体, r 小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是 u (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后都要列出. 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 pg/ml ± 0.27 pg/ml 应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $\times 10^{12}/L$, WBC数用 $\times 10^9/L$, 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 μ mol/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、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 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B₁、维生素B₂、维生素B₆、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B₁₂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值的文句中, 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% CO₂, 50 mL/L CO₂; 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.

瘦素、脂联素在慢性肝病中的研究进展

张育先, 马红

张育先, 马红, 首都医科大学附属北京友谊医院肝病中心 北京市 100050

作者贡献分布: 本文综述由张育先完成; 马红审校。

通讯作者: 马红, 主任医师, 100050, 北京市, 首都医科大学附属北京友谊医院肝病中心. mahongmd@yahoo.com.cn
电话: 010-63138727

收稿日期: 2010-03-09 修回日期: 2010-05-04

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Advances in understanding the roles of leptin and adiponectin in the pathogenesis of chronic liver diseases

Yu-Xian Zhang, Hong Ma

Yu-Xian Zhang, Hong Ma, Liver Research Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Correspondence to: Hong Ma, Liver Research Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, 95 Yong'an Road, Xuanwu District, Beijing 100050, China. mahongmd@yahoo.com.cn

Received: 2010-03-09 Revised: 2010-05-04

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

Leptin and adiponectin are adipokines that are abundantly expressed in adipose tissue and have multiple biological effects related to the development of human diseases. More and more studies have demonstrated that adipokines play important roles in the pathogenesis of steatosis, steatohepatitis and liver fibrosis, especially nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and chronic hepatitis C (CHC). This paper reviews the recent advances in understanding the roles of leptin and adiponectin in the pathogenesis of liver diseases.

Key Words: Adipokine; Leptin; Adiponectin

Zhang YX, Ma H. Advances in understanding the roles of leptin and adiponectin in the pathogenesis of chronic liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1687-1693

摘要

瘦素脂联素是脂肪细胞分泌的细胞因子, 发

挥多种生物学作用并与一系列人类疾病相关。越来越多的研究发现瘦素脂联素等细胞因子在肝脏脂变、炎症坏死及纤维化方面起重要作用, 尤其是非酒精性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、慢性丙型肝炎方面。本文就瘦素脂联素在慢性肝病中的进展作一总结。

关键词: 脂肪因子; 瘦素; 脂联素

张育先, 马红. 瘦素、脂联素在慢性肝病中的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1687-1693

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1687.asp>

0 引言

白色脂肪组织在成人表达丰富, 主要有三方面作用: 储存能量; 将三酰甘油水解为游离脂肪酸, 供应组织能量; 释放脂肪因子。脂肪因子(瘦素、脂联素、抵抗素等)主要是由脂肪组织分泌的一组具有生物活性的多肽激素, 他们进入血液循环系统, 调节不同组织产生不同生物学作用。目前认为脂肪因子与不同病因[非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、丙型肝炎及酒精性肝病]引起的严重肝病进展密切相关, 其中以瘦素、脂联素的研究最为广泛深入。

1 瘦素脂联素的生物学作用

1.1 瘦素 瘦素是肥胖基因(obese, ob)编码产物, 通过与其受体结合在体内发挥多种生物学作用, 调节摄食、能量代谢、生殖、造血、免疫等生理功能, 参与炎症反应、损伤修复等病理生理过程, 瘦素受体(leptin receptors, OBRs)属于 I 类细胞因子受体家族, 由胞外区、跨膜区、胞质区三部分组成。瘦素受体有6种亚型, 即OBRa、OBRb、OBRc、OBRd、OBR e、OBRf。他们的差异在于胞内结构域的长度及氨基酸序列组成的不同, 这些受体被分为长型和短型2种, 其中OBRb为长型受体, 其余5种亚型受体为短型受体。OBRb型受体是瘦素的功能性受体, 主要分

■背景资料

脂肪因子主要是由脂肪组织分泌的一组具有生物活性的多肽激素, 他们调节不同组织产生多种生物学作用。目前认为脂肪因子与不同病因引起的严重肝病密切相关, 其中以瘦素与脂联素研究最为广泛深入。

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

■ 研发前沿

肝脏在代谢综合征中的核心作用,因而大量研究关注脂肪因子在脂肪肝中的作用及慢性丙型肝炎相关的代谢综合征.脂肪因子为肝病治疗方面提供新的靶点,尤其是脂联素显示出更有前景的治疗作用.

布于中枢神经系统,外周组织也广泛表达,包括肝脏,ObRb经Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)/信号转导蛋白激活转录因子3(signal transducer and activator of transcription3, Stat3)介导瘦素的主要生物学作用.以ObRa为主的短型受体多分布于脂肪、骨骼肌、肝等外周组织,Ob-R分布的不同和广泛性,决定了瘦素作用的多样性^[1].

瘦素分泌与脂肪含量成正比,并通过下丘脑通路产生抗肥胖信号,调节脂肪吸收,与交感兴奋及能量过剩时的能量消耗有关.近来研究发现瘦素介导的能量消耗可能与改变肝脏线粒体能量代谢有关^[2].瘦素缺陷的ob/ob小鼠发生明显脂肪变,提示瘦素可以预防脂肪肝,其机制为直接激活肝脏磷酸腺苷蛋白激活酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号通路,间接通过中枢神经通路^[3].瘦素缺陷还可以引起全身脂肪营养障碍,补充瘦素可以改善脂肪肝.与之相反存在脂肪肝肥胖患者其瘦素水平升高,这可能与肝脏瘦素抵抗有关.瘦素抵抗机制可能为营养学参与其中,因为果糖可以干扰Stat3信号诱导的高瘦素血症及肝脏瘦素抵抗^[4].另一机制可能与升高的细胞因子信号3(cytokine signaling-3, SOCS3)有关,其损害受体后信号,导致AMPK活化信号减弱.大麻素受体(cannabinoid receptor, CB1)信号活化是瘦素抵抗的另一机制^[5].

瘦素还参与天然免疫及适应性免疫.ob/ob肥胖的小鼠免于刀豆蛋白A诱导的自身免疫性疾病及T细胞介导的肝炎^[6].瘦素缺陷的动物更易感染细菌及病毒,给予内毒素刺激后肝脏毒性及病死率更高.因而一般认为瘦素作为促炎因子,保护机体免于微生物感染^[7].

促纤维化作用是瘦素的另一特征.给予瘦素而非限制饮食可以逆转ob/ob小鼠的纤维化缩小,提示瘦素具有强效促纤维化作用.瘦素经多种细胞发挥其促纤维化作用,瘦素活化库普弗细胞和巨噬细胞,刺激内皮细胞分泌转化生长因子 β ^[8].更重要的是瘦素经ObRb直接作用于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC),促进星状细胞增殖抑制其凋亡,促进I型前胶原的表达及分泌,上调基质金属蛋白组织抑制因子1(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP-1)的表达^[9].此外瘦素可以激活辅酶II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)产生氧自由基,调整细胞趋化因子的表达及凋亡小体的吞噬^[10].瘦素缺乏的大鼠可以改变肝脏部分

切除术及毒物损伤后的肝脏再生,然而,恢复瘦素水平没能挽救肝部分切除术后肝脏再生,提示持续的瘦素缺乏对肝细胞再生能力产生复杂的干扰^[11].最近研究发现瘦素与癌症进展相关,与其直接及间接增加血管生成有关.瘦素作用于内皮细胞上调星状细胞表达血管内皮细胞生长因子,实验性脂肪肝炎模型中发现瘦素缺乏可以减少血管生成及癌前疾病形成^[12].此外,ObR在人类肝癌组织高表达,而分化不良的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC),其血管化作用较强,ObR表达较多,提示体外瘦素或瘦素受体与肝癌的血管生成有关^[13].瘦素还促进了胆管癌细胞的增殖及迁移.因而瘦素在慢性肝脏疾病中可以通过加速纤维化,诱导血管生成及直接作用于肿瘤细胞等方面促进癌症发生.而另外一方面瘦素干预免疫系统可能产生有益的作用,最近报道在异种移植模型中给予瘦素可以增加自然杀伤细胞的数目并减少肿瘤大小^[14].

1.2 脂联素

脂联素是由脂肪组织分泌的一种蛋白质,是脂肪组织中特异表达的脂肪因子.正常人血浆中含量丰富,脂联素在血浆中以球状结构域、全长脂联素(脂联素三聚体、六聚体、高聚体)等形式存在.Yamauchi等首次克隆出人和小鼠脂联素受体,研究发现高度保守的脂联素受体(adiponectin receptor, AdipoR)有两种构成:AdipoR1和AdipoR2.人体多种组织细胞表面均有脂联素受体的分布和表达.AdipoR1在全身各组织广泛表达,在骨骼肌最丰富,在内皮细胞及其他组织亦有表达,是球形脂联素的高亲和力受体,对全长脂联素亲和力低,AMPK是其下游主要信号分子;AdipoR2主要在肝脏表达,对全长及球形脂联素都有中等程度的亲和力,而PPARa是其下游主要信号分子.T-钙粘蛋白,脂联素另一受体其具体信号通路研究不清.脂联素与其受体结合,在机体能量代谢、炎症、免疫等方面发挥重要的调节作用^[15].

脂联素水平与机体脂肪含量呈负相关,可以增强肝脏、骨骼肌、脂肪组织对胰岛素的敏感性,在肥胖2型糖尿病患者中其水平下降.与瘦素相似,脂联素调节机体脂质分布,并在肝脏损伤时发挥保护肝脏及抗纤维化作用.酒精性及非酒精性肝病研究中发现给予脂联素可以缓解炎症坏死及脂肪变,其机制可能是脂联素抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)表达^[16].此外,减少食物中饱和脂肪酸含量可以增加脂联素分泌,对酒精性肝损伤具

有保护作用^[17]。相反, 长期慢性酒精暴露, 可降低血脂联素水平。相应的给予肥胖大鼠(对氨基半乳糖或脂多糖敏感)脂联素可以改善肝损伤, 降低TNF- α 并增加过氧化物酶体增殖激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor- α , PPAR- α)表达^[18]。ob/ob小鼠中研究发现适度增加脂联素水平可以减少炎症, 增加脂肪组织表达PPAR- γ , 其机制是脂联素通过信号分子将肝脏、骨骼肌的三酰甘油转运至脂肪组织, 从而增加这些组织对胰岛素的敏感性^[19]。这与采用噻唑烷二酮类药物诱导人脂联素水平增加机制相似^[20]。

虽然脂联素及瘦素都可以抵消异位脂肪沉积, 然而他们在炎症方面具有不同的作用。一般来说脂联素降低炎症程度, 刺激分泌抗炎因子, 如白介素-10(interleukin-10, IL-10), 封闭核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B), 抑制TNF- α 、IL-6等炎症因子释放^[21]。此外脂联素可以有效抑制动脉粥样硬化的发生^[22]。同样炎症亦可以封闭脂联素分泌, 尤其是肥胖患者, 脂肪组织炎症加剧了血脂联素水平降低。肝脏方面, 瘦素缺失ob/ob的小鼠, 免于T细胞介导的肝脏炎症, 而缺乏瘦素及脂联素的脂肪代谢紊乱的小鼠没有免于炎症, 表明脂联素在保护肝损伤方面起重要作用, 给予脂联素后ob/ob小鼠及脂肪代谢紊乱小鼠都免于炎症损伤而给予瘦素加剧了炎症^[23]。因而我们认为脂联素对那些代谢综合征为表现的全身及肝脏炎症起负性调节作用^[24]。然而应慎重看待这个结论, 因为在一些情况下(如经历缺血再灌注的肝脏脂肪变性)脂联素会产生不利作用^[25]。

近来大量研究表明脂联素具有抗肝纤维化作用, 与瘦素在肝纤维化中的作用相反。Kamada等发现四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导的肝损伤中, 脂联素基因敲除的小鼠比野生型小鼠形成更广泛的纤维化, 这表明脂联素具有抗纤维化作用, 且此种作用不依赖于代谢作用^[26]。脂联素在NASH进展早期有保护作用其机制可能是通过抑制TNF- α 及抗纤维化作用^[27]。Ding等发现脂联素通过维持HSC静息状态抑制其增殖而发挥抗纤维化作用^[28]。最近有研究发现脂联素球状结构域刺激人星状细胞可以激活AMPK途径抑制血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)诱导的星状细胞的增殖及迁移, 同时降低IL-1引起的单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的产生^[29]。体外研究还发现高分子量脂联素可以抑

制PDGF激活的hTERT(永生化人星状细胞系)和大鼠原代HSC的增殖及迁移, 其作用机制AMPK通过以下途径抑制星状细胞增殖: (1)抑制AKT途径。(2)通过诱导抗氧化应激酶而抑制氧化应激(reactive oxygen species, ROS)依赖性的产物。(3)增加细胞周期依赖性激酶抑制剂(cyclin-dependent kinase inhibitors p21cip, p21)及(cyclin-dependent kinase inhibitors p27kip, p27)的表达^[30]。目前认为脂联素抗纤维化的关键机制是作用于HSC脂联素受体, 活化AMPK通路。AMPK是AdipoR1下游的信号分子, 但最近有研究发现干扰AdipoR2信号通路足以封闭实验性脂肪性肝炎损伤^[31]。脂联素受体信号通路在慢性肝病中的作用有待进一步研究。关于脂联素与肝癌的研究很少, 最近一项研究发现脂联素缺乏的小鼠给予胆碱缺乏的氨基酸饮食, 其发生肝癌的机率增加, 然而脂联素这种作用是通过降低肝损伤还是对癌细胞的直接作用还有待证实^[32]。有报道提示脂联素可以通过抑制肿瘤血管生长, 下调(Rho kinase, Rock; IFN-inducible protein 10, IP10)Rock/IP10/mmp 9信号通路抑制肝癌生长及肿瘤的转移^[33]。最近还发现脂联素缺乏还可以延迟肝再生, 但相关研究还很少^[34]。

2 瘦素脂联素在NAFLD病毒性肝炎及肝硬化人群中的研究

2.1 瘦素及脂联素与NAFLD人群研究 与实验室获得的资料不同, 不同研究中NAFLD患者血瘦素水平变化不一致。循环瘦素水平在NASH患者升高, 重症患者更高, 脂联素水平变化与体质量指数无关^[35]。儿童NASH患者与之相似, TNF- α 及瘦素预测NAS评分>5^[36]。而另一项成人研究发现瘦素水平与脂变严重程度直接相关而与炎症及纤维化无关^[37,38]。还有一些研究没有发现NASH患者与对照人群中瘦素水平存在显著差异^[39]。总之与动物实验得到结论不同, 瘦素的抗纤维化作用在人群研究中并不完全一致。

在一组非肥胖非糖尿病NASH患者中, 脂联素水平下降与胰岛 β 细胞功能失调有关, 此外脂联素还与纤维化相关^[40]。一项肥胖患者研究发现血脂联素水平与肝脏组织病理学相关且可以预测NAFLD患者肝脏组织病理学严重性^[41,42]。也有研究发现脂联素可以作为血清标志物预测儿童NAFLD患者脂肪变性的进展^[43]。Bugianesi等研究发现脂联素水平与内源性葡萄糖生成受抑制有关, 可以预测存在代谢综合征^[44]。脂联素水

■创新盘点

本文总结近年来瘦素脂联素在肝脏脂变、炎症坏死及纤维化及病毒性肝炎肝硬化等方面研究进展, 对于认识脂肪因子在慢性肝病的作用有一定意义。

■应用要点

近10年来越来越多的研究证实脂肪因子与肝脏疾病的病理生理存在相关性。随着脂肪因子在慢性肝病领域中的深入研究,脂肪因子将为肝病治疗方面提供新的靶点。

平与肝脏脂肪含量及内源性葡萄糖产生呈负相关提示脂联素可能联系肝脏脂肪含量及胰岛素抵抗^[45]。一项研究发现肝脏中可以检测到低度水平脂联素表达,NASH患者肝脏中脂联素及AdipoR2 mRNA水平比单纯脂变患者表达降低,此外AdipoR2的表达与转氨酶及纤维化分期呈负相关^[46]。而Vuppalanchil等在肝脏中没能检测出脂联素mRNA表达,且他们还发现NASH患者中AdipoR2表达比单纯脂肪变的患者高^[47]。近来研究发现脂联素而非瘦素参与病态肥胖患者的早期肝脏疾病^[48]。还有研究发现联合采用稳态模型评估法(homeostasis model assessment method, HOMA)及血清脂联素与瘦素的比值可作为预测NAFLD患者肝损伤严重程度的非侵入性方法^[49]。综合上述资料,一般来说脂联素水平可以用来预测肝脏脂肪变及肝脏疾病严重程度^[50],虽然可以预测到什么程度,是直接作用,还是与胰岛素抵抗有关,还有待阐明。尽管如此,肥胖及胰岛素抵抗患者的脂联素水平下降所营造的促炎环境及个体患者对脂毒性的易感性决定那个患者最终从单纯脂变进展为NASH,甚至肝硬化。

2.2 瘦素及脂联素在病毒性肝炎人群中的研究瘦素在胰岛素抵抗脂肪变性及慢性丙型肝炎肝损伤中的作用目前尚未阐明。有研究发现丙型肝炎患者瘦素水平较健康人群偏高^[51],而其他研究中结果相反^[52]。同时一些研究中发现瘦素与肝纤维严重程度呈正相关^[53],而在另外一些实验中未能证实^[52]。瘦素与HCV诱导的脂变之间关系也不很清楚,一些研究提示瘦素水平与脂肪变存在相关性^[54],另外一项研究发现瘦素水平与感染基因1型患者的脂肪变有关,而与基因3型无关^[55]。而其他研究没能证实瘦素水平与脂变分级存在关系^[52]。

与NAFLD不同,脂联素水平在丙型肝炎患者的研究不一致。一些研究发现丙型肝炎感染患者的脂联素水平与健康人群变化不大,脂联素水平与病理组织血变化无相关。低脂联素水平与高病毒载量及感染基因2型病毒相关^[56]。另外一项研究没有发现脂联素、瘦素、IL-6水平与组织病理学特征存在任何关系^[57]。一项研究发现丙型肝炎患者中血脂联素水平较高^[58],儿童急性病毒性肝炎中也有类似发现^[59]。而丙型肝炎基因3型患者脂联素水平低,这与是否存在脂变无关,成功抗病毒治疗后脂联素水平增加,提示病毒直接影响脂联素,低脂联素水平提示缺乏抗病毒应答^[60]。近来研究提示高水平总脂联素及高

分子量脂联素与丙型肝炎患者中存在的细胞免疫应答受抑制相关,提示脂联素在调节慢性丙型肝炎免疫方面起作用^[61]。慢性乙型肝炎患者中,脂联素水平变化与慢性丙型肝炎患者相似^[62]或较低^[63]。有关中国人群中慢性乙型肝炎患者研究报道发现脂联素保护患者免于发生胰岛素抵抗及肝脏脂肪变性,但对肝功能变化无影响,脂联素对肝脏损伤的作用可能独立于病毒因素^[64]。此外,脂联素水平在进展期肝纤维化增加并与纤维化分期呈相关性^[65]。

2.3 瘦素及脂联素在肝硬化人群中研究至于终末期肝病脂肪因子变化可能与病因无关,而与分解代谢或炎症状态的存在有关。病毒性肝硬化研究中发现游离瘦素水平未发生变化,而结合瘦素水平增加,游离瘦素与脂肪含量相关,结合瘦素与能量消耗及分解状态的存在有关^[66]。类似研究报道游离瘦素与代谢参数呈正相关,结合瘦素及可溶性瘦素受体与促炎因子及交感神经活动呈相关性^[67]。肝硬化患者瘦素水平升高的可能机制是肾脏提取物脂联素下降导致皮下脂肪库释放脂联素增加,而肝内提取物瘦素水平较对照组变化不明显^[68]。

与脂联素保肝作用看似相反,循环脂联素水平在肝硬化小鼠及人类是增加的,增加的循环脂联素水平(而肝脏提取物脂联素水平下降)伴随疾病进展及门脉压力增高^[69]。原发性胆汁性肝硬化患者脂联素水平升高,提示脂肪因子的清除可能经胆汁分泌排出^[70]。

3 结论

近10年来越来越多的研究证实脂肪因子与肝脏疾病的病理生理存在相关性。肝脏在代谢综合征中的核心作用,因而大量研究关注脂肪因子在脂肪肝中的作用及慢性丙型肝炎相关的代谢综合征。细胞培养及动物模型的研究证实脂肪因子与肝损伤及修复存在直接的强有力的相关性。而在人群中的研究结果存在争议,可能与疾病本身固有复杂性有关。脂肪因子为肝病治疗方面提供新的靶点,尤其是脂联素显示出更有前景的治疗作用。

4 参考文献

- 1 Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 537-556
- 2 Singh A, Wirtz M, Parker N, Hogan M, Strahler J, Michailidis G, Schmidt S, Vidal-Puig A, Diano S, Andrews P, Brand MD, Friedman J. Leptin-

- mediated changes in hepatic mitochondrial metabolism, structure, and protein levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 13100-13105
- 3 Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 2008; 14: 741-751
- 4 Roglans N, Vilà L, Farré M, Alegret M, Sánchez RM, Vázquez-Carrera M, Laguna JC. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPAR α activity in fructose-fed rats. *Hepatology* 2007; 45: 778-788
- 5 Osei-Hyiaman D, Liu J, Zhou L, Godlewski G, Harvey-White J, Jeong WJ, Bátkai S, Marsicano G, Lutz B, Buettner C, Kunos G. Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 3160-3169
- 6 Faggioni R, Jones-Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C, Fantuzzi G. Leptin-deficient (ob/ob) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity: role of tumor necrosis factor α and IL-18. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 2367-2372
- 7 Tomita K, Azuma T, Kitamura N, Tamiya G, Ando S, Nagata H, Kato S, Inokuchi S, Nishimura T, Ishii H, Hibi T. Leptin deficiency enhances sensitivity of rats to alcoholic steatohepatitis through suppression of metallothionein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G1078-G1085
- 8 Wang J, Leclercq I, Brymora JM, Xu N, Ramezani-Moghadam M, London RM, Brigstock D, George J. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis. *Gastroenterology* 2009; 137: 713-723
- 9 Marra F. Leptin and liver tissue repair: do rodent models provide the answers? *J Hepatol* 2007; 46: 12-18
- 10 Jiang JX, Mikami K, Shah VH, Torok NJ. Leptin induces phagocytosis of apoptotic bodies by hepatic stellate cells via a Rho guanosine triphosphatase-dependent mechanism. *Hepatology* 2008; 48: 1497-1505
- 11 Leclercq IA, Sempoux C, Stärkel P, Horsmans Y. Limited therapeutic efficacy of pioglitazone on progression of hepatic fibrosis in rats. *Gut* 2006; 55: 1020-1029
- 12 Kitade M, Yoshiji H, Kojima H, Ikenaka Y, Noguchi R, Kaji K, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Asada K, Yamazaki M, Tsujimoto T, Akahane T, Uemura M, Fukui H. Leptin-mediated neovascularization is a prerequisite for progression of nonalcoholic steatohepatitis in rats. *Hepatology* 2006; 44: 983-991
- 13 Ribatti D, Belloni AS, Nico B, Di Comite M, Crivellato E, Vacca A. Leptin-leptin receptor are involved in angiogenesis in human hepatocellular carcinoma. *Peptides* 2008; 29: 1596-1602
- 14 Kamada Y, Tamura S, Kiso S, Matsumoto H, Saji Y, Yoshida Y, Fukui K, Maeda N, Nishizawa H, Nagaretani H, Okamoto Y, Kihara S, Miyagawa J, Shinomura Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology* 2003; 125: 1796-1807
- 15 Ding X, Saxena NK, Lin S, Xu A, Srinivasan S, Anania FA. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *Am J Pathol* 2005; 166: 1655-1669
- 16 Caligiuri A, Bertolani C, Guerra CT, Aleffi S, Galastri S, Trappoliere M, Vizzutti F, Gelmini S, Laffi G, Pinzani M, Marra F. Adenosine monophosphate-activated protein kinase modulates the activated phenotype of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2008; 47: 668-676
- 17 Adachi M, Brenner DA. High molecular weight adiponectin inhibits proliferation of hepatic stellate cells via activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Hepatology* 2008; 47: 677-685
- 18 Marra F, Bertolani C. Adipokines in liver diseases. *Hepatology* 2009; 50: 957-969
- 19 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 1784-1792
- 20 Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003; 112: 91-100
- 21 You M, Considine RV, Leone TC, Kelly DP, Crabb DW. Role of adiponectin in the protective action of dietary saturated fat against alcoholic fatty liver in mice. *Hepatology* 2005; 42: 568-577
- 22 Masaki T, Chiba S, Tatsukawa H, Yasuda T, Noguchi H, Seike M, Yoshimatsu H. Adiponectin protects LPS-induced liver injury through modulation of TNF- α in KK-Ay obese mice. *Hepatology* 2004; 40: 177-184
- 23 Kim JY, van de Wall E, Laplante M, Azzara A, Trujillo ME, Hofmann SM, Schraw T, Durand JL, Li H, Li G, Jelicks LA, Mehler MF, Hui DY, Deshaies Y, Shulman GI, Schwartz GJ, Scherer PE. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *J Clin Invest* 2007; 117: 2621-2637
- 24 Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med* 2004; 351: 1106-1118
- 25 Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 772-783
- 26 Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2007; 74: 11-18
- 27 Asano T, Watanabe K, Kubota N, Gunji T, Omata M, Kadowaki T, Ohnishi S. Adiponectin knockout mice on high fat diet develop fibrosing steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1669-1676
- 28 Sennello JA, Fayad R, Morris AM, Eckel RH, Asilmaz E, Montez J, Friedman JM, Dinarello CA, Fantuzzi G. Regulation of T cell-mediated hepatic inflammation by adiponectin and leptin. *Endocrinology* 2005; 146: 2157-2164
- 29 Gustafson B, Hammarstedt A, Andersson CX, Smith U. Inflamed adipose tissue: a culprit underlying the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2276-2283
- 30 Massip-Salcedo M, Zaouali MA, Padrisa-Altés S, Casillas-Ramirez A, Rodés J, Roselló-Catafau J, Peralta C. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α inhibits the injurious effects of adiponectin in rat steatotic liver undergoing ischemia-reperfusion. *Hepatology* 2008; 47: 461-472
- 31 Tomita K, Oike Y, Teratani T, Taguchi T, Noguchi M, Suzuki T, Mizutani A, Yokoyama H, Irie R, Sumimoto H, Takayanagi A, Miyashita K, Akao M, Tabata M, Tamiya G, Ohkura T, Hibi T. Hepatic

■同行评价

本文重点突出, 对于了解瘦素、脂联素在慢性肝病中的研究进展有意义。

- AdipoR2 signaling plays a protective role against progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2008; 48: 458-473
- 32 Kamada Y, Matsumoto H, Tamura S, Fukushima J, Kiso S, Fukui K, Igura T, Maeda N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Shimomura I, Hayashi N. Hypoadiponectinemia accelerates hepatic tumor formation in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model. *J Hepatol* 2007; 47: 556-564
 - 33 Man K, Ng KT, Xu A, Cheng Q, Lo CM, Xiao JW, Sun BS, Lim ZX, Cheung JS, Wu EX, Sun CK, Poon RT, Fan ST. Suppression of liver tumor growth and metastasis by adiponectin in nude mice through inhibition of tumor angiogenesis and downregulation of Rho kinase/IFN-inducible protein 10/matrix metalloproteinase 9 signaling. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 967-977
 - 34 Ezaki H, Yoshida Y, Saji Y, Takemura T, Fukushima J, Matsumoto H, Kamada Y, Wada A, Igura T, Kihara S, Funahashi T, Shimomura I, Tamura S, Kiso S, Hayashi N. Delayed liver regeneration after partial hepatectomy in adiponectin knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378: 68-72
 - 35 Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, Deveci MS, Bagci S, Gulsen M, Karaeren N, Dagalp K. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3584-3589
 - 36 Manco M, Alisi A, Nobili V. Risk of severe liver disease in NAFLD with normal ALT levels: a pediatric report. *Hepatology* 2008; 48: 2087-2088; author reply 2088
 - 37 Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, Liddle C, Samarasinghe D, George J. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology* 2002; 36: 403-409
 - 38 Muñoz LE, Cordero P, Torres L, Saucedo AY, Flores JP, Segura JJ. Adipokines in a group of Mexican patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Hepatol* 2009; 8: 123-128
 - 39 Chalasani N, Crabb DW, Cummings OW, Kwo PY, Asghar A, Pandya PK, Considine RV. Does leptin play a role in the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis? *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2771-2776
 - 40 Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Fagà E, Pacini G, De Michieli F, Rabbione L, Premoli A, Cassader M, Pagano G. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 1175-1183
 - 41 Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, Falezza G. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 64: 679-683
 - 42 Argentou M, Tiniakos DG, Karanikolas M, Melachrinou M, Makri MG, Kittas C, Kalfarentzos F. Adipokine serum levels are related to liver histology in severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Obes Surg* 2009; 19: 1313-1323
 - 43 Lebensztejn DM, Wojtkowska M, Skiba E, Werpachowska I, Tobolczyk J, Kaczmarek M. Serum concentration of adiponectin, leptin and resistin in obese children with non-alcoholic fatty liver disease. *Adv Med Sci* 2009; 54: 177-182
 - 44 Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de Iasio R, Gentilcore E, Natale S, Cassader M, Rizzetto M, Pasquali R, Marchesini G. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3498-3504
 - 45 Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, Glass L, Cersosimo E, Pratipanawatr T, Miyazaki Y, DeFronzo RA. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 200-206
 - 46 Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, Ebenbichler CF, Patsch JR, Tilg H. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2005; 54: 117-121
 - 47 Vuppalanchi R, Marri S, Kolwankar D, Considine RV, Chalasani N. Is adiponectin involved in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis? A preliminary human study. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 237-242
 - 48 Hindle AK, Edwards C, Mendonsa A, Rojkind M, McCaffrey T, Fu S, Brody F. Adiponectin but not leptin is involved in early hepatic disease in morbidly obese patients. *Surg Endosc* 2009 Dec 30. [Epub ahead of print]
 - 49 Lemoine M, Ratzu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, Bastard JP, Poupon R, Housset C, Capeau J, Serfaty L. Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2009; 29: 1431-1438
 - 50 Nazal L, Riquelme A, Solís N, Pizarro M, Escalona A, Burotto M, Méndez JL, Saint-Jean C, Concha MJ, Giovanni S, Awruch D, Morales A, Baudrand R, Carrasco G, Domínguez MA, Padilla O, Espinoza M, Miquel JF, Nervi F, Arrese M. Hypoadiponectinemia and its Association with Liver Fibrosis in Morbidly Obese Patients. *Obes Surg* 2010 Jan 12. [Epub ahead of print]
 - 51 Zografos TA, Rigopoulou EI, Liaskos C, Togousidis E, Zachou K, Gatselis N, Germentis A, Dalekos GN. Alterations of leptin during IFN-alpha therapy in patients with chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 2006; 44: 848-855
 - 52 Giannini E, Ceppa P, Botta F, Mastracci L, Romagnoli P, Comino I, Pasini A, Risso D, Lantieri PB, Icardi G, Barreca T, Testa R. Leptin has no role in determining severity of steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3211-3217
 - 53 Crespo J, Rivero M, Fábrega E, Cayón A, Amado JA, García-Unzueta MT, Pons-Romero F. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1604-1610
 - 54 Gordon A, McLean CA, Pedersen JS, Bailey MJ, Roberts SK. Hepatic steatosis in chronic hepatitis B and C: predictors, distribution and effect on fibrosis. *J Hepatol* 2005; 43: 38-44
 - 55 Romero-Gómez M, Castellano-Megias VM, Grande L, Irls JA, Cruz M, Nogales MC, Alcón JC, Robles A. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1135-1141
 - 56 Liu CJ, Chen PJ, Jeng YM, Huang WL, Yang WS, Lai MY, Kao JH, Chen DS. Serum adiponectin correlates

- with viral characteristics but not histologic features in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005; 43: 235-242
- 57 Cua IH, Hui JM, Bandara P, Kench JG, Farrell GC, McCaughan GW, George J. Insulin resistance and liver injury in hepatitis C is not associated with virus-specific changes in adipocytokines. *Hepatology* 2007; 46: 66-73
- 58 Tiftikci A, Atug O, Yilmaz Y, Eren F, Ozdemir FT, Yapali S, Ozdogan O, Celikel CA, Imeryuz N, Tozun N. Serum levels of adipokines in patients with chronic HCV infection: relationship with steatosis and fibrosis. *Arch Med Res* 2009; 40: 294-298
- 59 Tóth G, Rauh M, Nyul Z, Sulyok E, Rascher W. Serum ghrelin, adipokine and insulin levels in children with acute hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 739-743
- 60 Zografos TA, Liaskos C, Rigopoulou EI, Togousidis E, Makaritsis K, Germanis A, Dalekos GN. Adiponectin: a new independent predictor of liver steatosis and response to IFN- α treatment in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 605-614
- 61 Palmer C, Hampartzoumian T, Lloyd A, Zekry A. A novel role for adiponectin in regulating the immune responses in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2008; 48: 374-384
- 62 Siagris D, Vafiadis G, Michalaki M, Lekkou A, Starakis I, Makri M, Margaritis V, Christofidou M, Tsamandas AC, Labropoulou-Karatza C. Serum adiponectin in chronic hepatitis C and B. *J Viral Hepat* 2007; 14: 577-583
- 63 Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Georgiou A, Kafiri G, Tiniakos DG, Manesis EK, Archimandritis AJ. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 1128-1136
- 64 Wong VW, Wong GL, Yu J, Choi PC, Chan AW, Chan HY, Chu ES, Cheng AS, Chim AM, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. Interaction of adipokines and hepatitis B virus on histological liver injury in the Chinese. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 132-138
- 65 Hui CK, Zhang HY, Lee NP, Chan W, Yueng YH, Leung KW, Lu L, Leung N, Lo CM, Fan ST, Luk JM, Xu A, Lam KS, Kwong YL, Lau GK. Serum adiponectin is increased in advancing liver fibrosis and declines with reduction in fibrosis in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2007; 47: 191-202
- 66 Ockenga J, Bischoff SC, Tillmann HL, Rifai K, Widjaja A, Böker KH, Manns MP, Brabant G. Elevated bound leptin correlates with energy expenditure in cirrhotics. *Gastroenterology* 2000; 119: 1656-1662
- 67 Ockenga J, Tietge UJ, Böker KH, Manns MP, Brabant G, Bahr MJ. Distinct roles of free leptin, bound leptin and soluble leptin receptor during the metabolic-inflammatory response in patients with liver cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 1301-1309
- 68 Henriksen JH, Holst JJ, Møller S, Brinch K, Bendtsen F. Increased circulating leptin in alcoholic cirrhosis: relation to release and disposal. *Hepatology* 1999; 29: 1818-1824
- 69 Tietge UJ, Böker KH, Manns MP, Bahr MJ. Elevated circulating adiponectin levels in liver cirrhosis are associated with reduced liver function and altered hepatic hemodynamics. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287: E82-E89
- 70 Tacke F, Wüstefeld T, Horn R, Luedde T, Srinivas Rao A, Manns MP, Trautwein C, Brabant G. High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *J Hepatol* 2005; 42: 666-673

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010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等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[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.

胆囊切除术后综合征的中医认识和治疗进展

孙飞, 彭海燕

■背景资料

胆囊炎、胆石症是临床常见病, 胆囊切除术是治疗胆囊疾病的常用治法之一, 但是有部分行胆囊切除的患者几个月后或很短的时间内又出现与胆囊疾病有关的临床证候群, 临床上统称为“胆囊切除术后综合征”。胆囊切除术后综合征的临床表现较为复杂, 包括非特异性的消化系统症状: 如上腹部闷胀不适、腹痛、肩背部疼痛不适、消化不良、食欲减退、恶心或伴呕吐、嗝气、大便次数增多等, 还包括特异性胆道症状: 如右上腹剧痛、胆绞痛、发热、黄疸等。

孙飞, 彭海燕, 南京中医药大学第一临床医学院中医内科学教研室 江苏省南京市 210029

作者贡献分布: 彭海燕负责论文整体构思、中英文摘要及结论撰写, 并负责补充与修改; 孙飞负责文献检索与摘录。

通讯作者: 彭海燕, 副教授, 210029, 江苏省南京市, 南京中医药大学第一临床医学院中医内科学教研室. phy7073@163.com

收稿日期: 2010-02-05 修回日期: 2010-04-29

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Advances in understanding and treatment of postcholecystectomy syndrome by Chinese medicine

Fei Sun, Hai-Yan Peng

Fei Sun, Hai-Yan Peng, Department of Chinese Internal Medicine, the First Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Associate Professor Hai-Yan Peng, Department of Chinese Internal Medicine, the First Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. phy7073@163.com

Received: 2010-02-05 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

The purpose of this paper is to review the etiology, pathogenesis, syndrome differentiation and treatment of postcholecystectomy syndrome by Chinese medicine (CM). According to CM theory, the basic pathological mechanism of postcholecystectomy syndrome is the failure of liver and gallbladder in keeping smooth flow of Qi and of spleen and stomach in transportation and transformation, and the retention of dampness-heat. The commonest clinical syndromes are liver Qi depression, spleen deficiency, dampness-heat, etc. The most frequently used therapeutic methods are regulating Qi movement, eliminating dampness, dissolving phlegm, purging Fu-organ and harmonizing liver and spleen.

Key Words: Postcholecystectomy syndrome; Chinese medicine; Syndrome differentiation treatment

Sun F, Peng HY. Advances in understanding and treatment of postcholecystectomy syndrome by Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1694-1700

■同行评议者

秦建民, 副教授, 上海中医药大学附属普陀医院肝胆外科

摘要

本文综述了中医学对胆囊切除术后综合征(postcholecystectomy syndrome, PCS)的病因病机认识、辨证分型及治法方药, 中医学认为PCS发病的基本机制为肝胆失于疏泄、脾胃失于运化、湿热留滞, 临床常见肝郁、脾虚、湿热等证, 治法以理气、利湿、化痰、通腑、调养肝脾为主。

关键词: 胆囊切除术后综合征; 中医药; 证治

孙飞, 彭海燕. 胆囊切除术后综合征的中医认识和治疗进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1694-1700

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1694.asp>

0 引言

胆囊切除术后综合征(postcholecystectomy syndrome, PCS)是指手术切除胆囊后原有的症状没有消失, 或在此基础上又有新的症状发生的症候群, 包括轻度非特异性的消化系统症状, 如上腹部闷胀不适、腹痛、肩背部疼痛不适、消化不良、食欲减退、恶心或伴呕吐、嗝气、大便次数增多等和特异性胆道症状, 如右上腹剧痛、胆绞痛、发热、黄疸等^[1]. 本病成因较复杂, 病因诊断尚存在一定难度, 单纯的对症治疗疗效不佳, 而中医药对于本病有着独到的认识和丰富的治疗经验, 按照中医理论进行辨证论治, 灵活加減用药, 临床疗效显著。

1 病因病机认识

《灵枢·本输》曰: “肝合胆, 胆者中精之腑”; 《难经》曰: “胆在肝之短叶间, 重三两二铢, 盛精汁三合”, 并称胆为“清净之府”; 《脉经》曰: “肝之余气, 泄于胆, 聚而成精”. 中医学认为, 肝为脏在里, 胆为腑在表, 二者在生理功能上同主疏泄, 肝化生和排泄胆汁, 胆贮存胆汁, 共同促进消化吸收功能. 然而胆既是六腑之一, 又属奇恒之腑, 如《类经·藏象类》说: “然胆居六腑之一, 独其藏而不泻, 与他腑之传化者为异”. 胆既不直接接受水谷, 也不直接传化糟粕, 而是贮藏胆汁, 促进脾胃的消化吸收. 《素

问·六节藏象论》曰:“藏象何如?……凡十一藏,取决于胆也”,虽然此说颇有争论,但多数医家认为是肝与胆相合,共同完成着重要的生理功能。《素问·灵兰秘典论》说:“肝者,将军之官,谋虑出焉。胆者,中正之官,决断出焉”;《类经·藏象类》说:“胆附于肝,相为表里,肝气虽强,非胆不断,肝胆相济,勇敢乃成”;《医参》说:“气以胆壮,邪不可干,故曰十一脏取决于胆也”。只有肝胆疏泄正常,中焦枢纽畅通,正气才能健旺,抵御外邪。胆主决断与肝主谋虑实际上反映了人体正气的盛衰,只有正气强盛,内气充实的人,才能主决断而有果敢行为。

患者在行胆囊切除术时心理压力加大、精神紧张,导致脏腑之气机逆乱,因而不能行使其正常功能。胆囊切除术后患者正气虚弱,肝胆络损,血瘀气滞,肝胆疏泄失常,胆汁不能正常贮存与排泄,因而导致诸多病症。《灵枢·五邪篇》曰:“邪在肝,则两胁中痛”;《胀论》曰:“胆胀者,胁下痛胀,口中苦,善太息”,描述了临床上肝胆病变常见症状为胁痛、胁胀、暖气、口苦等,而脾胃与肝胆同居中焦,在病理情况下常发生传变;《灵枢·经脉篇》曰:“肝足厥阴之脉……循股阴,入毛中,过阴器,抵小腹,挟胃,属肝,络胆”;《灵枢·病传篇》曰:“病先发于肝,三日而之脾,五日而之胃”;《素问·至真要大论》曰:“少阳之胜,热客于胃,烦心心痛,目赤欲呕,呕酸善饥,耳痛溺赤,善惊澹妄,暴热消烁”。肝胆疏泄失职,胆汁排泄不畅,不能促进脾胃运化功能,以致脾胃运化不健,患者常见纳差腹胀,大便不调,甚至恶心呕吐。若肝气郁结日久则易化热,邪热犯胃,又可致胃脘灼热嘈杂,泛吐酸水,口干口苦等症。《素问·平人氣象论》曰:“溺黄赤,安卧者,黄疸;……目黄者,曰黄疸”,若湿热中阻,升降失常,胆汁不循常道而外溢,则形成尿黄目赤、全身发黄之黄疸。气郁之火或为湿热之邪,加之手术中失血,总易导致阴血耗伤,肝胆属木,体阴用阳,阴虚失养,失其柔顺之性,又易致火旺,扰动心神,因而可见心烦、易惊。

总之,胆的主要生理功能为贮存胆汁,与肝相为表里,同主疏泄,根据PCS的临床特征,本病病因以情志、饮食因素为主,其主要病位在中焦肝胆脾胃,常表现为肝郁脾虚,木土失和,肝胆疏泄失职,脾胃运化不健,病理性质有虚有实,而以实证居多,实证以气滞、血瘀、湿热为主,虚证多属脾气虚弱、肝阴不足,临床常见虚实

夹杂证候。

2 辨证分型

李军^[2]将本病分为肝郁脾虚、肝气郁结、肝胃郁热、肝胆湿热、肝阴不足5个证型,肝郁脾虚证症见不思饮食,稍进油腻即排稀便,大便次数增多,肠鸣,腹胀腹痛,泻后痛止,舌淡苔薄,脉弦缓;肝气郁结症见胁肋胀痛,走窜不定,胸闷气短,饮食减少,暖气,女子经前乳胀、少腹坠胀,舌淡、苔薄、脉弦;肝胃郁热证症见胃脘灼痛,餐后更甚,暖气泛酸,口干口苦,舌红、苔黄,脉弦数;肝胆湿热证,症见胁痛口苦,胸闷纳呆,上腹饱胀,恶心呕吐,或厌油,目赤或目黄、身黄、小便黄,大便秘结,舌质红、苔黄腻,脉弦滑数;肝阴不足证症见胁肋隐痛,绵绵不休,遇劳加重,或见灼痛,嘈杂泛酸,口干咽燥,头晕目眩,舌红少苔,脉细弦数。王晓燕等^[3]将本病分为肝胆湿热、气滞血瘀、肝气犯胃、肝气郁结、热结阳明5个证型,肝胆湿热证患者常见术后复发或残余结石、伴见感染、出现黄疸者,气滞血瘀证患者常于术后出现类似胆绞痛发作的症状,肝气犯胃证患者术前多合并有胆汁反流性胃炎或胆源性胰腺炎,影响食物消化吸收出现腹痛腹胀、返酸暖气或恶心呕吐,肝气郁结证患者术后肝郁不舒、情志不遂出现胁痛、暖气、头晕目眩、心烦易怒及失眠诸症而无胆道器质性病变,热结阳明证患者术后见右上腹胀痛、恶心、纳差、低热及肝下实质性包块。李志宏^[4]搜集了300例PCS患者的临床资料,辨证分为气滞型105例,多见于胆总管炎性狭窄患者,症见胁肋胀痛或窜痛,胸脘胀满,得矢气则胀减,善叹息,纳呆或呃逆暖气,心烦易怒,舌淡苔白,脉弦;湿热型89例,多见于肝内胆管结石,胆总管探查取石, T型管引流,胆囊造瘘术及残余结石者,症见胁肋疼痛,呕恶,口苦,纳呆,便干或稀,头重身重,胸闷或伴有黄疸,尿黄,舌苔白腻或黄腻,脉濡数;脾虚型70例,多见于胆囊术后体质差,食欲不振及消化不良者,症见精神倦怠,乏力,纳差,便溏次多或胃脘胀满不舒,完谷不化,舌苔白,脉弱;阴虚型36例,多见于素体阴虚者,症见胁痛隐隐,口干,便干,尿黄少,五心烦热,头晕失眠,舌质红无苔,脉细数。刘传珍^[5]根据其多年临床经验,将PCS患者分为6型:肝胆湿热型、肝郁气滞型、脾虚胃弱型、寒凝阳衰型、胆扰心神型和血瘀气滞型。肝胆湿热型症见胁肋疼痛,脘腹痞满,口苦尿赤,食少纳呆,肢体困重,舌苔黄厚,脉弦滑数;肝郁气滞型症见

■研究前沿

结石形成、Oddi括约肌功能障碍是现代医学对PCS研究的热点,同时也为中医药治疗本病提供了新的思路。中医药治疗PCS目前仍存在着没有统一的诊断和证型量化指标、疗效判断标准不一等问题,今后有待加强宏观辨证与微观辨病治疗PCS的研究,进一步探讨其论治规律。

■创新盘点

中医药对于PCS病因病机的认识充分体现了中医对于肝、胆、脾、胃、中焦脏象学的理论特色,也贯穿着阴阳五行学说的应用,无论在胆囊手术前与后均有良好的治疗作用,并且强调手术后原先造成结石、息肉生成的病变基础依然存在,如气滞、湿热等,而手术又造成了络损血瘀、脏腑受伤,因此在手术后应及时调治,防治并发症。

心下痞满,脘胁胀痛,口苦暖气,肠鸣漉漉,纳谷呆滞,舌淡红,苔薄黄,脉弦;脾虚胃弱型症见右上腹或上腹部胀痛或隐痛,腹胀纳呆,逐渐消瘦,神疲倦怠,面色萎黄,舌淡苔薄白微腻,脉弦缓;寒凝阳衰型症见少气懒言,巩膜、皮肤色黄黯晦,眼神呆滞,饮食不思,口干不欲饮,腹胀膨隆,明显消瘦,低热,畏寒喜暖,下肢水肿,大便溏薄或溏而难解,尿色深黄,尿少,舌淡无华,脉沉细无力或沉弦细弱;胆扰心神型症见懊恼不宁,头晕目眩,胸满胁痛,心悸不宁,口苦泛酸,心烦易怒,舌红苔白,脉弦数;血瘀气滞型症见肤色黯晦,皮肤瘙痒,右上腹刺痛,纳呆恶心,消瘦,倦怠乏力,饱闷腹胀,便溏尿少,脉弦细。栗喜然^[6]将本病分为气郁湿热、气滞挟湿、气滞血瘀、气郁阴虚4型,气郁湿热型主症为:右上腹胀痛或绞痛,间歇发热,口苦,咽干,呕恶,大便干或溏,苔黄腻,脉弦滑。气滞挟湿型主症为:右上腹隐痛,胸闷不舒,口苦,呕恶,小便微黄,苔薄白,脉弦滑。气滞血瘀型主症为:右肋刺痛,胸闷不舒,面色晦暗,口苦,舌紫暗或有瘀斑,脉弦涩。气郁阴虚型主症为:右上腹疼痛不适,纳差,口干,大便少而干结,舌红苔少,脉弦细。

总体上,PCS在临床常见证型以实证为多,病程较长者常多见虚实夹杂证,各型之间可以相互转化兼夹,如气滞证可兼湿热、血瘀,热邪炽盛可伤阴,阴虚又易致火旺,肝胆气胜可乘犯脾胃,而脾胃虚弱、运化不及又能导致土壅侮木,临证当详辨各证型之间的内在联系,以便在治疗时能掌握好标本主次。

3 治法方药

3.1 辨证施治 李军^[2]对肝郁脾虚证治以抑肝扶脾,方选《景岳全书》二术煎,肝气郁结证治以疏肝理气,方选柴胡疏肝散,肝胃郁热证治以疏肝泄热和胃,方选化肝煎合左金丸,肝胆湿热证治以清肝利湿,方选龙胆泄肝汤,肝阴不足证治以养阴柔肝,方选择一贯煎。李志宏^[4]对气滞型PCS治以疏肝理气止痛,方用柴胡疏肝散加味,药用柴胡、陈皮各10 g,白芍、枳壳、佛手各15 g,香附、郁金、延胡索各12 g,甘草5 g。伴胆管炎症加黄芩12 g,金钱草30 g,虎杖15 g。湿热型治以清热利湿为主,方用大柴胡汤加味,药用柴胡、大黄(后下)、枳实、半夏、厚朴、藿香各10 g,黄芩、白芍各12 g,金钱草、茵陈各10 g,结石未尽者加郁金、鸡内金各10 g,黄疸加虎杖15 g、黄柏10 g,湿重加薏苡仁30 g。脾虚型治以健脾和胃,方用香砂六君子汤加味,药用:木

香、砂仁各6 g,党参15 g,白术、茯苓、陈皮、半夏各10 g,炒山药20 g,炙黄芪30 g,大枣3枚,生姜、炙甘草各5 g;伴消化不良者合保和丸同服,肝郁脾虚者加柴芍六君子汤加味。阴虚型治以滋阴养肝为主,方用一贯煎加味,药用:生地30 g,沙参、麦冬、当归、枸杞、川楝子、延胡索各12 g,枣仁15 g,山楂20 g。栗喜然^[6]对气郁湿热型治以疏肝理气,清热利湿,方药如下:金钱草15 g,金铃子10 g,柴胡10 g,黄芩10 g,木香10 g,沉香6 g(后下),龙胆草15 g,蒲公英15 g。气滞挟湿型治以疏肝理气,化湿利胆,方药如下:柴胡10 g,白芍10 g,佛手15 g,白豆蔻6 g(后下),白术10 g,苡仁15 g,茵陈15 g,金钱草15 g,郁金10 g。气滞血瘀型治以理气化瘀,清肝利胆,方药如下:柴胡10 g,黄芩10 g,丹参10 g,郁金10 g,金钱草10 g,赤芍10 g,延胡索10 g,姜黄10 g,大黄10 g,三七8 g。气郁阴虚型治以理气疏肝,养阴利胆,方药如下:金铃子10 g,沙参15 g,白芍10 g,佛手10 g,女贞子10 g,旱莲草10 g,茵陈10 g,郁金10 g。3.2 专方治疗 在PCS的治疗中,许多医家针对某种特殊证型,采用专方治疗,取得了显著的疗效。如以疏利肝胆为主的方剂:段晓刚等^[7]用柴胡疏肝散加减:柴胡10 g,陈皮10 g,白芍15 g,枳壳8 g,香附10 g,炙甘草6 g,郁金10 g,川芎10 g。右上腹胀痛者加青皮10 g,延胡索10 g;纳差者可加姜半夏10 g,竹茹10 g,麦芽15 g;口干口苦烦躁易怒,舌红苔黄者加栀子10 g;丹皮10 g,黄芩10 g,大黄12 g;倦怠乏力便溏者加党参12 g,炒白术10 g,山药18 g,茯苓10 g。治疗胆囊切除术后综合征42例,结果治愈33例,好转7例,无效2例,总有效率95.24%。王天平^[8]用柴胡舒肝散加味:柴胡10 g,枳实15 g,白芍30 g,甘草6 g,川芎15 g,香附12 g,香橼12 g,佛手12 g,丹参20 g,旋覆花9 g,代赭石10 g,延胡索12 g,金钱草15 g,总有效率达93.3%。张华斋等^[9]采用疏肝化滞汤:鸡内金15 g、茯苓12 g、枳壳10 g、蓬莪术6 g、白芍12 g、苍术12 g、焦三仙12 g、川楝子15 g,急性发作期用汤剂治疗,缓解期用散剂治疗。孙建飞等^[10]用六郁汤加减:苍术8 g,香附10 g,川芎10 g,栀子10 g,陈皮12 g,半夏10 g,茯苓15 g,砂仁8 g,甘草5 g,生姜3片。张兵^[11]运用清胆汤治疗:柴胡、黄芩、金银花、连翘、蒲公英、丹参、生姜、半夏、枳实、大黄、大枣、甘草。刘宝山^[12]自拟疏肝利胆汤治疗:柴胡10 g,白芍10 g,枳实10 g,茵陈10 g,郁金10 g,川楝子5 g,甘草6 g。随症加减:胁痛重者加元胡10 g;胁肋掣痛、心急

烦躁、舌红苔黄者,加丹皮6 g、炒栀子6 g;胁痛、肠鸣腹泻者,去枳实,加白术10 g、茯苓10 g;厌食、腹胀、恶心者,加陈皮10 g、半夏6 g,临床总有效率为84.62%。

以调和肝脾为法的方剂如:鲁礼科等^[13]用逍遥散加减:柴胡、白芍、当归、茯苓、白术。上腹饱胀、疼痛者加延胡索、山楂、田三七、赤芍、香附、厚朴、青皮;食欲不振、消化不良者加神曲、山楂、陈皮、麦芽、鸡内金、连翘;心烦易怒者加黄芩、枳实、百合、郁金、青皮、枣仁、五味子。治疗组总有效率为91.7%。熊翔^[14]自拟疏肝健脾汤:柴胡9 g,陈皮10 g,炒枳壳9 g,乌药9 g,木香6 g,炒白术10 g,茯苓12 g,砂仁6 g,姜半夏9 g,干姜10 g,茵陈10 g,焦三仙各15 g。腹胀较重者加青皮10 g;肠鸣、泄泻明显者加防风9 g,桂枝10 g,茯苓增至15 g。治疗胆囊切除术后胃肠道功能紊乱56例,有效率为100%。吴菊生等^[15]自拟疏肝利胆健脾方:党参15 g,大叶金钱草20-30 g,广郁金20 g,鸡内金15 g,炒白术10 g,茯苓10 g,柴胡12 g,香橼皮6 g,海金沙(包煎)20 g,虎杖10 g,炙甘草6 g。辨证加减:肝郁气滞型加佛手10 g、川楝子10 g;肝胆湿热型加茵陈15 g、黄芩10 g、金银花10 g;肝胆不利、气滞血瘀型加香附10 g、木香10 g、八月札10 g、当归10 g、丹参10 g;肝肾阴虚型加枸杞子10 g、女贞子10 g、旱莲草10 g;痛甚者加延胡索15-20 g。方盛泉等^[16]自拟疏肝利胆和胃方治疗:半夏、柴胡、太子参、枳实、佛手、白蔻仁、黄芩、黄连、吴茱萸、大枣、生姜、茵陈、川楝子、延胡索,随症加减:肝胃不和者予原方;肝胆湿热者加龙胆草、佩兰;脾胃虚弱者去黄芩,加炒山药、白术;瘀血内停者加丹参、五灵脂;肝阴不足者加白芍药,结果治愈21例,有效19例,无效5例,总有效率为88.89%。张练等^[17]以健脾利胆方治疗:黄芪、党参、山药、茯苓、炒扁豆、莲子肉、乌梅、焦山楂各20 g,柴胡、白术、鸡内金各10 g,砂仁、罂粟壳、甘草各6 g,并随症加减。何军明等^[18]以平胃散加味治疗腹腔镜胆囊切除术后腹泻患者:苍术、厚朴、陈皮、甘草、生姜、大枣、茵陈、茯苓、泽泻,总有效率为96.67%。耿少民^[19]以半夏泻心汤治疗:半夏、干姜、黄芩、黄连、党参、大枣、甘草,观察腹胀、上腹烧灼、纳差、右上腹隐痛、腹泻这五个指标改善情况,结果治疗组总有效率明显优于对照组,提示半夏泻心汤治疗PCS具有泻心消痞、补中扶正、调和寒热之功效。宋金凯^[20]以柴胡桂枝干姜汤加减治疗胆

囊术后泄泻患者:柴胡10 g,黄芩10 g,炙甘草3 g,桂枝5 g,干姜5 g,生鸡内金10 g,炒白术12 g,生山药12 g,气郁者加青皮、香附、佛手;食滞加炙鸡内金、麦芽、神曲、枳壳;胃气上逆加茯苓、法半夏,治疗54例,总有效率为85.2%。梁凤凌^[21]以藿朴夏苓汤加减治疗:藿香10 g,厚朴10 g,半夏10 g,茯苓30 g,猪苓10 g,杏仁10 g,白豆蔻10 g,薏苡仁30 g,淡豆豉10 g,泽泻10 g,甘草6 g。体虚者加党参30 g;口苦、苔黄腻者加黄芩15 g,紫苏梗10 g;腹胀加白术15 g,木香10 g,陈皮10 g;腹痛加白芍30 g,丹参15 g;便秘加生地黄30 g,枳实10 g,便溏加葛根30 g,防风10 g;口干少尿者去杏仁、白豆蔻、淡豆豉、猪苓、泽泻。

以通降化瘀为法的方剂如:高丹枫^[22]自拟利胆排石汤:金钱草30-50 g,郁金20 g,鸡内金25 g,海金沙30 g(包煎),虎杖根25 g,黄连6 g,生大黄6-10 g,生黄芪25 g,党参10 g,炒枳壳10 g,青皮、陈皮各10 g,赤芍、白芍各10 g,川牛膝20 g,茯苓12 g。肝郁气滞型加柴胡、川楝子、佛手各10 g;肝胆湿热型加茵陈蒿15 g,黄芩、金银花各10 g;肝胆不和、气滞血瘀型加香附、木香、当归、丹参各10 g;肝肾阴虚型加枸杞、女贞子、旱莲草各10 g;痛甚加延胡索10 g。4 wk为1疗程,2个疗程后评定疗效,治疗40例,总有效率85%。郭吕等^[23]自拟通腑理肠饮:生大黄15 g,芒硝10 g,厚朴10 g,莱菔子10 g,炒枳壳10 g,桃仁10 g,淡黄芩10 g,山楂10 g,火麻仁10 g,大腹皮10 g,法半夏10 g。通过临床观察对照显示,接受腹腔镜胆囊切除术的患者在围手术期用通腑理肠饮能促进其胃肠功能的恢复。郑长才^[24]以大柴胡汤加减治疗:柴胡10 g,黄芩9 g,半夏10 g,大黄6 g,枳实20 g,元胡20 g,焦三仙各15 g,白芍20 g,炙甘草6 g。痛甚者加生蒲黄10 g,并重用元胡至40 g,呃逆、泛酸者加黄连6 g,炒吴茱萸10 g,口干苦、心烦者加丹皮10 g,栀子10 g,竹叶10 g,肠鸣、泄泻者加补骨脂15 g,肉豆蔻15 g,便秘者加火麻仁10 g,郁李仁10 g,每日1剂,水煎2次,早晚分服。余胜利^[25]用膈下逐瘀汤治疗:当归、赤芍、川芎、桃仁、丹皮、五灵脂各10 g,红花6 g,香附、乌药、延胡索、枳壳各10 g,甘草6 g。肠鸣腹泻加白术、茯苓各15 g,米仁30 g;便秘加制大黄25 g,青皮10 g,莱菔子20 g;厌食、厌油腻加炒山楂、炒二芽各30 g;恶心呕吐加半夏、竹茹各10 g,陈皮6 g;心烦口苦加黄连6 g,黄芩15 g,焦山栀10 g;不寐多梦加酸枣仁20 g,夜交藤、龙骨各30 g;心神不宁加炙甘草10 g,淮小麦30 g,大枣10枚。许正国等^[26]用疏肝祛瘀

■应用要点

PCS成因较复杂,病因诊断尚存在一定难度,单纯的对症治疗疗效不佳,而中医药对于本病有着独到的认识和丰富的治疗经验,按照中医理论认识PCS的病因病机,并进行辨证论治,灵活加减用药,能取得显著的临床疗效。

■名词解释

胆囊切除术后综合征:是指手术切除胆囊后原有的症状没有消失,或在此基础上又有新的症状发生的证候群。

排石汤:柴胡10 g、枳实10 g、枳壳10 g、大黄12 g、当归10 g、桃仁6 g、红花6 g、生地黄12 g、茵陈15 g、垂盆草30 g、白芍15 g、赤芍15 g、连翘10 g、金银花10 g、金钱草30 g、海金沙15 g、郁金12 g、甘草6 g,总有效率为92.3%。邵寄民等^[27]自拟清胆镇逆汤:黄连、柴胡各5 g,吴茱萸、制大黄、血竭各3 g,黄芩、半夏、旋复花、木香、枳壳、白术各10 g,白芍、赤芍、茵陈、白及各15 g,代赭石30 g。湿盛加苍术、厚朴;热盛加龙胆草、蒲公英;阴虚加石斛、麦冬;气虚加党参、黄芪;痛甚加五灵脂、延胡索。

3.3 口服配合外治 在PCS的治疗中,一些医家不仅采用中药口服制剂,还同时运用了针灸、灌肠、外敷等外治方法,取得了更好的疗效。栗喜然^[6]在口服中药同时配合针灸,分别取穴胆俞、阳陵泉、期门、太冲、丘墟、足三里等针刺或电针,以疏通经络气血。王其德等^[28]用针刺配合耳穴贴压,让患者取俯卧位,皮肤常规消毒,取膈俞、肝俞、胆俞、脾俞、胃俞,进针40 mm深,三焦俞、肾俞进针65 mm深。针刺时针尖与皮肤呈45°斜对脊柱,快速进针,采用提插捻转法,酸胀得气后,留针30 min。每日针刺1次,10 d为一疗程,休息3-5 d再进行第2疗程,耳压法操作为将耳郭皮肤常规消毒,用王不留行籽贴压于肝、胆、胰、脾、胃、十二指肠、大肠、小肠、神门、交感等耳穴上,两耳交替贴压。每周2次,20 d为一疗程。嘱患者每日按压耳穴数次,至耳郭发热稍感疼痛为止,约3-5 min。胡晓生等^[29]以口服中药配合针灸治疗,中药以疏肝理气、化瘀止痛、和胃降浊为主:柴胡15 g,黄芩12 g,赤芍、白芍各15 g,延胡10 g,大黄10 g,丹皮15 g,当归10 g,姜黄9 g,三七9 g。针灸取穴日月(右)、阳陵泉、丘墟、肝俞(右)、胆俞(右)、期门、膈俞、中脘。随证加减:发热、黄疸、咽干口苦者,加茵陈20 g,栀子15 g,胆草15 g,针刺加曲池、支沟;腹胀满不适、大便不通,加炒莱菔子30 g,厚朴10 g,车前子15 g,生大黄20 g(后下),针刺加用足三里、大肠俞、小肠俞;恶心呕吐明显者,加竹茹10 g,半夏10 g,陈皮10 g,针刺可加用内关、公孙、足三里;泛酸灼热者,加左金丸10 g,仙鹤草10 g,针刺加用天突、膈俞、内关。李万鹏^[30]运用口服中药配合针灸治疗,中药以疏肝利胆汤加减:柴胡10 g、郁金10 g、炒白芍15 g、枳壳10 g、黄芩10 g、丹参15 g、桃仁10 g、元胡10 g、片姜黄10 g、鸡内金10 g、大黄5 g。腹部胀满者加厚朴30 g、大腹皮15 g;大

便不通者加炒莱菔子30 g、生大黄5 g;黄疸、口苦者加茵陈15 g、龙胆草10 g;纳差食少者加炒麦芽20 g、焦山楂15 g;恶心、呕吐者加制半夏10 g、竹茹15 g;全身乏力者加党参10 g、黄芪15 g;发热者柴胡加至30 g。针灸取穴:期门、内关、中脘、肝俞(右)、胆俞(右)、足三里、日月(右)、膈俞,手法为:期门、肝俞、胆俞、日月用泻法,内关、中脘、足三里、膈俞用补法,每日1次,每次30 min。李志英等^[31]在给予患者一般常规治疗的同时加中药大承气汤保留灌肠:大黄15 g,炒莱菔子25 g,桃仁、赤芍、当归各10 g,厚朴、枳实、丹参各12 g,芒硝20 g,结果显示患者术后胃肠功能恢复情况明显优于对照组。刘乔平等^[32]采用中药内服外敷治疗胆囊切除术后胆道动力障碍,内服自拟方如下:柴胡、木香、川厚朴、砂仁、苍术、白芍各15 g,炒枳壳、郁金、蒲公英各20 g,川黄连、制大黄、五灵脂、陈皮各10 g,蒲黄12 g(纱布包煎),生甘草6 g。加水适量浸泡30 min,煮沸15-20 min,滤渣取汁约150 mL,加入沉香末1.5 g混匀待温度适中时服下,每日3次,10 d为一疗程,服药期间忌食油腻、生冷食物。外治方用金叶子、桂花矮陀、掉毛草、基拉木兰、茵陈蒿各50 g,四块瓦、生藤、白芷、香薷各30 g,大树跌打60 g,大树1号40 g,穿破石80 g,对皮肤容易过敏者加紫草30 g。煎煮器具须容积稍大并是广口为佳,用一大块棉纱布将上述药物包裹并结扎好,置入煎煮器具内加水适量浸泡30 min,煮沸20 min,待温度适中时以柔软、吸水性好的毛巾(或其他棉织物)蘸足药液,做手术切口周围局部皮肤湿热敷,每次约30 min,每日3次,10 d为一疗程。结果显示,全组总有效率为100%。

3.4 中西医结合治疗 有些患者在手术后出现了较急较重的并发症,此时常应中西医结合治疗。尹本如等^[33]采用中西医结合治疗胆道术后奥狄括约肌狭窄,治疗方法为术中用胆道探子轻柔、逐渐用力加压撑开,用纤维胆道镜检查,反复冲洗胆道、扩张胆道使附着的脓絮剥离,并用甲硝唑溶液冲洗胆道,术后12-18 h及早拔出胃管,嘱患者进食,及早恢复胃肠及胆道的功能,并予33%硫酸镁溶液口服,中药方药如下:柴胡15 g,黄芩15 g,黄连15 g,茵陈30 g,虎杖15 g,连翘30 g,蒲公英20 g,龙胆草15 g,厚朴15 g,郁金15 g,大黄6 g(后下)。上方煎汁200 mL,分2-3次口服或胃管内注入。观察显示,疗效明显优于单纯的括约肌成形术或胆肠吻合术。赵斌等^[34]采用

中西医结合治疗胆囊切除术后黄疸,西医一般治疗为保肝、抗感染,合理使用肾上腺皮质激素,增强抗炎减轻炎性水肿,重症使用黏膜保护剂,防止应激性溃疡发生,另有5例患者配合手术治疗,中医采用辨证施治:阳黄、湿热并重型方用茵陈四苓汤加减:茵陈30 g,茯苓15 g,白术15 g,泽泻15 g,猪苓15 g,大黄10 g,枳实10 g,金钱草30 g,海金沙30 g,甘草6 g;急黄、热毒炽盛型方用茵陈蒿合黄连解毒汤加减以清热解毒:茵陈30 g,山栀15 g,大黄10 g,黄连10 g,黄芩15 g,金钱草30 g,枳实15 g,甘草6 g,水煎服,每日1剂。手术患者于术后第1天开始服药,水煎服,每日1剂。周德亮等^[35]运用中西医结合治疗腹腔镜胆囊切除术后综合征,根据患者症状轻重,给予抗感染、解痉、对症处理等西医治疗,并予患者口服自拟清胆汤:柴胡、黄芩、枳实、姜半夏、白芍、连翘、金银花、蒲公英、大黄(后下)、芒硝(冲服),伴胆总管小结石者加郁金、金钱草、海金沙,伴黄疸者加茵陈、栀子,结果治疗组总有效率为93%。陈伟^[36]将148例老年胆囊切除术后患者分成2组,治疗组87例,对照组61例,两组患者均采用西医常规治疗:维持水、电解质平衡,补充维生素,合理应用抗生素等,出现肠麻痹后,治疗组同时采用中药经直肠滴入治疗:枳实9 g、大黄10 g、槟榔15 g、旋复花10 g、半夏6 g、木香9 g、苍术10 g、大腹皮10 g、甘草6 g,结果治疗组的总有效率为97.7%,明显优于对照组。魏友松等^[37]采用预防感染和支持疗法为基础治疗,并在此基础上给予自拟中药行气活血方治疗:生大黄、川朴、枳壳各12 g,赤芍20 g,水蛭6 g,丹皮、延胡索各20 g,甘草10 g,随证加减灌肠,观察对手术产生应激性胰岛素抵抗的影响,结果显示干预组在控制血糖等指标方面优于对照组。

3.5 其他 张志明等^[38]运用中蒙医结合治疗,中医以疏肝利胆、行气活血、清利湿热为大法,予方药柴胡15 g、枳壳10 g、木香10 g、当归10 g、赤白芍各10 g、虎杖10 g、金钱草10 g、白术10 g、茯苓10 g、鸡内金10 g、甘草10 g。随症加减:以疼痛为主者加元胡、川楝子;压痛明显者加川芎、丹参;泛酸呕吐者加竹茹、代赭石、生姜;大便秘结者加大黄;脾胃虚弱者去金钱草加党参、山药;纳差腹胀者加麦芽、谷芽;肝内结石者加生鸡内金、威灵仙;瘀血阻滞者加桃仁、红花。蒙医治疗:患者服中药汤剂7例后开始服蒙药成药,早晨空腹服浩道敦10

丸,中午服如希3 g,晚上服苏斯7味散3 g,用敖露盖13味丸3 g做引子送服。以10 d为1疗程,经过1疗程治疗后,治愈39例(62.90%),好转18例(29.03%),无效5例(8.06%),总有效率95.16%。腹腔镜手术为胆囊切除术中的一种,腹腔镜手术时CO₂气腹对患者红细胞免疫功能会造成不同程度的损害,可能会导致腹腔炎症的扩散,不利于患者的早期康复。龚昭等^[39]观察了黄芪注射液对行腹腔镜胆囊切除术患者红细胞免疫功能的影响,他们将即将行胆囊切除术90例患者分成3组,每组30例:黄芪注射液+腹腔镜手术组(A组),腹腔镜手术组(B组),非手术治疗组(C组)。A组:腹腔镜手术前3 d开始采用黄芪注射液20 mL加生理盐水500 mL,每天1次静脉滴注,共7 d;B组:腹腔镜手术组,围手术期内给予500 mL生理盐水静脉滴注,不行中药治疗;C组:非手术治疗组(阴性对照组),结果术后第1天,A、B两组的RRCR(红细胞C3b受体花结率)、RRICR(红细胞免疫复合物花结率)及RTRR(肿瘤红细胞花结率)值与C组比较,差异有显著性($P<0.05$)。后第4天,A、B两组上述指标与本组术后第1天比较,差异有显著性,两组之间比较差异亦有显著性($P<0.05$)。

4 结论

中医药治疗PCS有着广泛的适应证和独特的优势,由于从整体出发,注意到患者在手术前后病变上的一致性与动态变化,能从根本上调整机体阴阳、气血、脏腑功能的平衡,根据不同的临床证候,采用辨证论治,因而疗效更全面持久。我们在临床上发现关于本病部分患者存在一些错误的认识:如认为一旦发现胆囊结石或胆囊息肉就施行手术治疗,既不用考虑是否为手术适应证、亦常常忽视了手术禁忌证;又如认为胆囊切除后所有的问题都已解决,不仅不需要治疗,而且在饮食选择及习惯上亦不需要任何禁忌了,造成手术后病症很快复发甚至加重;还有一些术后患者出现了食后饱胀、大便不调等症状,一味要求进行胃肠道的相关检查,或自服调节胃肠功能的药物,忽略了与胆囊切除手术有关的生理病理变化,以致失治误治。中医药对于PCS病因病机的认识充分体现了中医对于肝、胆、脾、胃、中焦脏象学的理论特色,也贯穿着阴阳五行学说的应用,无论在胆囊手术前与后均有良好的治疗作用,并且强调手术后原先造成结石、息肉生成的病变基础依然存在,

同行评价

本文从中医学角度阐述PCS辨证分型、施治,具有一定的临床应用价值,内容详实,条理清晰。

如气滞、湿热等,而手术又造成了络损血瘀、脏腑受伤,因此在手术后应及时调治,防治并发症。现代高科技的诊查手段扩大与加深了中医四诊的外延与内涵,根据血生化检验、消化系内镜、B超、X线等进行微观辨病,可以弥补宏观辨证的不足。结石形成、Oddi括约肌功能障碍是现代医学对PCS研究的热点,同时也为中医药治疗本病提供了新的思路。现代药理研究成果为中医药治疗本病提供了有价值的参考,如研究显示中药大黄能增加胆汁中胆汁酸及胆红素含量,使Oddi括约肌扩张,胆囊收缩,重用大黄可疏通毛细胆管内胆汁的淤积而增加胆管舒缩功能,降低黏稠度,增加胆流,舒张Oddi括约肌。中药大黄、川朴、陈皮具有恢复胃肠动力,增加胆汁酸随肠道内容物排出量。中药大黄、黄芩、蒲公英等对消除Oddi括约肌水肿,促进炎症吸收有很大作用^[33]。另有实验研究证实,针刺阳陵泉、丘墟等穴,可以收缩胆管,促进胆汁分泌,松弛Oddi括约肌^[2]。大量的临床资料已经证实,中医药防治PCS疗效显著,其作用机制与促进胆囊收缩、胆汁分泌,消除局部炎症与水肿等有关。但是我们也注意到,中医药治疗PCS也存在着有待解决的问题,如没有统一的诊断和证型量化指标,疗效判断标准不一,今后应尽快解决好这些问题,加强宏观辨证与微观辨病相结合诊治PCS的研究,进一步探讨其诊治规律,采取综合治疗方法,以期提高治疗PCS的临床疗效,这将使中医药治疗PCS取得突破性进展。

5 参考文献

- Rasić S, Kulenović I, Haracić A, Catović A. Left ventricular hypertrophy and risk factors for its development in uraemic patients. *Bosn J Basic Med Sci* 2004; 4: 34-40
- 李军. 中医辨治胆囊切除术后综合症的思路与方法. *中医杂志* 2007; 48: 1033
- 王晓燕, 王允生. 胆囊切除术后综合症的辨证论治进展. *中国中医急症* 2005; 14: 1111-1112
- 李志宏. 辨证治疗胆囊切除术后综合征300例. *实用中医药杂志* 2007; 23: 506
- 刘传珍. 胆囊术后综合征辨证6法. *河北中医* 2007; 29: 516
- 栗喜然. 中西医结合治疗胆囊切除术后综合征52例. *实用中西医结合临床* 2008; 8: 28
- 段晓刚, 李敏, 黄俊刚, 赵克勤, 杨鹏, 申红伟. 柴胡疏肝散加减治疗胆囊切除术后综合征42例. *现代中医药* 2008; 28: 47
- 王天平. 柴胡舒肝散加味治疗胆囊切除术后胆样疼痛30例. *中医研究* 2007; 20: 19-20
- 张华斋, 刘红, 臧岩. 疏肝化滞汤治疗胆囊切除术后综合征. *包头医学院学报* 2003; 19: 236-237
- 孙建飞, 雷霆, 魏海梁, 陈志国. 六郁汤加减治疗胆囊切除术后综合征55例. *现代中医药* 2009; 29: 42-43
- 张兵. 清胆汤治疗单纯胆囊切除术后综合征42例. *河北中医* 2004; 26: 910
- 刘宝山. 自拟疏肝利胆汤治疗胆囊切除术后综合征疗效观察. *北京中医药* 2009; 28: 550-551
- 鲁礼科, 李准. 逍遥散加减治疗电视腹腔镜下胆囊切除术后综合征24例. *湖南中医杂志* 2005; 21: 51
- 熊翔. 自拟疏肝健脾汤治疗胆囊切除术后胃肠道功能紊乱56例. *中医临床杂志* 2008; 20: 608
- 吴菊生, 王小平, 王珊珊, 张宇. 疏肝利胆健脾方治疗老年人腹腔镜胆囊切除术后综合征疗效观察. *上海中医药杂志* 2006; 40: 33-34
- 方盛泉, 朱生梁, 倪红梅. 疏肝利胆和胃法治疗胆囊切除术后胆道动力障碍45例. *上海中医药杂志* 2005; 39: 22-23
- 张练, 李富强. 健脾利胆方配方颗粒治疗胆囊切除术后腹泻60例疗效观察. *中国中医药信息杂志* 2003; 10: 59
- 何军明, 钟小生, 陈志强. 平胃散加味治疗腹腔镜胆囊切除术后腹泻30例疗效观察. *新中医* 2007; 39: 22
- 耿少民. 胆囊摘除术后应用半夏泻心汤50例. *陕西中医* 2008; 29: 1144-1145
- 宋金凯. 柴胡桂枝干姜汤加减治疗胆囊术后泄泻54例. *江苏中医药* 2004; 25: 23
- 梁凤凌. 藿朴夏苓汤治疗胆囊切除术后综合征45例. *中医杂志* 2009; 50: 531
- 高丹枫. 利胆排石汤治疗胆石术后结石40例临床观察. *中医杂志* 2004; 45: 597
- 郭吕, 顾喜明. 中药对腹腔镜胆囊切除患者胃肠功能恢复的影响. *辽宁中医杂志* 2007; 34: 1729-1730
- 郑长才. 大柴胡汤加减治疗胆囊切除术后综合征疗效观察. *中医药临床杂志* 2009; 21: 302
- 余胜利. 膈下逐瘀汤治疗胆囊切除术后综合征30例. *浙江中西医结合杂志* 2007; 17: 351-352
- 许正国, 刘加升, 张立光, 杜尚峰. 疏肝祛瘀排石汤治疗胆囊切除术后综合征的临床观察. *中国现代医生* 2008; 46: 32-33
- 邵寄民, 邵新宇. 清胆镇逆汤治疗胆囊切除术后胆汁返流性胃炎30例. *辽宁中医杂志* 2003; 30: 987
- 王其德, 王俊锦, 王玲. 针刺配耳穴贴压治疗胆囊结石切除术后复发症168例. *中国针灸杂志* 2005; 25: 210
- 胡晓生, 陈秋霞, 莫伟明, 寇莉, 严正. 中医药治疗腹腔镜胆囊切除术后综合征36例. *时珍国医国药* 2003; 14: 556
- 李万鹏. 疏肝利胆汤配合针灸治疗胆囊切除术后综合征40例. *实用医技杂志* 2005; 12: 3129-3130
- 李志英, 李青. 大承气汤对胆囊切除术后胃肠功能恢复的临床观察. *陕西中医* 2006; 26: 60-61
- 刘乔平, 何玉宁. 中药内服外敷治疗胆囊切除术后胆道动力障碍23例观察. *实用中医药杂志* 2001; 17: 3-4
- 尹本如, 闵锐, 方敏. 中西医结合治疗胆道术后奥狄括约肌狭窄13例. *中国中西医结合外科杂志* 2002; 8: 44
- 赵斌, 刘远, 梁佳勋. 中西医结合治疗胆囊切除术后黄疸18例报告. *中国中西医结合外科杂志* 2002; 8: 354-355
- 周德亮, 廖恒祥, 徐继宗. 中西医结合治疗腹腔镜胆囊切除术后综合征的临床观察. *湖北中医杂志* 2007; 29: 24
- 陈伟. 中药经直肠滴入治疗老年腹腔镜胆囊切除术后肠麻痹的疗效观察. *中国中西医结合杂志* 2007; 27: 86-87
- 魏友松, 高峰, 朱永康. 行气活血方灌肠干预胆囊切除术后应激性胰岛素抵抗的临床观察. *辽宁中医杂志* 2006; 33: 1422
- 张志明, 孔翠英. 中蒙医结合治疗胆囊切除术后综合征62例临床观察. *中国民族医药杂志* 2006; 13: 25-26
- 龚昭, 周程, 胡思安, 阮剑. 黄芪注射液对行腹腔镜胆囊切除术后患者红细胞免疫功能的影响. *中国中西医结合杂志* 2006; 26: 568

硒代甲硫氨酸对胃癌细胞蛋白表达谱的影响

辛林, 朱培谦, 曹家庆, 沈威

辛林, 朱培谦, 曹家庆, 沈威, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

江西省教育厅科学技术研究计划基金资助项目, No. GJJ09082
作者贡献分布: 此课题由辛林设计; 研究过程由辛林操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由辛林提供; 数据分析由辛林完成; 本论文写作由辛林、朱培谦、曹家庆及沈威完成。

通讯作者: 辛林, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市, 江西省南昌大学第二附属医院胃肠外科. xinlindoc@hotmail.com

收稿日期: 2010-02-21 修回日期: 2010-04-28

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Selenomethionine alters the protein expression profile of human gastric carcinoma AGS cells

Lin Xin, Pei-Qian Zhu, Jia-Qing Cao, Wei Shen

Lin Xin, Pei-Qian Zhu, Jia-Qing Cao, Wei Shen, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: the Science and Technology Research Foundation of Jiangxi Provincial Department of Education, No. GJJ09082

Correspondence to: Lin Xin, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. xinlindoc@hotmail.com

Received: 2010-02-21 Revised: 2010-04-28

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To analyze the effects of selenomethionine on the protein expression profile of human gastric carcinoma AGS cells.

METHODS: The effects of selenomethionine on AGS cell apoptosis were determined by Hoechst fluorescent staining and flow cytometry. The effects of selenomethionine on the protein expression profile of AGS cells were analyzed by two-dimensional gel electrophoresis.

RESULTS: Apoptotic bodies were found in many AGS cells cultured for 5 d in medium containing selenomethionine. The proportion of apoptotic cells was significantly higher in AGS cells cultured in medium containing selenomethionine than those cultured in control medium ($53.98\% \pm 9.88\%$ vs $15.76\% \pm 9.03\%$, $P < 0.01$). A

total of 12 differentially expressed proteins were identified by two-dimensional electrophoresis.

CONCLUSION: Selenomethionine can influence the protein expression of gastric carcinoma AGS cells. Differentially expressed proteins may be related to the apoptosis of AGS cells.

Key Words: Selenomethionine; Gastric carcinoma cell; Two-dimensional gel electrophoresis

Xin L, Zhu PQ, Cao JQ, Shen W. Selenomethionine alters the protein expression profile of human gastric carcinoma AGS cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1701-1704

摘要

目的: 分析硒代甲硫氨酸对胃癌AGS细胞蛋白表达谱的影响。

方法: 应用Hoechst荧光染色法及流式细胞术观察硒代甲硫氨酸对胃癌AGS细胞凋亡的影响; 应用双向凝胶电泳技术分析硒代甲硫氨酸对胃癌AGS细胞蛋白表达的影响。

结果: 胃癌AGS细胞在含硒代甲硫氨酸培养液中培养5 d后, 部分细胞的细胞核内出现凋亡小体, 含硒代甲硫氨酸培养液中AGS细胞的凋亡率显著高于正常培养液组($53.98\% \pm 9.88\%$ vs $15.76\% \pm 9.03\%$, $P < 0.01$)。双向电泳技术筛选出12个表达差异的蛋白。

结论: 硒代甲硫氨酸可以影响胃癌AGS细胞蛋白的表达。这些差异表达的蛋白可能与胃癌细胞凋亡有关。

关键词: 硒代甲硫氨酸; 胃癌细胞; 双向凝胶电泳

辛林, 朱培谦, 曹家庆, 沈威. 硒代甲硫氨酸对胃癌细胞蛋白表达谱的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18(16): 1701-1704
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1701.asp>

0 引言

硒是人体所必需的一种微量元素, 硒代甲硫氨酸是一种含硒的有机化合物, 有研究表明硒代

■背景资料

硒是人体所必需的一种微量元素, 硒代甲硫氨酸是一种含硒的有机化合物, 有研究表明硒代甲硫氨酸具有抑制肿瘤生长的作用。以往的研究虽然揭示了一些硒代甲硫氨酸抑制肿瘤细胞生长的分子机制, 但是这些研究多数是针对肿瘤细胞信号传导途径中某个或某几个基因。硒代甲硫氨酸抑制肿瘤细胞生长的分子机制尚未阐明。

■同行评议者

肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

■研发前沿

目前营养素在肿瘤治疗方面的研究逐步受到重视。硒与癌的关系是微量元素硒研究中最关注的领域之一。营养素对肿瘤影响的作用机制,特别是分子机制目前成为亟待研究的热点。

甲硫氨酸具有抑制肿瘤生长的作用,由于其毒性较低,并且与其他抗肿瘤药物存在协同作用,有望成为一种有效的化疗药物增敏剂^[1]。以往的研究虽然揭示了一些硒代甲硫氨酸抑制肿瘤细胞生长的分子机制,但是这些研究多数是针对肿瘤细胞信号传导途径中某个或某几个基因^[2,3]。硒代甲硫氨酸抑制肿瘤细胞生长的分子机制远未阐明。本实验拟通过双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)技术直接分析硒代甲硫氨酸诱导胃癌细胞凋亡后蛋白质表达谱的变化,为阐明硒代甲硫氨酸抑制胃癌细胞生长的分子机制提供线索。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株AGS购自中国科学院上海细胞生物研究所; PRMI 1640培养液(Gibco公司); 小牛血清(杭州四季青生物工程公司); 硒代甲硫氨酸、碘乙酰胺、二硫苏糖醇(DTT)、牛血清白蛋白(BSA, Sigma公司); DMSO、尿素、SDS、CHAPS、Tris、甘油、甘氨酸、溴酚蓝、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、过硫酸铵、四甲基乙二胺(TEMED)、低分子质量蛋白(Amresco公司); 固相pH梯度干胶条(pH5-8 17 cm BIO-RAD公司)、IPG Buffer、覆盖液、PMSF; Hoechst 33342染色液(Molecular Probes, 美国); Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit I (Becton Dickinson, 美国); 其余试剂为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 分组: 将AGS细胞分别置于正常的RPMI 1640培养液(对照组)和20 mmol/L含硒代甲硫氨酸的RPMI 1640培养液(实验组)中培养。

1.2.2 Hoechst染色法观测胃癌细胞的形态变化: 将处于对数增殖期的胃癌AGS细胞用PBS洗2次, 以终浓度 1×10^4 /mL接种于铺有盖玻片的六孔板内, 再分别加入上述2种培养液培养5 d。加入Hoechst 33342染色液, 调节染液的终浓度为10 mg/L, 37℃避光孵育10 min。PBS洗涤后, 放在载玻片上用荧光显微镜观察细胞凋亡并摄片。

1.2.3 流式细胞仪检测胃癌细胞的凋亡率: 将处于对数增殖期的胃癌AGS细胞用PBS洗2次, 以终浓度 1×10^4 /mL接种于培养瓶中, 再分别加入上述2种培养液培养5 d。每个样本设置3个复管。分别收集两组胃癌细胞, 将各待测样本中的细胞数调至 $(1-2) \times 10^5$, PBS洗涤离心, 弃上清。同时设3个仪器校正管, 加入与样本待测管等量的相应细胞; 各样本中加入100 μ L结合缓冲液, 混

匀; 然后加入FITC标记的Annexin V和碘化丙啶各5 μ L, 其中第1个仪器校正管不加染液, 第2个仪器校正管加入5 μ L Annexin V, 第3个仪器校正管加入5 μ L PI; 混匀, 室温避光轻摇15 min; 最后加入400 μ L结合缓冲液, 混匀。用FACs Calibur流式细胞仪检测细胞凋亡率, 并用CellQuest软件处理数据。

1.2.4 双向凝胶电泳及银染显色: 分别收集实验组和对照组培养液中连续培养5 d的胃癌AGS细胞并离心, 预冷的PBS洗涤3次后离心收集于1.5 mL EP管, 重悬于100 μ L裂解液中(8 mol/L Urea, 4% CHAPS, 40 mmol/L Tris, 1% DTT, 1 mmol/L PMSF, 0.5% IPG Buffer), 振荡裂解1 h, 4℃、12 000 r/min离心15 min, 取上清, Bradford法测定蛋白质含量。分别取实验组和对照组胃癌AGS细胞120 μ g的总蛋白与水化缓冲液(8 mol/L 尿素、2% CHAPS、25 mmol/L DTT、0.2% Bio-Lyte pH3-10、0.002%溴酚蓝)充分混合, 上样总体积为320 μ L, 选用线性、17 cm、pH5-8的IPG胶条。等电聚焦、平衡、SDS-PAGE电泳、银染^[4]。

1.2.5 图像采集和分析: 银染显色的凝胶经GS-800 calibrated densitometry凝胶图像扫描仪扫描获取凝胶图像后, 用PDQuest7.1软件对图像进行背景消减、斑点检测、匹配、量化。

统计学处理 采用SPSS10.0统计分析软件进行t检验。

2 结果

2.1 胃癌细胞的形态变化 胃癌AGS细胞分别在实验组和对照组培养液中连续培养5 d, Hoechst荧光染色显示: 实验组培养液中大多数胃癌细胞核内均出现高荧光亮度的凋亡小体, 而对照组培养液中多数胃癌细胞胞膜完整, 核染色均匀, 未见凋亡小体(图1)。

2.2 胃癌细胞的凋亡率 胃癌AGS细胞分别在实验组和对照组培养液中培养5 d, 流式细胞仪检测发现, 胃癌AGS细胞在实验组培养液中的凋亡率显著高于对照组培养液组($53.98\% \pm 9.88\%$ vs $15.76\% \pm 9.03\%$, $P < 0.01$, 图2)。

2.3 双向电泳分离蛋白的结果 采用GS-800 calibrated densitometry系统扫描银染的2-D胶, 利用PDQuest软件分析, 在自动点检测、背景消除、均一化处理后, 对照组细胞检测到 $1\,049 \pm 56$ 个蛋白点, 实验组细胞检测到 $1\,011 \pm 45$ 个蛋白点。所有步骤重复3次, 实验组和对照组分别获得3块2D胶。以平均胶为标准, 实验组内3块胶的匹

■相关报道

国外有学者用微阵列技术分析了硒代甲硫氨酸对肿瘤细胞基因表达谱的影响, 发现硒代甲硫氨酸对多种基因的表达均具有调节作用。

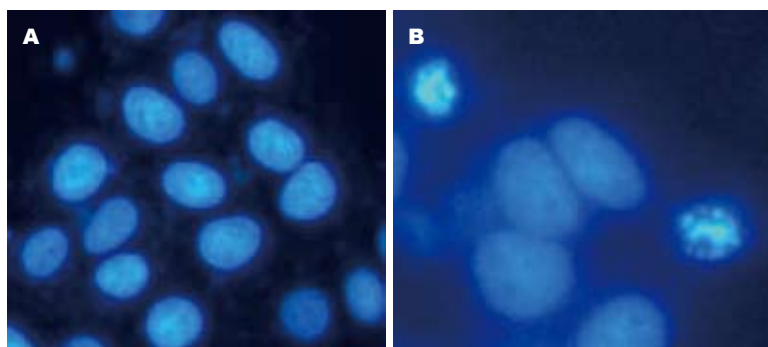


图 1 胃癌AGS细胞的形态变化($\times 200$). A: 对照组; B: 实验组.

■创新盘点

本文采用双向电泳技术分析硒代甲硫氨酸抑制胃癌细胞生长的分子机制, 能够了解硒代甲硫氨酸作用下胃癌细胞蛋白表达的整体变化水平.

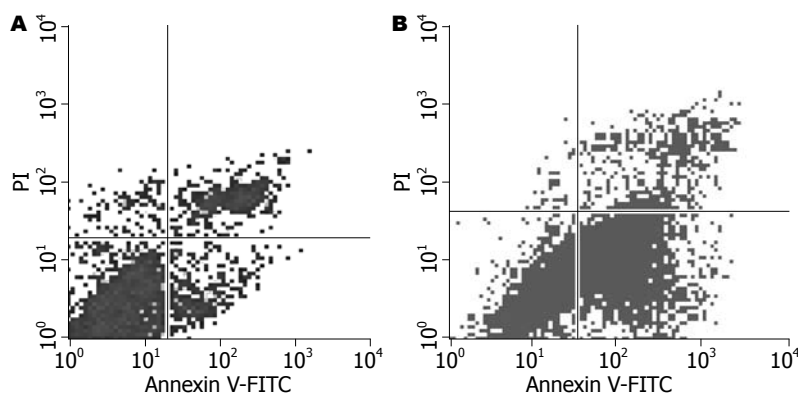


图 2 胃癌AGS细胞的凋亡率. A: 对照组; B: 实验组.

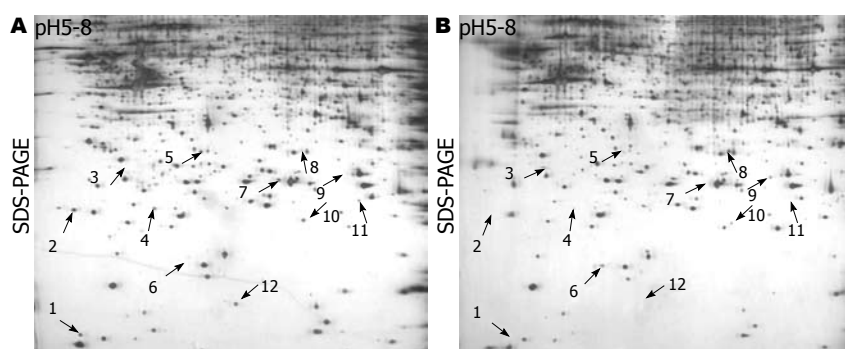


图 3 胃癌AGS细胞双向电泳凝胶图谱. A: 对照组; B: 实验组.

配率是90.5%, 对照组是88.4%, 说明组内各胶的重复性好. 根据蛋白点有或无的判断标准, 应用PDQuest 2-D分析软件, 比较对照组与实验组组AGS细胞双向电泳图谱, 发现12个蛋白点差异特别明显(差异蛋白点用箭头标出, 图3).

3 讨论

近年来, 随着肿瘤流行病学的深入研究和对肿瘤发生机制的进一步探讨, 特别是发现不少食物来源的化合物和食物微量成分可影响肿瘤的发生的发展^[5]. 目前营养与肿瘤关系主要集中在流行病学资料的分析上, 营养素在肿瘤治疗方面的研究尚未受到足够的重视, 营养素对肿瘤影响的作用机制, 特别是分子机制了解不够. 硒与癌的关系是微量元素硒研究中最为关注的领域之一. 食物和补剂中的硒大多以有机物(硒代甲硫氨酸、硒半胱氨酸)和无机物(亚硒酸钠或

硒酸钠)的形式存在, 与硒的无机盐相比, 硒代甲硫氨酸不仅生物学活性高出许多, 而且更容易被吸收, 从尿、粪中丢失得少, 在体内保留时间长, 因此有机硒补剂形式代替无机硒补剂形式是必然趋势^[6-8].

近年来, 硒在肿瘤治疗中的作用及其机制引起人们的重视, 取得了很大进展. 硒抗肿瘤作用机制的研究有不少报道, 目前一般认为其抗癌机制可能为以下几个方面: 通过激活P53、P38信号通路, 诱导肿瘤细胞凋亡^[9]; 通过抑制有丝分裂细胞周期蛋白cyclin B表达和cdc2激酶活性或增加丝氨酸/苏氨酸蛋白质磷酸酶活性来诱导肿瘤细胞细胞凋亡、抑制细胞的生长^[10,11]; 抑制Akt基因的磷酸化诱导癌细胞凋亡^[12]. 国内还有学者报道硒代甲硫氨酸可抑制多药耐药基因编码的糖蛋白的表达, 在一定程度上逆转了肿瘤细胞耐药性^[13]. 但总的来说, 其防癌、抗癌的机

同行评价

本研究选题新颖,设计合理,结果可靠,为阐明有机硒抗癌机制提供了实验依据。

制仍不十分清楚。国外有学者用微阵列技术分析了对甲硫氨酸对肿瘤细胞基因表达谱的影响,发现对甲硫氨酸对多种基因的表达均具有调节作用^[14,15]。本研究应用蛋白质组学的技术研究了硒代甲硫氨酸对胃癌AGS细胞蛋白表达谱的影响。蛋白质组学是继功能基因组学后兴起的学科,其目的是从整体角度分析细胞内动态变化的蛋白质组成成分,了解蛋白质之间的相互作用和相互联系,揭示蛋白质功能和生命活动规律。与以往的研究技术相比,蛋白质组学技术有着无法比拟的优越性。生物体功能的主要体现者或执行者是蛋白质,蛋白质的表达水平、存在方式和相互作用等直接与生物功能相关,因此研究蛋白质能直接达到阐明生命物质功能机制的目的。

目前蛋白质组学研究中蛋白质分离的核心技术仍然是双向凝胶电泳。本研究运用高分辨率的双向电泳技术得到了重复性较好的含硒代甲硫氨酸环境中胃癌细胞蛋白表达图谱,通过对对照组及实验组胃癌细胞蛋白表达图谱的分析,初步筛选出12个差异表达的蛋白质。本实验结果提示硒代甲硫氨酸在诱导胃癌细胞凋亡的同时,细胞中部分蛋白表达发生了明显变化,这些差异表达的蛋白质可能与细胞凋亡有关,通过对这些差异表达的蛋白进一步的分析鉴定,有望找出硒代甲硫氨酸诱导胃癌细胞凋亡的相关蛋白,为探讨硒代甲硫氨酸抑制胃癌细胞生长的分子机制奠定基础。

参考文献

- Zeng H, Combs GF Jr. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *J Nutr Biochem* 2008; 19: 1-7
- Rooprai HK, Kyriazis I, Nuttall RK, Edwards DR, Zicha D, Aubyn D, Davies D, Gullan R, Pilkington GJ. Inhibition of invasion and induction of apoptosis by selenium in human malignant brain tumour cells in vitro. *Int J Oncol* 2007; 30: 1263-1271
- Jülicher S, Goenaga-Infante H, Lister TA, Fitzgibbon J, Joel SP. Chemosensitization of B-cell lymphomas by methylseleninic acid involves nuclear factor-kappaB inhibition and the rapid generation of other selenium species. *Cancer Res* 2007; 67: 10984-10992
- Yan JX, Wait R, Berkelman T, Harry RA, Westbrook JA, Wheeler CH, Dunn MJ. A modified silver staining protocol for visualization of proteins compatible with matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray ionization-mass spectrometry. *Electrophoresis* 2000; 21: 3666-3672
- van den Brandt PA, Goldbohm RA. Nutrition in the prevention of gastrointestinal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 589-603
- Sahin N, Onderci M, Sahin K, Kucuk O. Supplementation with organic or inorganic selenium in heat-distressed quail. *Biol Trace Elem Res* 2008; 122: 229-237
- Fairweather-Tait SJ, Collings R, Hurst R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1484S-1491S
- Ebeid TA. Organic selenium enhances the antioxidative status and quality of cockerel semen under high ambient temperature. *Br Poult Sci* 2009; 50: 641-647
- Rudolf E, Rudolf K, Cervinka M. Selenium activates p53 and p38 pathways and induces caspase-independent cell death in cervical cancer cells. *Cell Biol Toxicol* 2008; 24: 123-141
- Goulet AC, Chigbrow M, Frisk P, Nelson MA. Selenomethionine induces sustained ERK phosphorylation leading to cell-cycle arrest in human colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2005; 26: 109-117
- Celik HA, Kircelli F, Saydam G, Aydin HH. Potential involvement of serine/threonine protein phosphatases in apoptosis of HepG2 cells during selenite treatment. *Biol Trace Elem Res* 2007; 117: 65-75
- Li S, Zhou Y, Wang R, Zhang H, Dong Y, Ip C. Selenium sensitizes MCF-7 breast cancer cells to doxorubicin-induced apoptosis through modulation of phospho-Akt and its downstream substrates. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1031-1038
- 吴清明, 陈滋华, 童强, 李胜保, 王小虎. 硒蛋氨酸对耐顺铂食管癌细胞P-170的影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1179-1182
- Zhao H, Brooks JD. Selenomethionine induced transcriptional programs in human prostate cancer cells. *J Urol* 2007; 177: 743-750
- Goulet AC, Watts G, Lord JL, Nelson MA. Profiling of selenomethionine responsive genes in colon cancer by microarray analysis. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 494-503

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

十二指肠灌注生大黄对SD大鼠胰腺外分泌的影响

陈小燕, 闫峻, 裴继华

陈小燕, 闫峻, 裴继华, 温州医学院附属第二医院消化内科
浙江省温州市 325027

作者贡献分布: 此课题由陈小燕设计; 研究过程由陈小燕、闫峻及裴继华完成; 研究所用试剂及分析工具由陈小燕提供; 数据分析由裴继华与闫峻完成; 本论文写作由陈小燕完成。

通讯作者: 陈小燕, 325027, 浙江省温州市, 温州医学院附属第二医院消化内科. cxy_dr@sina.com

电话: 0577-88879022

收稿日期: 2010-01-15 修回日期: 2010-03-31

接受日期: 2010-04-07 在线出版日期: 2010-06-08

Effect of intraduodenal infusion of rhubarb on pancreatic exocrine secretion in Sprague-Dawley rats

Xiao-Yan Chen, Jun Yan, Ji-Hua Pei

Xiao-Yan Chen, Yan Jun, Ji-Hua Pei, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Xiao-Yan Chen, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China. cxy_dr@sina.com

Received: 2010-01-15 Revised: 2010-03-31

Accepted: 2010-04-07 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To observe the effect of intraduodenal infusion of rhubarb on pancreatic exocrine secretion in Sprague-Dawley (SD) rats.

METHODS: Twenty-four SD rats were randomly and equally divided into two groups: experimental group and control group. After anesthesia, a cannula was inserted into the sphincter of oddi. A segment of small intestine, including the whole duodenum, was isolated between the first intestinal cannula positioned 5 mm from the pylorus and the second intestinal cannula placed at the boundary between the duodenum and jejunum. After a 30-min stabilization period, the combined bile-pancreatic secretions were collected every 15 min for 5 times. The pancreatic fluid volume was measured, and an aliquot was taken and diluted with distilled water for protein determination. The remaining undiluted bile-pancreatic juice was pumped back into the

duodenum during the next collection period. Then intestinal perfusion of 20% intralipid was performed in the experimental group at a speed of 3 mL/h for 2 h, and the combined bile-pancreatic secretions were collected and the pancreatic fluid flow and protein secretion were measured. The control group underwent no intestinal infusion.

RESULTS: After intraduodenal infusion of rhubarb, the volume of combined bile-pancreatic secretions increased by 30.95% and the protein output increased by 5.02% over the baseline levels. In the experimental group, there was a significant increase in the volume of combined bile-pancreatic secretions compared with the normal control group ($P < 0.01$). No significant increase was noted in protein output between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Intraduodenal infusion of rhubarb can increase the volume of combined bile-pancreatic secretions in SD rats but had no significant impact on protein output.

Key Words: Rhubarb; Pancreatic exocrine secretion; Rat

Chen XY, Yan J, Pei JH. Effect of intraduodenal infusion of rhubarb on pancreatic exocrine secretion in Sprague-Dawley rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1705-1707

摘要

目的: 观察十二指肠灌注生大黄对SD大鼠胰腺外分泌的影响。

方法: 取体质量250-300 g SD大鼠24只, 随机分为2组($n = 12$)。麻醉后在大鼠幽门下5 mm和十二指肠、空肠交界处分别置直径2 mm的塑料管并固定; 从十二指肠乳头Oddi括约肌处留置直径0.7 mm的塑料留置管。稳定30 min后, 每隔15 min收集1次胆胰混合液, 测定体积后留取100 μ L胆胰混合液用双蒸水稀释以测定蛋白质含量, 剩余的胆胰混合液在下一收集时间内灌入十二指肠。收集5管基础状态胆胰混合液后实验组以3 mL/h的速度向十二指肠内

■背景资料

生大黄作为重症急性胰腺炎(SAP)综合治疗的重要组成部分, 已得到学者的充分肯定, 但其具体作用机制尚不明确。本研究采用外分泌功能研究大鼠模型直接收集大鼠胆胰混合液测定胆胰混合液的体积、蛋白质含量, 观察十二指肠灌注生大黄对胰腺外分泌功能的影响。

■同行评议者

宛新建, 副教授, 上海市第一人民医院消化内科

■应用要点

在AP患者早期胃管内注入生大黄煎剂,不会增加胰酶的分泌,且生大黄价格低廉,使用方便,无明显不良反应,可作为辅助治疗SAP的理想药物。

灌注生大黄2 h,并收集8管胆胰混合液进行体积和蛋白质测定。对照组不进行十二指肠灌注。

结果:十二指肠灌注生大黄后胆胰混合液体积较基础状态增加30.95%,与对照组比较,差别有统计学意义($P<0.01$);蛋白质分泌量较基础状态增加5.02%,但与对照组比较,其差别无统计学意义($P>0.05$)。

结论:对大鼠进行十二指肠灌注生大黄后单位时间内胆胰混合液分泌的体积增加,但蛋白质分泌量无明显增加。

关键词:生大黄;胰腺外分泌;大鼠

陈小燕, 闫峻, 裴继华. 十二指肠灌注生大黄对SD大鼠胰腺外分泌的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1705-1707
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1705.asp>

0 引言

餐后胰腺外分泌是食物消化吸收过程中的重要组成部分,在蛋白质、脂肪和碳水化合物的消化中起着重要的作用。胰液外分泌分为头期、胃期、肠期,其中以肠期最为重要。生大黄作为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)综合治疗的重要组成部分,已得到学者的充分肯定,但其具体作用机制尚不明确^[1-6]。本研究采用外分泌功能研究大鼠模型直接收集大鼠胆胰混合液测定胆胰混合液的体积、蛋白质含量,观察十二指肠灌注生大黄对胰腺外分泌功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 健康的SD大鼠24只,♂,由温州医学院实验动物中心提供。直径0.7 mm的一次性使用intima-II静脉留置针购于江苏碧迪医疗器械有限公司。BCA试剂盒为PIERCE公司产品。

1.2 方法

1.2.1 分组及大鼠处理:健康♂SD大鼠24只,清洁级,体质量250-300 g,随机分为2组,对照组(假手术组)12只,实验组(生大黄煎液组)12只。实验前大鼠禁食过夜,自由饮水。以2%氯胺酮腹腔麻醉(60-80 mg/kg),建立外分泌功能研究大鼠模型^[7],在大鼠幽门下5 mm和十二指肠、空肠交界处分别置直径2 mm的塑料管并固定;从十二指肠乳头Oddi括约肌处留置直径0.7 mm的塑料留置管。通过红外线烤灯使大鼠肛温维持在37℃左右,实验过程中每30 min追加1次1/3麻醉剂量的氯氨酮。动物稳定30 min后,每隔15 min收集

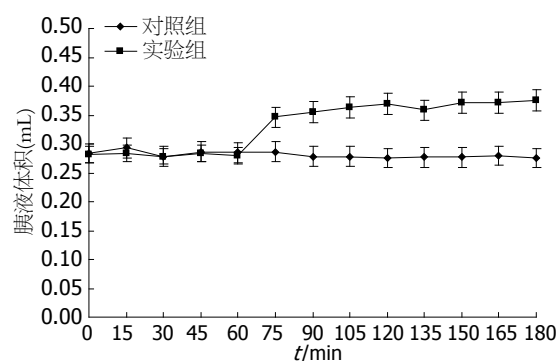


图1 十二指肠灌注生大黄对大鼠单位时间内胆胰混合液分泌体积的影响。

一次胆胰混合液,测定体积后留取100 mL胆胰混合液用双蒸水稀释以测定蛋白含量,其余部分胆胰混合液在下一收集时段内从幽门下留置管内匀速注入十二指肠。收集5管基础状态胆胰混合液后开始以微量注射泵按3 mL/h的速度向十二指肠内灌注0.5 g/mL生大黄煎液2 h,并收集8管灌注后胆胰混合液。对照组除了不进行十二指肠灌注外,其余处理同实验组。

1.2.2 胆胰混合液体积测定:采用微量进样器测定胆胰混合液体积(mL)。

1.2.3 胆胰混合液蛋白测定:采用BCA法。操作流程严格按照BCA蛋白质检测试剂盒说明书进行。

统计学处理 数据以mean±SD表示,采用SPSS16.0统计分析软件分析,采用t检验对各组均数进行显著性检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 十二指肠灌注生大黄对大鼠单位时间内胆胰混合液分泌体积的影响 对照组180 min内单位时间(15 min)分泌的胆胰混合液体积无明显变化,实验组十二指肠内灌注生大黄2 h后单位时间分泌的胆胰混合液体积均值较注射前增加30.95%($P<0.01$)。对照组和实验组在后120 min内胆胰混合液的蛋白分泌量各时间点均值比较,在105、120、150、165、180 min有显著性差别($P<0.05$,图1)。

2.2 十二指肠灌注生大黄对大鼠单位时间内胆胰混合液蛋白分泌量的影响 单位时间的胆胰混合液蛋白分泌量根据单位时间内分泌的胆胰混合液体积乘以同时间段内胆胰混合液的蛋白含量计算,以15 min为一个单位。实验组十二指肠内灌注生大黄后,胆胰混合液蛋白分泌量均值较注射前增加5.02%($P>0.05$)。对照组和实验组在后120 min内胆胰混合液的蛋白分泌量各时间

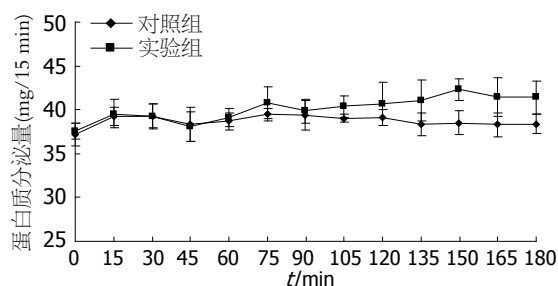


图2 十二指肠灌注生大黄对大鼠单位时间内胆胰混合液蛋白质分泌量的影响。

点均值比较, 胆胰混合液蛋白分泌量无明显差异($P>0.05$, 图2)。

3 讨论

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症之一, 胰酶对胰腺组织的自身消化是导致AP发病的重要因素, 是指多种病因引起的胰酶激活, 继以胰腺局部炎症反应为主要特征, 伴或不伴有其他器官功能改变的疾病。分为轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和SAP, 后者病死率达10%^[8]。

中医用于治疗胰腺炎的方剂如大承气汤、大陷胸汤、柴芩承气汤、柴芍承气汤、清胰汤、清胰解毒汤, 基本都含有大黄。中医将大黄对AP的治疗功用归之为通里攻下、清热利胆、活血化瘀。运用大黄等中药用于治疗SAP已成为是我国独有的SAP综合治疗的一重要组成部分。学者研究发现, 生大黄抑制胰酶活性, 抑制巨噬细胞过度激活及中性粒细胞浸润, 减少炎症细胞因子及自由基的释放, 还抑制血管通透性, 松弛Oddi括约肌, 促进胃肠道蠕动, 维护肠管屏障功能, 免除肠菌易位, 可有效改善大鼠急性出血性胰腺炎的严重程度^[9-11]。但对于肠内给予生大黄对胰腺外分泌功能的直接影响很少有人研究。

因大鼠胰液的收集比较困难, 根据文献报道, 非CCK刺激引起的蛋白分泌属胰源性, 并不引起胆汁中蛋白含量的增加, 因此收集胆胰混合液测定蛋白质含量可以很好地反映胰液蛋白质含量的变化, 同时由于未结扎胆管, 使大鼠更

趋于生理状态, 结果更可靠^[12,13]。本研究采用外分泌功能研究大鼠模型直接收集大鼠胆胰混合液测定胆胰混合液的体积、蛋白质含量以直观反映胰腺外分泌功能, 观察十二指肠灌注生大黄对胰腺外分泌功能的影响。结果发现十二指肠灌注生大黄后胆胰混合液体积较基础状态增加, 但蛋白质分泌量无明显增加, 即胰酶分泌无明显增加。因此我们认为, 在AP患者早期胃管内注入生大黄煎剂, 不会增加胰酶的分泌, 且生大黄价格低廉, 使用方便, 无明显不良反应, 可作为辅助治疗SAP的理想药物。

4 参考文献

- 1 周黎明, 万莉红, 李贵星, 王正荣. 大黄素对大鼠急性坏死性胰腺炎的干预作用. 中药药理与临床 2006; 22: 15-16
- 2 幸军, 冯青青, 李春安, 樊拖迎. 善得定和生大黄联合应用治疗重症急性胰腺炎. 中华急诊医学杂志 2004; 13: 468-469
- 3 袁楚明, 陈梦云, 李奕琰, 陈健芳. 早期应用生大黄对重症急性胰腺炎的疗效. 胰腺病学 2007; 7: 31-33
- 4 王刚, 孙备, 孟庆辉, 姜洪池. 早期肠内营养联合生大黄对大鼠急性坏死性胰腺炎肝损伤的影响. 胰腺病学 2007; 7: 104-106
- 5 姚圣华, 朱阳春, 李淑德. 清胰汤及生大黄灌肠治疗重症急性胰腺炎最佳应用时间探讨. 中华胰腺病杂志 2008; 8: 324-325
- 6 盛颖明, 邹晓平, 于成功, 吕瑛, 张丽莉. 中药大黄辅助治疗重症急性胰腺炎的系统评价. 世界华人消化杂志 2010; 18: 730-735
- 7 陈小燕, 李兆申, 屠振兴, 曹晓鹏. 胰腺外分泌功能研究大鼠模型的建立. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1760-1762
- 8 Andersen AM, Novovic S, Ersbøll AK, Hansen MB. Mortality in alcohol and biliary acute pancreatitis. *Pancreas* 2008; 36: 432-434
- 9 巫协宁. 重症胰腺炎的规范化治疗和治疗策略. 中华消化杂志 2001; 21: 300-302
- 10 刘晓红, 赵雪卿, 钱家鸣. 大黄对大鼠急性出血性胰腺炎的影响. 中华消化杂志 2004; 24: 14-17
- 11 王刚, 孙备, 姜洪池, 许军. 早期肠内营养联合大黄治疗重症急性胰腺炎的实验研究. 中华普通外科杂志 2006; 21: 150
- 12 Zhu JX, Zhu XY, Owyang C, Li Y. Intestinal serotonin acts as a paracrine substance to mediate vagal signal transmission evoked by luminal factors in the rat. *J Physiol* 2001; 530: 431-442
- 13 夏青, 李兆申, 屠振兴, 龚燕芳, 满晓华. 大鼠孤束核在五色胺介导的胰腺外分泌中的作用. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2805-2808

同行评价

本文设计比较科学、合理, 研究结果确实可靠, 对指导临床工作具有一定的意义。

编辑 李军亮 电编 何基才

山西省阳泉市表型不一致同胞对的食管癌调查

孙玉琳, 张金强, 毛永红, 韩丽芬, 马玉龙, 林正伟, 周兰萍, 吴旻, 赵晓航

■背景资料

食管癌是中国常见的恶性肿瘤之一, 发病率表现出明显的地区特点。基于高发区的研究显示, 食管癌的遗传度为40%-93%, 表明遗传因素在食管癌的发生过程中具有重要作用。本实验室前期在山西阳泉地区建立了具有近12万调查人群的食管癌中度高发区研究现场, 遗传流行病学调查显示, 该地区的食管癌发病具有明显的家族聚集性, 孟德尔常染色体隐性主基因遗传模式最有可能, 而吸烟、饮酒、吃酸菜和烫食等生活习惯均不明显提高遗传模型的似然值。

孙玉琳, 张金强, 林正伟, 周兰萍, 吴旻, 赵晓航, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院肿瘤研究所 分子肿瘤学国家重点实验室 北京市 100021
毛永红, 韩丽芬, 马玉龙, 山西省阳泉市肿瘤防治研究所 山西省阳泉市 045000
赵晓航, 中国人民解放军海军总医院基础医学研究中心 北京市 100048
国际科技合作与交流专项基金资助项目, No. 2008DFA31130
国家高技术发展计划“863”基金资助项目, No. 2006AA02Z19B
国家自然科学基金资助项目, No. 30721001; No. 30772507
作者贡献分布: 现场调查工作主要由张金强、孙玉琳、韩丽芬、毛永红、马玉龙及周兰萍完成; 数据整理由孙玉琳、张金强及林正伟完成; 数据分析和论文起草由孙玉琳完成; 赵晓航负责课题设计、论文修改和审阅; 吴旻为该食管癌研究现场的创始人。
通讯作者: 赵晓航, 研究员, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 分子肿瘤学国家重点实验室, zhaoxh@cicams.ac.cn
电话: 010-67709015 传真: 010-87778360
收稿日期: 2010-02-01 修回日期: 2010-04-17
接受日期: 2010-04-20 在线出版日期: 2010-06-08

Epidemiological study of risk factors for esophageal cancer in Yangquan Area of Shanxi Province based on discordant sib pairs

Yu-Lin Sun, Jin-Qiang Zhang, Yong-Hong Mao, Li-Fen Han, Yu-Long Ma, Zheng-Wei Lin, Lan-Ping Zhou, Min Wu, Xiao-Hang Zhao

Yu-Lin Sun, Jin-Qiang Zhang, Zheng-Wei Lin, Lan-Ping Zhou, Min Wu, Xiao-Hang Zhao, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China
Yong-Hong Mao, Li-Fen Han, Yu-Long Ma, Yangquan Cancer Prevention and Treatment Institute, Yangquan 045000, Shanxi Province, China
Xiao-Hang Zhao, Center for Basic Medical Sciences, Chinese PLA Navy General Hospital, Beijing 100048, China
Supported by: the International Cooperation Program of China, No. 2008DFA31130; the National High-Tech R & D Program, No. 2006AA02Z19B; and National Natural Science Foundation of China, Nos. 30721001 and 30772507
Correspondence to: Xiao-Hang Zhao, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, 17 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China. zhaoxh@cicams.ac.cn
Received: 2010-02-01 Revised: 2010-04-17
Accepted: 2010-04-20 Published online: 2010-06-08

■同行评议者

田文静, 副教授, 哈尔滨医科大学公共卫生学院

Abstract

AIM: To explore the main environmental risk

factors for esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) based on discordant sib pairs (DSPs) in a moderately high-incidence area, Yangquan City, Shanxi Province, and to provide theoretical evidence for developing effective control and prevention measures in this area.

METHODS: A 1 : 1 matched case-control study was carried out. One hundred and twenty-seven DSPs were recruited from the cancer registration and follow-up system of the local hospital. All ESCC cases and their matched unaffected sibs were subjected to a survey to obtain demographic information along with personal and family history, and lifestyle factors. The McNemar test was used for data analysis.

RESULTS: Compared with matched unaffected sibs, low family income ($OR = 2.00$, 95%CI: 1.14-3.52, $P = 0.0143$), hot food eating and drinking ($OR = 2.56$, 95%CI: 1.44-4.57, $P = 0.0009$) and heavy drinking ($P = 0.0027$) were risk factors for ESCC in the area. These factors play important roles in the development of ESCC, even in cases with a family history of ESCC, and the odds ratios (95%CI) were 2.18 (1.07-4.45), 5.00(1.91-13.06) and infinity, respectively.

CONCLUSION: Besides genetic factors, lack of nutrition, hot food eating and heavy drinking are main risk factors for ESCC in Yangquan City. Prevention and control of ESCC should be intervened at multiple levels, such as genetic factors and lifestyles.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Discordant sib pair; Epidemiology; Risk factor

Sun YL, Zhang JQ, Mao YH, Han LF, Ma YL, Lin ZW, Zhou LP, Wu M, Zhao XH. Epidemiological study of risk factors for esophageal cancer in Yangquan Area of Shanxi Province based on discordant sib pairs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1708-1713

摘要

目的: 分析山西省阳泉市食管癌研究现场的环境暴露危险因素, 为该地区食管癌综合防治提供理论依据。

方法: 建立以医院为基础的食管癌登记和随访体系, 采用1:1配对病例对照研究的方法, 建立了127对信息完善的表型不一致同胞对。对所有研究对象进行面对面的问卷调查, 并通过McNemar检验评价食管癌危险因素。

结果: 家庭收入低($OR = 2.00$, 95%CI: 1.14-3.52, $P = 0.0143$)、食用热烫食物的习惯($OR = 2.56$, 95%CI: 1.44-4.57, $P = 0.0009$)和重度饮酒(OR 无穷大, $P = 0.0027$)是该地区食管癌发病的危险因素。这些生活环境因素对有家族史的表型不一致同胞对的食管癌发病同样具有重要作用, OR (95%CI)值分别为2.18(1.07-4.45)、5.00(1.91-13.06)和无穷大。

结论: 除遗传因素以外, 营养缺乏、吃烫食和重度饮酒是山西省阳泉市食管癌发病的主要危险因素, 提示该地区从遗传因素和生活方式等多层次开展食管癌的综合防治具有重要意义。

关键词: 食管鳞癌; 表型不一致同胞对; 流行病学; 危险因素

孙玉琳, 张金强, 毛永红, 韩丽芬, 马玉龙, 林正伟, 周兰萍, 吴旻, 赵晓航. 山西省阳泉市表型不一致同胞对的食管癌调查. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1708-1713

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1708.asp>

0 引言

食管癌是中国常见的恶性肿瘤之一, 据1991-2000年我国1项169 871人口的死因抽样调查显示, 其发病率排在全部恶性肿瘤的第4位, 年死亡率为31.3/10万(男43.7/10万, 女19.1/10万)^[1]。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是主要的组织学类型。其发病具有明显的地区差异, 以中国北方河北、河南和山西三省交界的太行山麓较为明显。肿瘤是一类遗传和环境共同作用下发生的复杂疾病。基于高发区的研究显示, 食管癌的遗传度为40%-93%, 提示遗传因素在食管癌发生中具有重要作用^[2-6]。在国家“九五”至“十一五”国家高科技发展计划等研究项目资助下, 本实验室和当地医务人员在山西省阳泉地区建立了具有约12万调查人群的食管癌研究现场。十多年来坚持开展遗传流行病学调查, 形成了一个较为完善的高质量食管癌家系遗传样本采集和研究网络。1994-1999年对该地区132 039人口的遗传流行病学调查显示, 该地区食管癌发病率为40.17/10万, 明显高于我国一般人群, 但低于河

南省林州、山西省阳城等高发区^[4,7,8]。该地区的食管癌发病具有明显的家族聚集性, 一级亲属的遗传度是52.6%, 二级亲属的遗传度是31.2%, 一、二级亲属的加权平均遗传度是49.2%。分离比是 0.176 ± 0.033 , 表明食管癌呈现一种多基因遗传或低外显率的主基因遗传模式^[7]。对该地区225个食管癌高危家系中7 701个体的遗传分离分析表明, 可能存在孟德尔常染色体隐性主基因遗传模式的作用, 该主基因影响人群的食管癌易感性。在此模型下, 致病等位基因频率为0.2039, 易感性呈现出明显的性别差异。而吸烟、饮酒、吃酸菜和烫食等生活习惯均不明显提高遗传模型的似然值^[9]。为进一步发现该食管癌研究现场遗传因素以外的食管癌环境暴露因素, 我们于2006-2008年以当地的肿瘤防治研究所为依托, 建立了以医院为基础的食管癌登记和随访体系, 收集了全部有病理学证据支持的ESCC病例, 并入户问卷调查其未受累同胞, 建立了127对信息完善的表型不一致同胞对(discordant sib pairs, DSPs)。本研究旨在探讨他们的生活习惯与食管癌发病风险之间的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究已通过山西省阳泉市肿瘤防治研究所伦理委员会的批准, 对2006-08/2008-11就诊于该所的全部食管癌病例进行登记, 问卷调查其中自愿参加本研究的已确诊ESCC病例及其家族成员, 建立了127对信息完善的DSPs。DSPs的入组标准主要包括: (1)食管癌患者必须经手术切除或内镜活检标本的组织病理学确诊为ESCC; (2)ESCC患者至少有一位存活的未受累同胞愿意参加本研究; (3)患者及其健康同胞均能够以面对面的方式对本人进行问卷调查, 并书面签署知情同意书。由统一培训的调查员, 使用标准的调查表对入组的DSPs进行问卷调查, 内容包括一般人口学资料、详细的家族史、既往病史, 以及日常饮用水类型、吸烟、饮酒、饮茶、吃烫食和酸菜等生活习惯。最终, 有127对DSPs入选, 包括80对有上消化道癌家族史的DSPs和47对散发性食管癌DSPs。其中, 上消化道癌家族史的定义是: 先证者本人为ESCC, 其一级亲属(父母、同胞及子女)中至少1人为食管癌、贲门癌或胃癌受累者。

1.2 方法 调查问卷中涉及生活习惯等行为危险因素的问题, 其中吸烟定义为在过去的生活中吸食旱烟(烟叶)超过100次或吸纸烟超过100支;

■研究前沿

国内外的流行病学研究均显示, 食管癌是在遗传和环境等多种因素共同作用下发生发展的复杂疾病, 但环境因素在像中国山西这样的中度高发地区还没有明确的证据。

■相关报道

近年来的流行病学研究显示,在低发区的欧洲和北美,吸烟和饮酒是ESCC的主要危险因素。此外,营养缺乏、由过硬食物或过热的液体或快速进食引起的食管物理损伤、环境或饮食中的亚硝酸盐、多环芳烃等都被证明和ESCC相关。

表 1 127对DSPs的一般情况 $n(\%)$

	全部		有家族史DSPs		散发性DSPs	
	ESCC病例	未受累同胞	ESCC病例	未受累同胞	ESCC病例	未受累同胞
年龄(岁)	60.0±7.8	58.7±10.3	60.9±7.7	60.0±9.7	58.6±7.8	56.4±11.1
性别						
男	72(56.7)	67(52.8)	46(57.5)	40(50.0)	26(55.3)	27(57.7)
女	55(43.3)	60(47.2)	34(42.5)	40(50.0)	21(44.7)	20(42.6)
文化程度						
文盲	11(8.7)	21(16.5)	8(10.0)	11(13.8)	3(6.4)	10(21.3)
小学	66(52.0)	62(48.8)	38(47.5)	44(55.0)	28(59.6)	18(38.3)
初中	40(31.5)	38(29.9)	26(32.5)	21(26.3)	14(29.8)	17(36.2)
高中及以上	10(7.9)	6(4.7)	8(10.0)	4(5.0)	2(4.3)	2(4.3)
家庭平均月收入(元)						
<1 000	54(42.5)	36(28.4)	32(40.0)	19(23.8)	22(46.8)	17(36.2)
≥1 000	73(57.5)	91(71.7)	48(60.0)	61(76.3)	25(53.2)	30(63.8)
吸烟						
不吸-轻中度	63(49.6)	62(48.8)	36(45.0)	38(47.5)	27(57.4)	24(51.1)
重度	100(78.7)	99(78.0)	64(80.0)	61(72.3)	36(76.6)	38(80.9)
重度	27(21.3)	28(22.0)	16(20.0)	19(23.8)	11(23.4)	9(19.1)
饮酒						
啤酒	7(5.5)	6(4.7)	4(5.0)	4(5.0)	3(6.4)	2(4.3)
葡萄酒	1(0.8)	0(0.0)	1(0.8)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
烈性白酒	15(11.8)	14(11.0)	9(11.3)	9(11.3)	6(12.8)	5(10.6)
不喝-轻中度	117(92.1)	126(99.2)	75(93.8)	79(93.8)	42(89.4)	47(100.0)
重度	10(7.9)	1(0.8)	5(6.3)	1(1.3)	5(10.6)	0(0.0)
饮茶	31(24.4)	26(20.5)	24(30.0)	19(23.8)	7(14.9)	7(14.9)
吃酸菜	110(86.6)	107(84.3)	68(85.0)	67(83.8)	42(89.4)	40(85.1)
吃烫食	80(63.0)	55(43.3)	56(70.0)	36(45.0)	24(51.1)	19(40.4)
饮用水类型						
窖藏雨水	22(17.3)	24(18.9)	14(17.5)	15(18.8)	8(17.0)	9(19.1)
其他	105(82.7)	103(81.1)	66(82.5)	65(81.3)	39(83.0)	38(80.9)

饮酒和饮茶定义为每周至少饮用一次酒精类饮品(包括啤酒、葡萄酒和烈性白酒等)或茶水(包括花茶、绿茶和红茶等)并持续6 mo以上;吃烫食定义为每天或每周多次食用滚烫的流质或半流质食物;吃酸菜定义为每年冬春季节每天或每周多次食用自腌酸菜。为了进一步评价吸烟、饮酒等潜在危险因素的累积暴露效应,本研究还对他们做了分层。其中,轻中度吸烟者定义为吸烟量≤29包×年,重度吸烟者定义为吸烟量≥30包×年(1包以20支纸烟计)^[10,11]。轻中度饮酒者定义为平均每天饮用纯酒精量介于0.1-30 g,重度饮酒者定义为平均每天饮用纯酒精量>30 g^[10]。

统计学处理 由于本研究采用的是1:1配对的病例-对照研究,故而对于年龄等连续变量的比较采用配对 t 检验,对二分类变量使用McNemar Test方法检验他们在DSPs中的差异。统计分析过程经SAS 8.2软件完成。

2 结果

2.1 DSPs的一般情况 2006-10/2008-11共登记144例临床诊断为食管癌的个体,其中经内镜活检或手术切除标本的组织病理学诊断确诊贲门癌2例,ESCC 142例。通过标准的调查表对这些患者及其未受累同胞等家族成员进行调查,共收回调查问卷319份,经筛选共组成127对调查信息完善的DSPs。其中包括80对有上消化系癌家族史的DSPs和47对散发性食管癌DSPs,他们的一般情况分布如表1所示。在127对DSPs中,性别一致的DSPs共84对(66.1%),包括性别同为男性的DSPs 48对,性别同为女性的DSPs 36对;性别不一致的DSPs共43对(34.9%),包括ESCC患者为男性而未受累同胞为女性的DSPs 24对,ESCC患者为女性而未受累同胞为男性的DSPs 19对。无论是针对全部的DSPs,还是有家族史或散发的DSPs,病例组和对照组之间在年龄、性别、文化程度分布方面均无明显差异。

表 2 生活习惯与ESCC之间的相关性分析

	全部DSPs			有家族史DSPs		
	P值	OR	95%CI	P值	OR	95%CI
家庭平均月收入	0.0143	2.00	1.14–3.52	0.0280	2.18	1.07–4.45
吸烟	0.8907	N/A	N/A	0.7237	N/A	N/A
重度吸烟	0.8618	N/A	N/A	0.5127	N/A	N/A
饮酒						
啤酒	0.7389	N/A	N/A	1.0000	N/A	N/A
葡萄酒	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
烈性白酒	0.8348	N/A	N/A	1.0000	N/A	N/A
重度饮酒	0.0027	∞	N/A	0.0455	∞	N/A
饮茶	0.4111	N/A	N/A	0.3359	N/A	N/A
吃酸菜	0.4054	N/A	N/A	0.8185	N/A	N/A
吃烫食	0.0009	2.56	1.44–4.57	0.0003	5.00	1.91–13.06
饮用窖藏雨水	0.6698	N/A	N/A	0.7815	N/A	N/A

N/A表示无法分析或无法获得。

2.2 生活习惯等行为因素与ESCC发病之间的相关性分析 对这些1:1配对的DSPs样本, 通过McNemar Test分析了生活习惯等行为因素与ESCC之间的相关性。如表2所示, 家庭月收入不足1 000元的个体患ESCC的几率为高收入人群的2倍; 经常食用滚烫的流质或半流质食物的个体患ESCC的几率为不常食用者的2.56倍, 而重度饮酒也是ESCC发病的重要危险因素(OR无穷大)。即使对于有家族史的DSPs, 这些因素仍然构成ESCC发病的重要原因, 他们分别将ESCC的患病几率提高2.18倍、5倍和无穷大倍。

3 讨论

目前, 以人群或医院为基础的无关病例对照样本是遗传流行病学研究中分析疾病危险因素常见设计方法之一。这类方法所需样本量少, 通常适合发病率低、潜伏期长的疾病, 具有相对省钱、省力、省时间, 易于组织实施等特点, 但在对照的选择中混杂因素不易控制, 可能存在选择和回忆偏倚。而本研究使用的表型不一致同胞对设计, 由于选择了ESCC患者的未受累同胞作为对照, 因而避免了普通对照由于遗传背景差异造成的人群分层混杂现象。而且, 针对每一入组个体均采用了面对面调查的方式, 最大限度地降低了回忆偏倚。但是, DSPs设计可能存在表型错分和过度匹配的问题, 可以通过严格控制调查过程和增大样本量尽量避免。利用DSPs样本进行食管癌环境危险因素的流行病学分析尚属首次, 可为今后的类似研究提供依据。

近年来, 人们一直关注着食管癌尤其是ESCC的环境暴露因素。流行病学研究显示, 在低发区的欧洲和北美, 吸烟和饮酒是ESCC的主要危险因素, 能够解释大约90%的病例^[12]。此外, 营养缺乏、由过硬食物或过热的液体或快速进食引起的食管物理损伤、环境或饮食中的亚硝酸盐、多环芳烃等都被证明和ESCC相关^[13-17]。但在像中国山西这样的高发地区还没有明确的证据^[18], 而且基于本实验室前期工作的分离分析结果显示, 他们都不是山西阳泉地区食管癌高发的重要危险因素^[9]。这一方面可能源于我们前期的调查研究都是基于户主(食管癌先证者)的问卷调查, 而这对于家中已故年长个体的信息随访难免存在偏移。而且由于过去当地的医疗水平较差, 13.4%的患者仅凭临床症状诊断, 因此有一定的假阳性率。本研究使用的DSPs样本弥补了上述缺陷, 首次明确了山西阳泉食管癌中高发现场的环境危险因素。

我们的研究分析显示, 即使对于有家族史的食管癌来说, 低收入、重度饮酒和吃烫食均是ESCC的重要危险因素。首先, 经济收入直接与生活水平相关。由于山西阳泉地处山区, 当地的粮食作物以玉米为主, 蔬菜、水果等经济作物种植较少, 当地城乡居民的主要食物均依赖购买外地产品。所以月均收入高的家庭有机会食用更多的肉、蛋、蔬菜和水果等。根据世界癌症研究基金会/美国癌症研究所的报告显示, 大量摄取蔬菜和水果是食管癌可能的保护因素^[19]。河南林州高发区的研究结果同样支持上

■应用要点

本研究结果提示, 除了遗传因素以外, 重度饮酒、低生活水平和吃烫食等行为因素同样与山西阳泉食管癌中度高发地区的食管癌发病有关。从遗传因素和生活行为方式等多个层次进行宣传干预, 对推动该地区的食管癌综合防治工作十分重要。

■名词解释

表型不一致同胞对(DSPs):是指由受累个体及其未受累同胞(兄弟姐妹)组成的同胞对,由于其中一个个体患病,另外一个个体未患病,因此称为表型不一致同胞对。

述结论^[20]。其次,饮酒并不是食管癌的危险因素,但是当我们按照每日的饮酒量对研究对象分层分析时发现,重度饮酒(每天的纯酒精摄入量>30 g)会显著增加ESCC的患病风险。这一趋势可以部分解释为什么在以往的高发区流行病学研究中没有发现食管癌与饮酒的明确相关性^[18,20]。以往的多篇基于候选基因的关联分析和近期基于日本人群的ESCC全基因组关联分析都提示,参与酒精代谢的两个主要酶-乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶的基因多态与重度酒精摄入协同促进ESCC的发生发展^[10,21-24]。由于遗传因素在山西阳泉中高发区的食管癌发病中也具有重要作用,我们推测在该地区,饮酒以剂量-效应的方式协同促进食管上皮癌变过程。另外,本研究还提示在山西阳泉食管癌中高发区,吃烫食仍然是一个重要的危险因素,这与国内其他地区的研究结果一致^[16,17,25]。但是遗憾的是,我们的结果并不提示重度吸烟、吃酸菜是食管癌的危险因素,这与国内外其他地区的研究结果不太一致^[16,26,27]。目前大家已经认识到不同的食管癌高发区,由于不同的人群遗传和生活习惯特点而具有不同的环境危险因素^[28]。我们的研究结果可能更多反映了阳泉当地居民的遗传特点和生活习惯。同样,饮茶也不是该地区食管癌的保护因素,这可能与当地居民习惯饮用花茶而非绿茶有关^[29]。但是最近的系统综述表明,即使是绿茶,他是否能降低食管癌发病风险目前尚不确定^[30]。

此外,在现场调查过程中还发现,由于社会经济的发展,交通状况的改善,山西阳泉地区的人员流动性和外出打工人口明显增加,造成传统的入户调查难度增大。而以医院为基础的食管癌登记和随访体系,由于患者的依从性较好,随访率较高,是当前获得新发病例并建立新家系的有效手段。下一阶段,我们将进一步在山西阳泉地区的其他医院中推广该经验,并从遗传因素和生活行为方式等多个层次宣传干预,推动该地区的食管癌综合防治工作。

4 参考文献

- 1 He J, Gu D, Wu X, Reynolds K, Duan X, Yao C, Wang J, Chen CS, Chen J, Wildman RP, Klag MJ, Whelton PK. Major causes of death among men and women in China. *N Engl J Med* 2005; 353: 1124-1134
- 2 贺立绩, 胡楠, 韩小友, 马尚均, 徐昕. 山西阳城县五个乡食管癌遗传度和分离比的估算. *遗传* 1987; 9: 36-38
- 3 韩小友. 山西省食管癌遗传因素研究综合分析. *中国肿瘤* 1999; 8: 112-113
- 4 石丘玲, 徐德忠, 孙长生, 李良寿. 林州市食管癌家族聚集性分析. *中华预防医学杂志* 2000; 34: 269-270
- 5 Liu M, Su M, Tian DP, Zhang GH, Yang HL, Gao

- 6 YX. Heredity, diet and lifestyle as determining risk factors for the esophageal cancer on Nanao Island in Southern China. *Fam Cancer* 2009; 9: 229-238
- 7 Gao Y, Hu N, Han X, Giffen C, Ding T, Goldstein A, Taylor P. Family history of cancer and risk for esophageal and gastric cancer in Shanxi, China. *BMC Cancer* 2009; 9: 269
- 8 李卫东, 王秀琴, 张春林. 山西省阳泉市部分人口食管癌遗传流行病学调查. *中华医学杂志* 1998; 78: 203-206
- 9 贺立绩, 韩小友, 李全胜, 马尚均. 山西阳城县食管癌流行病学研究. *中华流行病学杂志* 1990; 11: 84-87
- 10 Zhang W, Bailey-Wilson JE, Li W, Wang X, Zhang C, Mao X, Liu Z, Zhou C, Wu M. Segregation analysis of esophageal cancer in a moderately high-incidence area of northern China. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 110-119
- 11 Lee CH, Lee JM, Wu DC, Goan YG, Chou SH, Wu IC, Kao EL, Chan TF, Huang MC, Chen PS, Lee CY, Huang CT, Huang HL, Hu CY, Hung YH, Wu MT. Carcinogenetic impact of ADH1B and ALDH2 genes on squamous cell carcinoma risk of the esophagus with regard to the consumption of alcohol, tobacco and betel quid. *Int J Cancer* 2008; 122: 1347-1356
- 12 Doecke J, Zhao ZZ, Pandeya N, Sadeghi S, Stark M, Green AC, Hayward NK, Webb PM, Whiteman DC. Polymorphisms in MGMT and DNA repair genes and the risk of esophageal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2008; 123: 174-180
- 13 Launoy G, Milan CH, Faivre J, Pienkowski P, Milan CI, Gignoux M. Alcohol, tobacco and oesophageal cancer: effects of the duration of consumption, mean intake and current and former consumption. *Br J Cancer* 1997; 75: 1389-1396
- 14 Yang CS. Vitamin nutrition and gastroesophageal cancer. *J Nutr* 2000; 130: 338S-339S
- 15 Ghadirian P, Vobecky J, Vobecky JS. Factors associated with cancer of the oesophagus: an overview. *Cancer Detect Prev* 1988; 11: 225-234
- 16 Yokokawa Y, Ohta S, Hou J, Zhang XL, Li SS, Ping YM, Nakajima T. Ecological study on the risks of esophageal cancer in Ci-Xian, China: the importance of nutritional status and the use of well water. *Int J Cancer* 1999; 83: 620-624
- 17 余红平, 施侣元, 么鸿雁, 徐顺清. 食管癌危险因素的Meta分析. *中国公共卫生* 2003; 19: 763-764
- 18 王茜, 景学安, 李栋. 食管癌危险因素流行病学研究进展. *泰山医学院学报* 2007; 28: 999-1002
- 19 Yang CS. Research on esophageal cancer in China: a review. *Cancer Res* 1980; 40: 2633-2644
- 20 Boffetta P. Biomarkers in cancer epidemiology: an integrative approach. *Carcinogenesis* 2010; 31: 121-126
- 21 Tran GD, Sun XD, Abnet CC, Fan JH, Dawsey SM, Dong ZW, Mark SD, Qiao YL, Taylor PR. Prospective study of risk factors for esophageal and gastric cancers in the Linxian general population trial cohort in China. *Int J Cancer* 2005; 113: 456-463
- 22 Guo YM, Wang Q, Liu YZ, Chen HM, Qi Z, Guo QH. Genetic polymorphisms in cytochrome P4502E1, alcohol and aldehyde dehydrogenases and the risk of esophageal squamous cell carcinoma in Gansu Chinese males. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1444-1449
- 23 Chen YJ, Chen C, Wu DC, Lee CH, Wu CI, Lee JM, Goan YG, Huang SP, Lin CC, Li TC, Chou YP, Wu MT. Interactive effects of lifetime

- alcohol consumption and alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms on esophageal cancer risks. *Int J Cancer* 2006; 119: 2827-2831
- 23 Yokoyama A, Omori T. Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases and risk for esophageal and head and neck cancers. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 111-121
- 24 Cui R, Kamatani Y, Takahashi A, Usami M, Hosono N, Kawaguchi T, Tsunoda T, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Functional variants in ADH1B and ALDH2 coupled with alcohol and smoking synergistically enhance esophageal cancer risk. *Gastroenterology* 2009; 137: 1768-1775
- 25 Dai LP, Wang KJ, Zhang JZ, Song CH, Wang P, Zhang JY. [Population-based case-control family study on risk factors of esophageal cancer in high incidence area] *Zhonghua Yufang Yixue Zazhi* 2009; 43: 597-600
- 26 Islami F, Ren JS, Taylor PR, Kamangar F. Pickled vegetables and the risk of oesophageal cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2009; 101: 1641-1647
- 27 Kaneko K, Murakami Y, Katagiri A, Konishi K, Kubota Y, Muramoto T, Kushima M, Ohtsu A, Imawari M. Does daily alcohol and/or cigarette consumption cause low-grade dysplasia, a precursor of esophageal squamous cell carcinoma? *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 173-179
- 28 Islami F, Kamangar F, Nasrollahzadeh D, Møller H, Boffetta P, Malekzadeh R. Oesophageal cancer in Golestan Province, a high-incidence area in northern Iran - a review. *Eur J Cancer* 2009; 45: 3156-3165
- 29 Gao Y, Hu N, Han X, Giffen C, Ding T, Goldstein AM, Taylor PR. Jasmine tea consumption and upper gastrointestinal cancer in China. *Cancer Causes Control* 2009 Jul 14. [Epub ahead of print]
- 30 Boehm K, Borrelli F, Ernst E, Habacher G, Hung SK, Milazzo S, Horneber M. Green tea (*Camellia sinensis*) for the prevention of cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2009: CD005004

■同行评价

本研究方法的选择与设计严密合理, 具有较高的系统性, 但创新性一般。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志(国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology)》, 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系

张贺军, 崔荣丽, 金 珠

■背景资料

对于胃石的形成原因, 目前认为与胃正常生理结构的改变、胃排空减少及胃酸分泌异常等有关。患者进食富含鞣酸、果胶等物质的食物后, 鞣酸在胃酸作用下与蛋白质结合形成分子较大、不易溶于水的鞣酸蛋白, 鞣酸蛋白与果胶、纤维素等相结合形成植物性胃石, 本组资料中病例的就诊时间集中于秋、冬季, 可能与进食该季节较多见的柿子、山楂等高鞣酸食物有关。

张贺军, 崔荣丽, 金珠, 北京大学第三医院消化科 北京市 100191

作者贡献分布: 此课题由张贺军与金珠设计; 研究过程由张贺军与崔荣丽操作完成; 研究所用分析工具由金珠提供; 数据分析由张贺军与崔荣丽完成; 本论文写作由张贺军完成。

通讯作者: 金珠, 副研究员, 100191, 北京市海淀区花园北路49号, 北京大学第三医院消化科. jin-8993@163.com

收稿日期: 2010-02-09 修回日期: 2010-04-29

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Clinical characteristics of gastric bezoars and relationship between gastric bezoars and *Helicobacter pylori* infection: an analysis of 93 cases

He-Jun Zhang, Rong-Li Cui, Zhu Jin

He-Jun Zhang, Rong-Li Cui, Zhu Jin, Department of Gastroenterology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Correspondence to: Zhu Jin, Department of Gastroenterology, Peking University Third Hospital, 49 North Huayuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China. jin-8993@163.com

Received: 2010-02-09 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To summarize the clinical characteristics of gastric bezoars and to analyze the relationship between gastric bezoars and *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection.

METHODS: The clinical data of 93 patients who were diagnosed to have gastric bezoars by gastroscopy from 2005 to 2009 were retrospectively analyzed, including gastroscopic and pathological features and *H.pylori* infection status.

RESULTS: The detection rate of gastric bezoars was 0.2% (93/41845), and the ratio of male to female was 1 : 1.9. Gastric bezoars were most commonly found in the fundus. The majority of cases of gastric bezoars (81.8%) were complicated with ulcer, and ulcer was most commonly found in the angular incisure. In the mucosa affected by gastric bezoars, intestinal metaplasia

(29.7%, 22/93), mild dysplasia (4.1%, 3/93) and *H.pylori* infection (43.2%) were observed.

CONCLUSION: The incidence of gastric bezoars is low. Gastric bezoars are often complicated with ulcer, especially ulcer in the angular incisure. *H.pylori* infection may play an important role in the development of gastric bezoars and ulcer emergence.

Key Words: Gastric Bezoar; Gastroscopy; *Helicobacter pylori*

Zhang HJ, Cui RL, Jin Z. Clinical characteristics of gastric bezoars and relationship between gastric bezoars and *Helicobacter pylori* infection: an analysis of 93 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1714-1716

摘要

目的: 总结胃石症患者的临床特征, 分析胃石形成的可能原因及幽门螺杆菌的作用。

方法: 收集2005-2009年经内镜检查诊断胃石症患者93例, 对胃石症患者胃黏膜活检标本进行病理学观察并判定幽门螺杆菌感染状况。

结果: 本组资料中胃石症检出率为0.2% (93/41 845), 以女性、中老年患者略多见; 患者就诊时间集中于秋、冬季; 胃石以单发为主且主要位于胃底黏液池中; 81.8%胃石症患者合并发生溃疡, 以角切迹为好发部位; 29.7%的胃石症(22例)胃黏膜存在肠上皮化生, 其中13.6%(3/22)的病例存在轻度异型增生; 43.2%的胃石症患者存在幽门螺杆菌感染。

结论: 胃石症检出率较低; 胃石症患者常伴发溃疡, 尤以角切迹溃疡多见; 幽门螺杆菌感染可能参与胃石的形成及胃石症患者溃疡的形成。

关键词: 胃石; 胃镜; 幽门螺杆菌

张贺军, 崔荣丽, 金珠. 胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18(16): 1714-1716
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1714.asp>

■同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科; 李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

0 引言

胃石是因进食某种物质后在胃内形成的石性团块状物, 临床上胃石症常并发胃溃疡、上消化道出血, 严重者可致胃穿孔和腹膜炎等. 本文旨在通过总结本院近年来93例胃石症患者的临床特征, 分析胃石形成的相关可能因素及其与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)感染的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-01/2009-12在我院行上消化道内镜检查病例41 845例, 其中内镜检查诊断胃石症患者93例.

1.2 方法 常规行上消化道内镜检查, 详细记录内镜下所见. 内镜活检组织固定于40 g/L甲醛溶液, 常规石蜡包埋, 5 μ m连续切片, 分别行苏木素-伊红染色(HE)及Warthin-Starry(WS)染色, 进行组织学评价及判定*H.pylori*感染状况^[1]. 同一病例中任何一块活检黏膜WS染色阳性均判定为*H.pylori*感染.

2 结果

2.1 一般资料 5年间我院胃石症检出率为0.2%(93/41 845), 其中男32例, 女61例, 男女比为1:1.9; 年龄19-83(平均56.7 $\pm$ 15.7)岁, 其中19-30岁者8例, 31-40岁者7例, 41-50岁者12例, 51-60岁者26例, 61-70岁者18例, 71岁以上者22例. 患者就诊时间集中于1-4月份及10-12月份, 其中10月份共检出17例, 11月份检出23例, 12月份、1月份各检出14例, 2月份检出13例, 3月份检出9例, 4月份检出3例. 3.2%的病例(3例)有既往接受上消化道手术史(其中1例为胃大部切除术后毕I式吻合, 1例为胃大部切除术后毕II式吻合, 1例为食管癌术后食管胃吻合).

2.2 内镜下表现 胃石主要位于胃底黏液池中(51.6%, 48/93), 其次位于胃体部(41.9%, 39/93), 4例(4.3%)在十二指肠内见胃石嵌顿, 2例(2.2%)分别在胃底及十二指肠可见胃石. 单发胃石72例, 多发胃石21例, 其中7例(7.5%)病例胃内可见3枚胃石; 最大直径为2-12 cm; 有黄色、黑色、黑绿色、棕褐色等颜色. 内镜下观察绝大多数病例胃黏膜有不同程度的糜烂. 81.8%(76例)的病例合并各种溃疡, 以多发溃疡为主(73.7%, 56/76), 最大直径为0.2-4.5 cm, 以活动期溃疡多见(89.5%, 68/76), 其中胃溃疡67例, 复合性溃疡6例, 十二指肠溃疡2例, 吻合口溃疡1例. 胃溃疡病例中以角切迹合并胃窦溃疡最多见, 占

31.3%(21/67), 其次为单纯性角切迹溃疡(28.4%, 19/67)和单纯性胃窦溃疡(26.9%, 18/67), 单纯性胃体部溃疡仅占6.0%(4例). 复合性溃疡病例中, 以角切迹合并十二指肠溃疡最多见(66.7%, 4/6).

2.3 组织病理学观察 93例胃石症患者中, 74例进行了黏膜活检及病理学检查. 病理结果显示, 溃疡病理均为炎症改变, 但29.7%的病例(22例)胃黏膜存在肠上皮化生, 4.1%的病例(3例)胃黏膜在肠上皮化生的基础上发生轻度异型增生. 74例胃石症患者*H.pylori*感染阳性率为43.2%(32例), 其中轻度感染者11例, 中度感染者13例, 重度感染者8例.

3 讨论

胃石按其组成成分不同可分为植物性、毛发性、药物性和乳酸性4种^[2], 临床上最多见的是植物性胃石. 本组资料中胃石症的检出率为0.2%(93/41845), 与国内外文献^[3,4]报道基本一致.

本资料中胃石症病例中以单发胃石为主77.4%(72/93), 内镜下观察发现胃石症患者中81.8%(76/93)的病例合并发生溃疡, 以角切迹为好发部位, 与文献报道相似^[5,6], 分析其原因可能与胃石机械性损伤、压迫胃黏膜, 刺激胃酸分泌等有关^[7,8]. 此外, 本文中发现43.2%(32/93)的胃石症患者存在*H.pylori*感染, *H.pylori*可引起全胃炎胃窦为主和全胃炎胃体为主两种类型胃炎, 前者常有高胃酸分泌, 发生十二指肠溃疡的危险性增加; 后者胃酸分泌常减少, 胃溃疡的危险性增加^[9]. 故*H.pylori*感染在胃石症患者溃疡发生中可能起一定作用. 胃镜活检病理结果显示29.7%的胃石症(22例)胃黏膜存在肠上皮化生, 其中13.6%(3/22)的病例存在轻度异型增生, 提示胃石症患者胃黏膜存在癌前病变, 有必要加强胃石症患者的胃黏膜活检.

对于胃石的形成原因, 目前认为与胃正常生理结构的改变、胃排空减少及胃酸分泌异常等有关. 患者进食富含鞣酸、果胶等物质的食物后, 鞣酸在胃酸作用下与蛋白质结合形成分子较大、不易溶于水的鞣酸蛋白, 鞣酸蛋白与果胶、纤维素等相结合形成植物性胃石^[10], 本组资料中病例的就诊时间集中于秋、冬季, 可能与进食该季节较多见的柿子、山楂等高鞣酸食物有关. 本组资料中3.2%的病例(3例)有既往接受上消化道手术史, 考虑与胃术后动力低下, 造成胃内容物长期潴留有关^[11]. 本组胃石症患者以女性、中老年患者略多见, 提示可能与该部

■创新盘点

本文报道的胃石症样本数较大(93例), 分析其临床特征更具有真实性; 报道了胃石症病例中幽门螺杆菌感染的情况, 并分析幽门螺杆菌可能通过影响胃运动功能、胃酸分泌等多环节影响胃石的形成.

■同行评价

本文探讨胃石症与幽门螺杆菌感染的关系有一定新意,而且本文样本数较大,有一定的临床价值。

分人群胃肠蠕动功能差有关; 51.6%(48/93)的胃石位于胃底黏液池中,可能与该部位具有接纳储藏食物、分泌胃酸的功能有关。

*H.pylori*感染与胃、十二指肠疾病的发病密切相关,但*H.pylori*感染与胃石形成的关系还未见相关文献报道。本组资料中43.2%的胃石症患者存在*H.pylori*感染,略高于本单位胃镜病理显示慢性胃炎的*H.pylori*感染率34.1%(14 311/42 003)。正如前述,*H.pylori*感染可引起胃酸分泌的异常,从而有助于胃石的形成。多项研究表明*H.pylori*感染是导致胃动力及敏感性异常的原因之一。*H.pylori*感染可引起胃黏膜的慢性炎症,继而可以导致胃感觉和运动的异常^[12]。Corinaldesi等^[13]认为*H.pylori*与胃排空延迟有关; Testoni等^[14]研究则表明*H.pylori*感染不影响胃排空,但是*H.pylori*感染可能与胃的消化运动功能减少有关; Chong等^[15]还发现胃轻瘫的功能性消化不良患者的*H.pylori*感染率明显高于不伴胃轻瘫者。以上研究结果表明*H.pylori*还可能通过影响患者的胃肠运动功能从而有助于胃石的形成。

4 参考文献

- 1 Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-1181
- 2 Lin CS, Tung CF, Peng YC, Chow WK, Chang CS, Hu WH. Successful treatment with a combination of endoscopic injection and irrigation with coca cola for gastric bezoar-induced gastric outlet

- obstruction. *J Chin Med Assoc* 2008; 71: 49-52
- 3 Sechopoulos P, Robotis JF, Rokkas T. Gastric bezoar treated endoscopically with a carbonated beverage: case report. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 662-664
- 4 樊艳华, 张红光, 韩春丽. 胃石的病因及诊治(附28例分析). *中华消化内镜杂志* 1998; 15: 181-182
- 5 白云飞, 晏楠, 陈永伟. 21例胃石症临床及内镜特点分析. *现代消化及介入诊疗* 2008; 13: 221-222
- 6 赵春, 赵东英. 胃石症临床100例分析. *临床荟萃* 1995; 10: 607-608
- 7 杨锦林, 陈加, 郭震. 胃柿石致胃溃疡的成因及治疗. *临床荟萃* 2004; 19: 209
- 8 康丽, 张景成, 王绍金, 王悦友, 田国利, 董来春. 胃石所致机械性溃疡与消化性溃疡的对比分析. *黑龙江医药科学* 2009; 32: 44
- 9 林三仁. *消化内科学高级教程*. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2009: 181
- 10 郑芝田. *胃肠病学*. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 421
- 11 郭世斌, 仲小伟, 冷晶. 胃石的病因及内镜下治疗. *中华消化内镜杂志* 2004; 21: 411-412
- 12 Stanghellini V, Barbara G, de Giorgio R, Tosetti C, Cogliandro R, Cogliandro L, Salvioli B, Corinaldesi R. Review article: *Helicobacter pylori*, mucosal inflammation and symptom perception--new insights into an old hypothesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15 Suppl 1: 28-32
- 13 Corinaldesi R, Stanghellini V, Raiti C, Rea E, Salgemini R, Barbara L. Effect of chronic administration of cisapride on gastric emptying of a solid meal and on dyspeptic symptoms in patients with idiopathic gastroparesis. *Gut* 1987; 28: 300-305
- 14 Testoni PA, Bagnolo F, Colombo E, Bonassi U, Tosi T. The correlation in dyspeptic patients of *Helicobacter pylori* infection with changes in interdigestive gastroduodenal motility patterns but not in gastric emptying. *Helicobacter* 1996; 1: 229-237
- 15 Chong YY, Fock KM. *Helicobacter pylori* status and gastric emptying in patients with non-ulcer dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11 (Suppl 1): A10

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

二甲双胍治疗成年人非酒精性脂肪性肝病的荟萃分析

张智峰, 赵钢, 朱英, 王丽霞, 朱磊

张智峰, 赵钢, 朱英, 王丽霞, 朱磊, 大连医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省大连市 116011

作者贡献分布: 赵钢与张智峰对此文所作贡献均等; 此课题由赵钢与张智峰设计; 研究过程由赵钢、张智峰、朱英、王丽霞及朱磊完成; 本论文写作由张智峰与赵钢完成。

通讯作者: 赵钢, 教授, 116011, 辽宁省大连市西岗区中山路222号, 大连医科大学附属第一医院. zhaogang_59@263.net

电话: 0411-83635963 传真: 0411-83633415

收稿日期: 2010-03-13 修回日期: 2010-05-04

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Efficacy of metformin in the treatment of adult nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis

Zhi-Feng Zhang, Gang Zhao, Ying Zhu, Li-Xia Wang, Lei Zhu

Zhi-Feng Zhang, Gang Zhao, Ying Zhu, Li-Xia Wang, Lei Zhu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Gang Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China. zhaogang_59@263.net

Received: 2010-03-13 Revised: 2010-05-04

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of metformin in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Randomized controlled clinical trials (RCTs) comparing the efficacy of metformin in combination with dietary control and dietary control alone in the treatment of NAFLD were retrieved by searching Medline, Embase, OVID, Cochrane Library, Cinahl, CESJ, ASP, VIP and National Knowledge Infrastructure. Stata 9.0 and Review Manager 5.0.14 were used for meta-analysis.

RESULTS: Nine RCTs were selected for analysis in accordance with inclusion criteria. Compared with dietary control alone, metformin in combination with dietary control decreased serum ALT, AST and GGT significantly, and the weighted mean differences (WMDs) were -12.12

U/L (95%CI: -22.13, -2.12, $P = 0.02$), -11.38 U/L (95%CI: -22.86, 0.11, $P = 0.05$) and -19.91 U/L (95%CI: -37.01, -2.82, $P = 0.02$), respectively. In addition, metformin in combination with dietary control also decreased the homeostasis model assessment of the insulin resistance (HOMA-IR) significantly when compared with dietary control alone, and the WMD was -0.67 (95%CI: -0.80, -0.55, $P < 0.00001$). Metformin in combination with dietary control was not superior to dietary control alone in reducing necro-inflammatory score and fibrosis score, and the standardized mean differences (SMDs) were -0.08 (95%CI: -0.51, 0.35, $P = 0.71$) and -0.32 (95%CI: -0.75, 0.11, $P = 0.14$), respectively.

CONCLUSION: Metformin is effective in decreasing serum ALT, AST and GGT levels and in reducing HOMA-IR in NAFLD patients. Metformin has no significant impact in improving hepatic histology in NAFLD patients.

Key Words: Metformin; Nonalcoholic fatty liver disease; Meta-analysis

Zhang ZF, Zhao G, Zhu Y, Wang LX, Zhu L. Efficacy of metformin in the treatment of adult nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1717-1723

摘要

目的: 评价二甲双胍治疗非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的疗效。

方法: 在Medline、Embase、OVID、Cochrane Library、Cinahl、CESJ、ASP、VIP和CNKI中国期刊全文数据库中检索已发表的关于二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制比较治疗NAFLD的随机对照临床试验。利用Stata 9.0软件和Review Manager 5.0.14软件进行荟萃分析。

结果: 按入选标准, 共纳入9个随机对照临床试验。荟萃分析表明: 与单纯饮食控制相比, 二甲双胍联合饮食控制可以明显降低NAFLD患者的ALT、AST和GGT, WMD值分别为

■背景资料

NAFLD在美国已成为成年人中导致转氨酶升高的常见病因。NAFLD在西方发达国家的发病率可达30%, 随着肥胖人口和糖尿病患者的增加, NAFLD的发病率在西方国家会进一步升高。我国的一项研究表明, NAFLD在我国1 654例健康体检者中的发病率可达37.7%。

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院 消化内科

■ 研究前沿

目前对NAFLD的治疗主要为减轻体质量和改变不良生活习惯,药物治疗的效果存在争议。二甲双胍是近年来研究较多的治疗NAFLD的药物,但各研究的结果并不一致。

-12.12 U/L(95%CI: -22.13, -2.12, $P = 0.02$)、-11.38 U/L(95%CI: -22.86, 0.11, $P = 0.05$)和-19.91 U/L(95%CI: -37.01, -2.82, $P = 0.02$);二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比,可以明显改善NAFLD患者的胰岛素抵抗,使HOMA-IR降低, WMD值为-0.67(95%CI: -0.80, -0.55, $P < 0.00001$);但二甲双胍联合饮食控制对NAFLD患者肝脏组织学的改善作用并不优于单纯饮食控制,并不能明显降低肝脏炎症评分和肝脏纤维化评分, SMD分别为-0.08(95%CI: -0.51, 0.35, $P = 0.71$)和-0.32(95%CI: -0.75, 0.11, $P = 0.14$)。

结论:二甲双胍可以加快NAFLD患者ALT、AST和GGT生化指标的恢复,并可以明显改善胰岛素抵抗,但对NAFLD患者肝脏组织学的改善作用并不明显。

关键词:二甲双胍;非酒精性脂肪性肝病;荟萃分析

张智峰, 赵钢, 朱英, 王丽霞, 朱磊. 二甲双胍治疗成年人非酒精性脂肪性肝病的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1717-1723

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1717.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一组与胰岛素抵抗和肥胖有关的,以肝细胞内脂质过度沉积为主要表现的综合征。NAFLD包括单纯性非酒精性脂肪肝,非酒精性脂肪性肝炎和非酒精性脂肪性肝硬化。NAFLD在美国已成为成年人中导致转氨酶升高的常见病因^[1]。NAFLD在西方发达国家的发病率可达30%^[2],随着肥胖人口和糖尿病患者的增加,NAFLD的发病率在西方国家会进一步升高。我国的一项研究表明,NAFLD在我国1 654例健康体检者中的发病率可达37.7%^[3]。单纯性非酒精性脂肪肝大多呈良性过程,但如果肝细胞内脂质(尤其三酰甘油)含量进一步增加,肝细胞内游离脂肪酸经 β 氧化产生活性氧自由基增多。在氧自由基和其他炎性因子的作用下,单纯性脂肪肝将发展为脂肪性肝炎。脂肪性肝炎如得不到控制,可以进展为肝硬化,甚至肝癌^[4]。虽然人们对NAFLD的发病机制进行了研究,并提出了“二次打击”学说^[5],但NAFLD发生的机制仍有待进一步阐明。目前对NAFLD的治疗主要为减轻体质量和改变不良生活习惯^[6],药物治疗的效果存在争议。二甲双胍是近年来研究较多的治疗NAFLD的药物,但各研究的结果并不一致,

且多数研究的样本量较小。Meta分析可以通过整合小样本研究而得出可靠的结论。本次荟萃分析旨在评价二甲双胍对NAFLD的治疗效果和安全性,为合理选用治疗NAFLD的药物提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 在Medline、EMBase、OVID、Cochrane Library、Cinahl、CESJ、ASP、VIP和CNKI中国期刊全文数据库(1994-2010年)中检索2010-03-09之前已发表的随机对照临床试验研究。英文检索词为: fatty liver, non alcoholic fatty liver disease, steatosis, steatohepatitis, metformin, biguanide。中文检索词为: 脂肪肝, 非酒精性脂肪性肝病, 脂肪性肝炎, 二甲双胍, 甲福明, 甲福生, 格华止, 双胍。并通过阅读综述查找相关文献。手工检索2002-01/2010-02《中国新药杂志》、《中华消化杂志》、《中华肝脏病杂志》、《中华医学杂志》、《中华内科杂志》、《世界华人消化杂志》已发表的关于二甲双胍治疗NAFLD的随机对照临床试验研究。

1.2 方法

1.2.1 资料选择:对所查得的文章进行二次选取。选取标准如下:有关口服二甲双胍治疗NAFLD的随机对照临床试验研究。NAFLD的临床诊断标准为:(1)无饮酒史或饮酒折合乙醇量男性每周<140 g,女性每周<70 g;(2)除外病毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性等可导致脂肪肝的特定疾病;(3)除原发疾病临床表现外,可有乏力、消化不良、肝区隐痛、肝脾肿大等非特异性症状及体征;(4)可有超质量和(或)内脏性肥胖、空腹血糖增高、血脂紊乱、高血压等代谢综合征相关组分;(5)血清转氨酶和 γ -谷氨酰转肽酶水平可有轻至中度增高(<5倍正常值上限),通常以丙氨酸氨基转移酶(ALT)增高为主;(6)肝脏影像学表现符合弥漫性脂肪肝的影像学诊断标准;(7)肝活体组织检查组织学改变符合脂肪性肝病的病理学诊断标准。凡具备以上第1-5项和第6或第7项中任何一项者即可诊断为NAFLD^[7]。非酒精性脂肪性肝炎诊断标准为:(1)具备临床诊断标准1-3项;(2)存在代谢综合征或不明原因性血清ALT水平升高持续4 wk以上^[7];(3)影像学表现符合弥漫性脂肪肝诊断标准;(4)肝脏组织学表现符合脂肪性肝炎诊断标准。凡具备上述第1-3项或第1项和第4项者即可诊断。治疗组为口服二甲双胍联合饮食控制,对照组为单纯饮食控制,且治疗时间至少6 mo。随机对照临床试验研究对象年龄>18岁。研

表 1 9个研究的特点

研究者	样本量	随机方法	盲法	分配隐藏	Jadad评分	治疗组	对照组
Bugianesi等 ^[12]	23	随机数字	非盲法	充分	3	二甲双胍每日2.0 g联合 饮食控制12 mo	单纯饮食控制 12 mo
Krakoff等 ^[13]	2 153	不清楚	双盲	不清楚	4	二甲双胍每日1.7 g联合 饮食控制38.4 mo	单纯饮食控制38.4 mo
Haukeland等 ^[14]	48	计算机随机	双盲	不清楚	5	二甲双胍每日2.5–3.0 g 6 mo	安慰剂6 mo
Uygun等 ^[15]	36	随机数字表法	不清楚	不清楚	3	二甲双胍每日1.7 g联合 饮食控制6 mo	单纯饮食控制6 mo
Garinis等 ^[16]	50	不清楚	不清楚	不清楚	2	二甲双胍每日1.0 g联合 饮食控制6 mo	单纯饮食控制6 mo
窦艳玲等 ^[17]	141	不清楚	不清楚	不清楚	2	二甲双胍每日1.5 g联合 饮食控制6 mo	单纯饮食控制6 mo
赵文芬等 ^[18]	57	不清楚	不清楚	不清楚	2	二甲双胍每日0.75 g联合 饮食控制6 mo	单纯饮食控制6 mo
刘秀玲等 ^[19]	60	不清楚	不清楚	不清楚	2	二甲双胍每日1.5 g联合 饮食控制6 mo	安慰剂6 mo
赵以芳等 ^[20]	76	不清楚	不清楚	不清楚	2	A二甲双胍每日0.75 g联 合饮食控制6 mo B二甲双胍每日1.5 g联合 饮食控制6 mo	单纯饮食控制6 mo

所有研究基线均可比, 退出失访情况均充分。

究应提供入选研究对象的一般情况, 并且治疗组和对照组研究对象的一般情况之间无统计学差异。除外二甲双胍联合其他药物治疗NAFLD的研究, 除外一项研究的重复发表, 对一项研究不同阶段发表的文章选取最近发表的研究结果进行分析。

1.2.2 入选文献的质量评价: 由研究者进行文献质量评价, 应用Cochrane协作网推荐的方法进行评价, 主要内容为: (1)随机分配方法是否合理充分; (2)分配隐藏是否合理充分; (3)盲法是否采用; (4)是否合理描述了失访和退出情况, 是否进行了意向性分析^[8]。同时应用Jadad评分对入选文献进行评分, 1-2分为低质量文章, 3-5分为高质量文章^[9]。

统计学处理 选取各研究的结果进行意向性治疗分析, 因为意向性治疗分析可以最大程度地保持各研究的随机对照性。利用Stata 9.0软件和Review Manager 5.0.14软件对结果进行分析。采用广义倒方差法(generic inverse variance method), 通过加权均差(weight mean difference, WMD)或标准均差(standard mean difference, SMD)进行结局变量比较。对采用相同标准计算的结局变量应用均差(mean difference, MD)

和均差标准误(standard error of mean difference, SEMD)对结局变量进行比较^[10]。对采用不同标准进行计算的结局变量应用标准均差(standard mean difference, SMD)进行结局变量比较^[10]。应用统计量 I^2 对各研究间的异质性进行检验, 如果 $I^2 < 40\%$, 则应用固定效应模型进行分析; 如果 $I^2 > 40\%$, 则采用随机效应模型进行分析。利用Egger等提出的偏倚线性回归方法分析发表偏倚^[11], $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入研究的基本特点 共有9篇研究纳入分析^[12-20]。英文文章5篇, 中文文章4篇。3篇描述了具体的随机方法, 2篇采用随机数字表法^[12,15], 1篇采用计算机随机法^[14], 2篇采用双盲法^[13,14], 9篇描述了基线可比^[12-20], 6篇描述了退出失访情况^[12-17], 5篇对结果进行意向性治疗分析^[12,13,18-20]。Jadad评分为5分的有1篇^[14], 4分的有1篇^[13], 3分的有2篇^[12,15], 2分的有5篇^[16-20], 具体见表1。共包含2 644例NAFLD患者。

2.2 二甲双胍对ALT的影响 7篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比较对ALT影响的具体数据^[13,15-20]。异质性检验 $I^2 =$

■创新盘点

二甲双胍是近年来研究较多的治疗NAFLD的药物, 但各研究的结果并不一致, 且多数研究的样本量较小。Meta分析可以通过整合小样本研究而得出可靠的结论。本次荟萃分析旨在评价二甲双胍对NAFLD的治疗效果和安全性, 为合理选用治疗NAFLD的药物提供依据。

■应用要点

本次荟萃分析表明二甲双胍对改善肝组织炎症有一定的作用,且二甲双胍不良反应并不严重,安全性好,可以作为治疗NAFLD的药物。二甲双胍并未显示出明显的对非酒精性脂肪性肝纤维化的治疗作用,二甲双胍能否用于治疗脂肪肝所致肝纤维化仍有待进一步研究。

表 2 二甲双胍与单纯饮食控制比较对ALT的影响

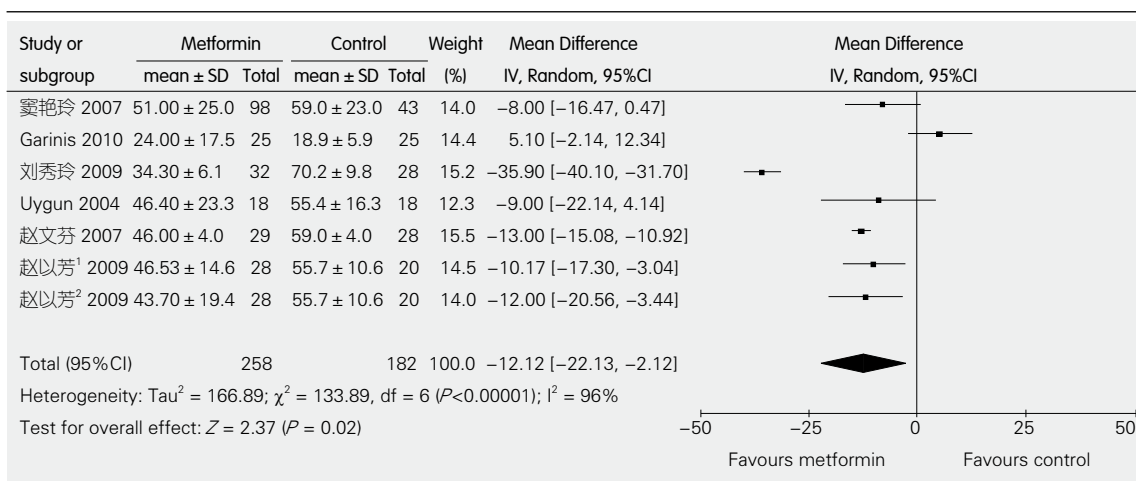
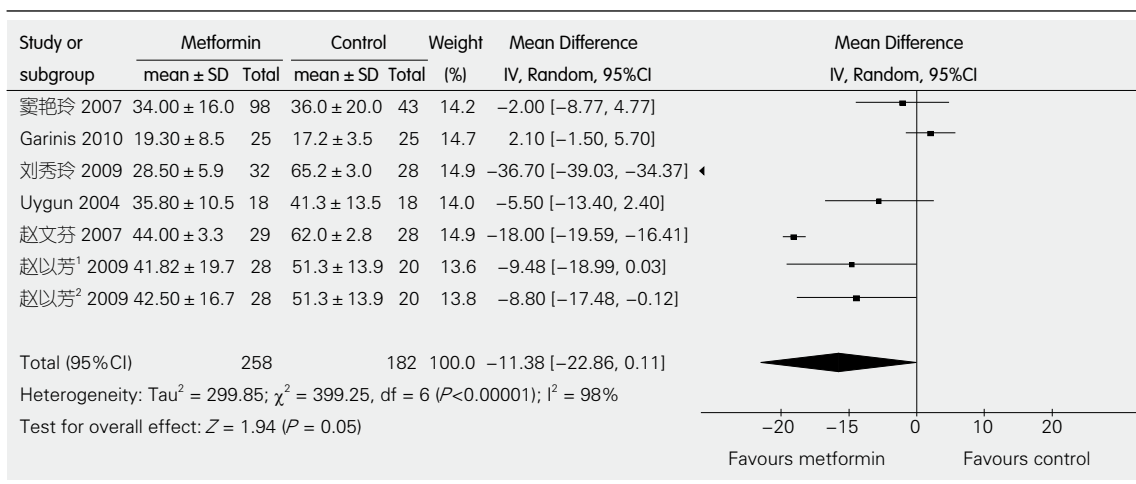


表 3 二甲双胍与单纯饮食控制比较对AST的影响



96%, 表明各研究是异质的, 应用随机效应模型进行分析. 经Egger线性回归检验 P 值为0.141, 表明不存在发表偏倚, WMD值为-12.12 U/L (95%CI: -22.13, -2.12; $P = 0.02$, 表2).

2.3 二甲双胍对AST的影响 6篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比较对AST影响的具体数据^[15-20]. 异质性检验 $I^2 = 98\%$, 表明各研究是异质的, 应用随机效应模型进行分析. 经Egger线性回归检验 P 值为0.23, 表明不存在发表偏倚, WMD值为-11.38 U/L (95%CI: -22.86, 0.11; $P = 0.05$, 表3).

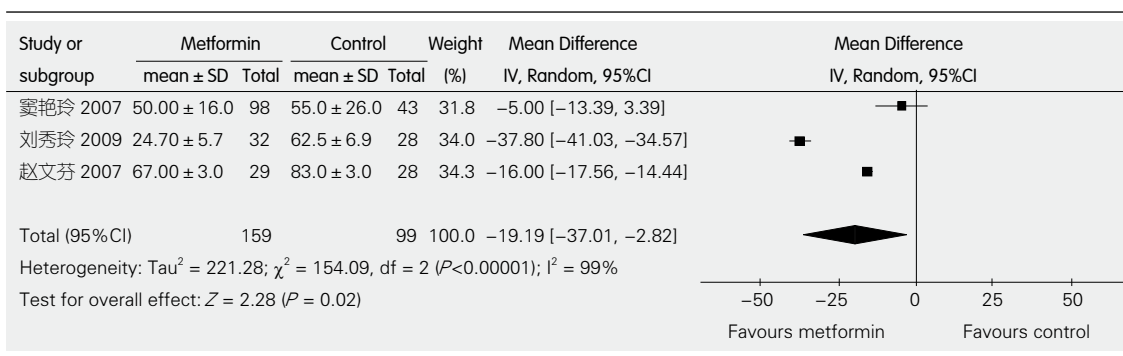
2.4 二甲双胍对GGT的影响 3篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比较对GGT影响的具体数据^[17-19]. 异质性检验 $I^2 = 99\%$, 表明各研究是异质的, 应用随机效应模型进行分析. 经Egger线性回归检验 P 值为0.836, 表明不存在发表偏倚, WMD值为-19.91 U/L (95%CI:

-37.01, -2.82; $P = 0.02$, 表4).

2.5 二甲双胍对胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)的影响 6篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比较对HOMA-IR影响的具体数据^[14-17,19,20]. 异质性检验 $I^2 = 36\%$, 表明各研究是同质的, 应用固定效应模型进行分析. 经Egger线性回归检验 P 值为0.801, 表明不存在发表偏倚, WMD值为-0.67 (95%CI: -0.80, -0.55; $P < 0.00001$, 表5).

2.6 二甲双胍对肝组织炎症评分的影响 2篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比较对肝组织炎症评分影响的具体数据^[14,15]. 各研究采用不同肝组织炎症评分标准对肝组织进行评分, 故采用SMD对肝组织炎症评分进行分析. 异质性检验 $I^2 = 0\%$, 表明各研究是同质的, 应用固定效应模型进行分析. 纳入研究较少, 无法评价发表偏倚, SMD值为-0.08 (95%CI: -0.51,

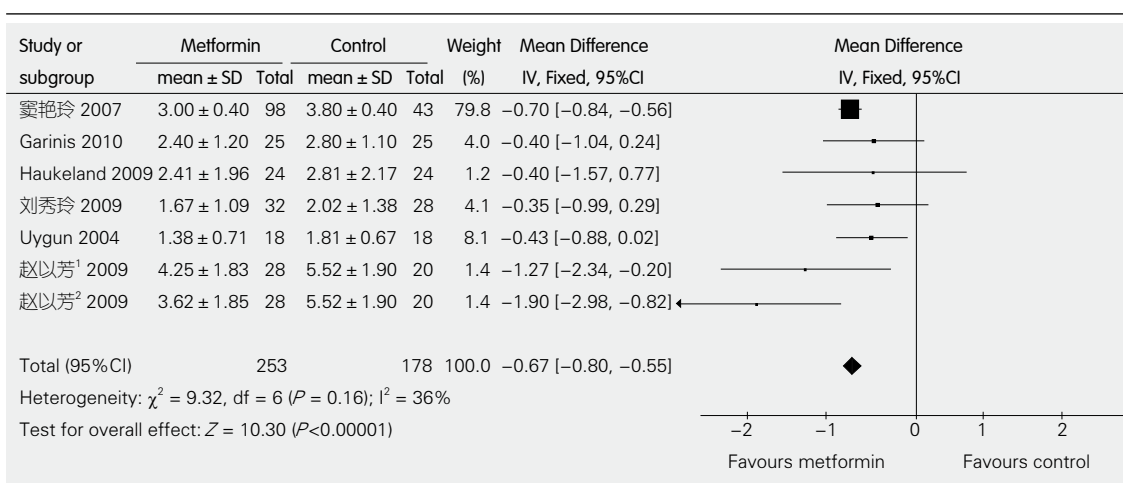
表 4 二甲双胍与单纯饮食控制比较对GGT的影响



■同行评价

本文具有一定创新性, 研究方法得当, 结果结论较可信, 文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国该领域研究的先进水平。

表 5 二甲双胍与单纯饮食控制比较对HOMA-IR的影响



0.35; $P = 0.71$). 3篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制治疗NAFLD治疗前后肝组织炎症评分的具体数据^[12,14,15]. 各研究采用不同肝组织炎症评分标准对肝组织进行评分, 故采用SMD对肝组织炎症评分进行分析. 异质性检验 $I^2 = 88\%$, 表明各研究是异质的, 应用随机效应模型进行分析. 经Egger线性回归检验 P 值为0.985, 表明不存在发表偏倚, SMD值为0.33(95%CI: -0.45, 1.11; $P = 0.41$).

2.7 二甲双胍对肝组织纤维化评分的影响 2篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比较对肝组织纤维化评分影响的具体数据^[14,15]. 各研究采用不同肝组织纤维化评分标准对肝组织进行评分, 故采用SMD对肝组织纤维化评分进行分析. 异质性检验 $I^2 = 0\%$, 表明各研究是同质的, 应用固定效应模型进行分析. 纳入研究较少, 无法评价发表偏倚, SMD值为-0.32(95%CI: -0.75, 0.11; $P = 0.14$). 3篇文章提供了二甲双胍联合饮食控制治疗NAFLD治疗前后肝组织纤维化评分的具体数据^[12,14,15]. 各研究采

用不同肝组织纤维化评分标准对肝组织进行评分, 故采用SMD对肝组织纤维化评分进行分析. 异质性检验 $I^2 = 56\%$, 表明各研究是异质的, 应用随机效应模型进行分析. 经Egger线性回归检验 P 值为0.355, 表明不存在发表偏倚, SMD值为0.27(95%CI: -0.19, 0.73; $P = 0.25$).

2.8 二甲双胍不良反应 4篇文章评价了二甲双胍的不良反应^[12,15,18,19]. 二甲双胍不良反应主要包括: 高乳酸血症、腹胀、腹痛、恶心、反酸和腹泻. 高乳酸血症发生率为1.8%^[12], 腹胀发生率为22.2%^[15], 腹痛发生率为9.4%-11.1%^[15,19], 恶心发生率为13.7%^[18], 反酸发生率为9.4%^[19], 腹泻发生率为9.4%^[19]. 高乳酸血症需降低药物剂量, 其余不良反应均不影响患者继续服用二甲双胍. 二甲双胍在治疗NAFLD的过程中并未发生严重不良反应及危及患者生命的不良事件.

3 讨论

本次荟萃分析表明: 二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比, 可以明显降低NAFLD患者

的ALT、AST和GGT. 二甲双胍联合饮食控制与单纯饮食控制相比, 可以明显改善NAFLD患者的胰岛素抵抗. 表明二甲双胍对NAFLD有一定的治疗作用. 但二甲双胍联合饮食控制对NAFLD患者肝脏组织学的改善作用并不优于单纯饮食控制. 二甲双胍对NAFLD患者肝脏组织学的改善作用仍有待进一步研究. 二甲双胍不良反应主要包括: 高乳酸血症、腹胀、腹痛、恶心、反酸和腹泻. 高乳酸血症需降低药物剂量, 其余不良反应均不影响患者继续服用二甲双胍. 二甲双胍在治疗NAFLD的过程中并未发生严重不良反应及危及患者生命的不良事件. 这表明二甲双胍应用于治疗NAFLD是安全的.

目前认为胰岛素抵抗和脂代谢紊乱是NAFLD发生过程中的第一次打击. 在此基础上发生的氧化应激等成为第二次打击. 二次打击启动了肝组织炎症反应, 造成脂肪性肝炎^[5]. 过氧化物酶体增殖物启动受体(peroxisome proliferators activated receptor, PPAR)在活性氧产生和炎症反应过程中起重要作用. PPAR- α 对NAFLD的炎症反应有抑制作用^[21], 而PPAR- γ 则能促进NAFLD的炎症反应^[22]. 二甲双胍可以增加肝组织中PPAR- α 的表达, 减少肝组织中PPAR- γ 的表达, 从而起到抑制炎症反应的作用^[23]. 二甲双胍可以通过减少肝糖输出, 增加外周组织对葡萄糖利用, 抑制脂肪分解和降低游离脂肪酸浓度降低胰岛素抵抗^[24]. 基于目前对NAFLD的认识, 二甲双胍可以通过影响二次打击而起到治疗NAFLD的作用. 本次荟萃分析表明二甲双胍可改善肝脏的转氨酶水平, 支持二甲双胍可以减轻肝组织炎症的理论. 但二甲双胍对肝组织炎症评分的影响并不明显, 这可能与肝活检取材的随意性造成的选择偏倚有关. 目前肝组织活检虽然被认为是诊断和评价NAFLD的金标准, 但肝脂肪变性在肝组织中的分布并不均一, 这也影响应用肝组织学活检评价肝组织炎症的可靠性. 目前肝组织学评分仍为人为分级评分, 带有一定主观性. 肝组织学评分系统仍有待完善. 这也可以影响应用组织学评分对治疗效果评价的可靠性.

肝纤维化的发生过程主要与肝内星状细胞激活有关. 而转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)和PPAR- γ 对肝内星状细胞激活起重要作用^[25,26], 二甲双胍可以通过减少肝组织中PPAR- γ 的表达及前述抑制炎症反应^[23]减少TGF- $\beta 1$ 的表达达到抗肝纤维化的作

用. 但本次荟萃分析并未显示出二甲双胍的抗纤维化作用. 二甲双胍对肝纤维化的作用仍有待进一步研究.

总之, 本次荟萃分析表明二甲双胍对改善肝组织炎症有一定的作用, 且二甲双胍不良反应并不严重, 安全性好, 可以作为治疗NAFLD的药物. 二甲双胍并未显示出明显的对非酒精性脂肪性肝纤维化的治疗作用, 二甲双胍能否用于治疗脂肪肝所致肝纤维化仍有待进一步研究.

4 参考文献

- 1 Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3010-3014
- 2 Björnsson E, Angulo P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 1023-1030
- 3 向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元. 脂肪肝相关危险因素的评估. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1038-1041
- 4 Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, Rizzetto M. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-140
- 5 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845
- 6 Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB, Ash S, Purdie DM, Clouston AD, Powell EE. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut* 2004; 53: 413-419
- 7 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 161-163
- 8 Richter JE. Oesophageal motility disorders. *Lancet* 2001; 358: 823-828
- 9 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12
- 10 Higgins JPT, Green S, editors. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.0.0 [updated February 2008]. The Cochrane Collaboration, 2008. Available from: www.cochrane-handbook.org
- 11 Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; 315: 629-634
- 12 Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, David E, Rizzetto M, Marchesini G. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1082-1090
- 13 Krakoff J, Clark JM, Crandall JP, Wilson C, Molitch ME, Brancati FL, Edelstein SL, Knowler WC. Effects of Metformin and Weight Loss on Serum Alanine Aminotransferase Activity in the Diabetes Prevention Program. *Obesity* (Silver Spring) 2010

- Feb 25. [Epub ahead of print]
- 14 Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbø HB, von Volkmann HL, Raschpichler G, Bjørø K, Haaland T, Løberg EM, Birkeland K. Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 853-860
- 15 Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, Ozgurtas T, Deveci S, Tuzun A, Yesilova Z, Gulsen M, Dagalp K. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 537-544
- 16 Garinis GA, Fruci B, Mazza A, De Siena M, Abenavoli S, Gulletta E, Ventura V, Greco M, Abenavoli L, Belfiore A. Metformin versus dietary treatment in nonalcoholic hepatic steatosis: a randomized study. *Int J Obes (Lond)* 2010 Feb 23. [Epub ahead of print]
- 17 窦艳玲, 赵洪川. 二甲双胍联合生活方式干预对非酒精性脂肪肝的治疗作用. *中国实用内科杂志* 2007; 27: 523-525
- 18 赵文芬. 二甲双胍治疗非酒精性脂肪肝的临床观察. *山西医药杂志(下半月版)* 2007; 36: 499-500
- 19 刘秀玲, 项岫秀, 李伟娟, 俞芳, 张慧芹, 刘阁玲. 二甲双胍治疗非酒精性脂肪肝临床疗效观察. *中国综合临床* 2009; 25: 378-479
- 20 赵以芳, 刘国祥. 小剂量二甲双胍配合食疗、运动治疗非酒精性脂肪肝的疗效观察. *临床荟萃* 2008; 23: 589-591
- 21 Kallwitz ER, McLachlan A, Cotler SJ. Role of peroxisome proliferators-activated receptors in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 22-28
- 22 Kashireddy PV, Rao MS. Lack of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in mice enhances methionine and choline deficient diet-induced steatohepatitis. *Hepatol Res* 2004; 30: 104-110
- 23 Raso GM, Esposito E, Iacono A, Pacilio M, Cuzzocrea S, Canani RB, Calignano A, Meli R. Comparative therapeutic effects of metformin and vitamin E in a model of non-alcoholic steatohepatitis in the young rat. *Eur J Pharmacol* 2009; 604: 125-131
- 24 Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med* 2002; 137: 25-33
- 25 Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218
- 26 Chen H, He YW, Liu WQ, Zhang JH. Rosiglitazone prevents murine hepatic fibrosis induced by *Schistosoma japonicum*. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2905-2911

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010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 ¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$; 第 3 套为 ³ $P < 0.05$, ⁴ $P < 0.01$. 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, 表内个数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 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 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例

宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田字彬, 张琪

■背景资料

内镜逆行胰胆管造影(ERCP)是广泛用于诊治胆胰疾病的重要手段,但其术后并发症也越来越引起内镜医师的重视。其中,急性胰腺炎是最常见的并发症。如何能有有效的预防ERCP术后高淀粉酶血症、急性胰腺炎的发生是大家关注的焦点。

宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田字彬, 张琪, 青岛大学医学院附属医院消化内科 山东省青岛市 266003

作者贡献分布: 宋丽亚与孔心涓对此文所作贡献均等; 此课题由宋丽亚、赵清喜、孔心涓、田字彬及张琪设计; 研究过程由孔心涓与宋丽亚完成; 数据分析由宋丽亚与孔心涓完成; 本论文写作由孔心涓与宋丽亚完成。

通讯作者: 孔心涓, 副主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化内科。

kongxinjuan2003@163.com

电话: 0532-82911304 传真: 0532-82911111

收稿日期: 2010-02-26 修回日期: 2010-04-23

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-06-08

Efficacy of ENBD in the prevention of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia in patients with common bile duct stones: an analysis of 65 cases

Li-Ya Song, Qing-Xi Zhao, Xin-Juan Kong, Zi-Bin Tian, Qi Zhang

Li-Ya Song, Qing-Xi Zhao, Xin-Juan Kong, Zi-Bin Tian, Qi Zhang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Xin-Juan Kong, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China. kongxinjuan2003@163.com

Received: 2010-02-26 Revised: 2010-04-23

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To investigate the value of endoscopic nasobiliary drainage (ENBD) in the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) pancreatitis and hyperamylasemia in patients with common bile duct stones.

METHODS: The clinical data of 141 patients with common bile duct stones, including 65 undergoing ENBD and 77 undergoing routine treatment, were retrospectively reviewed. The efficacy and complication rate were compared between the two groups.

RESULTS: Serum amylase levels at 2 and 24

h postoperatively were significantly lower in the ENBD group than in the routine treatment group ($67.3 \text{ U/L} \pm 9.1 \text{ U/L}$ vs $98.3 \text{ U/L} \pm 11.2 \text{ U/L}$, $89.5 \text{ U/L} \pm 13.0 \text{ U/L}$ vs $126.2 \text{ U/L} \pm 14.2 \text{ U/L}$, both $P < 0.01$). The incidence of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia was also significantly lower in the ENBD group than in the routine treatment group.

CONCLUSION: ENBD can effectively prevent the occurrence of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia in patients with common bile duct stones.

Key Words: Common bile duct stones; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Endoscopic nasobiliary drainage; Complication; Pancreatitis; Hyperamylasemia

Song LY, Zhao QX, Kong XJ, Tian ZB, Zhang Q. Efficacy of ENBD in the prevention of post-ERCP pancreatitis and hyperamylasemia in patients with common bile duct stones: an analysis of 65 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1724-1727

摘要

目的: 探讨内镜鼻胆管引流术(ENBD)预防胆总管多发结石患者内镜逆行胰胆管造影(ERCP)术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症的价值。

方法: 收集我院胆总管多发结石患者141例(ENBD组65例,常规治疗组77例),比较两组并发症的发生和治疗的情况。

结果: ENBD组和常规治疗组相比,术后2 h及术后24 h的血淀粉酶、术后高淀粉酶血症发生率及ERCP术后急性胰腺炎的发生率均有显著性差异($67.3 \text{ U/L} \pm 9.1 \text{ U/L}$ vs $98.3 \text{ U/L} \pm 11.2 \text{ U/L}$, $89.5 \text{ U/L} \pm 13.0 \text{ U/L}$ vs $126.2 \text{ U/L} \pm 14.2 \text{ U/L}$, 均 $P < 0.01$)。

结论: ENBD可以有效预防胆总管多发结石患者ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症。

关键词: 胆总管多发结石; 内镜逆行胰胆管造影;

■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

内镜鼻胆管引流术; 并发症; 急性胰腺炎; 高淀粉酶血症

宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田宇彬, 张琪. ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1724-1727

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1724.asp>

0 引言

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)经过30多年的不断发展和完善, 已成为诊治胆胰疾病的重要手段之一, 尤其对于胆总管多发结石患者, ERCP已是首选的治疗方法. 但无论是诊断性ERCP还是治疗性ERCP均是有创性技术, 其并发症的发生在一定程度上是难以避免的, 尤其是急性胰腺炎和高淀粉酶血症, 如何预防ERCP术后常见的并发症是临床医师必须面对的问题. 本文探讨了内镜鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD)在预防胆总管多发结石患者ERCP术后急性胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)及高淀粉酶血症(hyperamylasemia)的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2003-01/2009-01青岛大学医学院附属医院诊断胆总管多发结石患者141例, 其中男89例, 女52例, 年龄34-86(平均54)岁. 患者分成ENBD组和常规治疗组, ENBD组65例, 其中行内镜下Oddi括约肌切开(endoscopic sphincterotomy, EST)45例, 术中胰管显影8例, 术后12-24 h行上腹CT检查或经鼻胆管造影无结石残留则拔出鼻胆管. 常规治疗组77例, 其中行EST 40例, 术中胰管显影6例. 两组患者在年龄、性别及ERCP治疗方面无显著性差异. 所有患者术前常规检测血常规及血、尿淀粉酶. 采用Olympus EVIS240型电子内镜系统, 十二指肠镜为TJF(治疗通道4.2 mm)和JF(治疗通道3.7 mm). 治疗UES-20高频电发生器、乳头切开刀、结石碎石器、气囊和探条扩张器等内镜手术器械均为日本Olympus公司产品, 氩气刀为德国爱博产品.

1.2 方法 术前禁食8 h, 术前15 min常规肌内注射山莨菪碱10 mg, 地西洋5-10 mg, 杜冷丁50 mg. 造影剂为30%泛影葡胺, 术中应用心电监护并监测血氧饱和度, 必要时吸氧. 术后2及24 h复查血尿淀粉酶. 所有患者术后均常规应用抑酸药(奥美拉唑或泮托拉唑)、抗生素(头孢哌酮-舒巴坦或氧氟沙星、替硝唑). ERCP术后急性胰腺炎的

诊断标准^[1]: (1)持续腹痛; (2)血淀粉酶>3倍上限, 持续>24 h; (3)需留院或延长住院>1 d. 如仅有血淀粉酶升高, 而无腹痛、发热、恶心呕吐等其他表现者为高淀粉酶血症.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计学处理, 计量资料用mean±SD表示. 两组总体均数的比较采用独立样本t检验. $P<0.05$ 为差异有统计学意义, $P<0.01$ 为差异有显著统计学意义.

2 结果

ENBD组术后2 h和术后24 h的血淀粉酶分别为67.3 U/L±9.1 U/L及89.5 U/L±13.0 U/L, 其中无急性胰腺炎发生, 有5例(7.7%)发生高淀粉酶血症. 常规治疗组术后2 h和术后24 h的血淀粉酶分别为98.3 U/L±11.2 U/L及126.2 U/L±14.2 U/L, 其中有11例(14.3%)发生高淀粉酶血症, 5例(6.5%)发生ERCP术后急性胰腺炎, 其中轻度胰腺炎4例(5.2%), 中度胰腺炎1例(1.3%). ENBD组和常规治疗组相比, 术后2 h及术后24 h的血淀粉酶、术后高淀粉酶血症发生率及ERCP术后急性胰腺炎的发生率均有显著性差异($P<0.01$).

3 讨论

ERCP目前已公认为是一项比较安全有效的诊断和治疗手段, 并发症少, 死亡率低^[2]. ERCP作为胆道及胰腺疾病的诊断及治疗手段已越来越多地应用于临床, 但同时也带来了一系列并发症, 如PEP、出血及穿孔. 由于患者选择及术者操作熟练程度不同, 对术后并发症的报道差异较大. 上海内镜协作组统计1 764例ERCP, 共发生并发症20例, 发生率1.13%, 死亡率0.18%^[3], 国外报道并发症发生率为1%-3%^[4,5]. 其中PEP是ERCP术后最常见也是最严重的并发症. 发生ERCP术后急性胰腺炎的危险因素包括患者因素和操作因素, ERCP患者年龄为AP危险因素, 年轻人群有较高的AP发生率^[6,7]. 疑有SOD患者, 有复发性胰腺炎及既往有ERCP术后AP史者, 亦有较高的AP发生率^[8,9]. 操作因素包括插管困难、预切开、造影剂注入压力过高致胰管过度充盈, 甚至腺泡显影、感染因素等, 患者因素包括年龄、既往胰腺炎病史、可疑Oddi括约肌功能不良等. 而操作者的经验方面, 诊断性ERCP与治疗性ERCP因人因解剖异常因素, 都有很大难度, 尤以治疗性ERCP为著, 现多数学者认为操作者的经验和操作水平与AP的发生率明显相关^[10-12]. 施新岗^[13]研究发现可引起ERCP术后急

■ 相关报道

邱新光等研究发现, 在ERCP中胰管扩张或腺泡显影时, 即应行ENBD引流24-48 h后拔出. Singh等提出经胰管括约肌放置胰管支架, 可完全消除重症急性胰腺炎发病危险, 内镜下胆管塑料支架引流术(ERBD)能长期充分引流胆汁进入肠道, 无大量胆汁丢失、水电平衡失调、消化功能下降、脂溶性物质吸收障碍、维生素K缺乏以及肠道缺乏胆盐而菌群失调之虑, 一般用于化脓性胆管炎及胆管狭窄的临时性引流.

■同行评价

本研究对临床医师有一定的参考价值。

性高淀粉酶血症五个独立危险因素为:复发性胰腺炎、既往有ERCP术后胰腺炎病史、ERCP术中多次插管(多于5次)、胰管刷检和ERCP术中疼痛。而多次插管与胰管多次造影是引起ERCP术后重症胰腺炎的高危因素。据上,ERCP术后高淀粉酶血症的部分因素是可以避免的,如不过快或过多注射造影剂、注射时压力不要过高、严格消毒,提高操作技能预防性应用药物等。Dickinson等^[14]报道ERCP术后急性胰腺炎和高淀粉酶血症原因包括:胰管显影,胆管直径小,括约肌预切开,手术适应证选择不当,而且Dickinson等研究提示并发症的发生在女性更常见($F:M = 11:1$ vs $241:177$, $P<0.05$),中年高于老年(52.5 vs 68.0 , $P<0.05$)。研究发现ERCP术后胰腺炎的部分高危因素和患者本身有关,单纯强调提高ERCP技能并不能完全避免ERCP术后胰腺炎的发生,故各种预防措施尤为重要。另外,ERCP和EST术后急性胰腺炎发生率显著高于EST后放置ENBD。EST是否为ERCP术后胰腺炎发生的危险因素,目前尚无定论。

目前有很多研究探讨了预防ERCP术后急性胰腺炎的措施,大致认为药物预防和内镜技术预防两大方面^[15]。生长抑素(somatostatin)和加贝酯(gabexate)被多数学者认为对AP有显著的预防作用^[16-19]。Arvanitidis等^[20]在其试验中提出生长抑素能有效预防术后胰腺炎。Maschi等^[21]在ERCP术前持续滴注加贝酯(非肽类蛋白酶抑制剂),发现总量500 mg的加贝酯明显减少术后急性胰腺炎的发生。郭强等^[22]乌司他丁可有效地预防ERCP术后胰腺炎。在内镜技术方面,Tarnasky等^[23]认为ERCP术后AP病理生理中最重要的是胰腺引流不畅,胰管支架可以降低AP的发生率和AP的严重程度。大量研究结果都表明了预防性胰管支架的放置可有效减少PEP的发生^[24],胰管支架对ERCP术后AP有预防作用,尤其是对于具有AP高危因素的ERCP者^[25,26]。邱新光等^[27]研究发现,在ERCP中胰管扩张或腺泡显影时,即应行ENBD引流24-48 h后拔出。黄永德等^[28]发现,ENBD能有效地降低ERCP术后高淀粉酶血症及急性胰腺炎的发生率。ENBD是一种较为简单的内镜胆道外引流方法,内镜下胆管塑料支架引流术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)能长期充分引流胆汁进入肠道,无大量胆汁丢失、水电平衡失调、消化功能下降、脂溶性物质吸收障碍、维生素K缺乏以及肠道缺乏胆盐而菌群失调之虑^[29],一般用于化脓性胆

管炎及胆管狭窄的临时性引流,ENBD本身并不增加ERCP的并发症,是临床常用的胆道引流措施^[30]。胆管多发结石患者ERCP术后易合并胆道感染,放置鼻胆引流不但可以随时行胆管造影发现残留结石,同时可以有效预防胆管炎尤其是急性化脓性胆管炎的发生。对老年体弱者尤为适用。如伴有多发性胆管结石,一次不能取尽者,应常规置入ENBD,以免引起结石嵌顿和PEP的发生。ENBD已被广泛应用于临床,已成为梗阻性黄疸、急性化脓性胆管炎等胆道、胰腺疾病十分有效的治疗方法。孙克文等^[31]认为ERCP后保持胰管引流通畅,防止胰管开口处水肿,可显著减低ERCP后胰腺炎发生率,故应及时行引流术。ENBD能够有效地引流胆汁,而且能够减轻ERCP术后胆管、胰管内的压力,有利于胰液、胆汁的正常排泄,从而减少造影剂、胆汁反流入胰管,减少胰胆管括约肌损伤和痉挛等诱发的不利因素,故能够减少ERCP术后急性胰腺炎和高淀粉酶血症的发生。另外,ENBD能将嵌顿于共同通道的结石推开,有效防止急性胰腺炎重症化^[32]。对胆总管结石EST取石或碎石后行ENBD,可防止残余结石嵌顿,又可冲洗胆泥及碎石,从而保证胆管引流通畅,促进胆管乳头水肿消退。郭召军等^[33]认为ERCP尤其治疗性ERCP后可以常规使用。

我们研究提示ENBD组和常规治疗组相比,术后2 h及术后24 h的血淀粉酶、术后高淀粉酶血症发生率及ERCP术后急性胰腺炎的发生率均有显著性差异($P<0.01$),ENBD可有效预防胆总管多发结石患者ERCP术后急性胰腺炎和高淀粉酶血症的。

4 参考文献

- 1 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393
- 2 李兆申. 中国ERCP研究现状. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 446-448
- 3 李兆申, 许国铭. ERCP基本技术与临床应用. 第1版. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 36-37
- 4 Loperfido S, Angelini G, Benedetti G, Chilovi F, Costan F, De Berardinis F, De Bernardin M, Ederle A, Fina P, Fratton A. Major early complications from diagnostic and therapeutic ERCP: a prospective multicenter study. *Gastrointest Endosc* 1998; 48: 1-10
- 5 Tanner AR. ERCP: present practice in a single region. Suggested standards for monitoring performance. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 145-148
- 6 Christensen M, Matzen P, Schulze S, Rosenberg J. Complications of ERCP: a prospective study.

- Gastrointest Endosc* 2004; 60: 721-731
- 7 Christoforidis E, Goulimaris I, Kanellos I, Tsalis K, Demetriades C, Betsis D. Post-ERCP pancreatitis and hyperamylasaemia: patient-related and operative risk factors. *Endoscopy* 2002; 34: 286-292
 - 8 Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yakshe P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147
 - 9 Masci E, Mariani A, Curioni S, Testoni PA. Risk factors for pancreatitis following endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a meta-analysis. *Endoscopy* 2003; 35: 830-834
 - 10 Murray WR. Reducing the incidence and severity of post ERCP pancreatitis. *Scand J Surg* 2005; 94: 112-116
 - 11 Testoni PA. Preventing post-ERCP pancreatitis: where are we? *JOP* 2003; 4: 22-32
 - 12 Rabenstein T, Hahn EG. Post-ERCP pancreatitis: is the endoscopist's experience the major risk factor? *JOP* 2002; 3: 177-187
 - 13 施新岗. ERCP术后并发症的危险因素. *胰腺病学* 2003; 6: 68-69
 - 14 Dickinson RJ, Davies S. Post-ERCP pancreatitis and hyperamylasaemia: the role of operative and patient factors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10: 423-428
 - 15 杨勇, 张文杰, 王雪峰, 顾钧, 庄敏, 刘颖斌, 全志伟, 赵铭宁. ERCP术后胰腺炎的诊断与治疗. *肝胆外科杂志* 2009; 17: 332-335
 - 16 Pande H, Thuluvath P. Pharmacological prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Drugs* 2003; 63: 1799-1812
 - 17 Mariani A. Pharmacological prevention of post-ERCP pancreatitis: which therapy is best? *JOP* 2003; 4: 68-74
 - 18 Andriulli A, Leandro G, Niro G, Mangia A, Festa V, Gambassi G, Villani MR, Facciorusso D, Conoscitore P, Spirito F, De Maio G. Pharmacologic treatment can prevent pancreatic injury after ERCP: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2000; 51: 1-7
 - 19 夏挺松, 刘鹏飞, 张伟. 生长抑素对ERCP术后胰腺炎的预防效果. *山东医药* 2009; 49: 105
 - 20 Arvanitidis D, Anagnostopoulos GK, Giannopoulos D, Pantos A, Agaritsi R, Margantinis G, Tsiakos S, Sakorafas G, Kostopoulos P. Can somatostatin prevent post-ERCP pancreatitis? Results of a randomized controlled trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 278-282
 - 21 Masci E, Cavallini G, Mariani A, Frulloni L, Testoni PA, Curioni S, Tittobello A, Uomo G, Costamagna G, Zambelli S, Macarri G, Innocenti P, Dragonetti C. Comparison of two dosing regimens of gabexate in the prophylaxis of post-ERCP pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2182-2186
 - 22 郭强, 胡伟明. 乌司他丁预防内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎的系统评价. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3561-3567
 - 23 Tarnasky PR. Mechanical prevention of post-ERCP pancreatitis by pancreatic stents: results, techniques, and indications. *JOP* 2003; 4: 58-67
 - 24 潘小平, 党彤. 胰管支架置入术预防ERCP术后胰腺炎研究进展. *中国实用内科杂志* 2009; 29: 852-853
 - 25 Freeman ML. Understanding risk factors and avoiding complications with endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Curr Gastroenterol Rep* 2003; 5: 145-153
 - 26 Fazel A, Quadri A, Catalano MF, Meyerson SM, Geenen JE. Does a pancreatic duct stent prevent post-ERCP pancreatitis? A prospective randomized study. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 291-294
 - 27 邱新光, 张宽学, 秦兆寅. 经内镜鼻胰管引流术防治ERCP后胰腺炎. *中国内镜杂志* 1999; 5: 37
 - 28 黄永德, 宛新建, 孙振兴. ENBD预防治疗性ERCP术后高淀粉酶血症及胰腺炎. *临床军医杂志* 2007; 35: 346-348
 - 29 李虎城, 许红兵, 黄辉, 陈丽楠, 李小龙, 张自强. ENBD和(或)ERBD的临床应用. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 718-719
 - 30 李兆申, 许国铭, 孔振兴. 诊断性与治疗性ERCP早期并发症与处理. *中华消化内镜杂志* 2002; 19: 77-81
 - 31 孙克文, 沈云志, 茹佩瑛. 鼻胆管引流预防治疗性ERCP术后胰腺炎及高淀粉酶血症. *中国内镜杂志* 2004; 10: 65-66
 - 32 田伏洲, 黄大榕, 黎冬暄. 内镜鼻胆管引流术预防急性胰腺炎重症化的前瞻性研究. *中华消化杂志* 1997; 17: 52-53
 - 33 郭召军, 石丽红, 刘永哲, 唐采白. 鼻胆管引流预防ERCP术后胰腺炎及高淀粉酶血症. *徐州医学院学报* 2008; 28: 328-330

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布 《世界华人消化杂志》2008年影响因子 0.547

本刊讯 中国科学技术信息研究所发布2008年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2 480, 位居1 868种中国科技论文统计源期刊的第100位, 41种内科学类期刊的第6位. 2008年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.547, 41种内科学类期刊的第17位. 大家最为关注的是《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)中新增一个综合评价指标, 即综合评价总分, 该指标根据科学计量学原理, 系统性地综合考虑被评价期刊的各影响力指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等)在其所在学科中的相对位置, 并按照一定的权重系数将这些指标进行综合集成, 对期刊进行综合评价. 《世界华人消化杂志》总分为49.5, 在41种内科学类期刊中排名第8位, 在1 868种中国科技期刊排名第341位. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

大网膜扭转的腹腔镜诊断与治疗4例

刘迪, 秦鸣放

■背景资料

大网膜扭转并梗死常表现为外科急腹症。临床上十分罕见, 术前诊断极为困难, 误诊率几乎100%, 文献报道多经剖腹探查明确诊断。本文总结4例应用腹腔镜技术对患者进行治疗经验, 提高外科医生对该病的认识。

刘迪, 天津医科大学研究生院 天津市 300070
秦鸣放, 天津南开医院天津市微创外科中心 天津市 300100
作者贡献分布: 刘迪对本文作主要贡献; 本课题由刘迪与秦鸣放共同设计和操作完成; 数据分析与论文写作由刘迪完成。
通讯作者: 刘迪, 300070, 天津市, 天津医科大学研究生院。
aimyliu@163.com
电话: 022-27435027
收稿日期: 2010-03-07 修回日期: 2010-05-06
接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

Laparoscopic diagnosis and treatment of torsion of the omentum: a report of 4 cases

Di Liu, Ming-Fang Qin

Di Liu, Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Ming-Fang Qin, Center for Minimally Invasive Surgery, Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Di Liu, Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China. aimyliu@163.com
Received: 2010-03-07 Revised: 2010-05-06
Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the value of laparoscopy in the diagnosis and therapy of torsion of the omentum.

METHODS: The clinical data of 4 patients with torsion of the omentum treated by laparoscopy were retrospectively analyzed.

RESULTS: Laparoscopic exploration proved that all four patients had torsion of the omentum. Laparoscopic resection of necrotic omentum was then performed. All patients were discharged from hospital 3 to 5 d postoperatively. A follow-up examination one month later showed that clinical symptoms disappeared.

CONCLUSION: Laparoscopic surgery has the advantages of clear visualization and minimal trauma and can achieve accurate diagnosis of torsion of the omentum.

Key Words: Torsion of the omentum; Laparoscopic surgery; Therapy

Liu D, Qin MF. Laparoscopic diagnosis and treatment of

torsion of the omentum: a report of 4 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(16): 1728-1730

摘要

目的: 探讨大网膜扭转的诊断及治疗方法。

方法: 将我院收治的4例大网膜扭转的患者行常规术前必要检查后, 再行腹腔镜探查治疗。

结果: 4例患者经腹腔镜探查证实均为大网膜扭转坏死, 行腹腔镜坏死大网膜切除术, 术后3-5 d痊愈出院, 1 mo后复查患者腹痛症状完全消失。

结论: 大网膜扭转诊断困难, 往往需要手术探查方能确诊, 腹腔镜探查具有视野广、创伤小、术后恢复快的特点, 值得推广应用。

关键词: 大网膜扭转; 腹腔镜; 治疗

刘迪, 秦鸣放. 大网膜扭转的腹腔镜诊断与治疗4例. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1728-1730
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1728.asp>

0 引言

大网膜扭转并梗死常表现为外科急腹症。临床上十分罕见, 术前诊断极为困难, 常易误诊为急性阑尾炎、急性胆囊炎、卵巢囊肿扭转等, 误诊率几乎100%, 文献报道多经剖腹探查明确诊断。2000-01/2009-12我院收治4例大网膜扭转患者经腹腔镜探查明确诊断并在腹腔镜下切除, 效果满意。现总结4例患者诊治经验, 以提高外科医生对该病的认识。

1 材料和方法

1.1 材料 2000-01/2009-12我院共收治大网膜扭转患者4人, 其中男2例, 女2例, 年龄在18-50岁。2例男性误诊为急性阑尾炎, 1例女性误诊为急性胆囊炎合并胆囊结石, 1例女性误诊为妊娠合并急性阑尾炎。所有患者术前无明显发热, 白细胞计数不高。

1.2 方法 4例患者在完善必要术前准备后, 均在

■同行评议者

周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科

表 1 4例患者术前一般情况

	性别	年龄(岁)	体征	白细胞计数(cells/L)	术前诊断	既往史
病例1	男	18	右下腹局限性腹膜炎	8.9×10^9	急性阑尾炎	-
病例2	男	50	右下腹局限性腹膜炎	9.0×10^9	急性阑尾炎	-
病例3	女	27	右侧腹局限性腹膜炎	6.5×10^9	急性胆囊炎伴胆囊肿大	8 mo前剖宫产
病例4	女	24	右下腹局限性腹膜炎	9.5×10^9	妊娠合并急性阑尾炎	3 mo前宫内孕

表 2 4例患者术中坏死网膜情况

	大小	与腹壁有无粘连	扭转角度及方向	术后病理
病例1	3 cm × 4 cm × 6 cm	无	顺时针720°	含有大量坏死脂肪细胞, 符合扭转
病例2	5 cm × 5 cm × 6 cm	有	逆时针720°	血管脂肪瘤, 周边有包膜
病例3	5 cm × 5 cm × 7 cm	有	逆时针720°	含有大量坏死脂肪细胞, 可见血管扩张、瘀血、出血
病例4	2 cm × 5 cm × 6 cm	无	顺时针720°	含有大量坏死脂肪细胞, 符合扭转



图 1 病例3术中坏死网膜观. A: 坏死网膜; B: 大网膜扭转处.

静脉复合麻醉下急诊行腹腔镜探查术. 脐部10 mm Trocar进镜探查腹腔, 其余操作孔根据术中情况置于左侧腹. 术中诊断为大网膜扭转, 行坏死大网膜切除术, 探查腹腔内其他脏器均未见异常(其中合并有胆囊肿大患者行腹腔镜胆囊切除术). 坏死网膜经脐部操作孔取出. 1 mo后门诊复查.

2 结果

4例患者术前一般情况见表1. 4例患者术中探查证实均为大网膜扭转, 行腹腔镜下坏死网膜扭转松解术, 应用电凝钩离断坏死网膜, 残端使用可吸收夹或4号丝线结扎防止大血管出血. 4位患者术后恢复良好, 3-4 d后治愈出院. 术中详细情况见表2, 术中网膜见图1. 4例患者术后1 mo门诊复查, 腹痛症状完全消失, 能够正常进普食, 排气排便通畅.

3 讨论

大网膜扭转发病几率很小, 1851年由Pierre de Machete首次报道, 之后国内仅有一些零星病例

报道, 几乎都是采用剖腹探查术的方式解决, 给患者造成了较大的创伤. 我院依托天津市微创外科中心, 采用腹腔镜探查的手术方式, 治愈了4例大网膜扭转的患者, 国内报道^[1]尚很少. 大网膜扭转是指大网膜的一部分或全部旋转导致大网膜末梢血液循环障碍. Donhaccer根据病因分为原发性和继发性. 前者指大网膜本身无任何疾患存在所发生的扭转, 网膜形态异常者如舌形突出, 副网膜、肥大而蒂长的网膜容易发生. 后者则指大网膜存在肿瘤、囊肿、腹腔内炎性粘连等因素^[2], 饱餐、腹压增加、体位突然改变和过度的伸展、咳嗽、喷嚏可能为其诱因^[3]. 妊娠期子宫的增大, 小肠及大网膜上移, 大网膜有不同程度的卷曲^[4]. 临床上以大网膜肿瘤和解剖异常为最多^[5]. 本组病例1属于前者, 病例2-4属于后者. 其发病机制目前尚不清楚, 1902年Part提出网膜血流动力学说, 认为大网膜静脉较动脉长且粗, 屈曲蛇行, 易受压迫而淤血, 网膜血流动力学发生异常变化时, 淤血的网膜静脉则以动脉为轴, 形成网膜静脉的旋转, 导致网膜的扭转. 1961年后藤在动物实验中, 向狗和兔子的

■研发前沿

由于此病属于罕见病, 临床外科医生不易作出第一诊断, 极易误诊, 就目前医疗水平只有通过手术方式才能得到确诊, 有待研发新技术提高诊断准确率. 因腹腔镜技术在我国并不十分广泛, 有待推广这项微创技术在临床得到应用.

■创新盘点

本文总结了在外科、妇科领域均可能存在误诊此病的可能性, 并把腹腔镜技术应用到此病的诊治, 患者创伤小, 恢复快, 手术时间短, 术中便于及时发现其他病变.

■同行评价

本研究为临床提供了新的思路,具有较强的新颖性。

大网膜静脉内快速注入液体后,可见网膜静脉怒张、屈曲、旋转,因此,证实了大网膜血流动力学的改变,可导致大网膜扭转。

本病常见于中青年,以20-50岁中青年居多,儿童及老年人极少见,男性较女性多见,男女比例为2:1^[6]。多突发于右下腹部或转移性右下腹疼痛,偶见脐周、盆腔、全腹或右下腹疼痛。疼痛性质为持续性绞痛,逐渐加重,活动后加重,休息后多无缓解,不因体位的改变而缓解。常伴有恶心,少数人有呕吐。表现为外科急腹症。患者体温多正常或低热,少数为中等程度热,病变持续时间愈长,体温愈高。患者有全腹肌紧张、压痛、反跳痛,以右下腹为显著居多,可在腹部扪及包块,但多数触及不到;叩及不到移动性浊音;肠鸣音正常或减弱,少数肠鸣音亢进。常被误诊为急性阑尾炎或急性胆囊炎。Steinauer-Gebauer等^[7]认为CT显示从团块内向外延伸的血管蒂,沿前腹壁走行到胃体下缘,垂直于横结肠处,分散为许多小血管影表现,有助于诊断扭转。但多数最终仅能靠手术明确诊断。术中探查大多数为顺时针扭转,扭转可达数周^[8,9]。扭转后远端均有坏死,形成包块、发绀,呈紫红色,质稍硬。腹腔内可以有数百毫升淡红色血性渗液。切除范围应较实际扭转的部分为大,通常应在扭转部分以上2-3 cm,即切除有继发性血栓部分,手术中应注意操作轻巧,误将血栓挤压至远方而发生栓塞,使病情恶化,还应注意对原发病的处理^[10]。术后病理多数是大网膜组织出血坏死,有中性粒细胞和淋巴细胞浸润^[11]。本组4例术前均没有发热,白细胞正常。右侧腹均有疼痛,伴反跳痛及肌紧张。均被误诊,术中得以证实诊断,手术及时。

曾有文献^[12]报道了7例成功保守治疗的患者,症状和体征在4 mo内消失,B超随访平均27 mo无异常,但该7例患者的诊断仅凭B超等影像诊断,未经病理的证实,其诊断是难以信服的。我们认为非手术治疗容易导致患者住院时间延长,增加患者痛苦及住院费用,扭转坏死的大网膜易继发脓肿形成,感染加重。有文献^[13]报道当大网膜与下腹部组织因炎症粘连固定时,肠管可以进入网膜裂孔形成大网膜裂孔疝,贻误了最佳手术时机。

传统的开腹手术常选用麦氏切口难以完成

对腹腔的广泛探查,给患者造成了很大的痛苦,术后恢复时间长。我院依托天津市微创外科中心,采用腹腔镜探查的手术方式,扩大了手术视野利于术中全面探查,直视下即可以清楚地看到扭转的大网膜位置,手术操作孔可以灵活掌握,易于明确诊断并有利于确定其他Trocar的置放进行手术治疗^[14,15],明显地缩短了手术操作时间。术中应用电凝钩离断扭转部位可靠,经济,必要时可加用可吸收夹或缝线夹闭结扎血管。目前外科急腹症的治疗还只是停留在剖腹探查的阶段,有条件的医院应该广泛开展腹腔镜的诊疗工作。与传统开腹手术相比,腹腔镜用于大网膜扭转这类罕见病的治疗有极大的优势。

4 参考文献

- 1 俞海波,宋洪亮,金肖丹.腹腔镜治疗原发性大网膜扭转1例.中国实用外科杂志 2008; 28: 856
- 2 Cervellione RM, Camoglio FS, Bianchi S, Balducci T, Dipaola G, Giacomello L, Chironi C, Erculiani E, Ottolenghi A. Secondary omental torsion in children: report of two cases and review of the literature. *Pediatr Surg Int* 2002; 18: 184-186
- 3 Naffaa LN, Shabb NS, Haddad MC. CT findings of omental torsion and infarction: case report and review of the literature. *Clin Imaging* 2003; 27: 116-118
- 4 窦怀豹,盛惠英.妊娠36W合并大网膜扭转坏死一例.中国民康医学杂志 2003; 15: 314
- 5 郑扶民.大网膜疾病的检查手段及诊断.中国实用外科杂志 1994; 14: 589-591
- 6 霍新合,韦晓景,董圣洁,寇炳岳,杨芳.大网膜扭转误诊2例.中国普通外科杂志 2007; 16: 455
- 7 Steinauer-Gebauer AM, Yee J, Lütolf ME. Torsion of the greater omentum with infarction: the vascular pedicle sign. *Clin Radiol* 2001; 56: 999-1002
- 8 张琨.右侧腹股沟斜疝致大网膜扭转1例.四川医学 2000; 21: 89-90
- 9 杨复元,王建国.大网膜扭转梗死二例报告.腹部外科 2000; 13: 369
- 10 白云峰.外伤性大网膜坏死误诊慢性阑尾炎1例.中国误诊学杂志 2007; 7: 412
- 11 张会民.大网膜扭转一例报告.中国航天医药杂志 2001; 3: 41
- 12 Puylaert JB. Right-sided segmental infarction of the omentum: clinical, US, and CT findings. *Radiology* 1992; 185: 169-172
- 13 于明钢.3例大网膜裂孔疝致肠梗阻临床分析.天津医药 2002; 30: 521
- 14 Gassner PE, Cox MR, Cregan PC. Torsion of the omentum: diagnosis and resection at laparoscopy. *Aust N Z J Surg* 1999; 69: 466-467
- 15 Sánchez J, Rosado R, Ramírez D, Medina P, Mezquita S, Gallardo A. Torsion of the greater omentum: treatment by laparoscopy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2002; 12: 443-445

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

腹茧症合并机械性肠梗阻1例

吕伟, 吉王明, 陈圣, 万葆冬

吕伟, 吉王明, 陈圣, 万葆冬, 中国人民解放军第二炮兵总医院全军肝胆胃肠病中心 北京市 100088

通讯作者: 吕伟, 100088, 北京市, 中国人民解放军第二炮兵总医院全军肝胆胃肠病中心. lw8281@yahoo.com.cn

电话: 010-66343418

收稿日期: 2010-01-20 修回日期: 2010-05-04

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-08

A case report of abdominal cocoon with mechanical intestinal obstruction

Wei Lv, Wang-Ming Ji, Sheng Chen, Bao-Dong Wan

Wei Lv, Wang-Ming Ji, Sheng Chen, Bao-Dong Wan, Center for Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases, the Second Artillery General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100088, China

Correspondence to: Wei Lv, Center for Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases, the Second Artillery General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100088, China. lw8281@yahoo.com.cn

Received: 2010-01-20 Revised: 2010-05-04

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-08

Abstract

Abdominal cocoon syndrome is a rare abdominal disease. Its main manifestation is that some or all of the intra-abdominal organs, especially the small intestine, are encased within a fibrous membrane. Preoperative diagnosis of this disease is very difficult. Patients with abdominal cocoon syndrome are often asymptomatic or have mild abdominal discomfort and indigestion. The disease is often accidentally discovered during examinations for other diseases. Clinically, abdominal cocoon syndrome usually manifests as abdominal pain, abdominal swelling, nausea, vomiting, and even intestinal obstruction.

Key Words: Abdominal cocoon syndrome; Intestinal obstruction; Abdominal disease

Lv W, Ji WM, Chen S, Wan BD. A case report of abdominal cocoon with mechanical intestinal obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(16): 1731-1733

摘要

腹茧症是一种罕见的腹部疾病, 主要表现为腹

腔部分或全部脏器被一层纤维膜包裹, 包裹内容物以小肠最为常见。本病术前诊断较为困难, 患者多无症状或有轻微的腹部不适、消化不良等, 常因其他疾病手术或尸检中偶然发现。部分患者临床上常表现为腹痛、腹胀、恶心、呕吐, 严重时可引起肠梗阻。

关键词: 腹茧症; 机械性肠梗阻; 腹部疾病

吕伟, 吉王明, 陈圣, 万葆冬. 腹茧症合并机械性肠梗阻1例. 世界华人消化杂志 2010; 18(16): 1731-1733

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1731.asp>

0 引言

腹茧症是一种罕见的腹部疾病, 主要表现为腹腔部分或全部脏器被一层纤维膜包裹, 包裹内容物以小肠最为常见。现将我院1例腹茧症合并机械性不全性小肠梗阻的病例报道如下。

1 病例报告

男, 22岁, 主因反复腹痛、腹胀3年加重伴肛门停止排气排便2 d入院。患者近3年来无明显诱因反复出现腹胀, 腹痛不适, 以饭后2-3 h加重, 时伴恶心、呕吐, 腹痛可自行缓解, 近2 d腹痛、腹胀加重同时出现肛门停止排气、排便。病程中无畏寒、发热, 无夜间盗汗、午后低热, 无尿频、尿急、尿痛和血尿, 否认肝炎、结核等传染病史。体检: 一般情况尚可, 生命特征平稳, 皮肤巩膜无黄染, 浅表淋巴结未及肿大, 心、肺无异常。腹稍膨隆, 脐周可见肠型及蠕动波。下腹部可扪及一质软包块, 约14.11 cm×15 cm大小, 边界不清, 压痛明显, 轻度反跳痛、肌紧张, 包块略可推动。肠鸣音活跃, 10-12次/分, 可闻及高调肠鸣及气过水声。肛门外观未见异常。指肛检查(-)。急查血常规示: 白细胞 $15.7 \times 10^9/L$, 中性90.1%, 淋巴5.52%。腹部B超提示: 腹腔可见肠管扩张, 内径最宽约30 mm, 部分肠管可见逆蠕动, 局部肠间可见游离液性暗区。腹部立位X线: 腹部肠管扩张、积气, 可见多发液平(图1)。CT提示: 包块内系一大团肠管影, 排列不规则, 管腔

■背景资料

腹茧症属于罕见外科急腹症, 常以腹部包块或肠梗阻为首发症状, 主要表现为反复发作的腹痛、腹胀, 伴腹部包块, 呕吐, 不规律排气排便或无排气、排便。

■同行评议者

唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

■相关报道

腹茧症由Foo等于1978年命名,是一种罕见的腹部疾病,病因至今仍未清楚。多数学者认为是胚胎发育异常或某种特异性感染,使腹腔纤维结缔组织增生,完全或部分包绕小肠的一种少见疾病。



图1 腹部立位X线。腹部肠管扩张、积气,可见多发液平。



图2 CT提示包块内系一大团肠管影。排列不规则,管腔略扩张,其内可见多个液平。

略扩张,其内可见多个液平(图2)。术前诊断:机械性不全性肠梗阻。术前准备完毕后急诊行剖腹探查术,下腹正中绕脐探查切口入腹,探查发现:腹腔内有淡黄色渗液100 mL,无臭味,留取标本送腹水常规、生化,细菌培养,腹水找结核杆菌。腹腔内见一20 cm×20 cm×15 cm大小包块,包块系由小肠系膜根部两侧发出的一层淡灰白色致密膜形成,包绕部分空肠及全部回肠,回盲部亦被包裹于内(图3),包膜与小肠粘连严重(图4),大网膜发育不良,距回盲部40 cm处有长约25 cm回肠因粘连成角,肠管扩张,肠壁充血水肿明显,其余脏器正常。手术切除包膜,锐性松解粘连,完全剥离小肠,解除梗阻后小肠血供好,蠕动佳,色泽正常,于回盲部找到阑尾,长约6 cm,无充血水肿,冲洗腹腔清点无误后顺利关腹。术后恢复顺利,7 d痊愈出院。术后病理:切除包膜:囊肿壁胶原纤维增生及慢性炎症,未见衬覆上皮。最后诊断:腹茧症合并机械性不全性小肠梗阻。

2 讨论

腹茧症(abdominal cocoon)由Foo等^[1]于1978年命名,是一种罕见的腹部疾病,病因至今仍未清楚。主要表现为腹腔部分或全部脏器被一层纤维膜包裹,包裹内容物以小肠最为常见。多数学者认

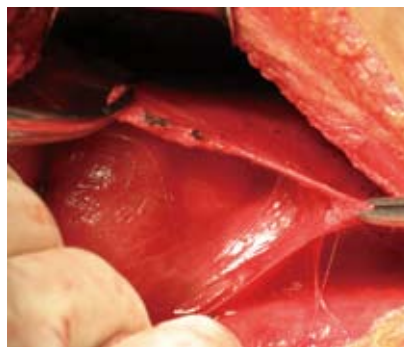


图3 一层淡灰白色致密膜包绕部分空肠及全部回肠。



图4 包膜与小肠粘连严重。

为是胚胎发育异常或某种特异性感染,使腹腔纤维结缔组织增生,完全或部分包绕小肠的一种少见疾病。根据解剖、临床症状及病因学,又分为腹膜包绕^[2](PE,是胚胎发育异常所致)和腹部茧壳症^[3](AC,后天感染所致)。本病术前诊断较为困难。PE多无症状或有轻微的腹部不适、消化不良等,常因其他疾病手术或尸检中偶然发现。而AC临床上常表现为腹痛、腹胀、恶心、呕吐,腹部可出现质软的活动性包块,严重时可引起肠梗阻。X线检查可发现全部或部分小肠聚拢于某一部位,位置固定。B超可见内有肠管的肿块。不论是PE还是AC,治疗原则^[4]为:(1)无症状或症状轻微、因其他疾病在检查或手术中发现者,可不予处理;(2)对腹胀、腹痛等症状明显或出现消化系梗阻症状者应予手术治疗,彻底切除包膜,松解粘连、切除囊带,肠管血运差时行肠切除吻合术。但一般只做包膜的单纯切除,以解除其对小肠的压迫。切忌将包裹之小肠当作肿瘤全部切除,以免引起短肠综合征。本病例中患者在原有腹茧症的基础上同时并发机械性不全性小肠梗阻,根据上述治疗原则予以彻底切除包膜,松解粘连、切除囊带解除梗阻。术后患者恢复良好,原有的反复腹胀、腹痛消失,手术效果确切。

3 参考文献

- 1 Foo KT, Ng KC, Rauff A, Foong WC, Sinniah R. Unusual small intestinal obstruction in adolescent girls: the abdominal cocoon. *Br J Surg* 1978; 65: 427-430
- 2 Sahoo SP, Gangopadhyay AN, Gupta DK, Gopal SC, Sharma SP, Dash RN. Abdominal cocoon in children: a report of four cases. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 987-988
- 3 Holland P. Sclerosing encapsulating peritonitis in chronic ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Radiol* 1990; 41: 19-23
- 4 杨建芬, 李宁, 黎介寿. 原发性腹茧症的诊断与治疗. *中华外科杂志* 2005; 43: 561-563

■同行评价

本文报道的病例罕见, 对临床医师有参考价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R)是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行检查, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章从投稿到刊出4 mo内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R) 是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究

报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》和中国知识资源总库收录。2008年度《世界华人消化杂志》总被引频次为2480, 位居内科学类41种期刊的第6位; 影响因子为0.547, 位居内科医学类41种期刊的第17位。《世界华人消化杂志》即年指标0.059, 他引率0.79, 地区分布数29, 基金论文比0.340, 国际论文比0.00, 学科影响指标0.59, 综合评价总分49.5, 位居内科学类41种期刊的第8位。

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

2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 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, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T_{1/2}, Vmax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, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), 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), $T_{\max}$, $C_{\max}$, Vd, $T_{1/2}$ CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 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 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 1×10^{12} /L, WBC数用 1×10^9 /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、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 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B1、维生素B2、维生素B6、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B12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 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 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.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2009年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-85381901, 传真: 010-85381893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) t 检验用小写 t ; (2) F 检验用英文大写 F ; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L $\pm$ 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6347意指6000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 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g $\pm$ 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 kg $\pm$ 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm $\pm$ 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 $\rightarrow$ 23.5 $\rightarrow$ 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; $101 \leq$ 分母 ≤ 1000 , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号

分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

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。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300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)。

3.11 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。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^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 , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 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 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262。

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页,PMID和DOI编号;书籍: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。参考文献格式如下:

- 1 Jung EM, Clevert DA, Schreyer AG, Schmitt S, Rennert J, Kubale R, Feuerbach S, Jung F. Evaluation of quantitative contrast harmonic imaging to assess malignancy of liver tumors: A prospective controlled two-center study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6356-6364 [PMID: 18081224; DOI: 10.3748/wjg.13.6356]
- 2 马连生, 潘伯荣, 马景云. 世界胃肠病学杂志英文版的现状. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 855-863
- 3 Lam SK. Academic investigator's perspectives of medical treatment for peptic ulcer. In: Swabb EA, Azabo S, eds. *Ulcer disease: investigation and basis for therapy*. New York: Marcel Dekker, 1991: 431-450
- 4 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 382-385

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接,包括首次提交的稿件,同行评议人报告,作者给审稿人回信和作者修回稿,以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见,指出问题与不足;作者也可以随时修改完善自己发表的论文,使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 投稿方式

接受在线投稿,不接受其他方式的投稿,如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在

线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审,2位或以上通过为录用,否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件处理费及发表费,文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

5 修回稿须知

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

5.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删节时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回,所造成的问题由作者承担责任。

5.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-8538-1892
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2010年国内国际会议预告

2010-06-17/21

2010年全国肝脏疾病临床学术大会暨欧洲肝病学会日

会议地点: 厦门市

联系方式: zhgz@vip.163.com

2010-07-15/17

2010年中国医师协会内分泌代谢科医师分会年会

会议地点: 广州市

联系方式: Endocri_hy@dmcd-bj.com

2010-07-15/18

第四届地坛国际感染病会议(DICID)

会议地点: 北京市

联系方式: info@bjditan.org

2010-08-18/21

第二十一届世界癌症大会

会议地点: 深圳市

联系方式: bgs@caca.sina.net

2010-08-19/22

第二十二次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: szzyy88@163.com

2010-09-01

中华医学会第十次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.csgd.org.cn/2010/>

2010-09-01

第二次肝纤维化、肝硬化学术会议

会议地点: 太原市

联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2010-09-08/12

第九届全国介入放射学学术大会

会议地点: 广州市

联系方式: csir2010@163.com

2010-09-09/11

中华医学会第十一次全国感染病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: infectioncma@163.com

2010-09-10/12

第四届国际肝病学会年会

会议地点: 加拿大, 蒙特利尔

联系方式: info@ilca-online.org

2010-09-16/19

第十三届全国临床肿瘤学大会暨2010年CSCO学术年会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://reg.cSCO.org.cn/reg2010/>

2010-09-21/25

肝脏疾病病理基础及治疗进展

会议地点: 西安市

联系方式: 029-85323924

2010-10-12/16

无创性肝纤维化诊断及常见肝病新进展学习班

会议地点: 南京市

联系方式: 025-80864021

2010-10-23/27

第十八届欧盟胃肠病学周

会议地点: 西班牙, 巴塞罗那

联系方式: <http://uegw10.uegf.org/>

2010-10-28/30

中华医学会第十次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 成都市

yjliu@cma.org.cn

2010-11-17/20

中华医学会糖尿病学分会第十四次全国学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: fredfeng@cma.org.cn

2010-11-17/21

消化及消化内镜前沿理论和技术学习班

会议地点: 南京市

联系方式: 025-80004616

2010-11-18/21

第十四届全国胆道外科学术会议暨2010中国国际肝胆外科论坛

会议地点: 上海市

联系方式: ncbs_cifhbs@126.com

2010-12-02/06

第九届广东省消化内镜学术年会

会议地点: 广州市

联系方式: 020-61641541

2010-12-26/30

肝胆疾病-肝功能衰竭治疗新理念

会议地点: 南京市

联系方式: 025-83106666-66866

志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!

白爱平 副教授
南昌大学第一附属医院消化内科

曹鹏 副研究员
江苏省中医药研究院细胞与分子生物学实验室

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

陈力 教授
浙江大学医学院附属第二医院外科

陈亚军 主任医师
首都医科大学附属北京儿童医院普外科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院普外科

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教研室

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李定国 教授
上海交通大学医学院附属新华医院消化内科

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李增山 副教授
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

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

禄韶英 副主任医师
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

邱伟华 副主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

谭德明 教授
中南大学湘雅医院感染病科

王富春 教授
长春中医药大学针灸推拿学院

王凯 教授
山东大学齐鲁医院肝病科

王蒙 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王振宁 教授
中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

魏经国 教授
中国人民解放军第四军医大学唐都医院放射科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院中西医结合科

张国梁 主任医师
天津市第一中心医院消化内科

张锦生 教授
复旦大学上海医学院病理学系

张俊 副教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

邹小明 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科