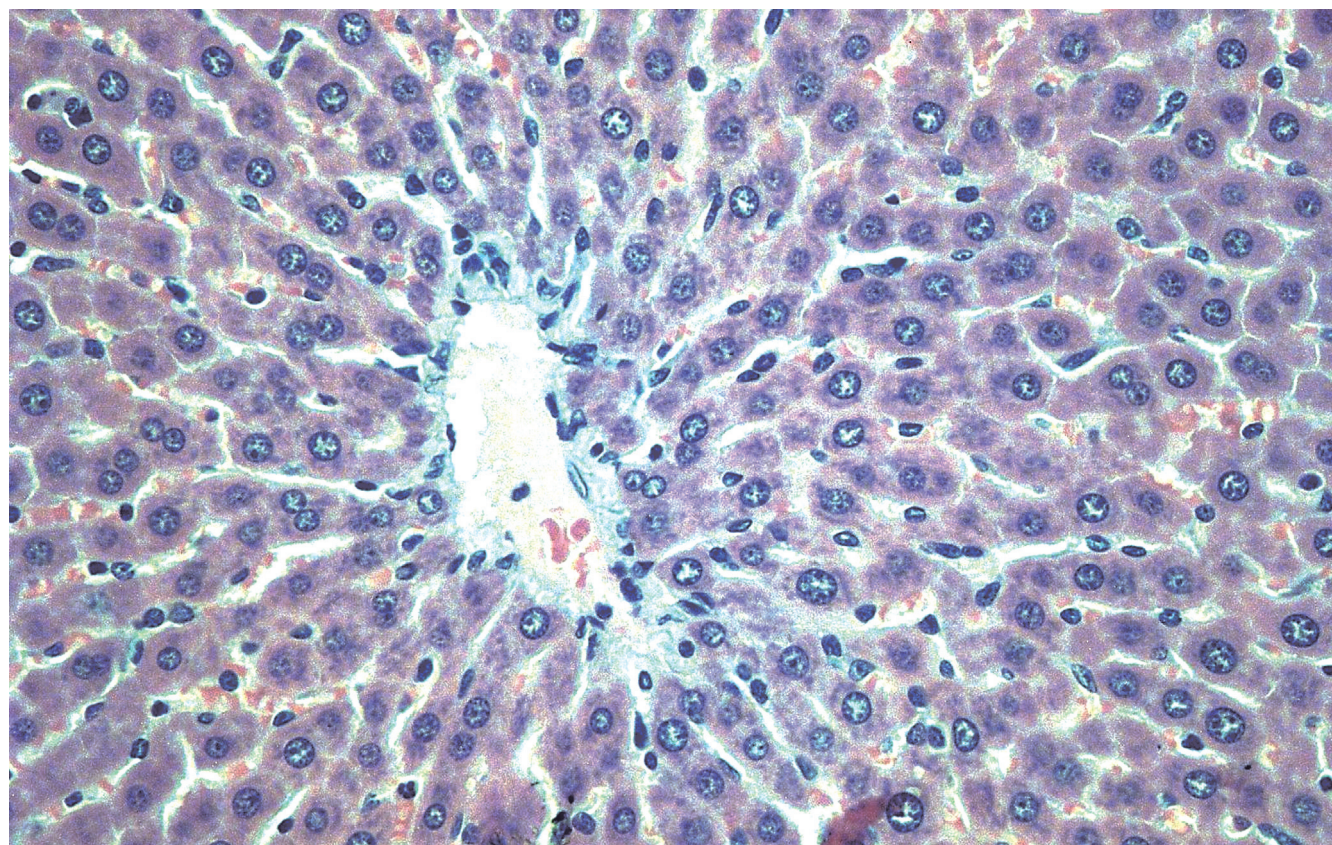


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 6 月 8 日 第 21 卷 第 16 期 (Volume 21 Number 16)



16/2013

ISSN 1009-3079



《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(中国科技核心期刊)》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《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由485位专家组成, 分布在30个省市, 自治区, 特别行政区。其中, 上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
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
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

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

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
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
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年6月8日 第21卷 第16期 (总第420期)

基础研究

- 1473 Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响
沙杰, 李学良, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾
- 1480 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用
王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民

临床研究

- 1487 microRNA-183家族的表达在肝细胞癌临床诊断中的价值
邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福

文献综述

- 1493 ERCC1在食管癌顺铂化疗中的作用
赵洪礼, 韩莎, 李琳, 丁敬献, 杨景玉
- 1498 骨桥蛋白与肝癌转移复发关系的研究进展
孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放
- 1505 幽门螺杆菌*CagA*基因与消化系统疾病关系的研究进展
游海梅, 胡团敏

研究快报

- 1511 孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠PGE₂与EGF含量的影响
杨舟, 张国山, 刘密, 章海凤, 雷毅军, 常小荣, 郁保生
- 1516 有烟艾灸、无烟艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠血清中SOD、MDA的影响
石佳, 张国山, 刘密, 刘未艾, 刘金芝, 常小荣
- 1522 光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布
蓝宇涛, 旷焱平, 陈坚, 何博华, 迟作华, 王林静, 刘革修
- 1527 环巴胺对胃癌MKN45细胞株VEGF、MMP-2、MMP-9基因表达的影响
任雪萍, 张全安, 郑勤

临床经验

- 1533 转录因子在食管鳞癌基因表达中的调控作用
吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧
- 1539 新疆哈萨克族食管癌的危险因素
李婧, 蔡金凤, 秦江梅
- 1544 食管癌淋巴结转移的危险因素
邢雪, 张志强, 温浩, 李秀娟
- 1549 内毒素和内皮素-1与急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的关系
黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星
- 1554 超声造影在急性胰腺炎脾血管并发症诊断中的价值
蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 宋彬
- 1559 急诊内镜对结肠息肉电凝切除术后并发迟发性出血的诊疗价值
孙彩龙, 周兰芳, 全国文, 谢秀丽
- 1563 熊去氧胆酸预防溃疡性结肠炎癌变的Meta分析
崔德军, 黄博, 朱敏, 任映
- 1568 新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素
霍晓灵, 秦健, 张炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1479 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1486 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1504 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1510 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1515 《世界华人消化杂志》正文要求 1521 《世界华人消化杂志》出版流程 1526 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1532 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1538 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1543 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1553 《世界华人消化杂志》栏目设置 1558 《世界华人消化杂志》外文字符标准 1572 <i>WJG</i> 成功通过评审被PMC收录
封面故事	王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民. 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1480-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-06-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

党双锐, 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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《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: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

《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。

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 16

BASIC RESEARCH	1473 Effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats <i>Sha J, Li XL, Zhu MH, Yang AP, Chen L</i> 1480 Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats <i>Wang M, Ma YP, Li YW, Wei J, Zhang JH, He T, Chen SM</i>
CLINICAL RESEARCH	1487 Diagnostic value of expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma <i>Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ, Gu X, Shi Y, Lu SL, Yao DF</i>
REVIEW	1493 Role of ERCC1 in cisplatin resistance in esophageal cancer <i>Zhao HL, Han S, Li L, Ding JX, Yang JY</i> 1498 Advances in understanding relationship between osteopontin and metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma <i>Sun JY, Xu JM, Yan M, Ye F</i> 1505 Advances in understanding the relationship between the <i>Helicobacter pylori</i> CagA gene and diseases of the digestive system <i>You HM, Hu TM</i>
RAPID COMMUNICATION	1511 Effect of moxibustion pretreatment on the contents of PGE₂ and EGF in gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract or spinal cord damage <i>Yang Z, Zhang GS, Liu M, Zhang HF, Lei YJ, Chang XR, Yu BS</i> 1516 Influence of smog moxibustion and non-smog moxibustion on serum SOD and MDA in rats with acute gastric mucosal injury <i>Shi J, Zhang GS, Liu M, Liu WA, Liu JZ, Chang XR</i> 1522 Photoactivated curcumin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803 <i>Lan YT, Kuang YP, Chen K, He BH, Chi ZH, Wang LJ, Liu GX</i> 1527 Effect of cyclopamine on expression of VEGF, MMP-2 and MMP-9 in gastric cancer cell line MKN45 <i>Ren XP, Zhang QA, Zheng Q</i>
CLINICAL PRACTICE	1533 Role of transcription factors in regulation of gene expression in esophageal squamous cell carcinoma <i>Wu YS, Chen YL, Yin SG, Wang HH</i> 1539 Risk factors for esophageal cancer in Kazakhs in Xinjiang Uygur Autonomous Region <i>Li J, Cai JF, Qin JM</i> 1544 Potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer <i>Xing X, Zhang ZQ, Wen H, Li XJ</i> 1549 Association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis <i>Huang HL, Nie X, Wu B, He Y, Song HL, Luo TX, Gao BX, Li GX</i> 1554 Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis <i>Cai DM, Luo Y, Li YZ, Wan JZ, Zhang GJ, Chen J, Zeng C, Song B</i> 1559 Diagnostic and therapeutic value of emergency colonoscopy in delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps <i>Sun CL, Zhou LF, Jin GW, Xie XL</i> 1563 Ursodeoxycholic acid for preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis <i>Cui DJ, Huang B, Zhu M, Ren Y</i> 1568 Factors related to rate of <i>Helicobacter pylori</i> infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili <i>Huo XL, Qin J, Zhang W, Zhang WZ, Zhu XL, Dou YQ, Ye NN</i>

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Wang M, Ma YP, Li YW, Wei J, Zhang JH, He T, Chen SM. Protective effects of grape seed extract oligomeric proanthocyanidins in alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1480-1486</i> URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>XinXin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date June 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

All articles published in 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.

Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响

沙杰, 李学良, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾

沙杰, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾, 靖江市人民医院消化科 江苏省泰州市 214500

李学良, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029

沙杰, 副主任医师, 主要从事胃肠动力及消化系统肿瘤早期诊治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070308

泰州市科技发展计划基金资助项目, No. 2012

作者贡献分布: 此课题由沙杰与李学良共同设计; 研究过程由沙杰、朱明辉及杨爱萍操作完成; 研究所用试剂与分析工具由沙杰与李学良提供; 数据分析由沙杰与陈蕾合作完成; 本论文写作由沙杰完成; 李学良最终审定。

通讯作者: 李学良, 主任医师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科. ligakur@yahoo.com.cn
电话: 025-83718836 传真: 025-83780711

收稿日期: 2013-03-09 修回日期: 2013-04-10

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats

Jie Sha, Xue-Liang Li, Ming-Hui Zhu, Ai-Ping Yang, Lei Chen

Jie Sha, Ming-Hui Zhu, Ai-Ping Yang, Lei Chen, Department of Gastroenterology, Jingjiang People's Hospital, Taizhou 214500, China

Xue-Liang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070308; the Science and Technology Development Program of Taizhou, No. 2012

Correspondence to: Xue-Liang Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ligakur@yahoo.com.cn

Received: 2013-03-09 Revised: 2013-04-10

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats.

METHODS: Thirty-six male Sprague-Dawley rats were randomly and equally divided into six groups to receive intracerebroventricular injection of 0.05, 0.5 μg of Nesfatin-1 or sterile water and intravenous injection of 10, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of Nesfatin-1 or sterile water. Gastric secretion was measured using the pylorus-ligation method. Three hours after treatment, rats were killed to remove the stomach and collect the gastric con-

tents. The volume of gastric secretion was measured and the amount of gastric acid was determined by titration with NaOH. $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ mRNA expression was detected by RT-PCR.

RESULTS: Intracerebroventricular infusion of 0.05 or 0.5 μg of Nesfatin-1 significantly reduced the volume of gastric juice ($3.3 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$ vs $2.4 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$; $3.3 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$ vs $2.5 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$, both $P < 0.05$), inhibited gastric acid output ($582.7 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 59.3 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ vs $373.6 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 61.5 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$, $582.7 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 59.3 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ vs $380.0 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 55.8 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$, both $P < 0.05$), and decreased gastric $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ mRNA expression (both $P < 0.05$). Intravenous injection of 10 or 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of Nesfatin-1 had no significant effect on the volume of gastric juice ($3.7 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.7 \text{ mL}/3 \text{ h}$ vs $3.3 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.4 \text{ mL}/3 \text{ h}$, $3.7 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.7 \text{ mL}/3 \text{ h}$ vs $3.8 \text{ mL}/3 \text{ h} \pm 0.5 \text{ mL}/3 \text{ h}$, both $P > 0.05$), gastric acid output ($647.6 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 102.8 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ vs $573.8 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 97.4 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$, $647.6 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 102.8 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ vs $594.4 \mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 121.0 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$, both $P > 0.05$) and gastric $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ mRNA expression (both $P > 0.05$).

CONCLUSION: Nesfatin-1 acts in the central nervous system to inhibit gastric acid secretion in rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Nesfatin-1; Intracerebroventricular injection; Intravenous; Gastric acid

Sha J, Li XL, Zhu MH, Yang AP, Chen L. Effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1473-1479 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1473.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1473>

摘要

目的: 探讨Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响。

方法: δ SD大鼠36只, 随机分为6组, 分别在侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 $\mu\text{g}/\text{只}$)、

■背景资料

本研究系在已知的Nesfatin-1摄食抑制功能的基础上进一步探索其对胃黏膜分泌功能的影响, 从而更进一步了解这个新发现的摄食调节肽的更多生理功能。

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科; 唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■ 研发前沿

通过本研究可以进一步增加对胃黏膜胃酸分泌调节机理的认识,从而为消化科临床酸相关疾病的诊治提供更多的理论基础。

Nesfatin-1(0.5 $\mu\text{g}/\text{只}$)及等量的注射灭菌水(5 $\mu\text{L}/\text{只}$), 外周静脉注射Nesfatin-1(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、Nesfatin-1(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)及等量的灭菌水(150 $\mu\text{L}/\text{只}$), 每组6只。采用幽门结扎法收集胃液, 3 h后处死大鼠分别测定胃液胃酸分泌量, $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 表达量。

结果: 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 $\mu\text{g}/\text{只}$ 及0.5 $\mu\text{g}/\text{只}$)后大鼠3 h胃液的分泌量分别为2.4 $\text{mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$ 、2.5 $\text{mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$, 与对照组(3.3 $\text{mL}/3 \text{ h} \pm 0.3 \text{ mL}/3 \text{ h}$)相比, 其分泌量明显减少, 差异具有统计学意义($P < 0.05$, $n = 6$)。侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 $\mu\text{g}/\text{只}$ 及0.5 $\mu\text{g}/\text{只}$)后大鼠3 h胃酸的分泌量分别为373.6 $\mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 61.5 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ 、380.0 $\mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 55.8 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$, 与对照组(582.7 $\mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 59.3 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$)相比, 其分泌量明显减少, 差异具有统计学意义($P < 0.05$, $n = 6$)。外周静脉注射Nesfatin-1(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)后大鼠胃液分泌量分别为3.3 $\text{mL}/3 \text{ h} \pm 0.4 \text{ mL}/3 \text{ h}$ 、3.8 $\text{mL}/3 \text{ h} \pm 0.5 \text{ mL}/3 \text{ h}$ 与对照组(3.7 $\text{mL}/3 \text{ h} \pm 0.7 \text{ mL}/3 \text{ h}$)相比差异无统计学意义($P > 0.05$, $n = 6$)。外周静脉注射Nesfatin-1(2 $\mu\text{g}/\text{只}$ 及10 $\mu\text{g}/\text{只}$)后大鼠胃酸分泌量分别为573.8 $\mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 97.4 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ 、594.4 $\mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 121.0 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$ 与对照组(647.6 $\mu\text{mol}/3 \text{ h} \pm 102.8 \mu\text{mol}/3 \text{ h}$)相比差异无统计学意义($P > 0.05$, $n = 6$)。侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 $\mu\text{g}/\text{只}$ 及0.5 $\mu\text{g}/\text{只}$)后3 h大鼠胃 $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ mRNA表达明显下调($P < 0.05$)。外周静脉注射Nesfatin-1(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)后3 h大鼠胃 $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ mRNA表达与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: Nesfatin-1通过中枢注射可以明显抑制大鼠胃酸的分泌。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: Nesfatin-1; 脑室内注射; 静脉注射; 胃酸

核心提示: 侧脑室注射Nesfatin-1可明显抑制大鼠胃液胃酸分泌, 而外周静脉注射Nesfatin-1对大鼠胃液胃酸分泌无明显影响, 提示Nesfatin-1通过中枢注射可以明显抑制大鼠胃酸的分泌。

沙杰, 李学良, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾. Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1473-1479
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1473.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1473>

0 引言

Nesfatin-1是一种新发现的厌食肽, 他来源于核

组蛋白2(nucleobindin-2, NUCB2)N端的1-82氨基酸残基^[1]。在中枢Nesfatin-1主要分布于与摄食和代谢调节密切相关的一些核团, 如下丘脑的弓状核(arcuate nucleus, ARC)、视上核(supraoptic nucleus, SON)、室旁核(paraventricular nucleus, PVN)、下丘脑外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)以及脑干的迷走神经背核(dorsal motor nucleus of the vagus, DMV)孤束核(nucleus tractus solitarius, NTS)等, 这些核团通常被认为与摄食和代谢调节密切相关^[1-4]。Nesfatin-1免疫阳性细胞在外周主要分布在胃黏膜内分泌型细胞, 胰岛及十二指肠布氏腺。Nesfatin-1在胃黏膜中大量与胃泌素共表达, 也有少部分与生长抑素及组胺共表达^[5]。这些结果提示Nesfatin-1可能参与了胃黏膜酸分泌功能的调节, 本研究通过侧脑室及外周静脉注射Nesfatin-1, 以探索其对大鼠胃黏膜泌酸功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠, 体质量200-250 g, 在明暗各12 h(06:00-18:00)周期, 21℃-23℃的室温环境中饲养, 侧脑室置管后予以单笼饲养, 实验前大鼠禁食24 h, 禁水2 h。大鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司; 饲料购自南京医科大学实验动物中心; 大鼠脑立体定位仪、大鼠颅钻、套管、套管芯、注射针均为深圳瑞沃德生命科技有限公司产品; 微量注射器为上海关正医疗仪器有限公司产品; Nesfatin-1购自Phoenix Pharmaceuticals公司。

1.2 方法

1.2.1 侧脑室置管: 在水合氯醛麻醉下(400 mg/kg , 腹腔内注射), 将大鼠固定在脑立体定位仪上, 右侧侧脑室置管(前囟点后0.8 mm, 右1.5 mm, 深3.5 mm)^[6], 2枚不锈钢螺丝固定在套管两侧的颅骨上, 牙科水泥固定。术后大鼠自由恢复7 d, 体质量不升者予以剔除, 实验结束后沿套管注入20 g/L的美蓝溶液, 取出脑组织, 脑室内壁均染色的大鼠数据为有效数据, 不合格的予以剔除。

1.2.2 分组及给药: 将大鼠随机分为6组, 分别侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 $\mu\text{g}/\text{只}$)、Nesfatin-1(0.5 $\mu\text{g}/\text{只}$)及等量的灭菌水(5 $\mu\text{L}/\text{只}$), 阴茎背静脉注射Nesfatin-1(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、Nesfatin-1(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)及等量的灭菌水(150 $\mu\text{L}/\text{只}$), 每组6只。

1.2.3 胃液收集: 采用幽门结扎法收集胃液^[7]。大鼠乙醚短暂麻醉, 沿腹中线剑突下切开一小口, 暴露幽门, 沿幽门括约肌丝线结扎, 关腹, 给予

侧脑室及外周静脉注射, 大鼠注射后约5 min清醒, 自由活动。3 h后过量乙醚麻醉处死大鼠, 迅速取胃, 沿胃大弯剪开胃壁, 收集胃液, 胃组织-80 °C冰箱速冻, 留作H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达检测。

1.2.4 胃酸分泌量检测: 测量胃液分泌量后, 取1 mL胃液, 以1%酚红为指示剂, 用0.01 mol/L NaOH滴定至pH值为7.0(胃液刚变为粉红色, 且持续30 s不退色), 胃液量乘以胃液酸的浓度即为胃酸分泌量。

1.2.5 RT-PCR法检测胃组织中H⁺-K⁺-ATPase mRNA: 按TRIzol试剂说明提取各组织中总mRNA, 然后逆转录为cDNA, 以此cDNA为模板行PCR扩增。PCR反应条件: 预变性95 °C 5 min; 变性95 °C 45 s, 退火56 °C 30 s, 延伸72 °C 30 s 共32个循环; 终末延伸72 °C 10 min。PCR产物经3%琼脂糖凝胶电泳, 观察、拍照。H⁺-K⁺-ATPase上下游引物: 上游引物5'-CTCTGCTTTGC-GGGACTT-3'; 下游引物5'-CCTTGGCTGTGAT-GGGAT-3', 以Actin为内参照。

统计学处理 所有的测定值均以mean±SD表示, 采用SPSS11.5统计学软件行 t 检验和方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃液分泌的影响 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后大鼠胃液分泌量分别为2.4 mL/3 h±0.3 mL/3 h、2.5 mL/3 h±0.3 mL/3 h, 对照组大鼠胃液分泌量为3.3 mL/3 h±0.3 mL/3 h。侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只、0.5 μg/只)均明显抑制了大鼠3 h胃液分泌量, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$, $n=6$), 但两给药组之间, 即侧脑室注射Nesfatin-1(0.5 μg/只)与侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只)后3 h大鼠的胃液分泌量相比差异无统计学意义($P>0.05$, $n=6$)(图1A)。

2.2 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃酸分泌的影响 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后大鼠胃酸分泌量分别为373.6 μmol/3 h±61.5 μmol/3 h、380.0 μmol/3 h±55.8 μmol/3 h, 对照组大鼠胃酸分泌量为582.7 μmol/3 h±59.3 μmol/3 h。侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)均明显抑制了大鼠3 h胃酸的分泌量, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$, $n=6$), 但两给药组之间, 即侧脑室注射Nesfatin-1(0.5 μg/只)与侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只)后3 h大

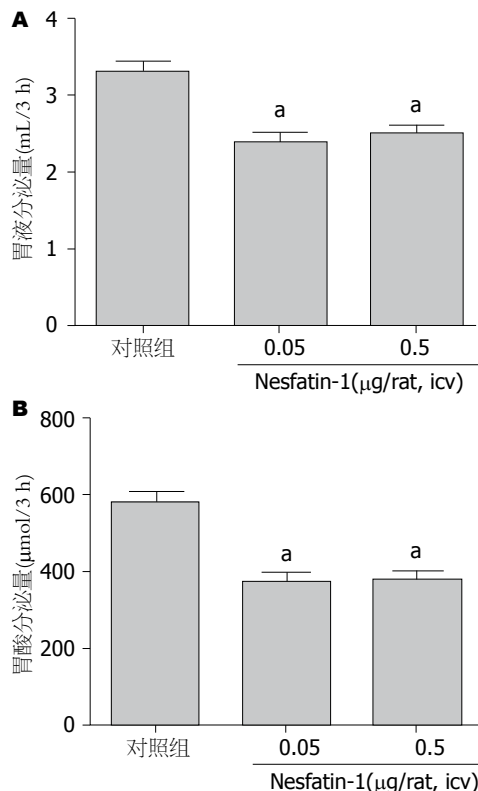


图1 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃液和胃酸分泌的影响。A: 对大鼠胃液分泌的影响; B: 对大鼠胃酸分泌的影响。* $P<0.05$ vs 对照组。

鼠的胃酸分泌量相比差异无统计学意义($P>0.05$, $n=6$)(图1B)。

2.3 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃液分泌的影响 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)大鼠胃液分泌量分别为3.3 mL/3 h±0.4 mL/3 h、3.8 mL/3 h±0.5 mL/3 h, 对照组大鼠胃液分泌量为3.7 mL/3 h±0.7 mL/3 h。外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)与对照组相比, 大鼠3 h胃液分泌量差异无统计学意义($P>0.05$, $n=6$)(图2A)。

2.4 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃酸分泌的影响 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)大鼠胃酸分泌量分别为573.8 μmol/3 h±97.4 μmol/3 h、594.4 μmol/3 h±121.0 μmol/3 h, 对照组大鼠胃酸分泌量为647.6 μmol/3 h±102.8 μmol/3 h。外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)与对照组相比, 大鼠3 h胃酸分泌量差异无统计学意义($P>0.05$, $n=6$)(图2B)。

2.5 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达的影响 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后3 h大鼠胃H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达明显下调($P<0.05$)(图3)。

2.6 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃H⁺-K⁺-

■ 相关报道

Nesfatin-1在大脑中与大量神经递质共表达。Nesfatin-1免疫阳性细胞在外周主要分布在胃黏膜内分泌型细胞, 胰岛及十二指肠布氏腺。Nesfatin-1在胃黏膜中大量与胃泌素共表达, 也有少部分与生长抑素及组胺共表达。

■ 创新盘点

本研究采用了侧脑室及外周静脉给药的方法,从两个不同的方面来观察Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌功能的影响。

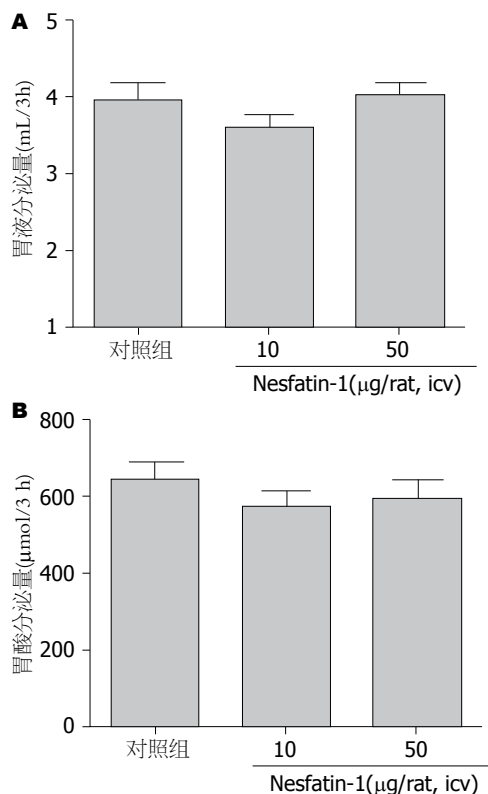


图2 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃液和胃酸分泌无明显影响。A: 大鼠胃液分泌; B: 大鼠胃酸分泌。

ATPase mRNA表达的影响 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)后3 h大鼠胃H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)(图4)。

3 讨论

Nesfatin-1是一种新发现的厌食肽,他来源于NUCB2^[1]。NUCB2是一个功能强大的分泌蛋白,他在维持骨盐代谢和TNF抗体的生成过程中都具有重要的作用^[8,9]。侧脑室注入NUCB2后可以抑制大鼠摄食,而侧脑室注射NUCB2反义寡核苷酸阻断内源性NUCB2后,大鼠的摄食量增加^[11,10-12]。这些研究表明,NUCB2参与了大鼠摄食行为的生理调节。NUCB2在前激素酶的作用可以下裂解成3个片段: Nesfatin-1(1-82残基)、Nesfatin-2(85-163残基)和Nesfatin-3(166-396残基),经侧脑室分别注射Nesfatin-1、Nesfatin-2和Nesfatin-3发现,注射Nesfatin-1后可剂量依赖性地抑制自由饮食大鼠的摄食量和体质量增长,而注射Nesfatin-2、Nesfatin-2/3或Nesfatin-3的大鼠均未见到摄食抑制,经侧脑室注射Nesfatin-1特异性的中和抗体后大鼠摄食量明显增加,提示NUCB2裂解后的3种片段中仅Nesfatin-1具有抑制摄食的功能^[1]。

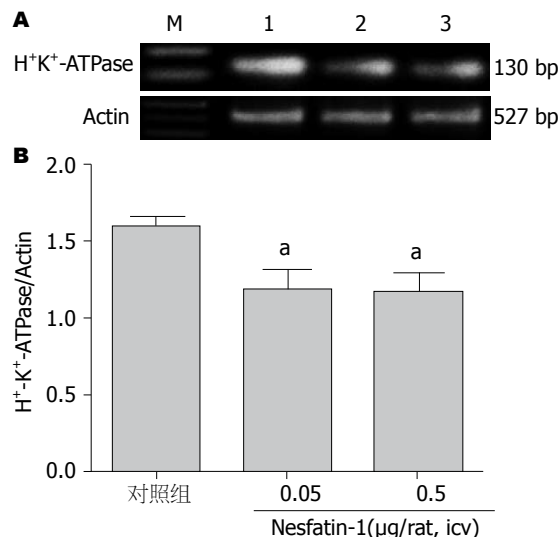


图3 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达的影响。1: 对照组; 2: Nesfatin-1 0.05 μg/rat icv; 3: Nesfatin-1 0.5 μg/rat icv. * $P<0.05$ vs 对照组。

在中枢, Nesfatin-1免疫阳性细胞存在于ARC、SON、PVN、LHA以及脑干的DMV、NTS)、EW和尾脊核中, 这些核团通常被认为与摄食和代谢调节密切相关^[1-4]。Nesfatin-1侧脑室注射抑制了自由饮食大鼠的夜间摄食量, 而肾上腺皮质激素释放因子(CRF1/CRF2)抑制剂、CRF2抑制剂则使Nesfatin-1对大鼠的抑制摄食作用消失, 提示侧脑室注射Nesfatin-1是通过CRF2依赖途径而影响了自由饮食大鼠的夜间摄食量^[13]。

Nesfatin-1在大脑中与大量神经递质共表达, 如下丘脑加压素、催产素、促甲状腺激素释放激素、促肾上腺皮质激素释放激素、生长抑素、生长激素释放激素、黑色素激素、可卡因-苯丙胺调节转录肽; EW和DMV中的胆碱乙酰转移酶、NTS中的酪氨酸羟化酶、尾脊核中的5-羟色胺; 以及延髓儿茶酚胺A2细胞群等^[2,4,14]。提示Nesfatin-1还可能参与了神经内分泌的调节以及对内脏疼痛、压力的自主调节。

Nesfatin-1免疫阳性细胞在外周主要分布在胃黏膜内分泌型细胞、胰岛及十二指肠布氏腺, 在胃黏膜中Nesfatin-1免疫阳性细胞主要集中在下1/3至1/2的黏膜腺中, 胃黏膜的这一部位含有大量的内分泌细胞, 诸如分泌胃泌素的G细胞、分泌生长抑素的D细胞、分泌胃泌素的X/A样细胞还有一些小的内分泌细胞如P细胞和D1细胞^[15-17]。Nesfatin-1在胃黏膜中大量与胃泌素共表达, 也有少部分与生长抑素及组胺共表达^[5]。

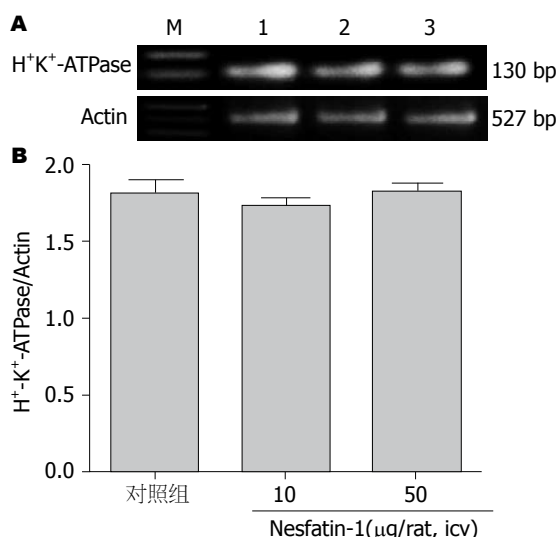


图4 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达无明显影响. 1: 对照组; 2: Nesfatin-1 10 µg/kg iv; 3: Nesfatin-1 50 µg/kg iv.

本研究我们采用了侧脑室及外周静脉给药的方法从两个不同的方面来观察Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌功能的影响. 这2种给药方法由于进行的是在体实验, 因而得出的结果较体外实验如细胞培养等更接近正常生理状态下的反应. 侧脑室注射将药物直接注入脑内, 目前多用于观察脑内核团或脑区对某些药物刺激的反应, 药物可直接作用于对其敏感的神经元, 因而比其他途径给药更直接. 我们在脑立体定位仪下将带有套管芯的套管埋置于侧脑室, 用玻璃离子水门汀及螺丝将套管的外露部分固定于颅骨表面, 术后恢复7 d, 一般认为这时手术应激已消失, 血脑屏障已修复, 此法基本避免了应激及血脑屏障的干扰. 目前为公认的脑内直接给药方法, 本研究我们侧脑室给药量(5 µL/只), 亦为小鼠侧脑室给药的常用量^[18-21].

胃酸的分泌机能受机体神经和激素共同调节. 在中枢神经系统中与胃酸分泌调节有关的主要神经中枢有迷走神经运动背核、下丘脑和孤束核. 引起胃酸分泌的神经冲动约半数来源于迷走神经运动背核, 这些神经冲动通过迷走神经首先传到胃壁的肠神经系统, 然后抵达胃腺. 迷走神经运动背核能对下丘脑的中枢感觉传入和孤束核的内脏感觉传入进行整合, 从而调节胃酸分泌. 中枢神经系统中促进胃酸分泌的神经递质主要有: 乙酰胆碱、胃泌素、促甲状腺素释放激素、生长抑素和胆囊收缩素等, 而5-羟色胺、去甲肾上腺素、蛙皮素、阿片肽

类物质、降钙素等则抑制胃酸的分泌.

胃酸分泌的外周调节主要是食物入胃机械扩张胃体、胃窦以及食糜进入肠内激活肠神经内分泌系统而影响胃酸的分泌. 在外周, 目前已知的促进胃酸分泌的物质主要有: 乙酰胆碱、组胺和胃泌素, 抑制胃酸分泌的物质主要有: 生长抑素、胰泌素、5-HT和前列腺素, 而一些参与摄食调节的神经肽在中枢同样也参与了胃酸分泌的调节. 如中枢注射Ghrelin增加了大鼠摄食量及体质量, 同时也促进了大鼠胃酸的分泌^[22-24]. 而可卡因-苯丙胺调节转录肽中枢注射则抑制了大鼠摄食量及大鼠胃酸的分泌^[25].

Stengel等^[13]报道Nesfatin-1(0.05 µg/只、0.5 µg/只)侧脑室注射抑制了大鼠的胃排空, 我们参照这2种剂量初步探讨了其对大鼠胃酸分泌的影响. 幽门结扎法为一用于研究胃酸分泌的常用方法^[17,24-26]. 我们通过结扎大鼠幽门, 侧脑室及外周静脉注射Nesfatin-1, 来观察大鼠3 h的胃酸分泌量. 结果发现, 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 µg/只、0.5 µg/只)明显抑制了大鼠胃酸的分泌, 而外周静脉注射Nesfatin-1即使达到10 µg/只对大鼠胃酸分泌亦无明显影响, 提示Nesfatin-1抑制大鼠胃酸的分泌可能主要是通过中枢神经系统来调节的. 在中枢侧脑室注射Nesfatin-1 0.5 µg/只与Nesfatin-1 0.05 µg/只对大鼠胃酸分泌的抑制并无差别, 可能是由于已达药效平台期.

胃壁细胞H⁺-K⁺-ATPase是胃酸分泌最后环节的关键酶, H⁺-K⁺-ATPase通过自身的磷酸化和去磷酸化, 将细胞外液中的K⁺转运入细胞内, 同时逆浓度梯度将细胞内的H⁺泵出细胞外, 完成H⁺/K⁺跨膜离子转运和胃酸分泌功能^[27]. 研究发现H⁺-K⁺-ATPase的表达变化趋势与胃酸分泌能力相一致^[28]. 因此通过测定H⁺-K⁺-ATPase的表达可反映胃酸分泌能力. 本研究我们发现, 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 µg/只、0.5 µg/只)后大鼠胃H⁺-K⁺-ATPase mRNA表达明显下调, 表明侧脑室注射Nesfatin-1抑制了大鼠胃酸的分泌.

总之, Nesfatin-1侧脑室注射抑制了大鼠胃酸的分泌, 而外周给药在目前的药物浓度下未显示对大鼠胃酸的抑制. 在中枢, 其作用的具体通路和机制仍需进一步研究. 在外周, 其对大鼠胃酸分泌的影响是否存在, 仍需以更广的药物浓度梯度来进行验证.

应用要点

通过本研究可以了解该物质更多的生理功能, 从而为将来有可能开发该物质的临床应用提供更多的理论依据.

■同行评价

本文设计合理, 实验方法可靠, 结果可信, 有一定的理论和实用价值。

4 参考文献

- Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006; 443: 709-712 [PMID: 17036007 DOI: 10.1038/nature05162]
- Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology* 2007; 148: 5088-5094 [PMID: 17627999 DOI: 10.1210/en.2007-0701]
- Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sed-bazar U, Yoshida N, Dezaki K, Onaka T, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology* 2008; 149: 1295-1301 [PMID: 18048495 DOI: 10.1210/en.2007-1276]
- Foo KS, Brismar H, Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 2008; 156: 563-579 [PMID: 18761059 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.07.054]
- Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T, Taché Y, Sachs G, Lambrecht NW. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 2009; 150: 232-238 [PMID: 18818289 DOI: 10.1210/en.2008-0747]
- Martínez V, Taché Y. Role of CRF receptor 1 in central CRF-induced stimulation of colonic propulsion in rats. *Brain Res* 2001; 893: 29-35 [PMID: 11222989 DOI: 10.1016/S0006-8993(00)03277-7]
- Bilgin HM, Tumer C, Diken H, Kelle M, Sermet A. Role of ghrelin in the regulation of gastric acid secretion involving nitrenergic mechanisms in rats. *Physiol Res* 2008; 57: 563-568 [PMID: 17705669]
- Wendel M, Sommarin Y, Bergman T, Heinegård D. Isolation, characterization, and primary structure of a calcium-binding 63-kDa bone protein. *J Biol Chem* 1995; 270: 6125-6133 [PMID: 7890746 DOI: 10.1074/jbc.270.11.6125]
- Islam A, Adamik B, Hawari FI, Ma G, Rouhani FN, Zhang J, Levine SJ. Extracellular TNFR1 release requires the calcium-dependent formation of a nucleobindin 2-ARTS-1 complex. *J Biol Chem* 2006; 281: 6860-6873 [PMID: 16407280 DOI: 10.1074/jbc.M509397200]
- Cowley MA, Grove KL. To be or NUCB2, is nesfatin the answer? *Cell Metab* 2006; 4: 421-422 [PMID: 17141625 DOI: 10.1016/j.cmet.2006.11.001]
- Myers MG. Keeping the fat off with nesfatin. *Nat Med* 2006; 12: 1248-1249 [PMID: 17088892 DOI: 10.1038/nm1106-1248]
- Colmers WF. Less fat with nesfatin. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18: 131-132 [PMID: 17349797 DOI: 10.1016/j.tem.2007.02.009]
- Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Mönnikes H, Lambrecht NW, Taché Y. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinology* 2009; 150: 4911-4919 [PMID: 19797401 DOI: 10.1210/en.2009-0578]
- Fort P, Salvart D, Hanriot L, Jegu S, Shimizu H, Hashimoto K, Mori M, Luppi PH. The satiety molecule nesfatin-1 is co-expressed with melanin concentrating hormone in tuberal hypothalamic neurons of the rat. *Neuroscience* 2008; 155: 174-181 [PMID: 18573315 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.05.035]
- Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, Lin L, Shi RH, Chen JD, Oomura Y. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1735-1741 [PMID: 20380005 DOI: 10.3748/wjg.v16.i14.1735]
- Forssmann WG, Orci L, Pictet R, Renold AE, Rouiller C. The endocrine cells in the epithelium of the gastrointestinal mucosa of the rat. An electron microscope study. *J Cell Biol* 1969; 40: 692-715 [PMID: 5765761 DOI: 10.1083/jcb.40.3.692]
- Capella C, Solcia E, Vassallo G. Identification of six types of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rabbit. *Arch Histol Jpn* 1969; 30: 479-495 [PMID: 5388105 DOI: 10.1679/aohc.1950.30.479]
- Tamura H, Kamegai J, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S. Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology* 2002; 143: 3268-3275 [PMID: 12193538 DOI: 10.1210/en.2002-220268]
- Tamaddonfard E, Hamzeh-Gooshchi N. Effects of intraperitoneal and intracerebroventricular injection of crocin on acute corneal pain in rats. *Phytother Res* 2010; 24: 1463-1467 [PMID: 20878695 DOI: 10.1002/ptr.3169]
- Hassanzadeh K, Habibi-asl B, Roshangar L, Nemati M, Ansarin M, Farajnia S. Intracerebroventricular administration of riluzole prevents morphine-induced apoptosis in the lumbar region of the rat spinal cord. *Pharmacol Rep* 2010; 62: 664-673 [PMID: 20885006]
- Yosefi M, Reisi P, Alaei H, Pilehvarian AA, Rashidi B. Treadmill running improves spatial learning and memory in the rats with intracerebroventricular injection of streptozotocin. *J Res Med Sci* 2011; 16: 1386-1387 [PMID: 22973337]
- Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141: 4325-4328 [PMID: 11089570 DOI: 10.1210/en.141.11.4325]
- Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913 [PMID: 11057670 DOI: 10.1038/35038090]
- Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 904-907 [PMID: 11162609 DOI: 10.1006/bbrc.2000.4212]
- Okumura T, Yamada H, Motomura W, Kohgo Y. Cocaine-amphetamine-regulated transcript (CART) acts in the central nervous system to inhibit gastric acid secretion via brain corticotropin-releasing factor system. *Endocrinology* 2000; 141: 2854-2860 [PMID: 10919272 DOI: 10.1210/en.141.8.2854]
- Taché Y, Goto Y, Gunion MW, Vale W, River J, Brown M. Inhibition of gastric acid secretion in rats by intracerebral injection of corticotropin-releasing

- factor. *Science* 1983; 222: 935-937 [PMID: 6415815 DOI: 10.1126/science.6415815]
- 27 Yao X, Forte JG. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. *Annu Rev Physiol* 2003; 65: 103-131 [PMID: 12500969 DOI: 10.1146/annurev.physiol.65.072302.114200]
- 28 Hervatin F, Benkouka F, Robert JC, Péranski G, Soumarmon A. The ontogeny of rat gastric H⁺/K⁺-ATPase. *Biochim Biophys Acta* 1989; 985: 320-324 [PMID: 2553120 DOI: 10.1016/0005-2736(89)90419-7]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用

王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民

■背景资料

葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)是一种天然药物。其基本结构单位是儿茶素。OPC中含有儿茶素单体、二聚体和三聚体,均为水溶性分子,分子中含有多个酚性羟基。OPC具有很强的抗氧化作用,还有抗炎活性、抗突变性及抗氧化性DNA损伤的特性,癌症化学预防作用,抗糖尿病作用以及抗微生物活性等。本研究利用OPC抗脂质过氧化及抗炎反应等活性作用,探讨其对酒精性肝损伤及酒精性脑功能障碍的保护作用。

王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 海南医学院临床学院 海南省海口市 571101

何佟, 海南医学院机能学实验室 海南省海口市 571101

陈世民, 海南医学院病理生理学教研室 海南省海口市 571101

海南医学院创新性实验项目基金资助项目, No. hycx201001
海南省普通高等学校优秀青年教师科研和教学奖励基金资助项目, No. 2000-36

作者贡献分布: 本文由王萌、马艺萍、李亚伟、魏婕、张峻豪、何佟及陈世民共同完成; 陈世民负责审校。

通讯作者: 陈世民, 教授, 571101, 海南省海口市学院路3号, 海南医学院病理生理学教研室. smchen2001@126.com
电话: 0898-66895741

收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-03-13

接受日期: 2013-05-08 在线出版日期: 2013-06-08

Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats

Meng Wang, Yi-Ping Ma, Ya-Wei Li, Jie Wei, Jun-Hao Zhang, Tong He, Shi-Min Chen

Meng Wang, Yi-Ping Ma, Ya-Wei Li, Jie Wei, Jun-Hao Zhang, School of Clinical Medicine, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan Province, China

Tong He, Functional Laboratory, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan Province, China

Shi-Min Chen, Department of Pathophysiology, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan Province, China

Supported by: the Innovative Experiment Foundation of Hainan Medical College, No. hycx201001; and the Science Research and Higher Education Award Foundation for Excellent Young and Middle-aged Scholars in Universities in Hainan Province, No. 2000-36

Correspondence to: Shi-Min Chen, Professor, Department of Pathophysiology, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Haikou 571101, Hainan Province, China. smchen2001@126.com

Received: 2013-01-07 Revised: 2013-03-13

Accepted: 2013-05-08 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To study the protective effects of oligomeric proanthocyanidins (OPC) from grape seeds against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats.

METHODS: Thirty-one Sprague-Dawley rats

were randomly divided into four groups: A (treated with normal saline), B (treated with OPC), C (treated with OPC and alcohol), and D (treated with alcohol). Groups A and D were administered intragastrically with 0.9% NaCl [10 mL/(kg·d)], while groups B and C were administered with OPC solution [200 mg/(kg·d)]. After three hours, groups A and B were intragastrically given 0.9% NaCl [10 mL/(kg·d)], while groups C and D were given 55% alcohol [10 mL/(kg·d)]. After 23 d, blood samples were collected from all animals via the inferior vena cava under general anesthesia, and liver and brain tissue samples were taken and fixed in 10% buffer formaldehyde. The level of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the plasma was measured, and the histopathology of the liver and brain was assessed under an optical microscope.

RESULTS: Plasma levels of AST were 110.00 U/L $\pm$ 15.55 U/L, 98.38 U/L $\pm$ 17.86 U/L, 100.14 U/L $\pm$ 14.46 U/L and 176.00 U/L $\pm$ 49.60 U/L in groups A, B, C and D, respectively, and those of ALT were 57.25 U/L $\pm$ 9.04 U/L, 49.50 U/L $\pm$ 6.67 U/L, 50.28 U/L $\pm$ 5.37 U/L and 74.50 $\pm$ 9.69 in groups A, B, C and D. Both AST and ALT levels did not significantly differ between groups A, B and C (all $P > 0.05$); however, both AST and ALT levels were significantly elevated in group D compared to groups A, B, and C (all $P < 0.001$). No significant liver injury was found in groups A and B. The incidence of liver injury in group C was lower than that in group D (57.1% vs 100%, $P = 0.077$), and the area of injured liver was significantly less in group C than in group D (3.6% $\pm$ 3.2% vs 63% $\pm$ 28%, $P < 0.001$). The latent periods from alcohol administration to the onset of drunkenness was significantly longer in group C than in group D (16.43 min $\pm$ 2.71 min vs 10.67 min $\pm$ 2.38 min, $P < 0.0001$). No significant brain injury was found in all four groups by optical microscopy.

CONCLUSION: Pretreatment with OPC provides excellent protection against alcohol-in-

■同行评议者

何红伟, 副研究员, 中国医学科学院, 北京协和医学院医药生物技术研究所肿瘤室

duced liver injury and slows the onset of drunkenness in rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Alcohol-induced liver injury; Cerebral dysfunction; Oxidative stress; Oligomeric proanthocyanidins; Grape seeds

Wang M, Ma YP, Li YW, Wei J, Zhang JH, He T, Chen SM. Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1480-1486 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480>

摘要

目的: 研究葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用。

方法: 将31只SD大鼠随机分为4组。A组为生理盐水组, B组为OPC组, C组为OPC+酒精组及D组为酒精组。2次/d灌胃法, 连续灌胃23 d。观察动物醉酒潜伏期, 血浆天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)和丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)含量以及肝脏和脑组织病理组织学改变。

结果: (1)AST和ALT在A、B及C组之间比较, 差别都没有统计学意义($P>0.05$); D组与其他3组比较, AST和ALT都显著升高, 差别有统计学意义($P<0.001$); (2)A组及B组肝脏组织均未见明显病理改变。C组及D组大鼠肝脏损伤发生率分别为57.1%及100%; 肝组织损伤面积分别为 $3.6\pm 3.2\%$ 及 $63\pm 28\%$, 差异有统计学意义($P<0.001$); (3)C组比D组大鼠平均醉酒潜伏期时间明显延长($P<0.0001$); (4)4组大鼠脑组织在光镜下均未见明显病理改变。

结论: 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤具有明显的保护作用, 还有抗醉酒作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 酒精性肝损伤; 脑功能障碍; 氧化应激; 寡聚体原花青素; 葡萄籽

核心提示: 葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)是一种天然药物, 其基本结构单位是儿茶素。OPC中含有儿茶素单体、二聚体和三聚体, 均为水溶性分子, 分子中含有多个酚性羟基。OPC具有很强的抗氧化作用, 还有抗

炎症活性、抗突变性及抗氧化性DNA损伤的特性, 癌症化学预防作用, 抗糖尿病作用以及抗微生物活性等。本研究利用葡萄籽寡聚体原花青素抗脂质过氧化及抗炎反应等活性作用, 探讨他对酒精性肝损伤及酒精性脑功能障碍的保护作用。

王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民. 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(16): 1480-1486 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480>

0 引言

全球好饮者众多, 衍生许多值得关注的社会及健康问题。据2011年世界卫生组织报告, 饮酒已经成为人类健康的主要杀手之一, 酒精伤害是超过60多种主要疾病及损伤的病因, 每年导致约250万人死亡^[1]。饮酒后, 酒精很快分布于全身组织, 并快速通过血脑屏障。经常酗酒可以导致包括肝脏、中枢神经、周围神经、骨骼肌和心肌等多种组织损伤^[2]。急性酒精中毒时, 大鼠肝内超氧化物形成增多, 过高的超氧化物可使脂质过氧化并导致肝细胞损伤, 即酒精性肝损伤^[3]。由于肝脏是氧化性药物代谢的主要器官, 所以活性氧(reactive oxygen species, ROS)增多很容易引起肝脏损伤^[4]。急性酒精中毒还增加了感染的危险性, 同时增加了胃肠道的通透性, 循环中细菌内毒素升高, 激发了巨噬细胞对Toll样受体(toll-like receptor, TLR)配基的炎症反应, 使更多具有细胞毒性的细胞因子大量产生, 引起肝脏损伤^[5,6]。炎症反应中各种介质和细胞因子的相互作用, 也是酒精性肝损伤重要发生机制之一^[7]。简言之, 氧化应激和炎症系统激活是酒精性肝损伤病理生理学的关键因素。葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)是一种天然药物, 其基本结构单位是儿茶素。OPC中含有儿茶素单体、二聚体和三聚体, 均为水溶性分子, 分子中含有多个酚性羟基。OPC具有很强的抗氧化作用, 还有抗炎活性, 抗突变性及抗氧化性DNA损伤的特性, 癌症化学预防作用, 抗糖尿病作用以及抗微生物活性等^[8,9]。本研究利用OPC抗脂质过氧化及抗炎反应等活性作用, 探讨他对酒精性肝损伤及酒精性脑功能障碍的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD ♂ 大鼠31只, 体质量195.99 g

■ 研发前沿

酒精对人类健康的危害已成共识。寻找天然药物预防或治疗酒精性肝损伤及脑功能障碍, 已经成为人们关注的研究要点之一。

■相关报道

OPC具有强大的抗氧化、抗炎、抗突变性、抗微生物活性、抗糖尿病及癌症化学预防作用等。

±19.04 g, 购自中山大学实验动物中心。12 h光照和黑夜循环, 温度22℃±2℃, 湿度50%-60%, 标准饲料, 自由饮水。将动物随机分成4组: A组为生理盐水组($n=8$), B组为OPC组($n=8$), C组为OPC+酒精组($n=7$, 1只在灌胃时意外死亡, 故去除)及D组为酒精组($n=8$)。2次/d灌胃, 首次灌胃前禁食过夜(12 h)。A组第1次按10 mL/(kg·d)生理盐水灌胃, 第2次于3 h后按10 mL/(kg·d)生理盐水灌胃; B组第1次按OPC 200 mg/(kg·d)[用生理盐水配成2%的浓度, 10 mL/(kg·d)]灌胃, 第2次于3 h后按10 mL/(kg·d)生理盐水灌胃; C组第1次灌胃按OPC 200 mg/(kg·d)[用生理盐水配成2%的浓度, 10 mL/(kg·d), bw]灌胃, 第2次于3 h后用生理盐水配制酒精浓度为55%, 按10 mL/(kg·d), bw量灌胃; D组第1次按10 mL/(kg·d)生理盐水灌胃, 第2次于3 h后用生理盐水配制酒精浓度为55%, 按10 mL/(kg·d)灌胃。以上4组连续灌胃23 d。随后, 全身麻醉, 取血, 分离血浆。处死所有动物, 取肝脏及脑组织送病理学检查。贝克曼-库尔特LX-20生化自动分析仪, 用于检测血浆天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)及丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)。AST和ALT试剂盒由广州标佳科技有限公司生产; 红星二锅头酒(62%乙醇)由北京红星股份有限公司生产; 葡萄籽提取物原花青素(又称葡萄多酚), 由青岛海隆达生化科技有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 醉酒潜伏期、平均醉酒潜伏期及总平均醉酒潜伏期: 观察C组及D组大鼠每次灌酒后至开始出现醉酒状态的醉酒潜伏期时间。以翻正反射消失为判断大鼠醉酒的指标。计算同组所有大鼠同1 d醉酒潜伏期时间的平均数作为平均醉酒潜伏期。计算同组所有大鼠实验期间内全部醉酒潜伏期时间的平均数作为总平均醉酒潜伏期。

1.2.2 血浆AST及ALT含量: 动物全身麻醉, 剖腹, 暴露下腔静脉, 用注射器直接穿刺取血, 肝素抗凝。静置后离心, 取血浆送临床生化检验AST及ALT。

1.2.3 组织病理学: 取肝脏组织及脑组织, 立即用10%中性缓冲甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋切片, HE染色, 由病理学专科医生光镜下观察组织病理学改变并诊断。大鼠肝损伤发生率 = 发生肝损伤例数/本组动物总数, 肝损伤面积百分率的计算参考文献[10]方法。考虑到酒精性肝损伤并非匀质, 故改随机固定视野为连续视野全覆

盖观察。用含刻度标尺的目镜观察, 先测量组织切片的面积, 再测量其中损伤肝细胞区域面积, 肝损伤面积百分率 = 损伤肝细胞区域面积/组织切片的面积×100%。

统计学处理 采用SPSS11.0软件进行统计学处理, 计量资料数据以mean±SD表示, 组间比较采用方差分析, 率的比较采用Fisher确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量变化 测量各组动物实验开始时(第1天)及实验结束时(第23天)的体质量, 各组动物体质量均见明显增加, 差异有统计学意义($P<0.001$)。而各组间体质量增加百分率差别没有统计学意义($P>0.05$, 表1)。

2.2 OPC对大鼠血浆AST及ALT含量的影响 A、B及C组之间比较, 血浆AST及ALT含量差异没有统计学意义($P>0.05$)。D组与其他3组比较, 血浆AST及ALT含量都显著升高, 差异有统计学意义($P<0.001$, 表2)。

2.3 OPC对大鼠肝组织形态学的影响

2.3.1 各组大鼠肝损伤发生率及肝损伤面积百分率的比较: A组及B组肝脏组织均未见明显病理改变。C组及D组大鼠肝脏组织损伤发生率差异没有统计学意义($P=0.077$), 但两组肝组织损伤面积及严重程度的差异有统计学意义($P<0.001$, 表3)。

2.3.2 各组大鼠肝组织形态学改变: A组及B组大鼠肝内可见肝小叶结构正常, 以中央静脉为中心呈放射状排列, 肝细胞索排列正常; C组肝小叶结构正常, 仅见局灶少量肝细胞轻微水肿及脂肪变性; D组部分肝小叶结构异常, 可见广泛性水肿变性及脂肪变性肝细胞, 局部有坏死灶并有炎症细胞浸润(图1)。

2.4 OPC对大鼠发生醉酒潜伏期时间的影响 C组及D组大鼠每天灌酒后至发生醉酒的平均醉酒潜伏期时间的动态变化如图2。C组总平均醉酒潜伏期时间为16.43 min±2.71 min, D组总平均醉酒潜伏期时间为10.67 min±2.38 min, 两组差别有统计学意义($P<0.0001$)。将同组各天与第1天平均醉酒潜伏期时间比较, 发现C组及D组大鼠均从第19天开始, 比第1天平均醉酒潜伏期时间明显延长, 差别有统计学意义($P<0.05$)。将同组第23天与第19天比较, C组发生平均醉酒潜伏期时间差别没有统计学意义($P>0.05$), 但D组发生平均醉酒潜伏期时间差

■创新盘点

本文发现OPC不仅对大鼠酒精性肝损伤具有明显的保护作用, 还有抗醉酒作用。

表 1 各组大鼠实验前后体质量变化 (mean ± SD, g)

分组	n	实验开始时(第1天)	实验结束时(第23天)	平均体质量增加百分率(%)
生理盐水组	8	201.20 ± 20.45	221.87 ± 20.97 ^b	10.27
OPC组	8	195.87 ± 13.39	217.00 ± 13.62 ^b	10.79
OPC+酒精组	7	188.14 ± 19.74	211.71 ± 20.26 ^b	12.53
酒精组	8	197.75 ± 22.91	218.25 ± 24.02 ^b	10.37

^b*P* < 0.001 vs 实验开始时(第1天). OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

表 2 OPC对大鼠血浆AST及ALT含量的影响 (mean ± SD, U/L)

分组	n	AST	ALT
生理盐水组	8	110.00 ± 15.55	57.25 ± 9.04
OPC组	8	98.38 ± 17.86	49.50 ± 6.67
OPC+酒精组	7	100.14 ± 14.46	50.28 ± 5.37
酒精组	8	176.00 ± 49.60 ^b	74.50 ± 9.69 ^b

^b*P* < 0.001 vs 其他组. AST: 天门冬氨酸氨基转氨酶; ALT: 丙氨酸氨基转氨酶. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

表 3 OPC对大鼠酒精性肝损伤发生率及损伤面积的影响 (%)

分组	n	肝损伤发生率	肝损伤面积百分率
生理盐水组	8	0	0
OPC组	8	0	0
OPC+酒精组	7	57.1 ^b	3.6 ± 3.2 ^b
酒精组	8	100 ^b	63 ± 28 ^{bd}

^b*P* < 0.0001 vs 生理盐水组及OPC组; ^d*P* < 0.001 vs OPC+酒精组. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

别有统计学意义(*P* < 0.05).

2.5 OPC对大鼠脑组织形态学的影响 4组大鼠脑组织在光镜下均未见明显病理改变. 本实验未检测脑细胞超微结构及分子水平的改变.

3 讨论

酒精在肝脏代谢有3种途径: (1)乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)作用; (2)细胞色素P4502E1(CYP2E1)作用; (3)线粒体催化酶作用. ADH和CYP2E1将乙醇转化为乙醛, 乙醛是损害肝脏的因素之一. 酒精性肝损伤的发病机制非常复杂, 涉及生化、遗传、细胞、免疫及体液性因素等. 其中, 由酒精诱导的CYP2E1引起的氧化应激(H₂O₂, OH, O₂-增多), 同时肝内抗氧化剂不足, 乙醛作用, 许多细胞因子[主要是肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α), 白介素(interleukin, IL)-6, IL-1α/β]平衡改变等, 是酒精引起肝脏损伤的主要机制^[11].

本实验表明, D组大鼠血浆AST及ALT含量显著升高, 肝脏损伤发生率为100%, 肝脏损伤面积达63% ± 28%, 肝组织广泛性明显水肿, 并可见较多脂肪变性细胞. 表明成功复制了酒精性肝损伤模型.

我们将C组预先灌胃OPC 3 h后再灌胃酒精, 发现AST和ALT没有显著升高, 在A、B及C组之间的差别没有统计学意义(*P* > 0.05). A组及B组肝脏组织均未见明显病理改变. C组与D组的实验结果对比, 前者血浆AST及ALT含量明显低于后者(*P* < 0.001), 且肝脏损伤发生率从100%降至57.1%, 肝脏损伤面积从63% ± 28%降至3.6% ± 3.2%(*P* < 0.001). 证明OPC对酒精性肝损伤具有明显保护作用.

OPC具有强大的抗氧化应激和细胞保护作用^[8,9,12]. OPC的抗自由基能力和抗自由基引起的脂质过氧化及DNA损伤作用, 明显强于维生素C、E及β-胡萝卜素^[13]. OPC还有抗炎活性,

■应用要点

OPC可护肝护脑,
预防酒精性肝损
伤及脑功能障碍.

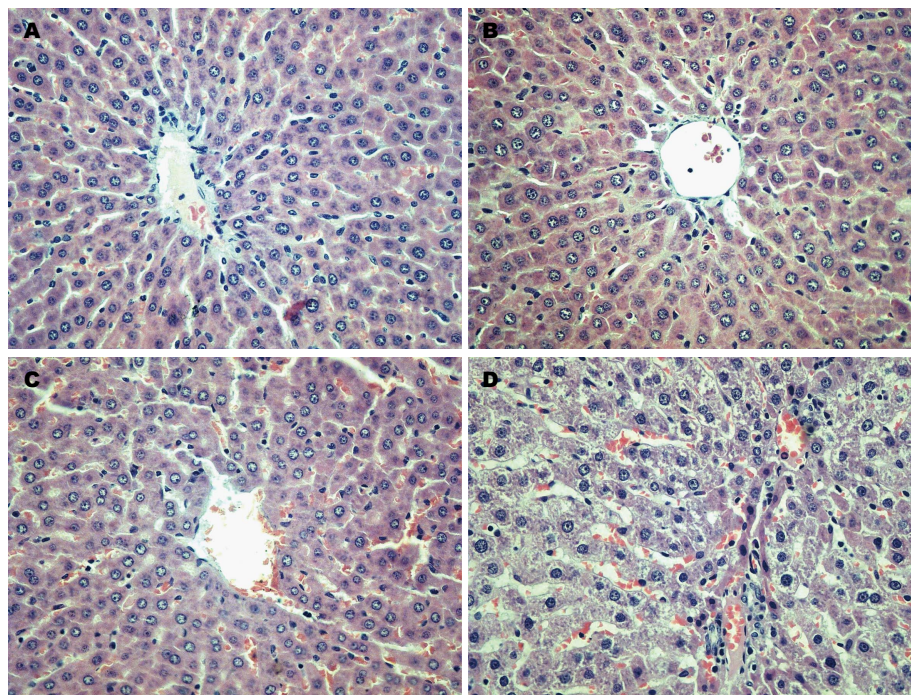


图1 OPC对酒精性肝损伤的保护作用(HE, $\times 400$). A: 生理盐水组; B: OPC组; C: OPC+酒精组; D: 酒精组. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

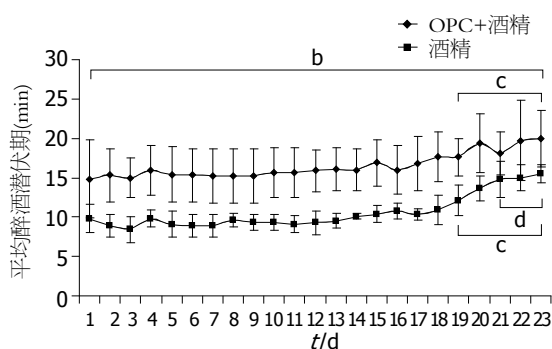


图2 OPC对大鼠发生醉酒潜伏期时间的影响. ^b $P<0.0001$ vs 酒精组; ^c $P<0.05$ vs 同组第1天; ^d $P<0.05$ vs 同组第19天. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

可以减少IL-6和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)表达, 提高抗炎介质脂肪因子脂联素产生^[14]. 还可以通过抑制NO和前列腺素E₂的合成, 抑制iNOS mRNA表达及核转录因子- κ B转位, 调节激活的巨噬细胞的炎症反应^[15]. 我们认为OPC对酒精性肝损伤的保护作用与其广泛的生物学效应, 如抗氧化应激、抗炎活性和细胞保护作用有关.

醉酒状态是酒精引起脑功能障碍的重要表现. 实验证明, 醉酒动物运动功能降低与大脑皮层线粒体功能障碍, 导致脑能量代谢障碍有关^[16].

给大鼠灌胃酒精10 wk后, 大脑皮层及海马区脂质过氧化物明显升高, 而具有抗氧化特性的还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、

超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性则明显降低. 此外, TNF- α 、IL-1 β 、NF κ B p65亚基及细胞凋亡蛋白酶(caspase-3)在大鼠大脑皮层及海马区也有显著升高^[17]. 说明酒精性脑损伤和酒精性肝损伤存在一些共同发病机制, 即均有氧化应激及炎症介质的作用.

在临床研究中, 非创伤性结构成像技术发现慢性酒精中毒患者大脑灰质及白质容量减少, 而戒酒后可部分逆转恢复. 功能影像方法证明酒精中毒患者脑内代谢异常, 如低血糖代谢和神经递质系统平衡破坏等^[18].

本实验D组动物灌胃酒精后约10 min即发生脑功能障碍, 表现为醉酒状态. 而C组动物灌胃酒精后约16 min才出现醉酒状态. C组大鼠每天的平均醉酒潜伏期时间均比D组明显延长($P<0.0001$), 说明OPC具有抗醉酒功效. 特别是, C组第1天给予OPC 3 h后, 大鼠醉酒潜伏期就明显延长, 说明该药物即用即效, 不需累积生效. 我们认为, OPC抗醉酒作用机制可能与其强大的抗脑组织氧化应激和炎症反应以及改善脑能量代谢和神经元保护有关.

有实验证明, OPC可以增加神经元轴突的密度, 提高血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)的磷酸化, 改善早老小鼠的记忆, 减轻认知障碍及减少大脑神经病理学改变等, 提示OPC具有神经保护作用^[19-22].

连续灌酒19 d后, C组和D组动物均对酒精产生了适应性, 醉酒潜伏期明显延长($P<0.05$)。我们认为, 这主要是大脑对酒精的适应性反应, 而不是肝脏的适应性反应。因为, 将同组第23天与第19天比较, D组大鼠肝功能已经明显受损情况下, 醉酒潜伏期仍然进一步延长($P<0.05$)。这也表明醉酒潜伏期延长并不意味着肝脏损害减轻。

本实验各组大鼠脑组织在光镜下均未见明显病理改变。关于酒精中毒对脑细胞的影响, 以及OPC对脑细胞保护作用的机制, 需要进行细胞超微结构及分子水平的研究。

先灌OPC后灌酒, 可以明显预防或减轻大鼠酒精性肝损伤, 同时还可明显保护脑功能, 对临床应用有很大的启发作用。

本实验结果提示, OPC对大鼠酒精性肝损伤具有明显的保护作用, 同时还具有抗醉酒作用。

志谢: 本项目在实施过程中得到海南医学院教务部、机能学实验室、病理学教研室及附属医院检验科的大力支持。在组织病理学检查方面, 得到翁阳教授、张弦老师、薛蓬贵及蓝永洪老师的无私帮助; 在血浆转氨酶检测方面, 得到蔡仁平老师的无私帮助; 在数据统计学处理方面, 得到吴玲老师和赵婵娟老师的无私帮助; 在此一并表示衷心感谢。

4 参考文献

- 1 World Health Organization. Global Status Report on Alcohol and Health 2011. Geneva: WHO Press 2011. Available from: http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/index.html
- 2 Chopra K, Tiwari V. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities. *Br J Clin Pharmacol* 2012; 73: 348-362 [PMID: 21988193 DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x]
- 3 Adachi M, Ishii H. Role of mitochondria in alcoholic liver injury. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 487-491 [PMID: 11958949]
- 4 Arteel GE. Oxidants and antioxidants in alcohol-induced liver disease. *Gastroenterology* 2003; 124: 778-790 [PMID: 12612915]
- 5 Massey VL, Arteel GE. Acute alcohol-induced liver injury. *Front Physiol* 2012; 3: 193 [PMID: 22701432 DOI: 10.3389/fphys.2012.00193]
- 6 Nolan JP. The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and evolving history. *Hepatology* 2010; 52: 1829-1835 [PMID: 20890945 DOI: 10.1002/hep.23917]
- 7 An L, Wang X, Cederbaum AI. Cytokines in alcoholic liver disease. *Arch Toxicol* 2012; 86: 1337-1348 [PMID: 22367091 DOI: 10.1007/s00204-012-0814-6]
- 8 Prapthasawat R, Klungsupya P, Muangman T, Lao-vitthayangoon S, Arunpairojana V, Himakoun L.

- Antimutagenicity and antioxidative DNA damage properties of oligomeric proanthocyanidins from Thai grape seeds in TK6 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1317-1321 [PMID: 21875289]
- 9 Xu Z, Du P, Meiser P, Jacob C. Proanthocyanidins: oligomeric structures with unique biochemical properties and great therapeutic promise. *Nat Prod Commun* 2012; 7: 381-388 [PMID: 22545414]
- 10 姚凤云, 杨伟鹏, 肖洪彬, 段富津, 穆欣, 王彦礼, 王怡薇. 肝加欣片对酒精性肝损伤大鼠肝组织病理学改变的影响. *中国实验方剂学杂志* 2006; 12: 54-55
- 11 Bruha R, Dvorak K, Petrtyl J. Alcoholic liver disease. *World J Hepatol* 2012; 4: 81-90 [PMID: 22489260 DOI: 10.4254/wjh.v4.i3.81]
- 12 Kim Y, Choi Y, Ham H, Jeong HS, Lee J. Anti-oxidant and cytoprotective effects of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from defatted grape seed in PC12 cells. *J Med Food* 2012; 15: 490-494 [PMID: 22400909]
- 13 Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 148: 187-197 [PMID: 10962138]
- 14 Chacón MR, Ceperuelo-Mallafre V, Maymó-Masip E, Mateo-Sanz JM, Arola L, Guitierrez C, Fernandez-Real JM, Ardèvol A, Simón I, Vendrell J. Grape-seed procyanidins modulate inflammation on human differentiated adipocytes in vitro. *Cytokine* 2009; 47: 137-142 [PMID: 19560935 DOI: 10.1016/j.cyt.2009.06.001]
- 15 Terra X, Valls J, Vitrac X, Mérrillon JM, Arola L, Ardèvol A, Bladé C, Fernandez-Larrea J, Pujadas G, Salvadó J, Blay M. Grape-seed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFκB signaling pathway. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 4357-4365 [PMID: 17461594]
- 16 Bustamante J, Karadayian AG, Lores-Arnaiz S, Cutrera RA. Alterations of motor performance and brain cortex mitochondrial function during ethanol hangover. *Alcohol* 2012; 46: 473-479 [PMID: 22608205 DOI: 10.1016/j.alcohol.2011.09.027]
- 17 Tiwari V, Chopra K. Resveratrol abrogates alcohol-induced cognitive deficits by attenuating oxidative-nitrosative stress and inflammatory cascade in the adult rat brain. *Neurochem Int* 2013; 62: 861-869 [PMID: 23422878]
- 18 Bühler M, Mann K. Alcohol and the human brain: a systematic review of different neuroimaging methods. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35: 1771-1793 [PMID: 21777260 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2011.01540.x]
- 19 Yokozawa T, Lee YA, Cho EJ, Matsumoto K, Park CH, Shibahara N. Anti-aging effects of oligomeric proanthocyanidins isolated from persimmon fruits. *Drug Discov Ther* 2011; 5: 109-118 [PMID: 22466239]
- 20 Lee YA, Cho EJ, Yokozawa T. Oligomeric proanthocyanidins improve memory and enhance phosphorylation of vascular endothelial growth factor receptor-2 in senescence-accelerated mouse prone/8. *Br J Nutr* 2010; 103: 479-489 [PMID: 19822031 DOI: 10.1017/S0007114509992005]
- 21 Hartman RE, Shah A, Fagan AM, Schwetky KE, Parsadian M, Schulman RN, Finn MB, Holtzman DM. Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2006; 24: 506-515 [PMID:

■同行评价

本文的结论明确, 文字流畅, 统计恰当, 具有一定的科学性、创新性。

- 17010630]
22 Wang J, Ho L, Zhao W, Ono K, Rosensweig C, Chen L, Humala N, Teplow DB, Pasinetti GM. Grape-derived polyphenolics prevent Abeta oligomerization

and attenuate cognitive deterioration in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2008; 28: 6388-6392 [PMID: 18562609 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0364-08.2008]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



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

• 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、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有版权,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,须经得《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。

microRNA-183家族的表达在肝细胞癌临床诊断中的价值

邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福

邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福, 南通大学附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226001

邱历伟, 硕士, 主要从事肿瘤早期诊断及分子机制的研究。

南通市科技应用研究计划基金资助项目, No. K2010026

国家国际科技合作专项基金资助项目, No. 2013DFA32150

作者贡献分布: 方法研究、数据整理和文章起草由邱历伟完成; 病例选择由赛文莉与杨君伶完成; 顾星与时运参加完成部分研究工作; 临床资料和统计分析由吴玮与张海健完成; 设计、论文修改和审阅由陆少林与姚登福完成。

通讯作者: 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院临床医学研究中心. yaodf@ahnmc.com
电话: 0513-85052413

收稿日期: 2013-03-08 修回日期: 2013-03-26

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Diagnostic value of expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma

Li-Wei Qiu, Wei Wu, Wen-Li Sai, Jun-Ling Yang, Hai-Jian Zhang, Xing Gu, Yun Shi, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao

Li-Wei Qiu, Wei Wu, Wen-Li Sai, Jun-Ling Yang, Hai-Jian Zhang, Xing Gu, Yun Shi, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao, Research Center for Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Applied Research Project of Department of Science and Technology of Nantong, China, No. K2010026; and International Science and Technology Cooperation Program of China, No. 2013DFA32150

Correspondence to: Deng-Fu Yao, Professor, Research Center for Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yaodf@ahnmc.com

Received: 2013-03-08 Revised: 2013-03-26

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze their diagnostic value.

METHODS: The expression of miR-183 family members (miR-96, miR-182 and miR-183) was examined by real-time reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) in HCC and matched tumor-adjacent and tumor-distant tissues, and in 80 serum samples

from patients with HCC, cirrhosis or chronic hepatitis B, and health controls.

RESULTS: The levels of miR-96 and miR-182 expression in tissues and sera of HCC patients were significant higher than those in any of other groups (all $P < 0.001$). The level of miR-183 in the liver was significantly lower in HCC than in matched tumor-adjacent and tumor-distant tissue (both $P < 0.001$), although there was no significant difference in serum miR-183 between each group. Liver expression of miR-183 family members was positively associated with their serum levels ($r_{\text{miR-96}} = 0.815$, $r_{\text{miR-182}} = 0.806$, $r_{\text{miR-183}} = 0.851$) in HCC. The areas under the receiver operating characteristic curve of serum miR-96 and miR-182 were 0.927 and 0.940. The relative level of serum miR-183 was significantly higher in patients with extrahepatic metastasis than in those without extrahepatic metastasis ($P < 0.019$).

CONCLUSION: Expression of miR-96 and miR-182 is up-regulated and that of miR-183 down-regulated in HCC. Circulating miR-96 and miR-182 are useful biomarkers for HCC diagnosis. Down-regulation of miR-183 is associated with HCC extrahepatic metastasis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; MicroRNA; RT-qPCR; Diagnosis

Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ, Gu X, Shi Y, Lu SL, Yao DF. Diagnostic value of expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1487-1492 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1487.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1487>

摘要

目的: 探讨肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织及血清中microRNA-183家族的表达与诊断价值。

方法: 采用实时荧光定量PCR法, 检测以自身对照法HCC患者组织(癌、癌周和远癌)和血清中miR-96、miR-182及miR-183的表达, 并

■背景资料

miRNA由19-26核苷酸组成, 可调节其下游多个甚至数百个靶基因, miRNA在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生过程中, 既可通过调节细胞凋亡或者细胞周期, 也可经调节癌基因和/或抑癌基因参与肿瘤的发生途径, 影响肝癌的发生。

■同行评议者

唐南洪, 教授, 福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

■ 研发前沿

近年研究发现MicroRNA(miRNA)在血中稳定,即使在血清中加入RNase、Dnase、盐酸、氢氧化钠等或反复冻融处理,仍能检测到表达稳定的miRNA,说明血miRNA可作为一种新标志物用于肝癌诊断。

与肝硬化、慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者及健康体检者进行比较。

结果: HCC患者的癌组织和血清miR-96和miR-182表达量均明显高于其他组($P < 0.001$); miR-183癌组织相对表达量显著低于远癌及癌周($P < 0.001$),但在血清中各组间差异无统计学意义。HCC患者组织及血清miR-183家族表达呈明显正相关($r_{\text{miR-96}} = 0.815$ 、 $r_{\text{miR-182}} = 0.806$ 、 $r_{\text{miR-183}} = 0.851$)。血清miR-96、miR-182 ROC曲线下面积分别为0.927和0.940。HCC患者血清miR-183相对表达量与肝外转移相关($P = 0.019$)。

结论: HCC组织miR-183家族呈异常表达,呈现miR-96和miR-182升高,miR-183下降;血miR-96和miR-182异常表达有助于肝癌诊断,而miR-183降低与HCC转移相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝细胞癌; microRNA; 实时定量PCR; 诊断

核心提示: 人类约50%miRNAs以miRNA家族或称基因簇(miRNA clusters)的形式存在,miR-183家族即是其中之一。miR-183家族基因定位于人类染色体7q32,编码miR-96、miR-182及miR-183,其序列在不同动物物种中高度保守。

邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福. microRNA-183家族的表达在肝细胞癌临床诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1487-1492 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1487.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1487>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国常见的恶性肿瘤,其发生、发展是多因素、多基因和多步骤的复杂过程^[1,2]。MicroRNA(miRNA)是一类内源性非编码小分子RNA,可经序列特异性翻译抑制或miRNA裂解来调控其靶基因,他们通过与靶基因miRNA的结合调控其他基因miRNA和蛋白的表达,参与发育、炎症、肿瘤等多种生理、病理过程。HCC中多个miRNA的异常表达已被证明参与了HCC的发生发展。我国绝大多数肝癌患者与HBV感染密切相关,但HBV感染发展到肝硬化或肝癌进程中,有关miRNA表达研究较少^[3-5]。本文初步分析了miRNA-183家族成员在肝癌不同组织及外周血中的表达及相关性,旨在探讨该家族在肝癌诊断中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 按自身配对法收集2010-03/2011-03南通大学附属医院住院肝癌患者的手术后新鲜组织分为癌灶、癌周(距癌中心 ≥ 3 cm)及远癌(距癌中心 > 5 cm)组并留取血清,其中男12例,女8例;年龄37-77岁,平均 58.5 ± 8.4 岁。HCC患者术前均未做任何抗HCC治疗,术后均病理检查证实为HCC。另从住院患者中收集肝硬化及慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者血清各20例,其诊断符合中华医学会2010版《慢性乙型肝炎防治指南》标准。20例健康人血清来自健康体检人群,无重要器官疾病史,乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)均正常。miRcute miRNA提取分离试剂盒、miRcute miRNA cDNA第一链合成试剂盒、miRcute miRNA荧光定量检测试剂盒和microRNA特异性引物由北京天根公司提供和合成; miRNeasy mini kit试剂盒购自德国QIAGEN公司; TRIzol LS购自美国Invitrogen公司; Rotor-Gene Q实时荧光定量PCR仪为德国QIAGEN公司产品; 高速冷冻离心机Z300K为德国HERMLE公司产品。

1.2 方法

1.2.1 组织及血清miRNA提取: 50 mg肝组织,加入MZ裂解液1 mL,置液氮中研磨匀浆后按照miRcute miRNA提取分离试剂盒说明书步骤完成,提取的小分子RNA溶于20 μ L Rnase-free ddH₂O中备用。200 μ L新鲜血清加入3倍体积的TRIzol LS后震荡混匀,加入0.5 mL氯仿后震荡混匀,12000 r/min 4 $^{\circ}$ C离心15 min,取上清,加入1.5倍体积的无水乙醇,按照miRNeasy mini kit试剂盒说明书步骤完成提取,取得的RNA溶解于200 μ L Rnase-free ddH₂O中备用。

1.2.2 荧光定量PCR检测组织和血清中miRNA: miRNA逆转录按照miRcute miRNA cDNA第一链合成试剂盒说明书步骤进行。荧光定量PCR按照miRcute miRNA荧光定量检测试剂盒说明书进行检测。反应体系为20 μ L,包括第一链合成cDNA、miRcute miRNA premix及引物(引物序列见表1)。反应条件: 94 $^{\circ}$ C预变性2 min; 然后94 $^{\circ}$ C 20 s、60 $^{\circ}$ C 35 s,进行35-45个循环反应。以U6 RNA(组织)及miR-16(血清)作为内参。组织及血清中miR-96、miR-182及miR-183相对表达量比较采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,组织及血清中miR-96、miR-182及miR-183相关分析中,相对表达量计

表 1 相关基因定量PCR引物设计

	扩增序列	基因序列号	引物序列
目的基因	miR-96	MIMAT0000095	TATGGCACTGGTAGAATTCACCT
	miR-182	MIMAT0000259	TTTGGCAATGGTAGAAGTACACA
	miR-183	MIMAT0000261	TTTGGCACTAGCACATTTTGTGCT
内参基因	U6 RNA	X07425.1	CACCACGTTTATACGCCGTG
	miR-16	MIMAT0000069	TAGCAGCACGTAAATATTGGCG

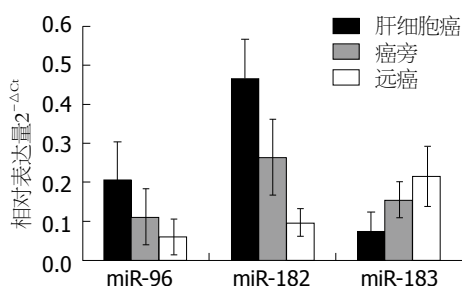


图 1 肝癌组织中miR-183家族成员的相对表达量。

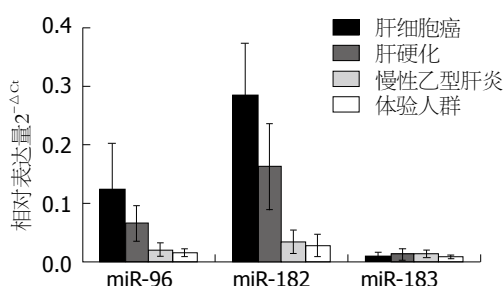


图 2 不同肝病患者的血清中miR-183家族相对表达量。

算公式为 $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ [6]。每个样品以3次重复测定取平均值,同时做空白组以提高实验可靠性。

统计学处理 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。应用方差分析比较不同组间miRNA相对表达量差异,通过双变量线性回归与相关分析分析HCC患者癌组织与相应血清miRNA相对表达量的相关性,应用ROC受试者工作曲线分析血清miRNA诊断价值,应用两样本 t 检验比较不同病理指标间miRNA相对表达量差异。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。所有统计学检验应用SPSS12.0软件包进行。

2 结果

2.1 肝癌组织中miR-96、miR-182及miR-183的表达 在20例HCC癌组织及配对的癌周及远癌组织中,miR-96及miR-182的相对表达量均表现为癌组织>癌周>远癌的趋势,其差异均有统计学意义($F_{\text{miR-96}} = 39.54$, $F_{\text{miR-182}} = 100.03$, $P = 0.0000$),而与此相反,miR-183的相对表达量在癌组织中

最低,明显低于配对的癌周及远癌组织($F_{\text{miR-183}} = 28.87$, $P = 0.0000$)(图1)。

2.2 血清中miR-96、miR-182及miR-183的表达 miR-183家族在血清中的表达规律与组织基本一致,HCC患者血清miR-96及miR-182的相对表达量均明显高于肝硬化、CHB及正常体检者,差异有统计学意义($F_{\text{miR-96}} = 27.10$, $F_{\text{miR-182}} = 84.68$, $P = 0.0000$),而miR-183相对表达水平在各组血清中均较低,各组间无统计学差异($F_{\text{miR-183}} = 2.72$, $P = 0.0665$)(图2)。

2.3 血清与组织中miR-96、miR-182及miR-183表达的相关性 按照计算公式 $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$,分别算出miR-96、miR-182及miR-183在20例HCC患者癌组织及自身血清中的相对表达量(差异倍数),经过双变量线性回归和相关分析得出HCC患者癌组织与相应血清中的miR-96、miR-182及miR-183相对表达量均呈正相关,相关系数分别为 $r_{\text{miR-96}} = 0.815$ 、 $r_{\text{miR-182}} = 0.806$ 、 $r_{\text{miR-183}} = 0.851$,经统计学分析,均 $P < 0.001$ (图3)。

2.4 血清miR-96、miR-182检测在肝癌诊断中的价值 采用受试者工作曲线图分析受试人群中血清miR-96及miR-182相对表达量在肝癌诊断中的应用,发现血清miR-96及miR-182曲线下面积分别为0.927和0.940。以血清miR-96相对表达量0.052为临界值,对肝癌的诊断敏感性为95%,特异性为81.7%;以血清miR-182相对表达量0.157为临界值,对肝癌诊断敏感性为95%,特异性为83.3%(图4)。

2.5 血清miR-96、miR-182及miR-183与肝癌病理学指标的关系 HCC患者血清miR-96、miR-182表达水平与肝癌肿瘤直径、血甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)水平、肿瘤分化程度及是否有肝外转移等病理指标无关($P > 0.05$)。血清miR-183表达水平与肿瘤直径、AFP及分化程度无关,但与患者是否有肝外转移有关($P = 0.019$, 表2)。

■ 相关报道

miR-183家族成员在多种肿瘤中有差异表达,如miR-96和miR-182在结直肠癌、前列腺癌中高表达,miR-183在骨肉瘤、卵巢癌中低表达等,miR-183家族可作为癌基因(miR-96和miR-182)和抑癌基因(miR-183)在肝癌发生发展过程中发挥作用。

■ 创新盘点

miR-183家族在非小细胞肺癌中是一种潜在的肿瘤标志物,其表达与肺癌的诊断、预后判断密切相关,但检测血清miR-183家族在肝癌诊断中的应用尚未见报道。

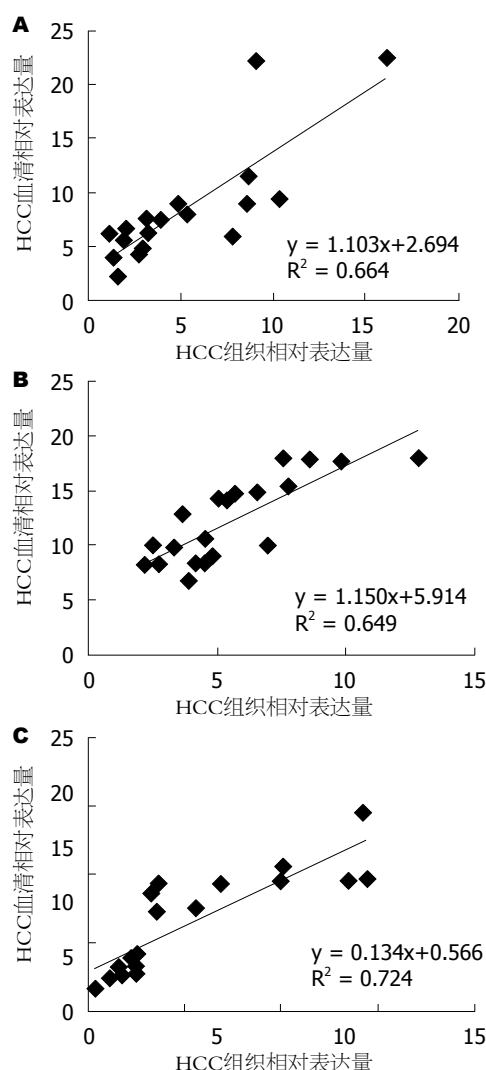


图3 HCC患者血清与组织miR-183家族表达的相关性. A: miR-96; B: miR-182; C: miR-183. HCC: 肝细胞癌。

3 讨论

HCC是我国的高发恶性肿瘤之一,在所有恶性肿瘤中其发病率为第3位,死亡率为第2位,每年约有11万肝癌患者因病死亡^[7]。目前肝癌的治疗仍以手术切除为主,但由于肝癌有易转移及术后易复发等特点,术后5年生存率仍不十分理想,因而对肝癌的治疗效果很大程度上依赖于早期发现、早期诊断和早期手术。临床用于辅助诊断肝癌的血清标志物较多,如AFP、血清谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)等,但对于肝癌的诊断仍存在敏感度较低、特异性不足等问题。以经典的AFP为例,研究结果显示其对肝癌诊断的敏感度为55.8%,特异性76%,有1/3以上的原发性肝癌患者AFP为阴性^[8]。因此,找到一种早期诊断肝癌敏感性及特异性更高的肿瘤标志物是迫切需要的。

miRNA由19-26个核苷酸组成,可调节其下

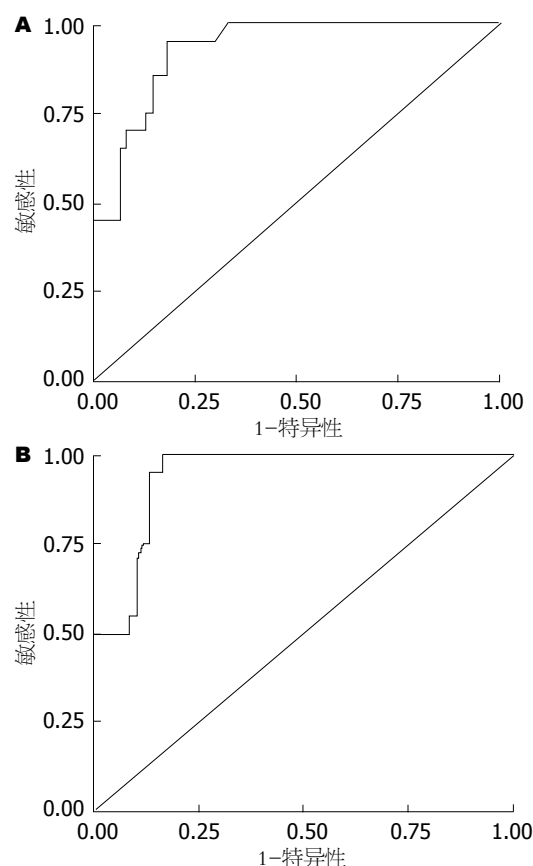


图4 血清miR-96、miR-182对肝癌诊断的ROC分析. A: microRNA-96; B: microRNA-182。

游多个甚至数百个靶基因, miRNA在HCC发生过程中,既可通过调节细胞凋亡或者细胞周期,也可经调节癌基因和/或抑癌基因参与肿瘤发生途径,影响HCC的发生。因而很多miRNA实质即是肝癌相关的癌基因或抑癌基因,对这些肝癌相关的miRNA进行检测,可能对肝癌的诊断以及预后判断等具有一定的价值^[9]。如有学者通过芯片技术鉴定了肝癌和配对非癌肝组织中差异表达的20个miRNA,发现其中miR-138在77.8%的肝癌组织中表达下调,miR-138作为一种抑癌基因通过影响细胞周期抑制肿瘤形成,其失活或表达下调可能是肝癌发生的标志^[10]。而对有无早期复发肝癌者高通量miRNA差异分析,发现miR-29a-5p表达与肝癌术后早期复发密切相关^[11],对其进行检测有助预测术后复发和判断生存率。但以上这些研究大部分局限于肿瘤组织或肿瘤细胞。

人类约50%miRNAs以miRNA家族或称基因簇(miRNA clusters)的形式存在,miR-183家族即是其中之一。miR-183家族基因定位于人类染色体7q32,编码miR-96、miR-182及miR-183,其序列在不同动物物种中高度保守^[12]。已有研究

表 2 血清miR-96、miR-182及miR-183与肝癌病理学指标的关系 ($2^{-\Delta\Delta CT}$)

病理指标	n	miR-96	miR-182	miR-183
肿瘤直径(cm)				
>5	11	0.141 ± 0.104	0.280 ± 0.099	0.009 ± 0.005
<5	9	0.101 ± 0.028	0.290 ± 0.078	0.011 ± 0.006
P值		0.279	0.808	0.426
血甲胎蛋白(ng/mL)				
>400	8	0.120 ± 0.089	0.276 ± 0.081	0.010 ± 0.007
≤400	12	0.125 ± 0.077	0.290 ± 0.096	0.010 ± 0.005
P值		0.897	0.739	0.999
分化程度				
高中分化	11	0.100 ± 0.040	0.284 ± 0.097	0.011 ± 0.007
低分化	9	0.151 ± 0.108	0.284 ± 0.082	0.009 ± 0.004
P值		0.163	0.999	0.457
肝外转移				
有	5	0.107 ± 0.032	0.273 ± 0.096	0.005 ± 0.001
无	15	0.129 ± 0.091	0.288 ± 0.089	0.012 ± 0.005
P值		0.608	0.758	0.019

■应用要点

肝癌患者血miR-96和miR-182表达量明显高于肝硬化、慢性肝炎和正常人, 伴肝外转移患者血miR-183表达明显低于无肝外转移者。血miR-183家族的表达在肝癌诊断和预后判断中有较好的应用价值。

表明, miR-183家族成员在多种肿瘤中有差异表达, 如miR-96和miR-182在结直肠癌、前列腺癌中高表达, miR-183在骨肉瘤、卵巢癌中低表达等均已报道^[13-17]。本研究通过定量PCR技术发现miR-183家族中miR-96、miR-182的相对表达量在肝癌患者肝组织中呈癌组织>癌周组织>远癌组织的趋势, 各组间的差异有显著性, 而miR-183的相对表达趋势则与此相反, 提示miR-183家族成员可能分别作为癌基因(miR-96和miR-182)和抑癌基因(miR-183)在肝癌发生发展过程中发挥作用。

对于一个良好的诊断标志物而言, 标本留取方便, 检测对象成分稳定易于检出是必不可少的条件; 与检测组织miRNA相比, 患者血清较易取得和检测, 且研究表明肿瘤患者血清中miRNA的表达与肿瘤组织中表达的miRNA释放入外周循环有直接的关联^[18]。目前, 肿瘤组织中miRNA释放入外周血的机制主要有两种, 一种为肿瘤细胞在增殖扩散和溶解消散过程中导致miRNA释放入外周血; 另一种为miRNA主要通过超微小泡在细胞间传递, 在传递过程中超微小泡从细胞膜脱落将miRNA释放到胞外和外周血^[19,20]。以往认为miRNA在外周血中不稳定而难于检测, 但近年研究发现miRNA在外周血中非常稳定, 即使在血清中加入RNase、Dnase、盐酸、氢氧化钠等或反复冻融处理后仍能检测到表达稳定的miRNA, 这充分说明血清miRNA有可能作为一种新的标志物用于肿瘤的诊断^[21]。

miR-183家族在非小细胞肺癌中是一种潜在的肿瘤标志物, 其表达与肺癌的诊断、预后判断密切相关, 但检测血清miR-183家族在肝癌诊断中的应用尚未见报道^[22]。本研究结果显示, 肝癌患者血清中miR-96和miR-182的相对表达量明显高于肝硬化、CHB和正常体检者, 且肝癌患者血清中miR-96和miR-182的高表达与肿瘤组织中的表达呈正相关关系, 表明血清miR-96和miR-182相对表达水平与肝脏中的表达水平相一致, 能反映肝癌发生发展的情况。ROC工作曲线显示以miR-96和miR-182作为诊断标志物, 其曲线下面积分别达到0.927和0.940; 以miR-96相对表达量0.052和miR-182相对表达量0.157为临界值, 其诊断灵敏度和特异性分别达到95%、95%和81.7%、83.3%。而肝癌患者血清miR-183相对表达量与其他组相比无明显差异, 但在有肝外转移的HCC患者血清中miR-183相对表达量低于无肝外转移者, 差异有统计学意义。

总之, HCC患者血清中miR-96和miR-182的相对表达量明显高于肝硬化、CHB和正常体检者, 而有肝外转移的肝癌患者其血清miR-183相对表达量明显低于无肝外转移者。检测血清miR-183家族的表达在肝癌的诊断和预后判断中有较好的应用价值。

4 参考文献

- 1 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Zhang CG, Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ. Oncofetal antigen

■同行评价

本文具有较好的创新性和良好的应用性,具有一定的指导意义。

- 2 邱历伟, 姚登福. microRNA在肝癌发生和发展中的作用及其机制. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 958-960
- 3 Baer C, Claus R, Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 473-477 [PMID: 23316035 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731]
- 4 Nana-Sinkam SP, Croce CM. Clinical applications for microRNAs in cancer. *Clin Pharmacol Ther* 2013; 93: 98-104 [PMID: 23212103 DOI: 10.1038/clpt.2012.192]
- 5 马兆龙, 杨炼, 陈立波, 黄金明, 王冬冬, 王国斌. miRNA在HBV从感染经由肝硬化到肝癌进程中表达谱的变化. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2112-2116
- 6 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408 [PMID: 11846609 DOI: 10.1006/meth.2001.1262]
- 7 Zhang HJ, Yao DF, Yao M, Huang H, Wu W, Yan MJ, Yan XD, Chen J. Expression characteristics and diagnostic value of annexin A2 in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5897-5904 [PMID: 23139605 DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5897]
- 8 Jirun P, Zhang G, Kim HK, Ha SA, Zhongtian J, Shishi Q, Zhuqingqing C, Lei G, Yoo J, Kim S, Park YG, Wang J, Yang Y, Xu Z, Huang Z, Lee YK, Song EY, Kim JW. Clinical utility of alpha fetoprotein and HCCR-1, alone or in combination, in patients with chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Dis Markers* 2011; 30: 307-315 [PMID: 21725159]
- 9 Giordano S, Columbano A. MicroRNAs: new tools for diagnosis, prognosis, and therapy in hepatocellular carcinoma? *Hepatology* 2013; 57: 840-847 [PMID: 23081718 DOI: 10.1002/hep.26095]
- 10 Wang W, Zhao LJ, Tan YX, Ren H, Qi ZT. MiR-138 induces cell cycle arrest by targeting cyclin D3 in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1113-1120 [PMID: 22362728 DOI: 10.1093/carcin/bgs113]
- 11 Zhu HT, Dong QZ, Sheng YY, Wei JW, Wang G, Zhou HJ, Ren N, Jia HL, Ye QH, Qin LX. MicroRNA-29a-5p is a novel predictor for early recurrence of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma after surgical resection. *PLoS One* 2012; 7: e52393 [PMID: 23285022 DOI: 10.1371/journal.pone.0052393]
- 12 Lumayag S, Haldin CE, Corbett NJ, Wahlin KJ, Cowan C, Turturro S, Larsen PE, Kovacs B, Witmer PD, Valle D, Zack DJ, Nicholson DA, Xu S. Inactivation of the microRNA-183/96/182 cluster results in syndromic retinal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: E507-E516 [PMID: 23341629 DOI: 10.1073/pnas.1212655110]
- 13 Xu XM, Qian JC, Deng ZL, Cai Z, Tang T, Wang P, Zhang KH, Cai JP. Expression of miR-21, miR-31, miR-96 and miR-135b is correlated with the clinical parameters of colorectal cancer. *Oncol Lett* 2012; 4: 339-345 [PMID: 22844381]
- 14 Cekaite L, Rantala JK, Bruun J, Guriby M, Agesen TH, Danielsen SA, Lind GE, Nesbakken A, Kallioniemi O, Lothe RA, Skotheim RI. MiR-9, -31, and -182 deregulation promote proliferation and tumor cell survival in colon cancer. *Neoplasia* 2012; 14: 868-879 [PMID: 23019418]
- 15 Mihelich BL, Khrantsova EA, Arva N, Vaishnav A, Johnson DN, Giangreco AA, Martens-Uzunova E, Bagasra O, Kajdacsy-Balla A, Nonn L. miR-183-96-182 cluster is overexpressed in prostate tissue and regulates zinc homeostasis in prostate cells. *J Biol Chem* 2011; 286: 44503-44511 [PMID: 22045813 DOI: 10.1074/jbc.M111.262915]
- 16 Zhu J, Feng Y, Ke Z, Yang Z, Zhou J, Huang X, Wang L. Down-regulation of miR-183 promotes migration and invasion of osteosarcoma by targeting Ezrin. *Am J Pathol* 2012; 180: 2440-2451 [PMID: 22525461 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.02.023]
- 17 Li J, Liang S, Jin H, Xu C, Ma D, Lu X. Tiam1, negatively regulated by miR-22, miR-183 and miR-31, is involved in migration, invasion and viability of ovarian cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 27: 1835-1842 [PMID: 22469921]
- 18 Healy NA, Heneghan HM, Miller N, Osborne CK, Schiff R, Kerin MJ. Systemic mirnas as potential biomarkers for malignancy. *Int J Cancer* 2012; 131: 2215-2222 [PMID: 22618667 DOI: 10.1002/ijc.27642]
- 19 Brase JC, Wuttig D, Kuner R, Sultmann H. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. *Mol Cancer* 2010; 9: 306 [PMID: 21110877 DOI: 10.1186/1476-4598-9-306]
- 20 Diehl P, Fricke A, Sander L, Stamm J, Bassler N, Htun N, Ziemann M, Helbing T, El-Osta A, Jowett JB, Peter K. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc Res* 2012; 93: 633-644 [PMID: 22258631 DOI: 10.1093/cvr/cvs007]
- 21 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Brian KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
- 22 Zhu W, Liu X, He J, Chen D, Hunag Y, Zhang YK. Overexpression of members of the microRNA-183 family is a risk factor for lung cancer: a case control study. *BMC Cancer* 2011; 11: 393 [PMID: 21920043 DOI: 10.1186/1471-2407-11-393]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ERCC1在食管癌顺铂化疗中的作用

赵洪礼, 韩莎, 李琳, 丁敬献, 杨景玉

赵洪礼, 李琳, 丁敬献, 杨景玉, 山东省消化系统疾病防治中心 山东省济宁市 272033

韩莎, 济宁医学院中心实验室 山东省济宁市 272067

赵洪礼, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究。

作者贡献分布: 本文综述由赵洪礼、韩莎、李琳及丁敬献完成; 杨景玉负责审校。

通讯作者: 杨景玉, 副主任医师, 272033, 山东省济宁市太白中路11号, 山东省消化系统疾病防治中心。

yangjingyu3368@sina.com

电话: 0537-2359662

收稿日期: 2013-03-12 修回日期: 2013-04-07

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Role of ERCC1 in cisplatin resistance in esophageal cancer

Hong-Li Zhao, Sha Han, Lin Li, Jing-Xian Ding, Jing-Yu Yang

Hong-Li Zhao, Lin Li, Jing-Xian Ding, Jing-Yu Yang, Shandong Control Center for Digestive Diseases, Jining 272033, Shandong Province, China

Sha Han, Life Science Experimental Center, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong Province, China

Correspondence to: Jing-Yu Yang, Associate Chief Physician, Shandong Control Center for Digestive Diseases, 11 Taibai Middle Road, Jining 272033, Shandong Province, China. yangjingyu3368@sina.com

Received: 2013-03-12 Revised: 2013-04-07

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

Cisplatin is one of several chemotherapeutic drugs commonly used to treat esophageal cancer. Nucleotide excision repair (NER) pathway plays an important role in repairing cisplatin-caused DNA damage. It has been demonstrated recently that the key enzyme of this pathway, excision repair cross-complementing 1 (ERCC1), is a factor determining cisplatin resistance and patient's response to cisplatin treatment. Further studies on the relationship between ERCC1 and cisplatin resistance will improve our understanding of cisplatin resistance in patients with esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Excision repair cross-complementing 1; Cisplatin resistance; Esophageal cancer

Zhao HL, Han S, Li L, Ding JX, Yang JY. Role of ERCC1 in cisplatin resistance in esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1493-1497 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1493>

摘要

顺铂是治疗食管癌的常用化疗药物,但其耐药性的产生是临床上的重大挑战。核苷酸切除修复是细胞修复顺铂造成的DNA损伤的重要途径,近年来的研究发现这条途径的关键酶切除修复交叉互补基因1在决定顺铂耐药和患者对顺铂治疗的反应中起很大作用,深入研究此蛋白和顺铂耐药的关系对进一步理解食管癌的顺铂耐药有重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 切除修复交叉互补基因1; 顺铂耐药; 食管癌

核心提示: 准确预测肿瘤患者对治疗的反应是肿瘤治疗的一大挑战。切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing 1)有望成为预测食管癌、肺癌等多种肿瘤对顺铂治疗反应的标志物,但仍需进一步大样本的研究并解决抗体特异性等问题。

赵洪礼, 韩莎, 李琳, 丁敬献, 杨景玉. ERCC1在食管癌顺铂化疗中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(16): 1493-1497 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1493>

0 引言

食管癌是中国常见的肿瘤,虽然有放化疗,手术等多种治疗手段,其死亡率依然很高^[1-3]。顺铂自上世纪60年代偶然发现具有抗肿瘤活性以来^[4,5],一直是临床常用的抗肿瘤药物,是治疗睾丸癌^[6]、卵巢癌^[6]、头颈部鳞癌^[6]、食管癌^[7,8]等的一线用药,但顺铂耐药的发生是治疗失败的重要原因^[9,10]。核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)是细胞修复顺铂造成的DNA损伤的重要途径^[11],同时增高的NER是顺铂耐药的原因之一^[12]。切除修复交叉互补基因1(excision repair

■背景资料

切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing 1, ERCC1)是肿瘤细胞修复顺铂导致的DNA损伤的关键蛋白,食管癌患者肿瘤表达此蛋白的高低可能成为预测患者对顺铂治疗反应性的标志物。

■同行评议者

陈洪,副教授,主任医师,东南大学附属中大医院消化科;张力为,副教授,新疆医科大学第一附属医院胸外科

■相关报道

Huang等研究了46位接受紫杉醇+顺铂治疗的转移性食管癌的患者,发现ERCC1低表达(利用免疫组织化学检测)的患者对治疗的反应更好,中位生存期更长。

crosscomplimenting 1, *ERCC1*)是NER的关键酶,在顺铂耐药和对顺铂治疗的反应中起重要作用。本文就近年来在ERCC1与食管癌顺铂耐药方面取得的进展作一综述。

1 顺铂导致肿瘤细胞损伤的机制

顺铂进入细胞后,其铂原子与DNA的嘌呤碱基的N7位置共价结合^[9],形成链内交联等单加成物^[13],引发细胞毒^[14]。这些DNA加成物的形成改变了DNA的结构,阻碍DNA的复制和转录^[11],这些都能够被细胞蛋白识别,引发DNA损伤反应^[9],导致细胞周期停滞^[15]、加成物移除、DNA修复^[16]、衰老^[17-19]和细胞凋亡^[20,21]。细胞DNA修复有多种方法,这些修复系统有损于我们希望看到的顺铂的细胞不良反应^[22]。其中核苷酸切除修复是切除顺铂-DNA加成物,修复顺铂造成的DNA损伤的最主要方法^[11]。

2 核苷酸切除修复

NER是存在最普遍的进化保守的DNA修复方式^[23,24],能够清除多种DNA损伤,包括紫外线导致的光损伤,环氧二醇苯并芘和顺铂导致的DNA加成物等。NER修复过程可分为5步^[25]:(1)DNA损伤的识别;(2)在损伤部位的两端引入切割酶;(3)切下损伤的核苷酸片段;(4)以互补链为模板合成新的核苷酸填补缺口;(5)DNA连接酶连接缺口完成修复。根据NER是如何起始的,NER分为2条亚通路,转录偶联的NER(transcription-coupled NER, TC-NER),由转录过程中的RNA聚合酶II复合物遇到阻碍(如顺铂-DNA加成物)停滞而起始的,能够快速修复活跃转录的基因的转录链的损伤。停滞的RNA聚合酶II复合物招募CSB和CSA,二者进一步招募其他多种蛋白,其中包括TFIIS^[26];全基因组NER(global genome-NER, GG-NER),不依赖转录,能够修复全部的DNA损伤,由UV-DDB和XPC-RAD23B-centrin 2蛋白复合物识别并结合到DNA损伤处启动^[26]。DNA损伤识别步骤完成后,2个亚通路汇合,即剩余的切割、移除、合成新DNA片段和连接的步骤相同。DNA损伤识别蛋白随后结合TFIIS,这是一个有多个蛋白组成的复合物,包括XPB、p62、p52、p44、p34、p8、XPD和XPG^[27]。TFIIS可以依赖XPB的ATP酶活性将DNA解链,形成一个有27个核苷酸组成的气泡状的包含损伤DNA的结构,而RPA、XPA、XPB、XPD等蛋白有稳定这个气泡状

结构的功能。然后结构特异性核算内切酶XPG和ERCC1-XPF被激活,分别切断3'和5'端,形成一段24-32个核苷酸组成的包含损伤DNA的片段,并将其脱离DNA。而由此形成的单链DNA缺口由DNA合成酶合成的新的DNA片段填补。最后,新合成的DNA片段与原DNA之间的断口有DNA连接酶III-ERCC1和DNA连接酶I缝接上从而完成修复的整个过程^[26]。

3 ERCC1与食管癌对顺铂治疗的敏感性

ERCC1的表达与多种肿瘤对化疗药物的敏感性相关,如肺癌、胃癌、也包括食管癌^[28-33]。在食管癌治疗中,顺铂为常用药物^[7,8],但并非所有患者都会从顺铂治疗或包含顺铂的放化疗中受益^[9,10]。因此许多研究都关注肿瘤ERCC1的表达与顺铂敏感性的关系,特别是研究此蛋白能否作为患者从以顺铂为基础的放化疗中受益的指标。Lee等^[34]利用免疫组织化学研究了72例转移食管鳞癌患者的ERCC1的表达,发现高ERCC1表达是无进展生存期和总体生存期的不良预后指标。不仅仅是蛋白质,ERCC1 mRNA的高表达也与食管癌患者的不良的总体生存期相关,ERCC1 mRNA高表达也与患者的肿瘤复发相关,ERCC1>3.0的患者的复发率是其他患者的2倍^[35]。Tanaka等^[36]研究了16例食管鳞癌患者的ERCC1的表达,发现相对于正常组织,ERCC1蛋白在肿瘤组织中高表达,对顺铂为基础的放化疗产生部分反应的患者的ERCC1表达量明显低于对此治疗方案无反应的患者的表达量。Kim等^[37]研究所包含的食管癌患者首先接收了顺铂+5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)+放疗或顺铂+卡培他滨+放疗的化疗治疗,其后是化疗前肿瘤内镜活检组织ERCC1低表达的患者更可能产生组织学显著反应,这些患者也表现出更长的无病生存期和整体生存期的趋势。另一组的研究^[38]得到了相似的结论,36例局部进展期食管癌患者接受了顺铂+5-Fu+放疗的治疗方案,然后手术。结果显示只有ERCC1低表达的患者才会产生组织学显著反应,才会从这个治疗方案受益。中国协和医科大学Huang等^[39]研究了复发或转移食管癌患者,这些患者接受紫杉醇+顺铂治疗方案,然后每8 wk进行影像学检测以确定患者对治疗的反应。他们发现ERCC1免疫组织化学阴性的患者治疗反应性更高。樊青霞等^[40]和李笑秋等^[41]分别利用RT-PCR和免疫组织化学检测了食管癌患者的肿瘤组织的ERCC1表达,发现

ERCC1表达与患者对顺铂+5-Fu或奈达铂+5-Fu的治疗反应密切相关, 但与患者年龄、性别、肿瘤分期、分级等无关。另外有意思的是, 食管癌患者血液中肿瘤细胞ERCC1 mRNA的表达相对较高者容易对包含顺铂的放化疗产生轻微治疗反应^[42], 若这个结论被进一步证实, 将为通过更方便的检测ERCC1预测患者治疗反应奠定基础。综上所述, 在治疗前肿瘤组织中ERCC1的表达可能成为顺铂为基础的放化疗治疗方案的选择的良好指标, 可以预测哪些患者可能从这个治疗方案中受益, 而哪些患者不会对治疗产生反应。

ERCC1基因的多态性, 因为能够影响其mRNA、蛋白表达和蛋白活性, 也可以影响肿瘤对顺铂治疗的反应性。Metzger等^[43]研究表明rs11615的多态性与食管腺癌对顺铂+5-Fu+放疗的治疗方案的反应性相关。在顺铂治疗的患者中, ERCC1 8092 A/A, A/C的患者, 相比于C/C的患者更可能存活更长时间^[44-46], 并显示出对顺铂治疗更好的治疗反应。但在非顺铂治疗患者中, 此关系并不存在^[37]。同时研究发现另一个位于第4外显子的多态位点ERCC1 C118T也与食管癌患者对顺铂+5-Fu+放疗的反应相关, 70%的C/T基因型患者对此治疗方案有反应, 而T/T基因型患者中只有20%对此方案有反应^[47]。

此外, ERCC1基因启动子甲基化同样可影响ERCC1的表达, 如在胶质瘤中, ERCC1启动子的超甲基化与其mRNA、蛋白质表达水平成反比, 与胶质瘤细胞对顺铂的抵抗相关^[48], 但在食管癌中还未见类似研究。

4 存在问题

当前绝大多数对于ERCC1与食管癌对顺铂治疗反应性的研究都是回顾性的, 且包含的病例数较少, 为解答两者间的确切关系, 需要大样本前瞻性研究。另外在病例选择时, 因为有研究显示患者接受顺铂为基础的放化疗治疗后ERCC1表达改变^[36,49,50], 所以选择初次治疗前的病理组织进行研究可能是最恰当的。另外需要特别注意的是, 有文章指出ERCC1最常用的抗体(8F1克隆)在免疫组织化学中存在与PCYT1A蛋白交叉反应的问题^[51], 最近的文章^[52]又进一步发现在ERCC1的16种抗体中, 没有一种能够区分ERCC1的4种蛋白亚型, 而在这4种亚型中只有一种能产生完全的核苷酸切除修复能力和顺铂抵抗能力。作者同时指出ERCC1抗体(8F1克隆)

的功能可能在2006年以后发生了改变。这些抗体的交叉反应和低特异性问题使我们更难解释ERCC1与肿瘤顺铂抵抗的真正关系。

5 结论

选择出对患者有明显反应的治疗方案, 对提高疗效, 减少不必要治疗, 降低患者负担有重要意义。ERCC1作为肿瘤修复顺铂导致的细胞损伤的重要蛋白, 对预测患者对顺铂为基础的放化疗治疗方案的反应性显示出较好的前景。

6 参考文献

- 1 Chen WQ, Zhang SW, Zou XN, Zhao P. Cancer incidence and mortality in china, 2006. *Chin J Cancer Res* 2011; 23: 3-9 [PMID: 23467577 DOI: 10.1007/s11670-011-0003-9]
- 2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 3 Chen CZ, Chen JZ, Li DR, Lin ZX, Zhou MZ, Li DS, Chen ZJ. Long-term outcomes and prognostic factors for patients with esophageal cancer following radiotherapy. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1639-1644 [PMID: 23539205 DOI: 10.3748/wjg.v19.i10.1639]
- 4 Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from A Platinum Electrode. *Nature* 1965; 205: 698-699 [PMID: 14287410 DOI: 10.1038/205698a0]
- 5 Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature* 1969; 222: 385-386 [PMID: 5782119 DOI: 10.1038/222385a0]
- 6 Cohen SM, Lippard SJ. Cisplatin: from DNA damage to cancer chemotherapy. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001; 67: 93-130 [PMID: 11525387 DOI: 10.1016/S0079-6603(01)67026-0]
- 7 梅齐, 汪勇, 李睿, 陈元. 伊立替康联合顺铂治疗晚期食管癌27例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2300-2303
- 8 李向柯, 樊青霞. 食管癌药物治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3482-3487
- 9 Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7265-7279 [PMID: 14576837 DOI: 10.1038/sj.onc.1206933]
- 10 Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O, Castedo M, Kroemer G. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* 2012; 31: 1869-1883 [PMID: 21892204 DOI: 10.1038/onc.2011.384]
- 11 Jung Y, Lippard SJ. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chem Rev* 2007; 107: 1387-1407 [PMID: 17455916 DOI: 10.1021/cr068207j]
- 12 Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584 [PMID: 17625587 DOI: 10.1038/nrc2167]
- 13 Kartalou M, Essigmann JM. Recognition of cisplatin adducts by cellular proteins. *Mutat Res* 2001; 478: 1-21 [PMID: 11406166 DOI: 10.1016/S0027-5107(01)00142-7]
- 14 Pinto AL, Lippard SJ. Binding of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) (cisplatin)

■创新盘点

本文总结了ERCC1的表达、多态性等与食管癌患者对顺铂治疗反应性的关系, 并概括了当前研究中存在的问题, 内容新颖, 资料详实。

■同行评价

本文综合描述了 ERCC1 在决定食管癌患者顺铂耐药和患者对顺铂治疗反应中起的作用, 该综述立意较好, 有一定的临床参考价值。

- 15 Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 2000; 408: 433-439 [PMID: 11100718 DOI: 10.1038/35044005]
- 16 Harper JW, Elledge SJ. The DNA damage response: ten years after. *Mol Cell* 2007; 28: 739-745 [PMID: 18082599 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.11.015]
- 17 Fang K, Chiu CC, Li CH, Chang YT, Hwang HT. Cisplatin-induced senescence and growth inhibition in human non-small cell lung cancer cells with ectopic transfer of p16INK4a. *Oncol Res* 2007; 16: 479-488 [PMID: 18196872 DOI: 10.3727/096504007783338331]
- 18 Wang X, Wong SC, Pan J, Tsao SW, Fung KH, Kwong DL, Sham JS, Nicholls JM. Evidence of cisplatin-induced senescent-like growth arrest in nasopharyngeal carcinoma cells. *Cancer Res* 1998; 58: 5019-5022 [PMID: 9823301]
- 19 von Zglinicki T, Saretzki G, Ladhoff J, d'Adda di Fagagna F, Jackson SP. Human cell senescence as a DNA damage response. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 111-117 [PMID: 15610769 DOI: 10.1016/j.mad.2004.09.034]
- 20 Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends Mol Med* 2006; 12: 440-450 [PMID: 16899408 DOI: 10.1016/j.molmed.2006.07.007]
- 21 Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death: From specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. *Cancer Lett* 2013; 332: 237-248 [PMID: 22261329 DOI: 10.1016/]
- 22 Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320 [PMID: 15789122 DOI: 10.1038/nrd1691]
- 23 Petit C, Sancar A. Nucleotide excision repair: from E. coli to man. *Biochimie* 1999; 81: 15-25 [PMID: 10214906 DOI: 10.1016/S0300-9084(99)80034-0]
- 24 Rouillon C, White MF. The evolution and mechanisms of nucleotide excision repair proteins. *Res Microbiol* 2011; 162: 19-26 [PMID: 20863882 DOI: 10.1016/j.resmic.2010.09.003]
- 25 Wood RD. Nucleotide excision repair in mammalian cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 23465-23468 [PMID: 9295277 DOI: 10.1074/jbc.272.38.23465]
- 26 Kamileri I, Karakasilioti I, Garinis GA. Nucleotide excision repair: new tricks with old bricks. *Trends Genet* 2012; 28: 566-573 [PMID: 22824526 DOI: 10.1016/j.tig.2012.06.004]
- 27 Egly JM, Coin F. A history of TFIIH: two decades of molecular biology on a pivotal transcription/repair factor. *DNA Repair (Amst)* 2011; 10: 714-721 [PMID: 21592869 DOI: 10.1016/j.dnarep.2011.04.021]
- 28 Kirschner K, Melton DW. Multiple roles of the ERCC1-XPF endonuclease in DNA repair and resistance to anticancer drugs. *Anticancer Res* 2010; 30: 3223-3232 [PMID: 20944091]
- 29 McNeil EM, Melton DW. DNA repair endonuclease ERCC1-XPF as a novel therapeutic target to overcome chemoresistance in cancer therapy. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 9990-10004 [PMID: 22941649 DOI: 10.1093/nar/gks818]
- 30 Liu YP, Ling Y, Qi QF, Zhang YP, Zhang CS, Zhu CT, Wang MH, Pan YD. The effects of ERCC1 expression levels on the chemosensitivity of gastric cancer cells to platinum agents and survival in gastric cancer patients treated with oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy. *Oncol Lett* 2013; 5: 935-942 [PMID: 23426424 DOI: 10.3892/ol.2012.1096]
- 31 Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, Groshen S, Salonga D, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Konda B, Leichman L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 1998; 16: 309-316 [PMID: 9440758]
- 32 Lee SH, Noh KB, Lee JS, Lee EJ, Min KH, Hur GY, Lee SH, Lee SY, Kim JH, Lee SY, Shin C, Shim JJ, Kim CH, Kang KH, In KH. Thymidylate synthase and ERCC1 as predictive markers in patients with pulmonary adenocarcinoma treated with pemetrexed and cisplatin. *Lung Cancer* 2013 Mar 21. [Epub ahead of print] [PMID: 23523421 DOI: 10.1016/j.lungcan.2013.03.002]
- 33 Papadaki C, Sfakianaki M, Ioannidis G, Lagoudaki E, Trypaki M, Tryfonidis K, Mavroudis D, Stathopoulos E, Georgoulis V, Souglakos J. ERCC1 and BRAC1 mRNA expression levels in the primary tumor could predict the effectiveness of the second-line cisplatin-based chemotherapy in pretreated patients with metastatic non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012; 7: 663-671 [PMID: 22425915 DOI: 10.1097/JTO.0b013e318244bdd4]
- 34 Lee S, Park YH, Kim KH, Cho EY, Ahn YC, Kim K, Shim YM, Ahn JS, Park K, Im YH. Thymidine synthase, thymidine phosphorylase, and excision repair cross-complementation group 1 expression as predictive markers of capecitabine plus cisplatin chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2010; 103: 845-851 [PMID: 20700125 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605831]
- 35 Joshi MB, Shirota Y, Danenberg KD, Conlon DH, Salonga DS, Herndon JE, Danenberg PV, Harpole DH. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2215-2221 [PMID: 15788669 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1387]
- 36 Tanaka K, Mohri Y, Ohi M, Yokoe T, Koike Y, Morimoto Y, Miki C, Tonouchi H, Kusunoki M. Excision-repair cross-complementing 1 predicts response to cisplatin-based neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Med Rep* 2009; 2: 903-909 [PMID: 21475919 DOI: 10.3892/mmr_00000190]
- 37 Kim MK, Cho KJ, Kwon GY, Park SJ, Kim YH, Kim JH, Song HY, Shin JH, Jung HY, Lee GH, Choi KD, Kim SB. ERCC1 predicting chemoradiation resistance and poor outcome in oesophageal cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44: 54-60 [PMID: 17976974 DOI: 10.1016/j.ejca.2007.09.006]
- 38 Warnecke-Eberz U, Metzger R, Miyazono F, Baldus SE, Neiss S, Brabender J, Schaefer H, Doerfler W, Bollschweiler E, Dienes HP, Mueller RP, Danenberg PV, Hoelscher AH, Schneider PM. High specificity of quantitative excision repair cross-complementing 1 messenger RNA expression for prediction of minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3794-3799 [PMID: 15173087 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0079]
- 39 Huang J, Zhou Y, Zhang H, Qu T, Mao Y, Zhu H,

- Quan L, Xing P, Wang J, He J, Xu N, Sun Y. A phase II study of biweekly paclitaxel and cisplatin chemotherapy for recurrent or metastatic esophageal squamous cell carcinoma: ERCC1 expression predicts response to chemotherapy. *Med Oncol* 2013; 30: 343 [PMID: 23263828 DOI: 10.1007/s12032-012-0343-4]
- 40 樊青霞, 邢国臣, 吴欣爱, 王瑞林, 王留兴, 李醒亚, 李景云, 宗红. 化疗前食管癌组织中ERCC1mRNA检测对化疗疗效的预测价值. *郑州大学学报(医学版)* 2005; 40: 64-67
- 41 李笑秋, 胡冰, 王刚, 季楚舒, 江丰收, 王勇, 孙玉蓓, 姚艺玮. ERCC1表达水平与晚期食管癌患者含奈达铂方案化疗疗效的相关性. *安徽医科大学学报* 2010; 45: 789-791
- 42 Brabender J, Vallböhmer D, Grimminger P, Hoffmann AC, Ling F, Lurje G, Bollschweiler E, Schneider PM, Hölscher AH, Metzger R. ERCC1 RNA expression in peripheral blood predicts minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in patients with locally advanced cancer of the esophagus. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1815-1821 [PMID: 18769985 DOI: 10.1007/s11605-008-0668-7]
- 43 Metzger R, Warnecke-Eberz U, Alakus H, Kütting F, Brabender J, Vallböhmer D, Grimminger PP, Mönig SP, Drebbler U, Hölscher AH, Bollschweiler E. Neoadjuvant radiochemotherapy in adenocarcinoma of the esophagus: ERCC1 gene polymorphisms for prediction of response and prognosis. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 26-34; discussion 34 [PMID: 21956434 DOI: 10.1007/s11605-011-1700-x]
- 44 Bradbury PA, Kulke MH, Heist RS, Zhou W, Ma C, Xu W, Marshall AL, Zhai R, Hooshmand SM, Asomaning K, Su L, Shepherd FA, Lynch TJ, Wain JC, Christiani DC, Liu G. Cisplatin pharmacogenetics, DNA repair polymorphisms, and esophageal cancer outcomes. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 613-625 [PMID: 19620936 DOI: 10.1097/FPC.0b013e32832f3010]
- 45 Wang Y, Chen J, Li X, He Y, Hu B, Ji C, Xu J. Genetic polymorphisms of ERCC1 and their effects on the efficacy of cisplatin-based chemotherapy in advanced esophageal carcinoma. *Oncol Rep* 2011; 25: 1047-1052 [PMID: 21286668 DOI: 10.3892/or.2011.1170]
- 46 陈健, 何义富, 季楚舒, 胡长路, 范平生, 胡冰. ERCC1和TS基因多态性在预测顺铂联合5-氟尿嘧啶治疗晚期食管癌疗效中的意义. *肿瘤* 2010; 30: 314-321
- 47 Warnecke-Eberz U, Vallböhmer D, Alakus H, Kütting F, Lurje G, Bollschweiler E, Wienand-Dorweiler A, Drebbler U, Hölscher AH, Metzger R. ERCC1 and XRCC1 gene polymorphisms predict response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1411-1421 [PMID: 19421825 DOI: 10.1007/s11605-009-0881-z]
- 48 Chen HY, Shao CJ, Chen FR, Kwan AL, Chen ZP. Role of ERCC1 promoter hypermethylation in drug resistance to cisplatin in human gliomas. *Int J Cancer* 2010; 126: 1944-1954 [PMID: 19626585 DOI: 10.1002/ijc.24772]
- 49 Schneider S, Uchida K, Brabender J, Baldus SE, Yochim J, Danenberg KD, Salonga D, Chen P, Tsao-Wei D, Groshen S, Hoelscher AH, Schneider PM, Danenberg PV. Downregulation of TS, DPD, ERCC1, GST-Pi, EGFR, and HER2 gene expression after neoadjuvant three-modality treatment in patients with esophageal cancer. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 336-344 [PMID: 15737843 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2004.10.035]
- 50 Li W, Melton DW. Cisplatin regulates the MAPK kinase pathway to induce increased expression of DNA repair gene ERCC1 and increase melanoma chemoresistance. *Oncogene* 2012; 31: 2412-2422 [PMID: 21996734 DOI: 10.1038/onc.2011.426]
- 51 Ma D, Baruch D, Shu Y, Yuan K, Sun Z, Ma K, Hoang T, Fu W, Min L, Lan ZS, Wang F, Mull L, He WW. Using protein microarray technology to screen anti-ERCC1 monoclonal antibodies for specificity and applications in pathology. *BMC Biotechnol* 2012; 12: 88 [PMID: 23171216 DOI: 10.1186/1472-6750-12-88]
- 52 Friboulet L, Olaussen KA, Pignon JP, Shepherd FA, Tsao MS, Graziano S, Kratzke R, Douillard JY, Seymour L, Pirker R, Filipits M, André F, Solary E, Ponsonnailles F, Robin A, Stoclin A, Dorvault N, Commo F, Adam J, Vanhecke E, Saulnier P, Thomale J, Le Chevalier T, Dunant A, Rousseau V, Le Teuff G, Brambilla E, Soria JC. ERCC1 isoform expression and DNA repair in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2013; 368: 1101-1110 [PMID: 23514287 DOI: 10.1056/NEJMoa1214271]

编辑 田滢 电编 闫晋利



骨桥蛋白与肝癌转移复发关系的研究进展

孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放

■背景资料

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是1979年Senger等首次报道一种转化特异性分泌蛋白, 和感染、动脉硬化等相关, 近来陆续发现和许多肿瘤细胞转化、浸润和转移有关。有研究显示在有转移潜能的原发性癌时期就启动了与转移进程相关的分子程序, 且OPN为首要基因。

孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210000

孙静云, 主要从事肝脏疾病的相关研究。

江苏高校优势学科建设工程基金资助项目, No. YS2012ZYX109

江苏省科技厅基础研究计划基金资助项目, No. BK2010563

作者贡献分布: 本文综述由孙静云、徐吉敏及严明完成; 叶放负责审核。

通讯作者: 叶放, 教授, 硕士生导师, 210000, 江苏省南京市汉中门282号, 南京中医药大学第一临床医学院. yefang973@163.com

收稿日期: 2013-01-25 修回日期: 2013-04-20

接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Advances in understanding relationship between osteopontin and metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma

Jing-Yun Sun, Ji-Min Xu, Ming Yan, Fang Ye

Jing-Yun Sun, Ji-Min Xu, Ming Yan, Fang Ye, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Supported by: the Project Funded by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions, No. YS2012ZYX109; the Basic Research Program of Department of Science and Technology of Jiangsu Province, No. BK2010563

Correspondence to: Fang Ye, Professor, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, 282 Hanzhong Road, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China. yefang973@163.com

Received: 2013-01-25 Revised: 2013-04-20

Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

Osteopontin (OPN), first found in normal human tissue, is a secreted phosphorylated glycoprotein and one of the most important adhesion factors. Increased expression of OPN has been found in many types of tumors. OPN plays a very important role in the metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC). As a tumor marker, OPN may also become a new therapeutic target for cancer. This review aims to elucidate the structure and function of OPN, its role in HCC recurrence and metastasis, and the significance of OPN in HCC diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Osteopontin; Hepatocellular carcinoma; Metastasis; Recurrence

Sun JY, Xu JM, Yan M, Ye F. Advances in understanding relationship between osteopontin and metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1498-1504 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1498.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1498>

摘要

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌性磷酸化糖蛋白, 首先发现于人体正常组织中, 是重要的黏附因子之一。随着研究的深入, 在许多肿瘤侵袭、进展及转移过程中亦可见OPN表达升高。OPN在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的转移复发过程中占有重要地位, 是一种肿瘤标志物, 也可能成为一种新的抗癌治疗靶点。本文对OPN的分子、生理特性, OPN在HCC转移复发中的相关机制, 诊断预测及治疗进行综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 骨桥蛋白; 肝癌; 转移; 复发

核心提示: 骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的转移复发中占有重要地位。本文对OPN的分子、生理特性, 及OPN在HCC转移复发中的相关机制, 诊断预测及治疗进行综述。

孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放. 骨桥蛋白与肝癌转移复发关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1498-1504 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1498.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1498>

0 引言

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是癌症致死的第3大病因^[1]。现有手术、经动脉化疗栓塞、射频等用于临床HCC治疗, 但是由于高复发率和肝内转移, HCC的预后依然较差。因此, 近年来, 人们更多的关注HCC转移复发的早期检测问题。已知一些癌基因、生长因子等与HCC转

■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科; 单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

移复发密切相关, 寻找到一种或几种高特异性和敏感性的HCC转移复发的标志物成为当前研究的重点. Senger等^[2]首先报道了骨桥蛋白(os-teopontin, OPN)在恶性转化的细胞株中表达增高. 此后发现OPN在许多肿瘤中过表达, 参与肿瘤的转移和复发^[3], 近来有关OPN与HCC转移复发相关研究也日益增多, 现将有关进展综述如下.

1 OPN分子特点和生理特点

OPN通常由骨、牙齿、肾脏及上皮细胞、激活的免疫细胞表达和分泌. 他首先发现于骨骼中, 是SLBLING(small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein)家族中的一员. *OPN*基因定位在染色体4q13, 是单一编码基因, 8 kb大小, 由7个外显子和6个内含子组成, 其相对分子质量约为44 kDa, 约含300个氨基酸残基, 包含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)序列、凝血酶裂解位点、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)作用位点、非RGD细胞黏附位点和钙离子结合位点.

OPN的生理功能主要有: (1)介导细胞黏附. OPN通过细胞黏附序列RGD和非依赖RGD序列与细胞表面的多种整合素受体($\alpha v3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 、CD44v6)结合, 通过某些机制与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)结合, 参与细胞的黏附、迁移和增殖; (2)调节矿化组织的形成与重建; (3)免疫应答. OPN曾被称为早期T淋巴细胞活性蛋白, 在细胞免疫应答过程中, OPN是重要的也是最早期起作用的细胞因子, 可增强Th1的表达并抑制Th2的表达; (4)抑制细胞凋亡. OPN与细胞表面 $\alpha\beta 3$ 整合素结合, 活化核因子 κB (nuclear factor- κB , NF- κB), 从而抑制细胞凋亡; (5)诱使新血管生成. OPN参与机体心血管、消化、免疫等系统代谢, 且在炎症反应和组织修复过程中起重要作用.

2 OPN与HCC转移复发的密切相关性

OPN除了参与人体正常的生理活动外, 亦参与炎症、肿瘤等病理过程^[4,5]. 目前许多基础和临床研究证明OPN与肿瘤的发生、转移复发关系密切, 包括甲状腺癌^[6]、胃癌^[7]、前列腺癌^[8]、肺癌^[9]等. Coppola等^[10]指出与正常组织比较, OPN在肿瘤组织中的表达明显增强, 在肿瘤转移^[11,12]患者的血浆中, 亦检测到血浆OPN水平升高.

Pan等^[13]使用差异显示法分析发现在HCC患者中OPN mRNA优先增高, RNA印迹法证实了这一结果; 使用RT-PCR分析240例单病灶HCC手术切除患者, 结果示OPN mRNA在133例患者中过表达, 且OPN的过表达与AFP升高、*p53*突变、肿瘤体积大、分期晚、分级高、早期复发转移以及10年低生存率有关. 此外, Xie等^[14]随访72例乙型肝炎相关的HCC患者, 发现OPN过表达与包膜浸润、门静脉侵袭、淋巴结转移及预后差相关. 而Wu等^[15]发现HCC组织中OPN表达水平与Edmondson分级、血管或胆管侵袭、肝内转移相关, 与乙型肝炎表面抗原、血清甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、肝纤维化、肿瘤大小和结节数目、包膜浸润、肝外侵袭、TNM分级无明显相关性. Ye等^[16]发现伴随转移的原发性HCC与相应的转移癌的基因表达特点相似, 指出在有转移潜能的原发性癌时期就启动了与转移进程相关的分子程序; *OPN*作为首要基因, 在转移性HCC中过表达, 体外OPN特异性抗体有效的抑制了HCC细胞的侵袭及在裸鼠体内的肺转移, 建议OPN可作为转移性HCC的诊断标志物及治疗靶点.

3 OPN参与HCC转移复发机制研究

3.1 OPN不同亚型及片段 OPN的不同亚型是造成其功能多样化的原因之一, Phillips等^[17]研究发现体外OPN 3种亚型(OPN-a、OPN-b、OPN-c)都能以旁分泌的形式促进HCC细胞增殖. 有研究^[18]显示在体外培养中, OPN-c较OPN-a更能促进乳腺癌非贴壁依赖细胞的增殖. Takafuji等^[19]发现体外MMP-9切割OPN-c, 产生OPN-5 kDa, OPN-5 kDa通过与CD44受体结合从而诱使HCC细胞侵袭. Chae等^[20]研究OPN的不同的亚型对有转移能力的HCC细胞系的影响, 发现有转移潜能的HCC细胞趋向于表达OPN-a和OPN-b, 而正常肝脏组织主要表达OPN-c, 指出OPN-a和OPN-b可通过增加尿激酶型纤溶酶原激活物表达和p42/p44 MAP激酶的磷酸化作用从而促进HCC细胞的转移活动, 但是OPN-c不能激活这些信号通路.

3.2 OPN与HCC细胞凋亡 细胞增殖, 细胞周期延长, 细胞凋亡抑制是肿瘤进展的重要环节^[21]. 体外研究^[22]发现OPN缺乏的小鼠血管平滑肌细胞, 其整合素 $\alpha 1\beta 1$ 介导的血管平滑肌细胞与胶原黏附能力下降, 且细胞凋亡增高. 在细胞的缺氧/再氧化过程中, Kim等^[23]发现OPN经Caspase8蛋白

■研究前沿

(1) 机制问题: OPN促进肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)转移复发的机制尚未完全明确; (2) 应用于临床筛查: 血浆OPN在手术治疗前后的任何时候都可以通过非侵入性手段得到, 同时OPN与其他基因的联合诊断可与甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)补充, 为HCC的诊断、转移和复发提供参考; (3) 靶点治疗: 开发针对或调控OPN的特异性药物.

■相关报道

OPN在许多肿瘤侵袭、进展及转移过程中过表达,是一种新的肿瘤标志物,也可能成为一种新的抗癌治疗靶点。本文对OPN的分子、生理特性,及OPN在HCC转移复发中的相关机制、诊断预测及治疗进行综述。

水解作用所产生的片段通过P53蛋白调节细胞凋亡。Zhao等^[24]使用SiRNA沉默HCC细胞OPN后,发现 α_v 、 β_1 和 β_3 整合素表达及NF- κ B激活受抑制, Bcl-2/Bcl-xL及XIAP表达水平下调, Bax蛋白表达上调,最终诱导线粒体介导的细胞凋亡进程。使OPN表达下调能够抑制药物诱导的NF- κ B激活,且能够增加体外HCC细胞对化疗药物的敏感性及促进人HCC裸鼠异体移植瘤的完全消退。

3.3 OPN与HCC血管生成及血管拟态 肿瘤的持续生长及转移与血管的形成密切相关。研究^[25]发现在内皮细胞内, OPN可通过激活血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)参与的PI3K/AKT和ERK1/2通路,直接诱导肿瘤血管生成。在HCC转移的小鼠模型内, VEGF/OPN-BsAb双抗体较VEGF-A单抗体能够明显抑制肿瘤血管生成^[26]。与经典肿瘤血管生成途径不同,血管拟态(vasculogenic mimicry, VM)是不依赖机体内皮细胞的全新肿瘤微循环模式, Liu等^[27]比较两种HCC细胞系,相较于无转移潜能的Hep3B细胞系,有转移潜能的MHCC97-H细胞系VM生成, OPN表达增高,在HCC组织中VM形成与OPN、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)及uPA呈明显正相关。

3.4 OPN与HCC细胞表面受体结合,参与HCC转移复发过程 Gao等^[28]使用永生化的肝细胞HepG2检测OPN与CD44两种亚型CD44标准型和CD44v6结合情况,发现OPN可能是通过与 α_v 3整合素结合,增加质膜CD44v6的表达及与透明质酸盐(hyaluronic acid, HA)的黏附,从而达到促使HCC细胞转移。张岚等^[29]通过HCC组织芯片检测OPN下游的信号蛋白,发现OPN及其受体整合素 α_v 、CD44v6和相关信号分子p-FAK、p-Src、Src、p-ERK、p-AKT在HCC组织中的表达水平均高于癌旁正常肝组织,指出OPN通过其受体整合素 α_v 、CD44v6激活下游的丝裂原活化蛋白激酶途径以促使HCC转移。

恶性肿瘤细胞的侵袭和转移是一个动态过程。首先肿瘤细胞从原发灶脱落,侵入到ECM,与基底膜和细胞外间质中的一些分子黏附,参与合成、分泌一些降解酶,在这些酶的协助下,肿瘤细胞完成逃逸过程。在恶性肿瘤转移和复发过程中, MMPs的分泌水平及活性增高,参与细胞外基质的降解^[30-32]。Chen等^[33]通过持续转染使较弱致瘤性、非转移性人类HCC细胞系SMMC-7721细胞OPN过表达,发现其转移和侵

袭能力较空染组细胞增强, MMP-2和uPA明显上调;且使用CD44v6抗体能够明显抑制OPN过表达的SMMC-7721细胞的侵袭活动,指出OPN通过与受体CD44v6的结合及上调MMP-2和uPA的表达,可能是其促进HCC细胞的侵袭的机制之一。

Sun等^[34]使用3种慢病毒介导的microRNA抑制OPN表达,分别为Lenti.OPNi-1、Lenti.OPNi-2和Lenti.OPNi-3(下调OPN表达水平分别为62%、78%和95%),发现Lenti.OPNi-2和Lenti.OPNi-3能够明显抑制HCC细胞的侵袭和转移,且只有Lenti.OPNi-3能够抑制HCC细胞增殖,并指出肿瘤生长所需的OPN水平低于其侵袭和转移所需量, OPN促进肿瘤转移除了与MAPK通路激活有关,还与NF- κ B(P65)蛋白核转位,以及MMP-2产生/激活有关。可见在HCC细胞转移复发过程中, OPN与整合素受体 α_v 3和/或CD44 v6受体,激酶(如MAPKs)的活化,转录因子(如NF- κ B)激活,基质降解酶(如MMPs, uPA)分泌等密切相关。此外Xue等^[35]发现体外凝血酶促进了OPN阳性的HCC细胞的增殖和附着,指出凝血酶可能是通过激活整合素 β_1 /FAK信号通路从而促进OPN阳性HCC细胞的增殖和侵袭活动。

4 OPN在HCC转移复发中诊断研究

目前AFP广泛应用于临床HCC的筛选和诊断,但是仍有假阳性和假阴性,约30%的HCC患者出现AFP假阴性,特别对于肝切除术后HCC转移复发患者仍缺少预测性诊断,从而错过最佳治疗时期。

4.1 血OPN对HCC转移复发的诊断学意义 HCC细胞产生大量OPN,部分释放入血,致使血浆OPN升高,且OPN在血中相对稳定,OPN的升高与AFP并不完全一致,研究^[36,37]表明OPN监测较AFP更加灵敏。刘兵团等^[38]监测51例HCC患者的外周血OPN的表达水平并根据血清OPN表达曲线分析结果将血清OPN 76.2 μ g/L作为诊断HCC的临床指标,其诊断HCC的灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为90.2%、90.6%、93.8%、85.3%。Zhang等^[39]研究发现,与正常对照组相比,101例HCC患者的血浆OPN水平明显较高(OPN中位数63.74 ng/mL vs 176.90 ng/mL,手术后复发患者的血浆OPN水平与未复发患者也有明显差异(213.55 ng/mL vs 153.70 ng/mL)。Sun等^[40]随访68例HCC根治性切除术后患者,发现手术前血浆高OPN组($\geq$

100 ng/mL, $n = 23$)的肿瘤复发率明显高于血浆低OPN组(<100 ng/mL, $n = 45$), 建议将OPN值100 ng/mL作为预测TNM I HCC预后的临界点。张辉等^[41]研究指出血浆OPN表达水平和HCC复发密切相关, 可以作为术后复发转移的预测指标, 建议将术后OPN值200 μ g/L作为HCC高复发风险的临界点。

4.2 OPN与其他分子联合检测HCC早期转移复发 HCC的转移复发由多种基因参与, 分子病理学的发展为发现和证实肿瘤进展中特异表达的基因提供了很多方法, Hua等^[42]使用含有15843个基因探针的cDNA阵列检测HCC组织和正常肝脏组织的不同基因表达, 其中两种基因OPN和S100A6的表达差异>10倍, 使用免疫组织化学分析发现51例HCC患者中26例患者OPN表达, 16例患者S100A6表达, 而在11例正常对照组中未发现这些基因编码的蛋白质, 且OPN和S100A6与分化程度低的HCC密切相关。

Yang等^[36]指出302例HCC切除患者中, OPN和CD44预测肿瘤再发的敏感性和特异性分别为27.8%和80.6%、40.5%和83.7%, 同时采用OPN和CD44预测时其敏感性和特异性分别为54.9%和70.5%, 在血清AFP正常组中, OPN和CD44联合预测肿瘤再发的敏感性和特异性分别为68.7%和61.9%, 为血清AFP阴性的HCC患者的肿瘤复发预测提供了重要价值。研究^[43]表明将AFP、OPN及TATI 3种基因的表达按照表达个数分成4组分别为0、1、2、3组, 在0组中门脉侵袭和肿瘤的早期复发发生率较低(分别为9%和19%)($P < 1 \times 10^{-8}$), 而3组中门脉侵袭和ERT发生率(分别为70%和80%)($P < 1 \times 10^{-8}$)增加了4到7倍, 3种基因异常表达的数目越多, 5年生存率越低。此外还有使用OPN与AFP^[40], Caspase3^[44], GPC3^[45]的研究为OPN作为临床筛查及预测HCC转移复发的指标提供了一定的依据。

5 以OPN为治疗靶点防治HCC转移复发

随着分子生物学的发展, 分子靶向药物的研究已成为国内外研究的重点, HCC诊疗指南指出分子靶向治疗在控制HCC的肿瘤增殖, 预防和延缓复发转移以及提高患者的生存质量等方面可能具有独特的优势。动物实验研究中, 以OPN为靶点的治疗能够有效抑制OPN高表达的HCC细胞系的转移活动^[46]。Chen等^[47]研究发现, 体外由经修饰的反义核苷酸(A 2'-O-methoxyethyl-ribosemodified phosphorothioate antisense oligo-

nucleotides, ASO)下调OPN表达的HCCLM6细胞的转移和侵袭能力与作为对照的寡核苷酸组相比均明显下降, 将HCCLM6细胞移植进裸鼠体内, 使用OPN ASO明显降低了肺转移。RNA干扰(RNAi)技术亦可沉默基因^[48,49], 林帆等^[50]发现体外使用小干扰RNA(siRNA)沉默OPN基因表达对人HCC细胞株侵袭转移起到抑制作用。转录因子是一种结构特殊、能够行使调控基因表达功能的蛋白质分子, OPN的表达受到众多转录调控元件和细胞因子的调控, 研究^[51]发现11种转录因子在具有转移潜能的HCC细胞系HCCLM6中过表达, 另有11种转录因子表达下调, 其中一种上调转录因子c-Myb能够结合OPN启动子、增加其转录活动, 使用SiRNA沉默c-Myb则能抑制OPN表达, 同时能够明显抑制HCCLM6细胞系的迁移和侵袭活动。

OPN分子中含有凝血酶酶切位点, 而该酶切位点为进化保守序列, OPN被凝血酶裂解后的两个片段分别为整合素结合域和CD44结合域。Xue等^[35]发现OPN过表达的HCC患者, 凝血酶的表达与肿瘤复发率及存活率密切相关, 体外研究发现凝血酶促进了OPN阳性的HCC细胞的增值和附着, 指出凝血酶可作为OPN阳性的HCC患者的治疗靶点。此外Kou等^[26]使用双抗体, 包括抗VEGF-A抗体bevacizumab和抗OPN抗体hu1A12(VEGF/OPN-BsAb), 能够有效抑制植入高转移性的人类HCC细胞的裸鼠模型的肿瘤血管生成, 且能够抑制原始肿瘤生长及肺转移。

6 结论

OPN与HCC转移复发的关系是值得肯定的, 但是我们亦知HCC转移复发是多因素参与的, OPN过表达并非唯一因素。目前仍存有一些问题有待进一步探讨: (1)OPN促进HCC转移复发的机制尚未完全明确, 随着分子生物学的研究的发展, OPN介导的HCC转移复发机制将进一步完善; (2)大部分关于OPN预测HCC转移复发的研究对象局限于亚洲有慢性乙型肝炎感染、肝脏切除病史的患者, 有研究者^[52]同时探讨导致肝硬化的其他病因对OPN表达的影响, 由于样本量少, 未能作出准切评估。Kim等^[53]研究46例经动脉化疗栓塞的HCC患者血清OPN表达的预测价值, 发现血清OPN与肝脏疾病的潜在病因之间没有相关性, 是肿瘤本身影响血清OPN的表达。OPN与HCC的病因之间的关系如何, 需更大规模的样本数来检验; (3)关于血浆OPN与

■创新盘点

本文综述OPN的分子、生理特性, 及OPN在HCC转移复发中的相关机制, 诊断预测及治疗, 特别综述了近年关于OPN作为诊断HCC转移复发的标志物及治疗靶点的研究进展。

■应用要点

本文就OPN与HCC转移、复发的研究进展做了较为详细的综述,且指出目前研究中出现的问题?例如未能明确OPN参与HCC转移复发的具体机制,以OPN作为诊断及治疗靶点的研究实验虽取得一定进展,运用于临床仍需要进一步研究。

HCC转移复发的报道较少,血浆OPN在手术等治疗前后都可以通过非侵入性手段得到,为便于用于临床,今后需开展更多的动物实验及临床研究,同时OPN与其他HCC转移复发标记物的联合诊断可与AFP补充,为HCC的转移复发的诊断提供参考;(4)目前以HCCOPN靶向的药物研究较少,且仅限于实验室研究阶段,开发针对或调控OPN的特异性药物是今后的研究方向。

7 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 Senger DR, Perruzzi CA, Papadopoulos A. Elevated expression of secreted phosphoprotein I (osteopontin, 2ar) as a consequence of neoplastic transformation. *Anticancer Res* 1989; 9: 1291-1299 [PMID: 2686530]
- 3 Anborgh PH, Mutrie JC, Tuck AB, Chambers AF. Role of the metastasis-promoting protein osteopontin in the tumour microenvironment. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 2037-2044 [PMID: 20597997 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01115.x]
- 4 Shevde LA, Das S, Clark DW, Samant RS. Osteopontin: an effector and an effect of tumor metastasis. *Curr Mol Med* 2010; 10: 71-81 [PMID: 20205680 DOI: 10.2174/156652410791065381]
- 5 Ramaiah SK, Rittling S. Pathophysiological role of osteopontin in hepatic inflammation, toxicity, and cancer. *Toxicol Sci* 2008; 103: 4-13 [PMID: 17890765 DOI: 10.1093/toxsci/kfm246]
- 6 Briese J, Cheng S, Ezzat S, Liu W, Winer D, Wagener C, Bamberger AM, Asa SL. Osteopontin (OPN) expression in thyroid carcinoma. *Anticancer Res* 2010; 30: 1681-1688 [PMID: 20592361 DOI: 10.1007/s11605-009-0955-y]
- 7 Imano M, Satou T, Itoh T, Sakai K, Ishimaru E, Yasuda A, Peng YF, Shinkai M, Akai F, Yasuda T, Imamoto H, Okuno K, Ito H, Shiozaki H, Ohyanagi H. Immunohistochemical expression of osteopontin in gastric cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1577-1582 [PMID: 19582521]
- 8 Caruso DJ, Carmack AJ, Lokeshwar VB, Duncan RC, Soloway MS, Lokeshwar BL. Osteopontin and interleukin-8 expression is independently associated with prostate cancer recurrence. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4111-4118 [PMID: 18593988 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0738]
- 9 Zhao B, Sun T, Meng F, Qu A, Li C, Shen H, Jin Y, Li W. Osteopontin as a potential biomarker of proliferation and invasiveness for lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1061-1070 [PMID: 21207061 DOI: 10.1007/s00432-010-0968-7]
- 10 Coppola D, Szabo M, Boulware D, Muraca P, Alsarraj M, Chambers AF, Yeatman TJ. Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 184-190 [PMID: 14734468 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-1405-2]
- 11 Wu CY, Wu MS, Chiang EP, Wu CC, Chen YJ, Chen CJ, Chi NH, Chen GH, Lin JT. Elevated plasma osteopontin associated with gastric cancer development, invasion and survival. *Gut* 2007; 56: 782-789 [PMID: 17148500 DOI: 10.1136/gut.2006.109868]
- 12 Ramankulov A, Lein M, Kristiansen G, Meyer HA, Loening SA, Jung K. Elevated plasma osteopontin as marker for distant metastases and poor survival in patients with renal cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 643-652 [PMID: 17479289 DOI: 10.1007/s00432-007-0215-z]
- 13 Pan HW, Ou YH, Peng SY, Liu SH, Lai PL, Lee PH, Sheu JC, Chen CL, Hsu HC. Overexpression of osteopontin is associated with intrahepatic metastasis, early recurrence, and poorer prognosis of surgically resected hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003; 98: 119-127 [PMID: 12833464 DOI: 10.1002/cncr.11487]
- 14 Xie H, Song J, Du R, Liu K, Wang J, Tang H, Bai F, Liang J, Lin T, Liu J, Fan D. Prognostic significance of osteopontin in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 167-172 [PMID: 17161983 DOI: 10.1016/j.dld.2006.10.015]
- 15 Wu JC, Sun BS, Ren N, Ye QH, Qin LX. Genomic aberrations in hepatocellular carcinoma related to osteopontin expression detected by array-CGH. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 595-601 [PMID: 19834740 DOI: 10.1007/s00432-009-0695-0]
- 16 Ye QH, Qin LX, Forgues M, He P, Kim JW, Peng AC, Simon R, Li Y, Robles AI, Chen Y, Ma ZC, Wu ZQ, Ye SL, Liu YK, Tang ZY, Wang XW. Predicting hepatitis B virus-positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2003; 9: 416-423 [PMID: 12640447 DOI: 10.1038/nm843]
- 17 Phillips RJ, Helbig KJ, Van der Hoek KH, Seth D, Beard MR. Osteopontin increases hepatocellular carcinoma cell growth in a CD44 dependant manner. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3389-3399 [PMID: 22807608 DOI: 10.3748/wjg.v18.i26.3389]
- 18 He B, Mirza M, Weber GF. An osteopontin splice variant induces anchorage independence in human breast cancer cells. *Oncogene* 2006; 25: 2192-2202 [PMID: 16288209 DOI: 10.1038/sj.onc.1209248]
- 19 Takafuji V, Forgues M, Unsworth E, Goldsmith P, Wang XW. An osteopontin fragment is essential for tumor cell invasion in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2007; 26: 6361-6371 [PMID: 17452979 DOI: 10.1038/sj.onc.1210463]
- 20 Chae S, Jun HO, Lee EG, Yang SJ, Lee DC, Jung JK, Park KC, Yeom YI, Kim KW. Osteopontin splice variants differentially modulate the migratory activity of hepatocellular carcinoma cell lines. *Int J Oncol* 2009; 35: 1409-1416 [PMID: 19885563]
- 21 Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001; 411: 342-348 [PMID: 11357141 DOI: 10.1038/35077213]
- 22 Weintraub AS, Schnapp LM, Lin X, Taubman MB. Osteopontin deficiency in rat vascular smooth muscle cells is associated with an inability to adhere to collagen and increased apoptosis. *Lab Invest* 2000; 80: 1603-1615 [PMID: 11092521 DOI: 10.1038/labinvest.3780171]
- 23 Kim HJ, Lee HJ, Jun JI, Oh Y, Choi SG, Kim H, Chung CW, Kim IK, Park IS, Chae HJ, Kim HR, Jung YK. Intracellular cleavage of osteopontin by caspase-8 modulates hypoxia/reoxygenation cell death through p53. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 15326-15331 [PMID: 19706414 DOI: 10.1073/pnas.0903704106]

- 24 Zhao J, Dong L, Lu B, Wu G, Xu D, Chen J, Li K, Tong X, Dai J, Yao S, Wu M, Guo Y. Down-regulation of osteopontin suppresses growth and metastasis of hepatocellular carcinoma via induction of apoptosis. *Gastroenterology* 2008; 135: 956-968 [PMID: 18555021 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.05.025]
- 25 Dai J, Peng L, Fan K, Wang H, Wei R, Ji G, Cai J, Lu B, Li B, Zhang D, Kang Y, Tan M, Qian W, Guo Y. Osteopontin induces angiogenesis through activation of PI3K/AKT and ERK1/2 in endothelial cells. *Oncogene* 2009; 28: 3412-3422 [PMID: 19597469 DOI: 10.1038/onc.2009.189]
- 26 Kou G, Shi J, Chen L, Zhang D, Hou S, Zhao L, Fang C, Zheng L, Zhang X, Liang P, Zhang X, Li B, Guo Y. A bispecific antibody effectively inhibits tumor growth and metastasis by simultaneous blocking vascular endothelial growth factor A and osteopontin. *Cancer Lett* 2010; 299: 130-136 [PMID: 20826049 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.08.011]
- 27 Liu W, Xu G, Ma J, Jia W, Li J, Chen K, Wang W, Hao C, Wang Y, Wang X. Osteopontin as a key mediator for vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma. *Tohoku J Exp Med* 2011; 224: 29-39 [PMID: 21512310 DOI: 10.1620/tjem.224.29]
- 28 Gao C, Guo H, Downey L, Marroquin C, Wei J, Kuo PC. Osteopontin-dependent CD44v6 expression and cell adhesion in HepG2 cells. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1871-1878 [PMID: 12949055 DOI: 10.1093/carcin/bgg139]
- 29 张岚, 李海玉, 殷晓璐, 许雁萍, 陈漪, 谢晓莺, 沈月芳, 叶青海, 任正刚. 骨桥蛋白下游信号分子在肝细胞癌中的表达. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 48-51
- 30 Périgny M, Bairati I, Harvey I, Beauchemin M, Harel F, Plante M, Têtu B. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 226-231 [PMID: 18208802 DOI: 10.1309/49LA9XCB-GWJ8F2KM]
- 31 Shinozaki Y, Akutsu-Shigeno Y, Nakajima-Kambe T, Inomata S, Nomura N, Nakahara T, Uchiyama H. Inhibition of matrix metalloproteinase-2 activity by siderophores of *Pseudomonas* species. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004; 64: 840-847 [PMID: 14727091 DOI: 10.1007/s00253-003-1521-2]
- 32 Bjørnland K, Flatmark K, Pettersen S, Aasen AO, Fodstad O, Maelandsmo GM. Matrix metalloproteinases participate in osteosarcoma invasion. *J Surg Res* 2005; 127: 151-156 [PMID: 16083752 DOI: 10.1016/j.jss.2004.12.016]
- 33 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Ye SL. Osteopontin promotes hepatocellular carcinoma invasion by up-regulating MMP-2 and uPA expression. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 3671-3677 [PMID: 21104439 DOI: 10.1007/s11033-010-0481-8]
- 34 Sun BS, Dong QZ, Ye QH, Sun HJ, Jia HL, Zhu XQ, Liu DY, Chen J, Xue Q, Zhou HJ, Ren N, Qin LX. Lentiviral-mediated miRNA against osteopontin suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1834-1842 [PMID: 18972404 DOI: 10.1002/hep.22531]
- 35 Xue YH, Zhang XF, Dong QZ, Sun J, Dai C, Zhou HJ, Ren N, Jia HL, Ye QH, Qin LX. Thrombin is a therapeutic target for metastatic osteopontin-positive hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 52: 2012-2022 [PMID: 20890897 DOI: 10.1002/hep.23942]
- 36 Yang GH, Fan J, Xu Y, Qiu SJ, Yang XR, Shi GM, Wu B, Dai Z, Liu YK, Tang ZY, Zhou J. Osteopontin combined with CD44, a novel prognostic biomarker for patients with hepatocellular carcinoma undergoing curative resection. *Oncologist* 2008; 13: 1155-1165 [PMID: 18997126 DOI: 10.1634/theoncologist.2008-0081]
- 37 Shang S, Plymoth A, Ge S, Feng Z, Rosen HR, Sangrajang S, Hainaut P, Marrero JA, Beretta L. Identification of osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 55: 483-490 [PMID: 21953299 DOI: 10.1002/hep.24703]
- 38 刘兵团, 张国新, 郝波, 林艳, 黄祖瑚. 骨桥蛋白在肝癌患者外周血和癌组织中的含量及其临床意义. *江苏医药* 2007; 33: 1081-1083
- 39 Zhang H, Ye QH, Ren N, Zhao L, Wang YF, Wu X, Sun HC, Wang L, Zhang BH, Liu YK, Tang ZY, Qin LX. The prognostic significance of preoperative plasma levels of osteopontin in patients with hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 709-717 [PMID: 16786357 DOI: 10.1007/s00432-006-0119-3]
- 40 Sun J, Xu HM, Zhou HJ, Dong QZ, Zhao Y, Fu LY, Hei ZY, Ye QH, Ren N, Jia HL, Qin LX. The prognostic significance of preoperative plasma levels of osteopontin in patients with TNM stage-I of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1-7 [PMID: 19593583]
- 41 张辉, 应敏刚, 任宁, 叶青海, 汤钊猷, 钦伦秀. 肝细胞癌患者血浆骨桥蛋白表达水平与术后复发及预后的关系. *中国临床医学* 2007; 14: 1-6
- 42 Hua Z, Chen J, Sun B, Zhao G, Zhang Y, Fong Y, Jia Z, Yao L. Specific expression of osteopontin and S100A6 in hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2011; 149: 783-791 [PMID: 21310450 DOI: 10.1016/j.surg.2010.12.007]
- 43 Lee YC, Pan HW, Peng SY, Lai PL, Kuo WS, Ou YH, Hsu HC. Overexpression of tumour-associated trypsin inhibitor (TATI) enhances tumour growth and is associated with portal vein invasion, early recurrence and a stage-independent prognostic factor of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2007; 43: 736-744 [PMID: 17267202 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.11.020]
- 44 Huang H, Zhang XF, Zhou HJ, Xue YH, Dong QZ, Ye QH, Qin LX. Expression and prognostic significance of osteopontin and caspase-3 in hepatocellular carcinoma patients after curative resection. *Cancer Sci* 2010; 101: 1314-1319 [PMID: 20345480 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01524.x]
- 45 Yu MC, Lee YS, Lin SE, Wu HY, Chen TC, Lee WC, Chen MF, Tsai CN. Recurrence and poor prognosis following resection of small hepatitis B-related hepatocellular carcinoma lesions are associated with aberrant tumor expression profiles of glypican 3 and osteopontin. *Ann Surg Oncol* 2012; 19 Suppl 3: S455-S463 [PMID: 21822558 DOI: 10.1245/s10434-011-1946-2]
- 46 Bhattacharya SD, Mi Z, Kim VM, Guo H, Talbot LJ, Kuo PC. Osteopontin regulates epithelial mesenchymal transition-associated growth of hepatocellular cancer in a mouse xenograft model. *Ann Surg* 2012; 255: 319-325 [PMID: 22241292 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31823e3a1c]
- 47 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Zhang H, Ye SL. Down-regulation of osteopontin inhibits metastasis of

同行评价

本文就OPN与HCC转移、复发的研究进展做了较为详细的综述,为深入研究肝癌复发转移的关系提供了一定参考。

- hepatocellular carcinoma cells via a mechanism involving MMP-2 and uPA. *Oncol Rep* 2011; 25: 803-808 [PMID: 21174062]
- 48 Novina CD, Sharp PA. The RNAi revolution. *Nature* 2004; 430: 161-164 [PMID: 15241403 DOI: 10.1038/430161a]
- 49 Rand TA, Petersen S, Du F, Wang X. Argonaute2 cleaves the anti-guide strand of siRNA during RISC activation. *Cell* 2005; 123: 621-629 [PMID: 16271385 DOI: 10.1016/j.cell.2005.10.020]
- 50 林帆, 李瑜元, 夏金堂, 温敏杰, 赖越元, 蔡文松, 伍兆峰, 范少峰. 骨桥蛋白基因沉默对肝癌侵袭转移的抑制作用. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 422-425
- 51 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Ye SL. Transcription factor c-Myb promotes the invasion of hepatocellular carcinoma cells via increasing osteopontin expression. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 172 [PMID: 21190594 DOI: 10.1186/1756-9966-29-172]
- 52 Sieghart W, Wang X, Schmid K, Pinter M, König F, Bodingbauer M, Wrba F, Rasoul-Rockenschaub S, Peck-Radosavljevic M. Osteopontin expression predicts overall survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in patients beyond the Milan criteria. *J Hepatol* 2011; 54: 89-97 [PMID: 20970216 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.030]
- 53 Kim SH, Chung YH, Yang SH, Kim JA, Jang MK, Kim SE, Lee D, Lee SH, Lee D, Kim KM, Lim YS, Lee HC, Lee YS, Suh DJ. Prognostic value of serum osteopontin in hepatocellular carcinoma patients treated with transarterial chemoembolization. *Korean J Hepatol* 2009; 15: 320-330 [PMID: 19783881 DOI: 10.3350/kjhep.2009.15.3.320]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、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到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

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

幽门螺杆菌 *CagA* 基因与消化系统疾病关系的研究进展

游海梅, 胡团敏

游海梅, 南昌大学医学院 江西省南昌市 330000
胡团敏, 中国人民解放军第180医院消化内科 福建省泉州市 362000

游海梅, 在读硕士, 主要从事幽门螺杆菌与消化系统疾病关系的研究。

作者贡献分布: 胡团敏与游海梅共同完成论文的选题; 游海梅完成文献的检索和论文撰写; 胡团敏负责论文的审核和修改。

通讯作者: 胡团敏, 教授, 主任医师, 362000, 福建省泉州市清源山下, 中国人民解放军第180医院消化内科。

yihu180@yahoo.com.cn

电话: 0595-28919151

收稿日期: 2013-03-25 修回日期: 2013-04-18

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Advances in understanding the relationship between the *Helicobacter pylori* *CagA* gene and diseases of the digestive system

Hai-Mei You, Tuan-Min Hu

Hai-Mei You, Medical College of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China

Tuan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China

Correspondence to: Tuan-Min Hu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Qingyuan Mountain, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@yahoo.com.cn

Received: 2013-03-25 Revised: 2013-04-18

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

The relationship between the pathogenicity and virulence genes of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) has become a hot topic in research of digestive system diseases in recent years. Studies have shown that *H. pylori* is closely associated with the development of reflux esophagitis, functional dyspepsia, chronic gastritis, peptic ulcer, gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, gastric cancer and liver diseases. The *H. pylori* *CagA* gene plays an important role in the development of these diseases. This paper reviews recent progress in understanding the relationship between the *CagA* gene and digestive system diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; *CagA*; Digestive system diseases

You HM, Hu TM. Advances in understanding the relationship between the *Helicobacter pylori* *CagA* gene and diseases of the digestive system. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1505-1510 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1505.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1505>

摘要

有关幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)毒力基因致病性的探讨, 近些年来是消化系统疾病研究的热点之一。大量研究表明 *H. pylori* 与反流性食管炎、功能性消化不良、慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤、胃癌及肝病的关系密切, 而值得关注的是 *H. pylori* *CagA* 基因在这些疾病发生发展中的作用更为重要。本文综述了 *CagA* 与上述疾病相关性的研究进展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 幽门螺杆菌; *CagA*; 消化系统疾病

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*) *CagA* 与消化系统疾病密切相关, 其致病因素可能是通过刺激上皮细胞产生炎症因子、引起黏膜免疫损伤、干扰细胞内信号转导通路、上调核因子- κ B(nuclear factor κ B)、破坏蛋白P53的抑癌基因通路以及破坏细胞的增殖与凋亡等。

游海梅, 胡团敏. 幽门螺杆菌 *CagA* 基因与消化系统疾病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1505-1510 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1505.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1505>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种螺旋状、微需氧革兰阴性杆菌, 主要定植于人胃黏膜, 具有人群的易感性及较强的致病性。随着研究深入发现具有 *CagA*、*VacA* 基因的 *H. pylori* 致病力更强, 因而将 *H. pylori* 分成2型, *CagA* 及 *VacA* 基因其中一项或两项同时阳性的为 I 型,

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与消化系统疾病如反流性食管炎、功能性消化不良、慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(mucosal-associated lymphoid tissue)淋巴瘤以及胃癌的发生发展密切相关, 随着对 *H. pylori* 研究的深入, 发现 *H. pylori* 基因型中以 *CagA* 基因的致病力更强, 大量研究表明 *H. pylori* *CagA* 与消化系统疾病密切相关, 故本文就 *H. pylori* *CagA* 与消化系统疾病关系的研究进展作一综述。

■同行评议者

冯志杰, 主任医师, 河北医科大学第二医院消化内科

■研究前沿

*H. pylori*基因致病性与消化系统及其他系统疾病的相关性研究是目前探讨的热点,尤其是*CagA*基因的致病性更令人关注,*CagA*的致病力更强,更易诱发上述疾病。

否则为II型,而I型中的*CagA*基因致病力更令人关注,大量研究表明*CagA*基因与多种疾病的发生密切相关。本文就*CagA*基因与部分消化性疾病的相关性研究进展作一综述。

1 反流性食管炎

被人们认知的反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)的发病机制为食管抗反流防御机制减弱和反流物对食管黏膜攻击作用的结果,然而作为消化系攻击因子的*H. pylori*是否与RE有关,目前仍然是探讨的热点。根据Pereira-Lima等^[1]研究表明*H. pylori CagA*在RE和不伴有食管炎的其他疾病中的阳性率无明显差别;轻度食管炎患者中*H. pylori*及*CagA*阳性率明显高于中重度食管炎患者;Warburton-Timms等^[2]研究表明*H. pylori CagA*阳性可降低重度食管炎发生的风险。许树长等^[3]分别把52例RE患者和25例慢性胃炎患者作为病例组和对照组,分别取食管下黏膜及胃窦下黏膜3块进行*H. pylori*及其基因型的检测,结果表明病例组与对照组食管黏膜*H. pylori*阳性率无明显差异,而胃窦黏膜*H. pylori*阳性率及*CagA*阳性率明显低于对照组。不同程度的食管炎中食管黏膜*H. pylori*阳性率无明显差别,但*CagA*阳性菌株多见于程度轻的食管炎;Somai等^[4]研究表明*H. pylori CagA*阳性对RE起保护作用。Miernyk等^[5]研究表明*CagA*可降低RE发生的风险,但亦有研究不支持*H. pylori*对RE起保护作用的观点。Fujiwara等^[6]研究表明无论有无*CagA*基因表达,*H. pylori*对酸或混合性反流引起的急性食管炎无影响。Grande等^[7]研究表明*H. pylori*感染与RE的发生无明显关系。刘继友等^[8]研究表明*H. pylori*感染可促进RE的发生,可加重食管黏膜损害,但近些年来国内外更多的研究表明*H. pylori*感染特别是*H. pylori CagA*阳性对RE的发生起保护作用,考虑为*CagA*具有高毒素活性,导致胃泌素分泌增多,进而增加食管下括约肌收缩的强度和频率,又可促进胃黏膜萎缩导致胃酸产生减少从而减少胃酸对食管黏膜的刺激作用,进而可减轻食管炎症,对RE的发生起到潜在的保护作用。

2 功能性消化不良

根据Keohane等^[9]认为*H. pylori*可能参与功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的发病,持续的*H. pylori*感染可能导致胃动力和病理生理学的改变;Hall等^[10]研究表明*H. pylori*感染可导致

胃黏膜肥大细胞(mast cells, MC)的增多,促进中性粒细胞浸润,MC还可改变脑-肠轴信号参与FD的发生;另有研究表明*H. pylori*可导致胃黏膜感觉神经肽升高,使患者对胃容受扩张的感觉阈值降低^[11]。根据牟春笋等^[12]对480例患有FD的儿童及423例无症状健康儿童进行研究发现*H. pylori CagA*阳性与儿童FD的发病显著相关,而不带*CagA*的*H. pylori*菌株感染与儿童FD无明显相关性;Arévalo-Galvis等^[13]对79例*H. pylori*阳性的FD患者进行研究发现*CagA*表达的百分率达71%,在FD中最具毒力的致病基因为多基因组合(*CagA*+/*VacAslam1/babA2/iceA1*);Villichone等^[14]研究表明在*H. pylori*感染FD患者中*CagA*阳性表达率较高,且*CagA 1a*基因与餐后窘迫综合征(postprandial distress syndrome, PDF)相关,*CagA 2a*基因与上腹部疼痛综合征(epigastric pain syndrome, EPS)相关。*CagA*可能通过释放各种炎症因子,加重胃黏膜炎症,从而导致胃感觉和运动异常。目前对*CagA*致FD的机制有待深入研究。

3 慢性胃炎

*H. pylori*是慢性胃炎(chronic gastritis, CG)的主要致病菌已被人们认可,其与胃黏膜上皮细胞的特异性受体结合,其本身所具有的胞周血细胞凝集素可促进其黏附,*H. pylori*可分泌一种中性粒细胞和单核细胞趋化因子^[15],又可导致胃黏膜CD4⁺T淋巴细胞浸润,导致TH1、TH2型免疫应答,刺激上皮细胞产生白介素(interleukin, IL)-2、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-4、IL-12、IL-6、IL-8、干扰素- γ 、IL-10等炎症因子,当炎症因子失衡可导致胃黏膜炎症^[16],Kido等^[17]研究表明*CagA*阳性大鼠胃黏膜CD4⁺T淋巴细胞浸润较*CagA*阴性大鼠胃黏膜多,而且胃黏膜炎症较重。Takamura等^[18]对日本和巴西*H. pylori*感染的患者胃黏膜炎症进行研究,发现感染东亚*CagA*基因型的*H. pylori*促进胃黏膜炎症的进展。朱宝等^[19]对52例慢性胃炎者和50例健康者进行胃黏膜组织*CagA*表达及培养液中IL-6、IL-8、CRP水平进行研究,表明慢性胃炎组*H. pylori CagA*阳性表达显著高于对照组,同时IL-8亦高于对照组,IL-6、CRP无明显差异。张亚南等^[20]研究表明*H. pylori CagA*是诱导IL-8 mRNA表达的重要因子。根据Zalewska-Ziob等^[21]研究表明*CagA/VacA*可致TNF- α 升高;*H. pylori CagA*还可促进胃黏膜产生诱导型一氧

化氮合酶(induced nitric oxide synthetase, iNOS), 进而产生NO参与胃黏膜组织的病理损伤^[22].

李庭赞等^[23]研究表明慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)以*H. pylori* CagA阳性感染为主; 孟祥军等^[24]研究表明CagA的表达同CAG的严重程度密切相关, 高阳性率患者的胃黏膜炎症活动度较重; 另有研究表明, CagA能增强胃黏膜的炎性反应并促进胃黏膜萎缩及肠化^[25]. Schnelle等^[26]研究表明CagA阳性*H. pylori*感染者胃窦黏膜发生肠化生的概率增高. Chuang等^[27]研究表明*H. pylori* CagA磷酸化可能导致肠上皮化生及胃癌发生的风险. 陆一峰等^[28]研究表明根治*H. pylori*后可使胃黏膜萎缩和肠上皮化生程度减轻. *H. pylori* CagA可直接损伤胃黏膜上皮细胞, 引起胃黏膜炎症加重, 胃黏膜腺体不断遭受到变性、损伤、破坏并逐渐丢失, 病变的范围、程度逐渐加重导致黏膜腺体萎缩. Hutton等^[29]研究表明CagA可上调核因子-κB(nuclear factor κB, NF-κB), NF-κB可促进IL-8、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等炎症因子的分泌, 长期处于慢性炎症中的胃黏膜可发生萎缩及肠上皮化生. 此外NF-κB可抑制壁细胞分泌胃酸, 使胃液pH值及胃泌素分泌增多, 促进CAG的发生发展^[30].

4 消化性溃疡

目前临床上主要将消化性溃疡(peptic ulcer, PU)分为“*H. pylori*相关性溃疡”和“非*H. pylori*相关性溃疡”. 被人们公认的是*H. pylori*可使胃泌素和生长抑素的分泌紊乱, 亦会直接破坏上皮细胞释放炎症介质, 引发胃黏膜局部炎症反应, 使胃酸分泌过多, 破坏正常的胃黏膜屏障, 诱发溃疡. 张静等^[31]研究表明胃溃疡患者*H. pylori* CagA阳性率明显高于胃炎患者. Salehi等^[32]研究表明在十二指肠溃疡患者中CagA阳性率比慢性胃炎患者高. Tuncel等^[33]研究亦表明PU患者CagA阳性率明显高于慢性胃炎患者. CagA致PU的机制为: (1)漏屋顶学说: 把有炎症的黏膜比喻成漏雨的屋顶, 而CagA可使胃黏膜炎症加重; (2)介质冲洗学说: CagA可致炎症因子释放增多, 如IL-8、TNF-α及IL-8 mRNA的表达增高, 促进中性粒细胞的聚集及浸润^[19-21]; Jafarzadeh等^[34]研究表明CagA抗体阳性的十二指肠球部溃疡中IL-17明显增高; (3)胃泌素-胃酸学说: 根据汪苏等^[35]研究表明CagA蛋白可上调胃泌素基因的表达, 胃泌素分泌增加, 从而促进胃酸的分泌; (4)免

疫损伤学说: CagA可致胃黏膜CD4⁺ T细胞浸润, 导致免疫损伤^[17].

5 胃淋巴组织样淋巴瘤

胃淋巴组织样淋巴瘤(mucosa associated lymphoid tissue, MAIL), 淋巴瘤为结外边缘B细胞淋巴瘤的常见类型, 他属于低度恶性, 但可转化为高度恶性的弥漫性大B细胞淋巴瘤. 其发生与*H. pylori*感染密切相关, 尤其是CagA阳性的*H. pylori*感染; Delchier等^[36]在对53例胃MALT淋巴瘤患者研究时发现*H. pylori*感染率为85%, 血清CagA抗体阳性率为56.5%, 高度恶性MALT淋巴瘤患者中*H. pylori*感染率为100%, CagA抗体阳性率为75%. CagA可通过多种途径参与MALT淋巴瘤的发生发展: (1)CagA可直接进入胃黏膜上皮细胞, 干扰细胞信号转导通路^[37]; (2)能诱导Bad磷酸化从而增强淋巴细胞逃避凋亡的能力, 促进淋巴瘤的生成^[38]; (3)可通过释放炎症因子, 直接作用于上皮细胞; 研究表明IL-10(-819C/T)和TNF-α(-308G/A)位点是*H. pylori*相关性胃MALT淋巴瘤的危险因素^[39]; (4)上调COX-2的表达和下调Bax/Bcl-2^[40], 从而阻止细胞凋亡; (5)上调NF-κB促进炎症因子IL-6的释放, 诱导MiR-21的表达上调, 从而抑制PTEN的表达, 激活Akt信号通路等发挥其癌基因的功能^[41,42].

6 胃癌

胃癌(gastric cancer, GC)是消化系常见的恶性肿瘤, 有研究表明胃癌的发生与*H. pylori*感染有关, 世界卫生组织已将*H. pylori*感染列入I类致癌因子. 徐兴福等^[43]对10篇有关中国居民CagA阳性*H. pylori*感染与胃癌关系的文献进行Meta分析得出CagA阳性*H. pylori*感染与胃癌之间有高度联系. *H. pylori* CagA致胃癌的可能机制为: (1)CagA可激活Cox-2以及抑制热休克蛋白70(HSP70)^[44], 促进胃黏膜上皮细胞的凋亡; (2)CagA可上调NF-κB: NF-κB是一种多向转录调节因子, 可参与多种肿瘤的发生, 有文献报道CagA可上调NF-κB, 促进胃癌前病变慢性萎缩性胃炎及肠上皮化生的发生发展^[29]; (3)上调miR-21^[45,46]: 研究表明92%的胃癌组织中miR-21表达增加, miR-21可下调抑癌基因, 使细胞周期缩短, 促进细胞凋亡; (4)限制极性调节激酶PAR1/MARK并抑制其活性, CagA亦获得对致癌性酪氨酸磷酸酶SHP2的影响, 并解除对其活性

■创新盘点

*H. pylori*在慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌以及胃MALT淋巴瘤等消化系统疾病发生发展中的作用已经得到公认, 但关于*H. pylori* CagA基因与消化系统疾病的关系目前尚未见系统的综述, 本文的创新点在于系统的综述了*H. pylori* CagA基因与消化系统疾病关系的研究进展.

■应用要点

随着人们对 *H. pylori* 在消化系统疾病发病中的作用的认知, 有关抗 *H. pylori* 治疗已成为部分消化系统疾病的必要治疗手段, 明确 *H. pylori* *CagA* 基因与消化系统疾病的关系, 有待于有效地寻求 *H. pylori* 基因治疗方法。

的管制, *CagA* 通过解除对细胞内信号传导途径的管制而参与胃癌的发生^[47]; (5) 破坏细胞凋亡刺激蛋白P53的抑癌基因通路^[48]。

7 肝病

有研究表明^[49]在肝脏、胆管和胆汁中发现 *H. pylori*, 其可能通过微生物的方式在肝胆管疾病的发病机制中起作用; 李东复等^[50]研究结果提示 *CagA* 和 *VacA* 阳性的 *H. pylori* 感染的肝硬化患者胃黏膜组织和外周血中IL-1、IL-8、TNF- α 、内毒素、NO及内皮素(endothelin, ET)的水平明显高于 *CagA* 和 *VacA* 阴性的 *H. pylori* 感染的肝硬化患者; 上述因素又可刺激ET的产生, ET可与存在于Disse间隙的贮脂细胞上的内皮素受体结合, 使贮脂细胞细胞收缩, 肝窦阻力增加, 门静脉高压, 导致门脉血流减少。此研究表明 *CagA* 和 *VacA* 阳性在肝硬化高动力循环及门脉高压性胃黏膜病变中起重要作用; 郑盛等^[51]研究表明肝癌患者中 *H. pylori* *CagA*-IgG 抗体明显高于健康体检者。根据田莉等^[52]研究表明 *H. pylori* *CagA* 阳性率在病原学分类中, 乙型肝炎患者、甲型肝炎患者、非甲非乙型肝炎患者之间无明显差异, 而与无肝炎病毒感染者比较则有显著差异。在肝脏疾病发展的不同时期 *H. pylori* 血清 *CagA* 抗体阳性率分布不同, 肝硬化最高, 其次分别为慢性肝炎、重型肝炎、急性肝炎, 前3组均与急性肝炎存在差异。Esmat等^[53]研究表明 *CagA* 与丙型肝炎相关的慢性肝炎及伴或不伴肝癌的肝硬化的进展有关, 且在晚期肝硬化患者中 *CagA* 阳性率明显高于早期肝硬化患者; 根据Boonyanugomol等^[54]报道 *CagA* 与肝胆管细胞癌(cholangiocarcinoma, CCA)和胆石症相关, 但在CCA中出现的概率明显高于胆石症($P < 0.05$), 差异有显著意义, *CagA* 与肝胆疾病密切相关, 特别是CCA, 考虑为 *CagA* 通过破坏细胞的增殖、凋亡以及促进炎症反应在CCA的发生中起重要作用。

8 结论

H. pylori *CagA* 通过多种途径在消化系统疾病的发生发展中起着重要作用, 虽然其致病机制尚未完全明确, 但随着研究的进展正在不断深入了解, 从而为消化性疾病的防治提供理论依据及新的途径。

9 参考文献

- Pereira-Lima JC, Marques DL, Pereira-Lima LF, Hornos AP, Rota C. The role of *cagA* He-

licobacter pylori strains in gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 643-647 [PMID: 15201576 DOI: 10.1097/01.meg.0000108340.41221.9e]

- Warburton-Timms VJ, Charlett A, Valori RM, Uff JS, Shepherd NA, Barr H, McNulty CA. The significance of *cagA*(+) *Helicobacter pylori* in reflux oesophagitis. *Gut* 2001; 49: 341-346 [PMID: 11511554 DOI: 10.1136/gut.49.3.341]
- 许树长, 张志强, 陈锡美, 叶元康, 王炳芳, 张东伟. 反流性食管炎患者的幽门螺杆菌感染. 同济大学学报 2005; 26: 45-48
- Somi MH, Fattahi E, Fouladi RF, Karimi M, Bonyadi R, Baballou Z. An inverse relation between *CagA*+ strains of *Helicobacter pylori* infection and risk of erosive GERD. *Saudi Med J* 2008; 29: 393-396 [PMID: 18327366]
- Miernyk K, Morris J, Bruden D, McMahon B, Hurlburt D, Sacco F, Parkinson A, Hennessy T, Bruce M. Characterization of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* genotypes among Alaskans and their correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3114-3121 [PMID: 21752979 DOI: 10.1128/JCM.00469-11]
- Fujiwara Y, Higuchi K, Tominaga K, Matsuo T, Watanabe T, Uchida T, Saeki Y, Arakawa T, Tarnawski A. Effect of *Helicobacter pylori* culture supernatant on acute reflux esophagitis in a rat model. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 1611-1615 [PMID: 11813584]
- Grande M, Cadeddu F, Villa M, Attinà GM, Muzi MG, Nigro C, Rulli F, Farinon AM. *Helicobacter pylori* and gastroesophageal reflux disease. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 74 [PMID: 18601740]
- 刘继友. 64例反流性食管炎患者幽门螺杆菌检测结果分析. 内科 2012; 7: 366-367
- Keohane J, Quigley EM. Functional dyspepsia: the role of visceral hypersensitivity in its pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2672-2676 [PMID: 16718751]
- Hall W, Buckley M, Crotty P, O'Morain CA. Gastric mucosal mast cells are increased in *Helicobacter pylori*-negative functional dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; 1: 363-369 [PMID: 15017654 DOI: 10.1053/S1542-3565(03)00184-8]
- Mönnikes H, van der Voort IR, Wollenberg B, Heymann-Mönnikes I, Tebbe JJ, Alt W, Arnold R, Klapp BF, Wiedenmann B, McGregor GP. Gastric perception thresholds are low and sensory neuropeptide levels high in *Helicobacter pylori*-positive functional dyspepsia. *Digestion* 2005; 71: 111-123 [PMID: 15785037 DOI: 10.1159/000084625]
- 牟春笋, 刘艳萍, 王进. 儿童功能性消化不良危险因素分析. 临床消化病杂志 2009; 21: 212-214
- Arévalo-Galvis A, Trespalacios-Rangell AA, Otero W, Mercado-Reyes MM, Poutou-Piñales RA. Prevalence of *cagA*, *vacA*, *babA2* and *iceA* genes in *H. pylori* strains isolated from Colombian patients with functional dyspepsia. *Pol J Microbiol* 2012; 61: 33-40 [PMID: 22708344]
- Vilaichone RK, Mahachai V, Tumwasorn S, Kachintorn U. *CagA* genotype and metronidazole resistant strain of *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia in Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 46-48 [PMID: 21443709 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06652.x]
- 樊慧丽, 玉梅. 幽门螺杆菌感染及其相关疾病发病机

- 制的研究进展. 中国全科医学 2011; 14: 577-579
- 16 石云, 刘晓斐. 幽门螺杆菌与TH细胞应答的研究进展. 细胞与分子免疫学杂志 2010; 26: 407-409
 - 17 Kido M, Watanabe N, Aoki N, Iwamoto S, Nishiura H, Maruoka R, Ikeda A, Azuma T, Chiba T. Dual roles of CagA protein in Helicobacter pylori-induced chronic gastritis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 412: 266-272 [PMID: 21820415]
 - 18 Takamura A, Ito M, Imagawa S, Takata S, Tanaka S, Teixeira CR, Kamada T, Haruma K, Chayama K. Helicobacter pylori cagA polymorphism and gastric inflammation: an international comparison between Japanese and Brazilian patients. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1051-1056 [PMID: 21736532 DOI: 10.3109/00365521.2011.598549]
 - 19 朱宝, 袁航, 奚惠芳, 王俊超. 幽门螺杆菌感染性胃炎患者胃黏膜组织CagA表达与其培养液中IL-6、IL-8及CRP水平的变化. 中华医院感染性杂志 2011; 21: 236-238
 - 20 张亚南, 黄柳桓, 康熙雄. 幽门螺杆菌毒力蛋白CagA诱导AGS细胞IL-8mRNA表达的研究. 中国实验诊断学 2012; 16: 571-574
 - 21 Zalewska-Ziob M, Adamek B, Strzelczyk JK, Gawron K, Jarzab B, Gubała E, Kula D, Krakowczyk Ł, Sieroń A, Wiczowski A. TNF-alpha expression in gastric mucosa of individuals infected with different virulent Helicobacter pylori strains. *Med Sci Monit* 2009; 15: BR166-BR171 [PMID: 19478694]
 - 22 原素梅, 郝素珍, 姚红, 崔雪萍, 刘俊. 幽门螺杆菌(Hp)相关性胃炎Hp密度及CagA基因对胃黏膜诱导型NOS表达的影响. 山西医科大学学报 2005; 36: 25-27
 - 23 李庭赞, 陈志潭, 孙丹莉, 孙士其. HP和CagA Hp与中国人慢性萎缩性胃炎、胃腺癌、消化性溃疡的关系. 临床内科学杂志 2001; 18: 28-30
 - 24 孟祥军, 吴建新, 李定国, 陆汉明. 慢性萎缩性胃炎胃黏膜病理改变与细胞毒素相关蛋白及空泡毒素的关系. 临床内科杂志 2003; 20: 414-415
 - 25 Sicinschi LA, Correa P, Peek RM, Camargo MC, Piazuelo MB, Romero-Gallo J, Hobbs SS, Krishna U, Delgado A, Mera R, Bravo LE, Schneider BG. CagA C-terminal variations in Helicobacter pylori strains from Colombian patients with gastric precancerous lesions. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 369-378 [PMID: 19456839 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02811.x]
 - 26 Schneller J, Gupta R, Mustafa J, Villanueva R, Straus EW, Raffaniello RD. Helicobacter pylori infection is associated with a high incidence of intestinal metaplasia in the gastric mucosa of patients at inner-city hospitals in New York. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1801-1809 [PMID: 16944298 DOI: 10.1007/s10620-006-9167-4]
 - 27 Chuang CH, Yang HB, Sheu SM, Hung KH, Wu JJ, Cheng HC, Chang WL, Sheu BS. Helicobacter pylori with stronger intensity of CagA phosphorylation lead to an increased risk of gastric intestinal metaplasia and cancer. *BMC Microbiol* 2011; 11: 121 [PMID: 21619658 DOI: 10.1186/1471-2180-11-121]
 - 28 陆一峰, 宓晓鸣, 许学新. 根治幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩及肠上皮化生的影响. 苏州大学学报 2010; 30: 851-852
 - 29 Hutton ML, Kaparakis-Liaskos M, Turner L, Cardona A, Kwok T, Ferrero RL. Helicobacter pylori exploits cholesterol-rich microdomains for induction of NF-kappaB-dependent responses and peptidoglycan delivery in epithelial cells. *Infect Immun* 2010; 78: 4523-4531 [PMID: 20713621 DOI: 10.1128/IAI.00439-10]
 - 30 Saha A, Hammond CE, Trojanowska M, Smolka AJ. Helicobacter pylori-induced H,K-ATPase alpha-subunit gene repression is mediated by NF-kappaB p50 homodimer promoter binding. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G795-G807 [PMID: 18202112 DOI: 10.1152/aipgi.00431.2007]
 - 31 张静, 余菲菲, 陈月秀, 陈豪. 幽门螺杆菌CagA、opiA、iceA1基因的检测及其意义. 中国卫生检验杂志 2004; 14: 133-134
 - 32 Salehi Z, Jelodar MH, Rassa M, Ahaki M, Mollasalehi H, Mashayekhi F. Helicobacter pylori cagA status and peptic ulcer disease in Iran. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 608-613 [PMID: 18612816 DOI: 10.1007/s10620-008]
 - 33 Tuncel IE, Hussein NR, Bolek BK, Arian S, Salih BA. Helicobacter pylori virulence factors and their role in peptic ulcer diseases in Turkey. *Acta Gastroenterol Belg* 2010; 73: 235-238 [PMID: 20690562]
 - 34 Jafarzadeh A, Mirzaee V, Ahmad-Beygi H, Nemati M, Rezayati MT. Association of the CagA status of Helicobacter pylori and serum levels of interleukin (IL)-17 and IL-23 in duodenal ulcer patients. *J Dig Dis* 2009; 10: 107-112 [PMID: 19426392 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00371.x]
 - 35 汪苏, 周建奖, 单可人, 赵燕, 谢渊. 幽门螺杆菌毒素相关蛋白CagA上调胃泌素基因表达. 中华微生物学及免疫学杂志 2009; 29: 976-980
 - 36 Delchier JC, Lamarque D, Levy M, Tkoub EM, Copie-Bergman C, Deforges L, Chaumette MT, Haioun C. Helicobacter pylori and gastric lymphoma: high seroprevalence of CagA in diffuse large B-cell lymphoma but not in low-grade lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2324-2328 [PMID: 11513169 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001]
 - 37 Lin WC, Tsai HF, Kuo SH, Wu MS, Lin CW, Hsu PI, Cheng AL, Hsu PN. Translocation of Helicobacter pylori CagA into Human B lymphocytes, the origin of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Cancer Res* 2010; 70: 5740-5748 [PMID: 20587516]
 - 38 Zhu Y, Wang C, Huang J, Ge Z, Dong Q, Zhong X, Su Y, Zheng S. The Helicobacter pylori virulence factor CagA promotes Erk1/2-mediated Bad phosphorylation in lymphocytes: a mechanism of CagA-inhibited lymphocyte apoptosis. *Cell Microbiol* 2007; 9: 952-961 [PMID: 17140404 DOI: 10.1111/j.1462-5822.2006.00843.x]
 - 39 Hellmig S, Bartscht T, Fischbach W, Fölsch UR, Schreiber S. Interleukin-10 (-819 C/T) and TNF-A (-308 G/A) as risk factors for H. pylori-associated gastric MALT-lymphoma. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2007-2008 [PMID: 18338261 DOI: 10.1007/s10620-008-0231-0]
 - 40 Chen LT, Lin JT, Tai JJ, Chen GH, Yeh HZ, Yang SS, Wang HP, Kuo SH, Sheu BS, Jan CM, Wang WM, Wang TE, Wu CW, Chen CL, Su JJ, Whang-Peng J, Cheng AL. Long-term results of anti-Helicobacter pylori therapy in early-stage gastric high-grade transformed MALT lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1345-1353 [PMID: 16174856 DOI: 10.1093/jnci/dji277]
 - 41 Löffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, Stocsits C, Hackermüller J, Kretschmar AK, Burger R, Gramatzki M, Blumert C, Bauer K, Cvijic H, Ullmann AK, Stadler PF, Horn F. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* 2007; 110: 1330-1333 [PMID: 17496199 DOI: 10.1182/

同行评价

本文较系统、全面的阐述了H. pylori CagA基因型与多种消化系统疾病的关系, 具有一定的临床价值。

- Blood-2007-03-081133]
- 42 Marquez RT, Wendlandt E, Galle CS, Keck K, McCaffrey AP. MicroRNA-21 is upregulated during the proliferative phase of liver regeneration, targets Pellino-1, and inhibits NF-kappaB signaling. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G535-G541 [PMID: 20167875 DOI: 10.1152/ajpgi.00338.2009]
 - 43 徐兴福, 毕建萍. 中国居民CagA Hp感染与胃癌关系的Meta分析. *中国热带医学* 2006; 6: 2122-2123
 - 44 Targosz A, Brzozowski T, Pierzchalski P, Szczyrk U, Ptak-Belowska A, Konturek SJ, Pawlik W. Helicobacter pylori promotes apoptosis, activates cyclooxygenase (COX)-2 and inhibits heat shock protein HSP70 in gastric cancer epithelial cells. *Inflamm Res* 2012; 61: 955-966 [PMID: 22610150 DOI: 10.1007/s00011-012-0487-x]
 - 45 Winter F, Edaye S, Hüttenhofer A, Brunel C. Anopheles gambiae miRNAs as actors of defence reaction against Plasmodium invasion. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 6953-6962 [PMID: 17933784 DOI: 10.1093/nar/gkm686]
 - 46 李立平, 吴炜景, 吴伟洪, 赵亚刚. MiR-21、幽门螺杆菌CagA与胃癌相关性研究进展. *华南国防医学杂志* 2012; 26: 389-391
 - 47 Hatakeyama M. [H. pylori oncoprotein CagA and gastric cancer]. *Nihon Rinsho* 2012; 70: 1699-1704 [PMID: 23198548]
 - 48 Buti L, Spooner E, Van der Veen AG, Rappuoli R, Covacci A, Ploegh HL. Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9238-9243 [PMID: 21562218 DOI: 10.1073/pnas.1106200108]
 - 49 Isaeva GSh, Abuzarova ER, Valeeva IuV, Pozdeev OK, Murav'eva EV. [Helicobacter pylori in patients with disorders of hepatobiliary system]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2009; (2): 96-101 [PMID: 19459487]
 - 50 李东复, 卢琳琳, 杨贵贞. 幽门螺杆菌感染在肝硬化、肝癌高动力循环及胃黏膜病变中的作用. *中国免疫学杂志* 2005; 21: 877-879
 - 51 郑盛, 肖琼怡, 殷芳, 严晓会, 刘海. 幽门螺杆菌与原发性肝癌的相关性研究. *中国临床实用医学* 2010; 4: 83-84
 - 52 田莉. 探讨幽门螺杆菌血清CagA抗体与肝病患者的关系. *健康必读杂志* 2010; 8: 132
 - 53 Esmat G, El-Bendary M, Zakarya S, Ela MA, Zalata K. Role of Helicobacter pylori in patients with HCV-related chronic hepatitis and cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma: possible association with disease progression. *J Viral Hepat* 2012; 19: 473-479 [PMID: 22676359 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01567.x]
 - 54 Boonyanugomol W, Chomvarin C, Sripan B, Chau-In S, Pugkhem A, Namwat W, Wongboot W, Kham-poosa B. Molecular analysis of Helicobacter pylori virulent-associated genes in hepatobiliary patients. *HPB (Oxford)* 2012; 14: 754-763 [PMID: 23043664]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

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

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围.其中A+(权威期刊)取前5%;A(核心期刊)取前5%-20%;A-(扩展核心期刊)取前20%-30%;B+(准核心期刊)取前30%-50%;B(一般期刊)取前50%-80%;C(较差期刊)为80%-100%.

孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠 PGE₂与EGF含量的影响

杨舟, 张国山, 刘密, 章海凤, 雷毅军, 常小荣, 郁保生

杨舟, 刘密, 常小荣, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007

张国山, 章海凤, 雷毅军, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007

郁保生, 湖南中医药大学中医学学院 湖南省长沙市 410007
国家重点基础研究973计划基金资助项目, No. 2009CB522904
国家自然科学基金资助项目, No. 81173326
高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20124323110001

作者贡献分布: 此课题由常小荣、郁保生及杨舟共同设计; 动物模型制作、施灸及样本采集由杨舟、张国山及刘密操作完成; 检测分析由章海凤完成; 数据统筹及统计学分析由杨舟与雷毅军完成; 论文写作由杨舟与张国山完成。

通讯作者: 郁保生, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山路113号, 湖南中医药大学中医学学院. ybs1955@126.com

收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-03-20

接受日期: 2013-05-15 在线出版日期: 2013-06-08

Effect of moxibustion pretreatment on the contents of PGE₂ and EGF in gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract or spinal cord damage

Zhou Yang, Guo-Shan Zhang, Mi Liu, Hai-Feng Zhang, Yi-Jun Lei, Xiao-Rong Chang, Bao-Sheng Yu

Zhou Yang, Mi Liu, Xiao-Rong Chang, College of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China

Guo-Shan Zhang, Hai-Feng Zhang, Yi-Jun Lei, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China

Bao-Sheng Yu, College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2009CB522904; the National Natural Science Foundation of China, No. 81173326; and the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20124323110001

Correspondence to: Bao-Sheng Yu, Professor, College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of TCM, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. ybs1955@126.com

Received: 2013-01-07 Revised: 2013-03-20

Accepted: 2013-05-15 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To observe the effect of moxibustion pretreatment on the contents of prostaglandin E₂

(PGE₂) and epidermal growth factor (EGF) in acute gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract (NTS) or spinal cord damage, and to discuss the relationship between the central nervous system and endogenous protective effect of moxibustion.

METHODS: Fifty SD rats were randomly divided into five groups: a blank group, a model group, a moxibustion group, a NTS damage group, and a spinal cord damage group. After spinal cord damage and NTS damage were induced in groups D and E, respectively, moxibustion at Zusanli point (ST36) was applied in groups C, D and E. After that, the rats were intragastrically given absolute ethanol to induce acute gastric mucosal injury. The contents of PGE₂ and EGF in the gastric mucosa were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: Moxibustion pretreatment increased the contents of PGE₂ and EGF in the gastric mucosa (338.82 µg/L ± 19.87 µg/L vs 279.52 µg/L ± 16.53 µg/L, *P* < 0.01; 4037.12 µg/L ± 300.20 µg/L vs 2923.73 µg/L ± 251.23 µg/L, *P* < 0.05). NTS or spinal cord damage reduced the contents of PGE₂ and EGF compared to the moxibustion group, in which the NTS and spinal cord were normal (298.65 µg/L ± 12.89 µg/L, 317.56 µg/L ± 16.60 µg/L vs 338.82 µg/L ± 19.87 µg/L; 3176.21 µg/L ± 242.35 µg/L, 3337.43 µg/L ± 249.86 µg/L vs 4037.12 µg/L ± 300.20 µg/L, all *P* < 0.01). The content of PGE₂ in the NTS damage group was lower than that in the spinal cord damage group (*P* < 0.05).

CONCLUSION: NTS or spinal cord damage reduces the protective effect of moxibustion pretreatment at Zusanli point (ST36) on the gastric mucosa, suggesting that both the NTS and spinal cord are involved in the protective effect of moxibustion on the gastric mucosa.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Moxibustion pretreatment; Gastric mu-

■背景资料

艾灸可通过多途径、多因素、多水平诱导机体产生内源性保护物质,启动一系列抗炎、抗氧化、抑制凋亡等抗损伤和胃黏膜细胞增殖及胃黏膜重建等保护效应。但艾灸实现对内源性保护物质调控的信息传递通路及其与中枢神经系统的关系尚不明确。

■同行评议者

王富春, 教授, 长春中医药大学

■研发前沿

大量研究证实,胃黏膜的内源性保护因子具有扩张血管,改善胃黏膜供血,保护、提高血管内皮细胞和胃上皮细胞功能等作用,尤其是在致损伤因子存在的情况下,发挥着重要的胃黏膜保护作用,如前列腺素₂(prostaglandin E₂, PGE₂)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等。

cosa injury; Zusanli point (ST36); Nucleus of the solitary tract; Spinal cord; Prostaglandin E₂; Epidermal growth factor

Yang Z, Zhang GS, Liu M, Zhang HF, Lei YJ, Chang XR, Yu BS. Effect of moxibustion pretreatment on the contents of PGE₂ and EGF in gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract or spinal cord damage. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1511-1515 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1511.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1511>

摘要

目的: 损毁大鼠中枢神经通路中的孤束核和脊髓,观察艾灸预处理对胃黏膜内源性保护物质前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)含量的影响,进而探讨艾灸启动内源性保护信息与中枢神经通路的关系。

方法: 50只SD大鼠随机分5组,即A:空白对照组;B:模型对照组;C:温和灸+模型组;D:温和灸+模型组+孤束核损毁组;E:温和灸+模型组+脊髓损毁组。预先按要求对D、E组大鼠分别实施孤束核、脊髓的损毁手术,再对相应组别进行艾灸处理,最后用无水酒精灌胃造成急性胃黏膜损伤模型。运用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测胃黏膜组织中PGE₂和EGF的含量。

结果: 艾灸预处理有上调胃黏膜中PGE₂、EGF含量的作用(338.82 μg/L ± 19.87 μg/L vs 279.52 μg/L ± 16.53 μg/L, $P < 0.01$; 4037.12 μg/L ± 300.20 μg/L vs 2923.73 μg/L ± 251.23 μg/L, $P < 0.05$),孤束核和脊髓被损毁的2组大鼠胃黏膜PGE₂和EGF的含量明显低于神经通路未损伤的温和灸组(298.65 μg/L ± 12.89 μg/L, 317.56 μg/L ± 16.60 μg/L vs 338.82 μg/L ± 19.87 μg/L; 3176.21 μg/L ± 242.35 μg/L, 3337.43 μg/L ± 249.86 μg/L vs 4037.12 μg/L ± 300.20 μg/L, 均 $P < 0.01$),且孤束核损毁的大鼠胃黏膜中PGE₂的含量较脊髓损毁的低($P < 0.05$)。

结论: 损毁大鼠中枢神经通路中的孤束核和脊髓对艾灸预处理提高胃黏膜组织中PGE₂、EGF含量有影响,提示孤束核和脊髓均参与了艾灸保护胃黏膜信号的传导。其中,艾灸诱导胃黏膜PGE₂的产生可能主要受控于孤束核,而其对胃黏膜EGF表达调控则与孤束核和脊髓均有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 艾灸预处理;胃黏膜损伤;足三里;孤束核;脊髓;前列腺素E₂;表皮生长因子

核心提示: 本文从分析艾灸的防治作用入手,进行中枢神经信息通路调控机制的研究,通过损毁孤束核和切断脊髓,观察艾灸预处理对大鼠胃黏膜内源性保护物质前列腺素E₂(prostaglandin E₂)、表皮生长因子(epidermal growth factor)含量的影响,进而探讨艾灸启动内源性保护信息与中枢神经通路的关系。

杨冉, 张国山, 刘密, 章海凤, 雷毅军, 常小荣, 郁保生. 孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠PGE₂与EGF含量的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(16): 1511-1515 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1511.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1511>

0 引言

现代应激理论的研究^[1-5]结果表明,艾灸预处理可以激发机体适度应激,诱导内源性保护物质的释放,提高机体抗病与应变能力,并产生减轻或阻抑随后疾病的损伤作用,是一种既不损伤组织器官又能产生预防疾病效果的有效方法。我们的前期研究显示,艾灸预处理足三里等穴可在诱导机体产生相关内源性胃黏膜保护物质的同时,一方面通过降低炎症反应、抗氧化、抑制细胞凋亡等作用抗胃黏膜损伤;另一方面启动了胃黏膜细胞增殖、胃黏膜重建等程序促进胃黏膜修复,最终实现对胃黏膜的保护效应。至于艾灸效应信息传递的具体通路,以及如何通过神经、体液通路直接或间接地影响脏腑机能,尤其是中枢神经系统对其调控的资料很少,还有待进一步研究阐明。本研究在损毁大鼠孤束核(nucleus of the solitary tract, NTS)和切断脊髓的前提条件下,观察艾灸预处理对大鼠急性胃黏膜损伤保护因前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)含量的影响,从而进一步探讨艾灸启动的内源性保护信息对胃黏膜的保护效应与中枢神经通路的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠50只,雌雄各半,体质量220-250 g,由湖南中医药大学动物实验中心提供(动物合格证号: SCXK<湘>2009-0004),饲养温度20℃-25℃,相对湿度50%-60%,光线采用12 h/12 h昼夜变化。Φ4 mm温灸纯艾条(南阳汉医责任有限公司),自制灸架。酶联免疫吸附法

■相关报道

电损毁孤束核后,电针足三里穴对应激性胃黏膜损伤的保护作用减弱,证实孤束核参与了电针足三里穴抗应激性胃溃疡的作用过程。

(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(SD), HRP goat anti-mouse IgG(Proteintech); BL-410生物信号处理系统(成都泰盟电子有限公司), TGL-16台式冷冻离心机(长沙湘仪天平仪器厂), W-960多功能全自动酶标洗板机、MB酶标仪(深圳汇松科技有限公司), DK-8D型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组及处理: 按随机数字表法将50只大鼠分为5组, 每组10只动物, 即: A: 空白对照组; B: 模型对照组; C: 温和灸+模型组; D: 温和灸+模型组+孤束核损毁组; E: 温和灸+模型组+脊髓损毁组。大鼠雌雄分笼饲养7 d, 以适应环境, 提高存活率; 7 d后, 按要求对D、E组大鼠分别实施脊髓、孤束核损毁手术, 并进行术后护理2 d, A、B、C组继续正常饲养2 d; 对A、B组进行捆绑假灸处理, C、D、E组进行捆绑艾灸处理, 共8 d; 处理第8天后, 各组禁食24 h, A组蒸馏水灌胃处理, B、C、D、E组无水乙醇灌胃造模; 造模24 h后, 腹腔注射20%乌拉坦0.6 mL/100 g麻醉, 取胃、脑组织进行指标检测 and 数据分析。

1.2.2 神经通路损毁方法: (1)孤束核电损毁^[6,7]。大鼠腹腔麻醉(20%乌拉坦, 0.6 mL/100 g), 俯卧固定在脑立体定位仪上, 头部备皮消毒。使用直刀手术刀由两眼间至颅底沿头正中中线切开, 露出颅骨, 标记前囟的位置。在颅底距离前囟13-14 mm, 前正中左右旁开1 mm处, 用电钻各开一个1×1 mm的骨窗, 定位参照Paxinos和Watson大鼠脑立体定位图谱^[8], 将自制不锈钢绝缘损毁电极(直径0.35 mm, 尖端裸露0.5 mm), 匀速缓慢先后插入两侧的孤束核(AP: 13.2 mm, L/R: 0.9 mm, H: 7.7-7.8 mm)。损毁电极接BL-410生物信号处理系统输出端的正极, 负极夹于切口皮肤黏膜组织, 启动输出阳极直流电, 损毁参数为连续单电流, 强度1 mA, 频率50 Hz, 波宽0.5 ms, 持续30 s, 分别损毁双侧孤束核。术毕, 缝合伤口。术后动物肌肉注射青霉素钠每天16万U, 连续1 wk。待艾灸、造模处理完成后, 取动物脑组织, 做病理切片, HE染色, 光镜下观察分析孤束核的形态, 以此判定孤束核损毁是否成功; (2)脊髓横断损毁^[9-11]。大鼠腹腔麻醉(20%乌拉坦, 0.6 mL/100g), 俯卧固定在手术台上, 背部备皮消毒。按肋骨确定椎体序列, 由T8至T12沿背部正中中线切开, 暴露T9-11椎体棘突及双侧椎板。骨钳剪除T10椎板, 充分暴露T10水平脊髓, 以弯头眼科镊轻轻挑起脊髓, 正中中线切开硬膜后, 用尖锐刀片自脊

髓后正中沟垂直插入, 向两侧横向切开, 并去除约2 mm以上脊髓组织, 动物即刻出现摆尾, 双下肢抽搐或尿失禁。术毕, 缝合切口。术后动物肌肉注射青霉素钠每天16万U, 连续1 wk。人工辅助排空动物膀胱2次/d。以T10段以下呈现弛缓性瘫痪、感觉消失和肌张力消失, 不能维持正常体温, 大便滞留, 膀胱不能排空为标准判定脊髓损毁成功。

1.2.3 腧穴定位: 参考李忠仁主编的《实验针灸学》^[12], 采用常用动物穴位定位法及拟人对照法定位, 选取双侧的足三里穴, 位于大鼠膝关节后外侧, 在腓骨小头下约5 mm处。

1.2.4 施灸方法: 温和灸: 将大鼠俯卧捆绑于鼠板, 取穴定位剪毛, 将艾条固定在自制小型艾灸支架上, 对准穴位, 距离穴位约0.5 cm处点燃施灸, 灸处局部温度控制在42℃左右。每次双侧穴位同灸, 30 min/d, 连续处理8 d。

1.2.5 造模方法^[13]: 采用无水乙醇灌胃法, 造成急性胃黏膜损伤模型。艾灸预处理8 d后禁食不禁水24 h, B、C、D、E各组按常规灌胃方法将无水乙醇灌入胃内1次, 剂量为0.6 mL/100 g, A组按同样方法操作灌入生理盐水, 剂量为0.6 mL/100 g。

1.2.6 指标检测: 用ELISA测定胃黏膜PGE₂、EGF的含量(检测单位: 长沙维尔生物技术有限公司)。

统计学处理 所有数据均为计量资料, 以mean±SD表示, 用SPSS16.0软件进行处理。经检验符合正态分布和方差齐性, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 多组间两两比较用LSD法。

2 结果

(1)与空白组相比, 模型组大鼠胃黏膜中EGF的含量显著增高($P<0.01$), 表明无水乙醇灌胃后, 胃黏膜局部EGF表达增强; (2)与模型组相比, 经艾灸预处理的各组大鼠胃黏膜PGE₂和EGF的含量均有不同程度地升高($P<0.01$, $P<0.05$), 表明艾灸足三里可提高胃黏膜损伤大鼠胃黏膜PGE₂和EGF的含量; (3)与温和灸组相比, 脊髓、孤束核被损毁的两组大鼠胃黏膜PGE₂和EGF的含量明显较低($P<0.01$), 表明脊髓和孤束核参与了艾灸对大鼠胃黏膜组织中PGE₂和EGF表达的促进作用; (4)孤束核损毁的大鼠胃黏膜中PGE₂的含量较脊髓损毁的低($P<0.05$)(表1)。

3 讨论

中医理论认为, 人体的健康是以正气为基础的,

■创新盘点

在损毁中枢神经系统中的孤束核和脊髓的前提下, 运用艾灸预处理足三里穴, 通过比较各组大鼠胃黏膜中PGE₂与EGF的含量, 表明孤束核和脊髓对于艾灸调控PGE₂、EGF具有不同程度的作用。

■应用要点

本文通过探讨艾灸预处理对急性胃黏膜损伤保护作用的中枢机制, 证实了艾灸对于内源性保护物质的调控与孤束核、脊髓均存在必然的联系, 为阐明艾灸保护胃黏膜损伤的作用机制提供理论基础。

■名词解释

NTS: 位于延髓背侧部, 是脑干内接受腹腔内脏感觉传入信息的主要核团, 在调节内脏器官活动中有重要作用。NTS既接受来自内脏的各种机械和化学信号及伤害性刺激, 同时还接受来自躯体部位的感觉传入信息, 艾灸和针刺的躯体感觉传入和内脏伤害性刺激传入可能在NTS发生汇聚, 并通过NTS神经元的整合后影响内脏的功能。

表 1 各组大鼠胃黏膜中PGE₂、EGF的比较 ($n = 10$, mean $\pm$ SD, $\mu\text{g/L}$)

分组	PGE ₂	EGF
A组	279.89 $\pm$ 18.08	2579.34 $\pm$ 308.15
B组	279.52 $\pm$ 16.53	2923.73 $\pm$ 251.23 ^b
C组	338.82 $\pm$ 19.87 ^{bd}	4037.12 $\pm$ 300.20 ^{bd}
D组	298.65 $\pm$ 12.89 ^{ace}	3176.21 $\pm$ 242.35 ^{bce}
E组	317.56 $\pm$ 16.60 ^{bdef}	3337.43 $\pm$ 249.86 ^{bde}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs B组; ^e $P < 0.01$ vs C组; ^f $P < 0.05$ vs D组。A: 空白对照组; B: 模型对照组; C: 温和灸+模型组; D: 温和灸+模型组+孤束核损毁组; E: 温和灸+模型组+脊髓损毁组。PGE₂: 前列腺素E₂; EGF: 表皮生长因子。

正气的盛衰在疾病发生与转归中起着决定性作用, 正如《内经》中所云“正气存内, 邪不可干……阴平阳秘, 精神乃治”。因此, 中医学在治疗方面十分注重扶正固本, 常通过扶助正气以提高机体抗病能力, 达到抵御病邪的目的。这一传统观点与现代研究中的内源性保护机制有着密切联系, 二者都是通过机体的自主性调节或激发机体自身调节机制而产生适应性作用, 从而维持人体机能活动。内源性保护机制是机体实现自我保护的一种重要机制, 其本质是适应性反应诱导了内源性保护物质的产生, 通过提高机体的适应能力和抗损伤能力, 维持机体内部的动态平衡。他表明人体具有自身保护的能力, 具有适应环境刺激、增强自身对抗损伤的调控能力。内源性保护物质在这一过程中充当了不可或缺的角色。

PGE₂为目前公认的一种内源性细胞保护因子, 他既能削弱损伤因子的作用, 又能增强黏膜抵抗力。EGF是一种具有抑制胃酸分泌, 促进上皮增殖, 组织修复和细胞保护作用的内源性物质, 是近年发现的在细胞增殖和分化中起重要作用的分子。二者不仅能够有效抑制胃酸、胃蛋白酶的分泌, 降低对黏膜的破坏, 而且PGE₂还可以增加黏膜局部血流, 促进蛋白合成和上皮再生, 介导适应性细胞保护作用, 促使已受损的胃黏膜修复^[14-16], EGF则参与了黏膜上皮结构的重建, 对促进细胞内合成代谢、刺激细胞的迁移和增殖、加快上皮细胞的成熟有明显效果^[17]。因此, 无论是在保护胃黏膜免受损伤因子破坏方面, 还是在修复受损胃黏膜、维持胃肠黏膜完整性方面, PGE₂和EGF都起着非常关键的作用。

本实验在大鼠双侧孤束核损毁和T10水平

脊髓切断的前提下, 观察艾灸预处理对大鼠急性胃黏膜损伤保护作用, 发现孤束核、脊髓损毁的两组大鼠胃黏膜中PGE₂、EGF的含量要明显低于神经通路未损毁的温和灸组, 二者的损毁不同程度地影响了艾灸对胃黏膜的保护作用, 说明孤束核和脊髓均是艾灸足三里保护胃黏膜信号传导的重要途径。

此外, 通过比较孤束核、脊髓损毁的两组大鼠之间艾灸预处理上调内源性保护物质的作用, 我们发现一方面孤束核损毁组大鼠胃黏膜组织中PGE₂的含量比脊髓切断组大鼠的低, 说明艾灸诱导胃黏膜中PGE₂的产生则可能主要受控于孤束核; 而另一方面, 在对EGF的含量的影响上两组大鼠无明显差异, 提示艾灸诱导胃黏膜中EGF的表达受到孤束核和脊髓的共同调控。

4 参考文献

- 常小荣, 彭娜, 易受乡, 彭艳, 严洁. 艾灸预处理对应激性溃疡大鼠胃黏膜HSP70蛋白及mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1252-1256
- 易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平. 艾灸足三里、梁门穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜细胞凋亡的干预作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3163-3168
- 易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平. 艾灸预处理对应激性溃疡大鼠胃黏膜增殖修复的影响. 世界中西医结合杂志 2007; 2: 21-24
- 杜燕, 易受乡, 林亚平, 洪金标, 彭宏, 黄芸, 常小荣, 吴焕淦. 艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠热休克蛋白与相关炎症细胞因子的影响. 上海针灸杂志 2010; 29: 269-272
- 刘密, 常小荣, 严洁, 易受乡, 林亚平, 岳增辉, 彭艳, 彭芬. 艾灸预处理对大鼠应激性胃黏膜损伤的保护作用. 中华中医药杂志 2012; 27: 58-62
- 黄碧兰, 张博, 余宙, 王盼, 谈小琴, 徐秀良, 李彩伟. 大鼠孤束核在电针保护应激性胃黏膜损伤中的作用. 咸宁学院学报(医学版) 2008; 22: 1-3
- 王少锦, 孙彦辉, 赵志国, 杨天祝. 大鼠脑立体定向手术校正的三种方法. 河北医科大学学报 2001; 22: 75-77
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd rev.ed. Sydney: Academic press, 1986: F23-F26, 70-72
- 虞琴, 徐娟. 大鼠脊髓半横断损伤对脊神经P物质表达的影响. 解剖学研究 2008; 30: 8-10, 14
- 杨凯, 胡科跃, 徐小冬, 陈辉. 制作大鼠脊髓损伤模型打开椎管的方法. 解剖学杂志 2009; 5: M0004-M0004
- 童敏, 伍贤平, 陈军, 刘敏. 脊髓完全横断损伤大鼠的骨转换: 超早期高压氧干预之效应. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 2684-2687
- 李忠仁. 实验针灸学. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257
- Takano H, Satoh M, Shimada A, Sagai M, Yoshikawa T, Tohyama C. Cytoprotection by metallothionein against gastroduodenal mucosal injury caused by ethanol in mice. Lab Invest 2000; 80: 371-377 [PMID: 10744072 DOI: 10.1038/labinvest.3780041]
- Brzozowski T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment--Polish achievements. J Physiol

- 15 Pharmacol 2003; 54 Suppl 3: 99-126 [PMID: 15075467]
- 16 Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T. Prostaglandins and ulcer healing. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56 Suppl 5: 5-31 [PMID: 16247187]
- 17 Gyires K. Gastric mucosal protection: from prostaglandins to gene-therapy. *Curr Med Chem* 2005; 12: 203-215 [PMID: 15638736 DOI: 10.2174/0929867053363478]
- 18 Konturek PC, Brzozowski T, Duda A, Kwiecien S, Löber S, Dembinski A, Hahn EG, Konturek SJ. Epidermal growth factor and prostaglandin E(2) accelerate mucosal recovery from stress-induced gastric lesions via inhibition of apoptosis. *J Physiol Paris* 2001; 95: 361-367 [PMID: 11595461 DOI: 10.1016/S0928-4257(01)00049-3]

编辑 李军亮 电编 闫晋利



■同行评价

本文通过动物实验说明孤束核和脊髓均是艾灸足三里保护胃黏膜信号传导的重要途径, 从一个侧面阐释了艾灸防治疾病的机制, 具有较强的学术价值, 并对于进一步全面的揭示艾灸的作用机制具有积极意义。

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

• 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。

有烟艾灸、无烟艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠血清中SOD、MDA的影响

石佳, 张国山, 刘密, 刘未艾, 刘金芝, 常小荣

■背景资料

针灸对胃黏膜的保护作用已被大量的临床和实验研究所证实, 灸法作为一种生理性温热刺激源, 在修复急性胃黏膜损伤方面独具优势, 能够提高对氧自由基的清除力, 抑制炎症时氧自由基的过量产生与释放, 减轻对细胞的损伤, 治疗胃肠道疾病。

石佳, 刘金芝, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007

刘密, 常小荣, 国家中医药管理局经穴-脏腑相关重点实验室 湖南省长沙市 410007

张国山, 刘未艾, 湖南省教育厅针灸生物信息分析重点实验室 湖南省长沙市 410007

石佳, 主要从事针灸经络及针灸治病机制的研究。

国家重点基础研究发展计划基金资助项目, No. 2009CB522904

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81173326, 81202770

高等学校博士学科点专项科研基金资助课题, Nos. 20124323110001, 20124323120002

湖南省针灸推拿学重点学科基金资助项目
湖南省高校科技创新团队支持计划基金资助项目

湖南中医药大学青年科研基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由常小荣与刘金芝设计; 动物模型制作、施灸及样本采集由石佳、张国山及刘密操作完成; 检测分析由刘未艾完成; 数据统计及统计学分析由石佳与刘未艾完成; 论文写作由石佳与张国山完成。

通讯作者: 常小荣, 教授, 博士生导师, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 国家中医药管理局经穴-脏腑相关重点实验室。

xrchang1956@163.com

收稿日期: 2013-03-03 修回日期: 2013-03-24

接受日期: 2013-05-15 在线出版日期: 2013-06-08

Influence of smog moxibustion and non-smog moxibustion on serum SOD and MDA in rats with acute gastric mucosal injury

Jia Shi, Guo-Shan Zhang, Mi Liu, Wei-Ai Liu, Jin-Zhi Liu, Xiao-Rong Chang

Jia Shi, Jin-Zhi Liu, College of Acu-Moxibustion and Tuina, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

Mi Liu, Xiao-Rong Chang, Key Laboratory of Correlativity between Meridian Point and Viscera, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

Guo-Shan Zhang, Wei-Ai Liu, Key Laboratory of Biological Information Analysis for Acupuncture and Moxibustion, Department of Education of Hunan Province, Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by: the National Key Basic Research and Development Program, No. 2009CB522904; the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81173326 and 81202770; the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education Nos. 20124323110001 and 20124323120002; the Key Subject Foundation of Acu-Moxibustion and Tuina of Hunan Province; the Science and Technology Innovative Research Team Foundation of Higher Educational Institutions of Hunan Province; the Youth Scientific Research Fund of Hunan University of

Chinese Medicine

Correspondence to: Xiao-Rong Chang, Professor, Key Laboratory of Correlativity between Meridian Point and Viscera, State Administration of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. xrchang1956@163.com

Received: 2013-03-03 Revised: 2013-03-24

Accepted: 2013-05-15 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To compare the effect of smog moxibustion and non-smog moxibustion in repairing acute gastric mucosal injury in rats.

METHODS: Forty SD rats were randomly and equally divided into four groups: a normal control group, a model group, a smog moxibustion group, and a non-smog moxibustion group. Acute gastric mucosal injury was induced by administering anhydrous alcohol intragastrically. Morphological changes in the gastric mucosa were observed by light microscopy after HE staining. Pathological scoring of inflammatory reaction was performed. The contents of serum SOD and MDA were determined using colorimetric methods.

RESULTS: Compared to the normal control group, pathological score of inflammatory reaction rose significantly in the model group (0.75 ± 0.46 vs 7.75 ± 1.67 , $P < 0.01$); however, pathological scores of inflammatory reaction were significant lower in the smog moxibustion group and non-smog moxibustion group than in the model group (4.63 ± 0.52 , 4.75 ± 0.46 vs 7.75 ± 1.67 , both $P < 0.01$). There was no significant difference in pathological score of inflammatory reaction between the smog moxibustion group and non-smog moxibustion group. Compared to the normal control group, serum level of SOD decreased significantly (301.48 ± 16.675 vs 260.07 ± 15.481 , $P < 0.01$) and that of MDA rose significantly (6.77 ± 0.529 vs 9.73 ± 0.704 , $P < 0.01$) in the model group; however, serum levels of SOD were significantly higher (281.03 ± 17.713 , 278.61 ± 17.550 vs 260.07 ± 15.481 , both $P < 0.05$) and those of MDA were

■同行评议者

袁红霞, 研究员, 天津中医药大学;
郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科

significantly lower (7.52 ± 0.361 , 7.78 ± 0.387 vs 9.73 ± 0.704 , both $P < 0.01$) in the smog moxibustion group and non-smog moxibustion group. There were no significant differences in serum levels of SOD and MDA between the two moxibustion groups.

CONCLUSION: Smog moxibustion and non-smog moxibustion have a similar effect in repairing acute gastric mucosal injury in rats. Smog moxibustion and non-smog moxibustion exert protective effects against acute gastric mucosal injury via mechanisms possibly associated with raising the content of SOD and reducing the content of MDA.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Smog moxibustion; Non-smog moxibustion; Acute gastric mucosal injury; SOD; MDA

Shi J, Zhang GS, Liu M, Liu WA, Liu JZ, Chang XR. Influence of smog moxibustion and non-smog moxibustion on serum SOD and MDA in rats with acute gastric mucosal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1516-1521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1516.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1516>

摘要

目的: 观测有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤修复作用的差异。

方法: 40只SPF级SD大鼠随机分为4组,即正常对照组、模型组、有烟艾灸组、无烟灸组,每组10例,采用无水乙醇灌胃制备急性胃黏膜损伤模型。采用比色法检测体内超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)的活性、丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量,HE染色光镜下观察胃黏膜组织形态学变化。

结果: (1)胃黏膜组织炎症病理学评分比较:与正常对照组比较(0.75 ± 0.46),模型组病理组织学评分明显升高(7.75 ± 1.67 vs 0.75 ± 0.46 , $P < 0.01$);有烟艾灸组、无烟灸组明显低于模型组(4.63 ± 0.52 vs 7.75 ± 1.67 , 4.75 ± 0.46 vs 7.75 ± 1.67 , $P < 0.01$);有烟艾灸组与无烟灸组比较无显著差异(4.63 ± 0.52 vs 4.75 ± 0.46); (2)血清中SOD、MDA值比较:与正常对照组比较(301.48 ± 16.675 , 6.77 ± 0.529),模型组SOD值明显降低(260.07 ± 15.481 vs 301.48 ± 16.675 , $P < 0.01$)、MDA值明显升高(9.73 ± 0.704 vs 6.77 ± 0.529 , $P < 0.01$);与模型组比较,有烟艾灸组、无烟灸组SOD值明显升高,且有显著性差异

(281.03 ± 17.713 vs 260.07 ± 15.481 , 278.61 ± 17.550 vs 260.07 ± 15.481 , $P < 0.05$)、MDA值降低,有显著性差异(7.52 ± 0.361 vs 9.73 ± 0.704 , 7.78 ± 0.387 vs 9.73 ± 0.704 , $P < 0.01$);有烟艾灸组较无烟灸组SOD值稍高(281.03 ± 17.713 vs 278.61 ± 17.550)、MDA值稍低(7.52 ± 0.361 vs 7.78 ± 0.387),但两组无显著性差异。

结论: (1)有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有修复作用,且两者之间抗氧化比较没有明显差异; (2)有烟艾灸、无烟灸通过上调SOD活性、降低MDA含量,调节氧化/还原的动态平衡,使胃黏膜达到抗氧化损伤的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 有烟艾灸; 无烟灸; 急性胃黏膜损伤; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

核心提示: 本研究表明有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有保护作用。其机制可能为: 艾灸通过上调体内超氧化物歧化酶(super oxide dismutase)活性、降低丙二醛(malondialdehyde)含量,调节氧化/还原的动态平衡,使胃黏膜达到抗氧化损伤的作用,并且两者在抗氧化效果方面没有明显差异。

石佳, 张国山, 刘密, 刘未艾, 刘金芝, 常小荣. 有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤大鼠血清中SOD、MDA的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(16): 1516-1521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1516.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1516>

0 引言

急性胃黏膜损伤是机体在严重创伤、烧伤、休克、感染以及内脏功能严重受损等多种危重情况下发生的,以胃黏膜的糜烂、溃疡、出血为主要特征的急性应激性病变。胃黏膜损伤的产生是胃黏膜攻击因子增加和胃黏膜保护因子减少造成的。本病是全球性多发病,发病率可能占人口的10%-20%,其发病率有逐年上升的趋势^[1]。艾灸作为中医学瑰宝之一,对治疗胃病及对胃黏膜的保护作用已被大量的临床观察和实验研究所证实。本实验以急性胃黏膜损伤大鼠为病理模型,通过观察大鼠的病理组织形态学观察、病理组织切片、体内超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondi-

■研究前沿

已有大量的研究证明氧自由基参与了胃黏膜的损伤。超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)是自由基的清除防御系统最重要的标志酶之一,乙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,常常可反映机体内脂质过氧化化的程度,间接反映出细胞损伤的程度,MDA与SOD在体内的含量是否达到平衡,决定了胃黏膜是否受损。

■相关报道

唐照亮通过艾灸对实验性炎症大鼠血清SOD活性和MDA含量的影响发现, 艾灸能提高对氧自由基的清除力, 抑制炎症时氧自由基的过量产生与释放, 减轻对细胞的损伤, 起到了消炎、抗氧化和细胞保护的作用。

aldehyde, MDA)的含量, 比较有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤的修复作用的差异, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SPF级SD大鼠40只, 雌雄各半, 体重220-250 g, 来自湖南中医药大学实验动物中心。动物编号, 随机分为A组: 正常对照组、B组: 模型组、C组: 有烟艾灸组、D组: 无烟灸组, 每组10只。大鼠SOD试剂盒、大鼠MDA试剂盒(南京建成科技有限公司); 无水乙醇, 20%乌拉坦, 40%多聚甲醛(湖南中医药大学针灸推拿实验室配制)。有烟艾条选择南阳市汉医艾绒有限责任公司生产, 直径4 mm, 长度120 mm。无烟艾条选择南阳市万春堂天然艾草生物制品开发有限公司生产, 直径4 mm, 长度120 mm。紫外可见分光光度计(上海第三分析仪器厂); 净化工作台(吴江市汾湖镇金家坝金祝五金净化厂); 超低温冰箱(日本SANYO公司); 恒冷箱切片机(CM1850型, 德国LEICA); 低温离心机(ZK380型, 德国HERMLE); 石蜡切片机(4062型, 德国SLEE); 恒温振荡培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

1.2 方法

1.2.1 急性胃黏膜损伤造模: 除对照组外, B、C、D组以95%无水乙醇按0.5 mL/100 g灌胃造模。

1.2.2 穴位定位及施灸: 取大鼠足三里、中脘、天枢穴。参考李忠仁主编的《实验针灸学》^[2], 采用常用动物穴位定位法及拟人对照法定位。足三里位于膝关节后外侧, 在腓骨小头下5 mm处; 中脘在腹白线上, 脐与胸剑联合连线的中点处; 天枢在脐眼旁开3 cm。B、C、D组大鼠于造模24 h后、将大鼠固定于鼠板上, B组不采用任何处理, C组采用有烟艾灸固定在灸架上保持与穴位距离3 cm使灸温基本维持在43 ℃-45 ℃灸中脘、足三里(双侧)、天枢(双侧), D组采用无烟灸固定在灸架上保持与穴位距离3 cm使灸温基本维持在43 ℃-45 ℃灸中脘、足三里(双侧)、天枢(双侧), C、D组每次灸20 min, 6次/wk, 共灸2 wk。A组只将老鼠固定于鼠板, 每次固定20 min, 6次/wk, 共2 wk。

1.2.3 标本提取及处理: 12 d后, 所有大鼠腹腔注射20%乌拉坦(1 mL/100 g), 剖腹后, 将胃的幽门部和贲门部用止血钳结扎, 快速用一次性负压采血针从腹主动脉采血5 mL置于37 ℃恒温水浴

箱30 min, -4 ℃低温离心, 3000 r/min, 10 min, 离心后提取上清液置于-20 ℃冰箱保存备用。采血后每组每只老鼠取胃窦部组织一小块(约5 mm×10 mm/块)放入4%多聚甲醛中固定24 h, 石蜡包埋, 间断连续切片(厚度4 μm)、烤片、常规脱蜡。1.2.4 检测指标: HE染色: 切片脱蜡入水, 将石蜡切片浸入二甲苯 I 以溶去石蜡(5-10 min); 用二甲苯 II 次清洗残存石蜡(3-5 min); 无水乙醇 I 洗去二甲苯(5 min); 按顺序入950 mL/L、800 mL/L、700 mL/L浸泡(5 min); 自来水冲洗。切片由水中转入明矾苏木精液染色(5-10 min); 自来水洗去浮色(10 s); 1%盐酸酒精分色(5-10 s); 自来水冲洗(5-10 min)促蓝; 1%伊红水溶液进行复染(3-5 min); 按顺序经80 mL/L、950 mL/L、无水乙醇脱水兼分化伊红的颜色; 二甲苯透明; 中性树胶封固, 光镜下观察组织学改变并评分, 每张切片随机选取4个视野照相。病理损伤及积分: 胃黏膜常规石蜡包埋切片, HE染色, 以Mas-cuda等^[3]标准进行损伤程度累积计分: 正常为0分, 表层上皮损伤为1分, 上层黏膜充血水肿为2分, 中/下层黏膜充血、出血和水肿为3分, 黏膜上层腺体结构紊乱或坏死为4分, 有深层的坏死或溃疡为5分。每张切片的损伤累积计分, 最大不超过15分。氧化损伤相关指标测定: SOD和MDA均采用比色法(试剂盒来源: 南京建成科技有限公司)。

统计学处理 本实验采用完全随机设计。所有测量数据用mean±SD表示。所有资料进行正态性、方差齐性检验, 满足正态性及方差齐性者, 组间比较采用单因素方差分析的最小显著差异法(LSD)检验; 不满足条件者采用秩和检验。所有数据使用SPSS17.0软件进行处理, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同处理方法对大鼠胃组织形态学的影响 A组(图1A)可见胃底黏膜层的上皮、固有层和部分黏膜肌层, 胃黏膜表面细胞完整, 无任何损害。与A组比较, B组(图1B)大鼠胃黏膜出现明显坏死、炎症细胞浸润、下有明显充血的急性炎症反应; 与B组比较, C(图1C)、D(图1D)组黏膜表面有部分坏死, 血管内充血情况明显改善, 炎症细胞浸润较少。

结果如表1所示: 与A组比较, B组病理组织学评分明显升高($P<0.01$); C组、D组病理组织学评分明显低于B组($P<0.01$); C组病理组织学评分

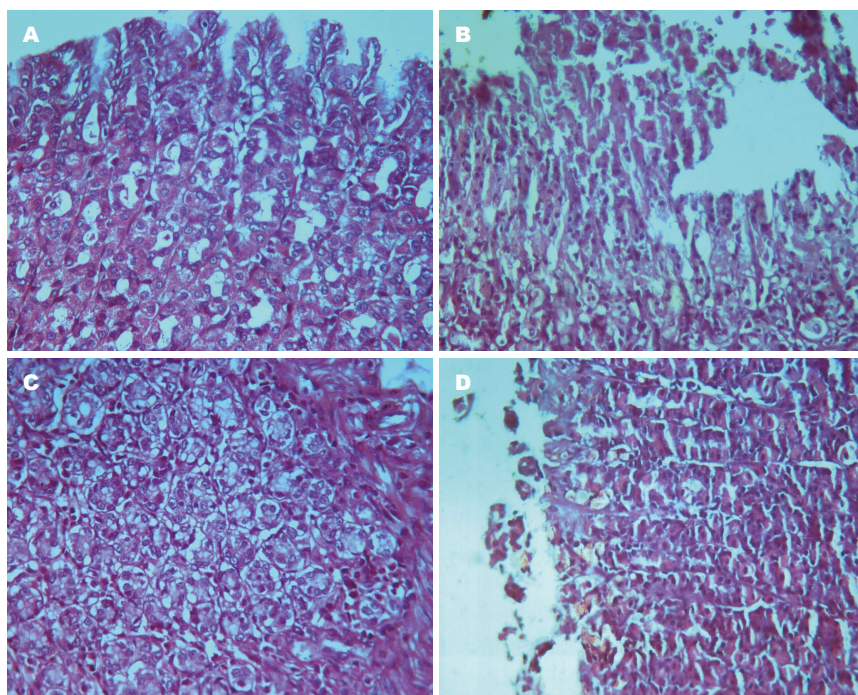


图 1 各组大鼠胃黏膜光镜观察结果. A: 正常对照组; B: 模型组; C: 有烟艾灸组; D: 无烟灸组.

■创新盘点

本实验通过比较有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤大鼠胃组织形态学观察、血清中SOD、MDA含量的差异,揭示艾灸通过上调SOD活性、降低MDA含量,调节氧化/还原的动态平衡,达到抗氧化损伤的作用,实验表明有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有保护和修复作用,且两者之间抗氧化方面没有明显差异.

表 1 各组大鼠胃组织炎症损伤病理学评分的比较 (mean $\pm$ SD, $n = 10$)

分组	病理组织学评分(分)
正常对照组	0.75 $\pm$ 0.46 ^{bd}
模型组	7.75 $\pm$ 1.67 ^d
有烟艾灸组	4.63 $\pm$ 0.52 ^b
无烟灸组	4.75 $\pm$ 0.46 ^b

^b $P < 0.01$ vs 模型组; ^d $P < 0.01$ vs 有烟艾灸组.

与D组比较无显著差异;说明有烟艾灸、无烟灸对胃黏膜损伤的炎症浸润有抑制作用,能促进胃黏膜的修复.

2.2 不同处理方法对大鼠血清SOD、MDA的影响 结果如表2所示:与A组比较, B组SOD值明显降低($P < 0.01$);与B组比较, C组、D组SOD值明显升高,且有显著性差异($P < 0.05$);C组SOD值较D组稍高,但两组无显著性差异.提示有烟艾灸、无烟灸可以刺激胃黏膜细胞产生大量的SOD.

B组与A组比较,MDA值明显升高($P < 0.01$);C组、D组与B组比较,MDA值明显降低,且有显著性差异($P < 0.01$);C组MDA值较D组稍低,但两组无显著性差异.提示有烟艾灸、无烟灸可以抑制胃黏膜细胞产生MDA.

3 讨论

急性胃黏膜损伤(acute gastric mucosal lesion,

表 2 各组大鼠血清SOD、MDA含量比较 (mean $\pm$ SD, $n = 10$)

分组	SOD含量(U/mgprot)	MDA含量(nmol/mL)
正常对照组	301.48 $\pm$ 16.675 ^{bc}	6.77 $\pm$ 0.529 ^{bc}
模型组	260.07 $\pm$ 15.481 ^c	9.73 $\pm$ 0.704 ^d
有烟艾灸组	281.03 $\pm$ 17.713 ^a	7.52 $\pm$ 0.361 ^b
无烟灸组	278.61 $\pm$ 17.550 ^a	7.78 $\pm$ 0.387 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 模型组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 有烟艾灸组.

SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛.

AGML)^[4]是机体在严重创伤、烧伤、休克、感染以及内脏功能严重受损等多种危重情况下发生的,以胃黏膜的糜烂、溃疡、出血为主要特征的急性应激性病变.

多年来大量的临床研究与动物实验发现,AGML的发生机制颇为复杂,致病因子不同,AGML的发生机制侧重点也不尽相同.事实上,无论具体致病因子有哪些,AGML发生机制基本表现为损伤因子对胃黏膜的破坏与胃黏膜防御机能的平衡失调.综合已有的文献资料,胃黏膜能量代谢障碍、胃黏膜酸碱平衡紊乱、自由基产生增多、胃黏膜屏障功能破坏等几方面导致AGML的形成.

根据急性胃黏膜损伤的主要症状和特征属中医的“胃脘痛”、“痞证”范畴,又与“吞酸”、“胁痛”等有密切关系,是以上腹胃脘部近心窝处经常发生疼痛为主证.艾灸疗法以

■应用要点

运用艾灸、无烟灸疗法治疗急性胃黏膜损伤性疾病如急性消化性溃疡、各型急慢性胃炎、扶助正气、促进修复。

其独特优势在临床广泛应用,尤其在治疗胃肠疾病方面常常取得意想不到的疗效。

已有大量的研究证明氧化损伤是胃病转归过程中:“正常胃黏膜-发生炎症-出现肠化生-细胞异型增生-癌变”的重要转化机制^[5]。氧自由基是形成应激性溃疡的重要原因之一^[6],许多实验表明,他参与了胃黏膜的损伤^[7]。他可通过攻击生物膜中多聚不饱和脂肪酸形成一系列脂质过氧化物及其降解产物丙二醛等,导致组织损伤,引起和加剧炎症反应,此外还可与蛋白质和酶发生反应,导致细胞坏死^[8]。SOD是一种金属蛋白酶,是胃黏膜保护因子之一,他是在实验中应用最多、最具有临床价值的抗氧化酶^[9-11]。SOD是自由基的清除防御系统最重要的标志酶之一,在胃壁细胞内活性很高,可在一定程度上反映机体清除自由基能力的大小^[12]。MDA含量,常常可反映机体内脂质过氧化的程度,间接反映出细胞损伤的程度^[13]。MDA与SOD在体内的含量是否达到平衡,决定了机体的状态是健康还是病态^[14]。大量实验证明,SOD和MDA的含量可以反应胃黏膜的受损程度。通过研究艾灸对实验性炎症大鼠血清SOD活性和MDA含量的影响发现^[15],艾灸能提高对氧自由基的清除力,抑制炎症时氧自由基的过量产生与释放,减轻对细胞的损伤,起到了消炎、抗氧化和细胞保护作用,并且提示艾灸对氧自由基代谢的调整作用,可能是灸疗抗炎免疫机制的一个重要方面。本实验从“艾灸足三里、中脘、天枢穴→调节氧化损伤相关因子→保护胃黏膜”的思路出发,比较了有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤大鼠胃组织形态学观察、病理组织学评分,血清中SOD、MDA的含量的差异。结论发现:有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有保护和修复作用,且两者之间在抗氧化方面无明显差异。采用有烟艾灸、无烟灸都可使血清中抗氧化酶SOD水平升高而MDA水平降低,且从数值看,有烟艾灸组使SOD升高、MDA水平降低更明显,但并没有统计学意义。大量的临床研究和基础实验已探讨了针灸对胃肠道抗氧化因子的影响与肠胃疾病转归的关系。近几年的研究显示,针灸治疗胃黏膜损伤的机制之一,就是在改善症状的同时可以调节机体的抗氧化因子,从而增强或调整机体的抗氧化功能。

本研究发现,有烟艾灸和无烟灸通过提高

SOD的活性并上调其水平,清除急性胃黏膜损伤后产生的过量氧自由基,降低脂质过氧化物MDA的含量,阻断氧自由基在胃黏膜组织的沉积并减少对胃黏膜组织细胞造成的损害,同时修复因氧自由基而受损的细胞,以此来调控氧化/还原的动态平衡,对胃黏膜组织的损伤产生修复作用,为临床无烟灸的应用提供一定的依据。

4 参考文献

- 1 孙九玲. 急性胃粘膜病变治疗进展. 新消化病学杂志 1996; 4: 230-231
- 2 李忠仁, 方剑乔, 易受乡, 郭义. 实验针灸学. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257
- 3 Masuda E, Kawano S, Nagano K, Tsuji S, Takei Y, Hayashi N, Tsujii M, Oshita M, Michida T, Kobayashi I. Role of endogenous endothelin in pathogenesis of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Am J Physiol* 1993; 265: G474-G481 [PMID: 8214070]
- 4 朱立, 杨宗诚. 急性胃黏膜损伤及其发病机制. 中国烧伤创疡杂志 1997; 2: 2-7
- 5 陆为民, 单兆伟, 沈洪, 吴静, 王丽珠, 王瑶. 胃舒胶囊对大鼠萎缩性胃炎癌前病变血液LPO、SOD、GSH-PX的影响. 世界华人消化杂志 2000; 8: 480-481
- 6 Shetty BV, Arjuman A, Jorapur A, Samanth R, Yadav SK, Valliammai N, Tharian AD, Sudha K, Rao GM. Effect of extract of *Benincasa hispida* on oxidative stress in rats with indomethacin induced gastric ulcers. *Indian J Physiol Pharmacol* 2008; 52: 178-182 [PMID: 19130862]
- 7 Tagliazucchi D, Verzelloni E, Conte A. Effect of dietary melanoidins on lipid peroxidation during simulated gastric digestion: their possible role in the prevention of oxidative damage. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 2513-2519 [PMID: 20070103 DOI: 10.1021/jf903701h]
- 8 Arian S, Durusoy C, Akalin N, Haberal A, Seckin D. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis* 2009; 15: 512-515 [PMID: 19761497 DOI: 10.1111/j.1601-0825.2009.01580.x]
- 9 João Cabrera E, Valezi AC, Delfino VD, Lavado EL, Barbosa DS. Reduction in plasma levels of inflammatory and oxidative stress indicators after Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 2010; 20: 42-49 [PMID: 19826889 DOI: 10.1007/s11695-009-9988-2]
- 10 Mishra D, Gupta R, Pant SC, Kushwah P, Satish HT, Flora SJ. Co-administration of monoisoamyl dimercaptosuccinic acid and *Moringa oleifera* seed powder protects arsenic-induced oxidative stress and metal distribution in mice. *Toxicol Mech Meth* 2009; 19: 169-182 [PMID: 19778263 DOI: 10.1080/15376510701795751]
- 11 Mármol F, Sánchez J, López D, Martínez N, Mitjavila MT, Puig-Parellada P. Oxidative stress, nitric oxide and prostaglandin E2 levels in the gastrointestinal tract of aging rats. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61: 201-206 [PMID: 19178767]
- 12 邢燕玲, 游俊. 四君子汤对脾气虚型慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜血流量及血清SOD与MDA含量的影响. 山西中医学院学报 2007; 8: 22-24
- 13 王昕宇, 马成. 平胃散对脾虚湿困大鼠胃组织SOD、MDA含量的影响. 新疆中医药 2007; 25: 62-65

14 魏国变, 刘新生, 邵祖燕. 五丹胃福汤对慢性萎缩性胃炎模型大鼠自由基水平的影响. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 352-354

15 唐照亮, 章复清. 艾灸对实验性炎症大鼠血清SOD活性和MDA含量的影响. 安徽中医学院学报 1998; 17: 44-46

编辑 田滢 电编 闫晋利



■同行评价

本文通过采用无水乙醇灌胃制备急性胃黏膜损伤模型, 探讨有烟艾灸、无烟艾灸对急性胃黏膜损伤修复作用的差异. 从氧化因子方面阐释了灸法治疗疾病的机制, 具有一定的学术价值.

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

• 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 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]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审核, 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》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布

蓝宇涛, 旷焱平, 陈 垦, 何博华, 迟作华, 王林静, 刘革修

■背景资料

手术、化疗和放疗是传统的3大治疗胃癌的方法, 这些方法在杀伤肿瘤细胞的同时, 也会带来严重的并发症。光动力学疗法(photodynamic therapy, PDT)能选择性地杀伤肿瘤组织, 而对周围组织影响较小, 成为一种新的非常有前景的肿瘤治疗方法。

蓝宇涛, 旷焱平, 陈垦, 广东药学院护理学院 广东省广州市 510006

何博华, 迟作华, 广东药学院临床学院 广东省广州市 510006

王林静, 广东药学院公共卫生学院 广东省广州市 510006

刘革修, 暨南大学医学院血液学研究所 广东省广州市 510632

蓝宇涛, 博士, 副教授, 主要从事消化系统疾病的相关研究。

广东省中医药管理局基金资助项目, No. 2010414

广东药学院护理学院广东省特色专业建设经费资助项目, No. TS11060

广东药学院师资队伍建设工程资助项目, No. 11

作者贡献分布: 此课题由蓝宇涛与旷焱平设计; 细胞培养、论文写作由蓝宇涛、旷焱平及迟作华完成; 论文校正由陈垦完成; 数据统计由王林静与何博华完成。

通讯作者: 陈垦, 教授, 主任医师, 510006, 广东省广州市海珠区赤岗南大街68号, 广东药学院护理学院. chenkenck@126.com
电话: 020-34055856

收稿日期: 2013-04-03 修回日期: 2013-04-22

接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Photoactivated curcumin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803

Yu-Tao Lan, Yan-Ping Kuang, Ken Chen, Bo-Hua He, Zuo-Hua Chi, Lin-Jing Wang, Ge-Xiu Liu

Yu-Tao Lan, Yan-Ping Kuang, Ken Chen, Nursing School, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Bo-Hua He, Zuo-Hua Chi, School of Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Lin-Jing Wang, School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Ge-Xiu Liu, Institute of Hematology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China

Supported by: the Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine of Guangdong Province, No. 2010414; the Special Discipline Construction Foundation of Guangdong Province, No. TS11060; the Faculty Construction Fund of Guangdong Pharmaceutical University, No. 11

Correspondence to: Ken Chen, Professor, Chief Physician, Nursing School, Guangdong Pharmaceutical University, 68 Chigang Nanhua Street, Haizhu District, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China. chenkenck@126.com

Received: 2013-04-03 Revised: 2013-04-22

Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of photoactivated

curcumin on cell growth and apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803 and to analyze its intracellular distribution.

METHODS: After MGC-803 cells were treated with 5.0 $\mu\text{mol/L}$ of photoactivated curcumin for different durations (12, 24 and 48 h), cell growth was assessed by MTT assay; apoptosis was determined by flow cytometry; nuclear morphological changes were detected by fluorescence microscopy; and the distribution of intracellular curcumin was examined by confocal laser microscopy.

RESULTS: The reduced rates of cell growth were $35.53\% \pm 3.52\%$, $40.17\% \pm 2.01\%$ and $44.93\% \pm 3.61\%$ in MGC-803 cells treated with photoactivation curcumin for 12, 24 and 48 h, and the apoptosis rates were $20.32\% \pm 3.07\%$, $22.46\% \pm 1.51\%$ and $26.58\% \pm 2.67\%$. Compared to the control group, the reduced rates of cell growth were significantly lower and apoptosis rates were significantly higher in the photoactivation curcumin group at all time points (all $P < 0.05$). Obvious apoptotic bodies were observed after treatment with photoactivated curcumin for 48 hours. Photoactivated curcumin was mainly distributed in the cell membrane and nuclear membrane. Scattered distribution of photoactivated curcumin was noted in other subcellular structures.

CONCLUSION: Photoactivated curcumin can inhibit growth and promote apoptosis of gastric cancer cells in a time-dependent manner. Photoactivated curcumin is mainly located in the plasma membrane and nuclear membrane and sporadically in other subcellular structures.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Curcumin; Photoactivated; MGC-803 cells; Apoptosis; Photodynamic therapy

Lan YT, Kuang YP, Chen K, He BH, Chi ZH, Wang LJ, Liu GX. Photoactivated curcumin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric

■同行评议者

程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科; 侯凤刚, 副教授, 副主任医师, 上海中医药大学附属市中医院肿瘤科

cancer cell line MGC-803. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1522-1526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1522>

摘要

目的: 探讨光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其细胞内的分布情况。

方法: 用MTT法检测细胞株的增殖抑制率, 流式细胞仪检测细胞的凋亡率, 荧光显微镜观察细胞核形态; 激光共聚焦显微镜观察姜黄素在细胞内的分布。

结果: 光敏化姜黄素作用于MGC-803细胞12、24、48 h后, MTT法检测细胞的抑制率分别为 $35.53\% \pm 3.52\%$ 、 $40.17\% \pm 2.01\%$ 、 $44.93\% \pm 3.61\%$; 凋亡率分别为 $20.32\% \pm 3.07\%$ 、 $22.46\% \pm 1.51\%$ 、 $26.58\% \pm 2.67\%$, 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。光敏化姜黄素作用48 h后能见明显的凋亡小体。激光共聚焦显微镜下观察光敏化姜黄素发出的黄色荧光主要在细胞质膜、核膜呈聚集性分布, 散在分布于其他亚细胞结构, 细胞核分布较少。

结论: 光敏化姜黄素能抑制胃癌细胞的生长及凋亡, 具有显著的光动力学效应, 随作用时间的延长而逐渐增加。光敏剂主要分布于细胞质膜和核膜, 散在分布于其他亚细胞结构, 细胞核分布较少。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 姜黄素; 光敏化; 胃癌MGC-803; 凋亡; 光动力学治疗

核心提示: 光敏化姜黄素作用于MGC-803细胞后, 具有明显促进细胞抑制和凋亡的作用, 能见明显的凋亡小体。激光共聚焦显微镜下观察光敏化姜黄素发出的黄色荧光主要在细胞质膜、核膜呈聚集性分布, 散在分布于其他亚细胞结构, 细胞核分布较少。

蓝宇涛, 旷焱平, 陈垦, 何博华, 迟作华, 王林静, 刘革修. 光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1522-1526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1522>

0 引言

光动力学疗法(photodynamic therapy, PDT)是一

种能诱导细胞坏死和凋亡的细胞毒性治疗方法。PDT作用的主要因素包括光敏感物质(光敏剂)、可见光及氧分子。随着光敏物质、光激活装置和导光系统的发展和进步, PDT与传统治疗联合应用于癌症已逐渐被接受。PDT具有很好的选择性和适用性, 可重复, 协同手术能提高疗效, 还可消灭隐性癌病灶, 同时可保护容貌及重要器官功能。光敏剂是决定PDT效应的关键因素之一。本文主要研究光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌MGC-803细胞柱(中山大学动物实验中心提供), 姜黄素(Sigma公司), 小牛血清, RPMI-1640(华美公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物处理: 人胃腺癌MGC-803细胞于含10%小牛血清、100 U/mL青霉素及100 U/mL链霉素的RPMI 1640培养液、5%CO₂、37 °C培养传代。细胞按 $1-2 \times 10^5$ /mL接种, 37 °C培养24 h后按实验要求加入一定浓度的姜黄素, 对照组加同量的溶剂, 继续培养24 h后即收集细胞。姜黄素(Sigma公司)0.1842 g先用100 μL DMSO溶解后, 用无水乙醇定容至50 mL, 即为10 mmol/L姜黄素母液, 分装0.5 mL/管, -20 °C避光冻存。应用时以细胞培养液稀释至所需浓度。

1.2.2 激光照射: PDT组用姜黄素避光2 h, PBS 3次, 加入培养液, 即刻用激光器照射。前期研究结果显示姜黄素吸收波长在360-480 nm范围内具有明显的PDT作用^[1]。本研究选择的波长为405 nm。

1.2.3 MTT法检测细胞的抑制率: 细胞分为单纯姜黄素组和PDT组。前期研究结果显示5.0 μmol/L具有较好的处理效应^[1]。单纯姜黄素组处理因素为5.0 μmol/L姜黄素和避光。PDT组处理因素为5.0 μmol/L姜黄素和激光照射, 分别检测不同培养时间段的抑制率(12、24、48 h)。

1.2.4 荧光显微镜观察细胞核形态: 荧光显微镜下观察单纯姜黄素组和PDT组细胞核形态并拍照。

1.2.5 Annexin V-PI 双染测定细胞凋亡: 分别检测单纯姜黄素组和PDT组细胞检测不同培养时间段的凋亡率(12、24、48 h)。

1.2.6 激光共聚焦扫描显微镜观察光敏化姜黄素在胃癌细胞内的分布: 采用Leica TCSS-SP2型激光共聚焦扫描显微镜观察单纯姜黄素组和PDT组细胞内的荧光分布, 利用层析技术断层扫描细

■ 研发前沿

基础研究显示姜黄素治疗肿瘤的效果, 光敏化能进一步促进姜黄素的杀伤肿瘤作用, 但激光的波长和剂量不一, 其效果也不一。姜黄素在细胞内的具体定位能决定姜黄素给药的最佳剂量。诱导肿瘤细胞凋亡的机制以及光动力治疗的有效激光作用剂量及激光波长的选择等还有待进一步研究。

■ 相关报道

戴维德等的研究表明第2代光敏剂HMME在细胞内的亚细胞具体定位, 认为线粒体、溶酶体、内质网和高尔基体均有分布。汲振余认为光敏剂的亲脂性和所带电荷决定了肿瘤细胞中的亚细胞定位和分布浓度。其次还与细胞类型或孵育时间有关。

■创新盘点

本文研究光敏化姜黄素应用于人胃腺癌MGC-803细胞的增殖抑制率、凋亡率及细胞核形态的变化,并用激光共聚焦显微镜观察细胞内的分布情况。初步解决姜黄素可作为PDT的光敏剂应用于临床的关键问题,即光敏化姜黄素对胃癌细胞的PDT作用的主要靶点,为确定姜黄素的给药剂量做好基础研究,进一步拓展姜黄素的药用价值和开发利用的前景。

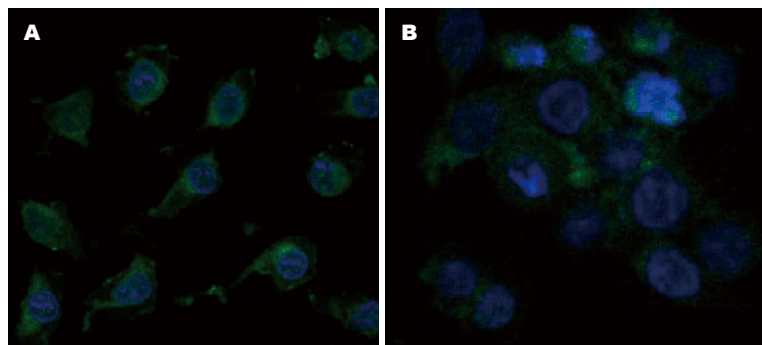


图1 姜黄素在细胞中的分布($\times 400$)。A: 姜黄素分布于细胞核核膜及其周围; B: 姜黄素分布于细胞质膜及其周围。

表1 不同作用时间光敏化姜黄素对MGC-803细胞抑制率的影响 (mean $\pm$ SD, $n = 10$, %)

分组	抑制率		
	12 h	24 h	48 h
空白对照组	1.16 $\pm$ 0.34	1.97 $\pm$ 1.65	2.85 $\pm$ 0.87
单纯姜黄素组	18.94 $\pm$ 1.26	24.50 $\pm$ 4.50	29.74 $\pm$ 2.30
光动力学疗法组	35.53 $\pm$ 3.52	40.17 $\pm$ 2.01	44.93 $\pm$ 3.61

表2 不同作用时间光敏化姜黄素对MGC-803细胞凋亡率的影响 (mean $\pm$ SD, $n = 10$, %)

分组	凋亡率		
	12 h	24 h	48 h
空白对照组	1.74 $\pm$ 1.43	2.06 $\pm$ 2.56	3.34 $\pm$ 0.55
单纯姜黄素组	6.04 $\pm$ 2.34	8.04 $\pm$ 1.30	12.54 $\pm$ 1.75
光动力学疗法组	20.32 $\pm$ 3.07	22.46 $\pm$ 1.51	26.58 $\pm$ 2.67

胞内部结构,分析姜黄素在细胞内的分布情况。

统计学处理 应用SPSS15.0统计学软件进行统计。计量资料采用mean $\pm$ SD,用重复测量变量的方差分析进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 光敏化姜黄素诱导人胃腺癌MGC-803细胞抑制情况 单纯5.0 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素对MGC-803细胞显示有明显的增殖抑制作用,48 h后细胞增殖抑制率为29.74% $\pm$ 2.30%^[1];光敏化增强了姜黄素对MGC-803细胞的增殖抑制作用,培养12 h和24 h后细胞的抑制率分别为35.53% $\pm$ 3.52%、40.17% $\pm$ 2.01%,培养48 h后,细胞抑制率增加到44.93% $\pm$ 3.61%,在一定范围内,随作用时间的延长而逐渐增加。不同作用时间,PDT组与单纯姜黄素组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

2.2 光敏化姜黄素诱导人胃腺癌MGC-803细胞凋亡的情况 前期研究表明,单纯5.0 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素能够影响MGC-803细胞的周期分布,诱导MGC-803细胞凋亡: G_0/G_1 期细胞明显增

多, G_2/M 期细胞下降。其细胞凋亡率为(12.54 $\pm$ 1.75)%^[1]。光敏化进一步增强了诱导细胞凋亡的作用,培养12 h和24 h后细胞的凋亡率分别为20.32% $\pm$ 3.07%、22.46% $\pm$ 1.51%,培养48 h后,其细胞凋亡率升高为26.58% $\pm$ 2.67%,在一定范围内,随作用时间的延长而逐渐增加。不同作用时间,PDT组与单纯姜黄素组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 光敏化姜黄素诱导人胃腺癌MGC-803细胞形态的影响 单纯姜黄素组MGC-803细胞形态规则,可见部分细胞凋亡。PDT组采用能量密度40.2 J/cm²的405 nm波长的激光照射后,培养48 h后,可见明显细胞凋亡^[1]。同时细胞数目减少,部分细胞体积缩小,形态不规则,圆形细胞分解增多,见凋亡小体,呈典型凋亡改变。

2.4 光敏化姜黄素在MGC-803细胞内的分布 经405 nm, 40.2 J/cm²波长的激光照射后的姜黄素(光敏化姜黄素)本身能发出黄色荧光。在激光共聚焦显微镜下可以观察到光敏化姜黄素发出的黄色荧光主要在细胞质膜及核膜处呈聚集性分布,其他细胞结构也有散在分布,细胞核分布较少(图1)。

3 讨论

PDT是一种能诱导细胞凋亡和坏死的细胞毒性治疗方法, 主要因素包括光敏剂、可见光及氧分子. 光敏剂吸收能量后产生对细胞有不良作用的活性氧(reactive oxygen species, ROS). 其中光敏剂是决定PDT效应的关键因素之一. 激光照射可选择性地杀伤肿瘤细胞, 而对正常细胞的影响极小. 这一特点让PDT成为有前景的肿瘤治疗方法, 对不能承受手术, 放疗不敏感的晚期胃癌患者选择PDT治疗效果较好.

姜黄素已在基础研究中显示出其光敏效应强、抗癌作用强、毒性低、用量低等优点, 具有很好的应用前景. Moragoda等^[2]研究发现姜黄素能诱导胃癌和结肠癌细胞凋亡. Link等^[3]也研究了姜黄素对结肠癌细胞的作用. Bush等^[4]发现姜黄素也能诱导恶性黑色素瘤凋亡. Wei等^[5]和Cheng等^[6]最近也研究了姜黄素对前列腺癌细胞的影响. 同时Du等^[7]、Masuelli等^[8]、Zhang等^[9]还研究了姜黄素对肝癌、乳癌和甲状腺癌细胞的抗癌效应, 取得了很好的成果. 姜黄素也开始应用于肿瘤的临床治疗及预防, 如焦广宇等^[10]取得了较好的辅助治疗效果. Park等^[11]也发现姜黄素具有很好的防癌作用. 本研究探讨了5.0 $\mu\text{mol/L}$ 光敏化姜黄素对人胃癌MGC-803细胞的影响, 表明光敏化作用促进姜黄素抑制胃癌MGC-803细胞的增殖, 促进其凋亡, 具有显著的光毒效应. 激光共聚焦显微镜分辨率高、能断层扫描细胞内部结构及观察三维图像, 广泛应用于生物医学领域, 如细胞骨架的研究. 标记有荧光的特异性抗体与亚细胞结构(如细胞膜、线粒体、溶酶体、核膜)结合, 可出现破裂、萎缩、变形等结构变化, 从而确定其作用的靶点^[12].

本研究应用激光共聚焦显微镜观察有荧光的姜黄素在胃癌细胞内各层面的光学切片图像, 发现姜黄素主要分布在细胞质膜、核膜, 散在分布于其他细胞结构, 细胞核分布较少. 与国内的研究类似, 戴维德也研究了肺癌细胞内HMME的分布, 认为细胞核周围的细胞质是分布的主要位点, 细胞核较少分布^[13]. 郑景存等^[14]认为叶绿素衍生物在人膀胱癌细胞主要分布于细胞核周围, 细胞浆内. 我们推测细胞质膜可能是姜黄素在人胃癌MGC-803细胞内首先分布的位点, 其次可能分布到核膜、线粒体或溶酶体. 当聚集于线粒体时, 通过损伤线粒体迅速启动凋亡机制杀伤细胞. 如进入溶酶体时, 可导致溶酶体破裂, 释放出水解酶导致细胞坏死. 光敏剂

在细胞内的分布及定位决定了光动力学作用最初损害的位置. 近距离的接触对产生光动力学作用的ROS的能量转移很重要. 汲振余等^[15]认为决定定位的因素还与光敏剂的亲脂性、电荷、浓度等理化性质有关, 一般来说, 脂溶性光敏剂易结合到质膜和线粒体膜, 而水溶性光敏剂则主要位于溶酶体和肿瘤间质. 低浓度时主要定位于线粒体, 高浓度时也定位于溶酶体. 具体的定位还有待进一步实验的研究. 尤其是特异性免疫探针染料如经标记的线粒体、蛋白、膜抗体、受体、细胞骨架等定位及定量、空间分布及病变细胞动态观察方面的研究还不足.

总之, 光敏化进一步增强了姜黄素诱导人胃癌MGC-803细胞的凋亡, 我们认为光敏化姜黄素主要分布于细胞质膜和核膜, 其PDT作用还可能与损坏线粒体和溶酶体, 造成细胞的凋亡和坏死有关. 其他凋亡的机制还有待进一步研究.

志谢: 衷心感谢华南师范大学生命激光研究所魏华江教授及广东药学院心血管病研究所尹翠玲教授等的热心指导和帮助.

4 参考文献

- 1 旷焱平, 陈垦, 何博华, 王林静, 祝爱珍, 刘成成, 刘革修. 光敏化促进姜黄素诱导人胃癌MGC-803细胞凋亡. 中国病理生理杂志 2012; 28: 1247-1252
- 2 Moragoda L, Jaszcwski R, Majumdar AP. Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells. *Anticancer Res* 2001; 21: 873-878 [PMID: 11396178]
- 3 Link A, Balaguer F, Shen Y, Lozano JJ, Leung HC, Boland CR, Goel A. Curcumin modulates DNA methylation in colorectal cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e57709 [PMID: 23460897 DOI: 10.1371/journal.pone.0057709]
- 4 Bush JA, Cheung KJ, Li G. Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53. *Exp Cell Res* 2001; 271: 305-314 [PMID: 11716543]
- 5 Wei X, Zhou D, Wang H, Ding N, Cui XX, Wang H, Verano M, Zhang K, Conney AH, Zheng X, DU ZY. Effects of Pyridine Analogs of Curcumin on Growth, Apoptosis and NF- κ B Activity in Prostate Cancer PC-3 Cells. *Anticancer Res* 2013; 33: 1343-1350 [PMID: 23564771]
- 6 Cheng TS, Chen WC, Lin YY, Tsai CH, Liao CI, Shyu HY, Ko CJ, Tzeng SF, Huang CY, Yang PC, Hsiao PW, Lee MS. Curcumin-targeting pericellular serine protease matriptase role in suppression of prostate cancer cell invasion, tumor growth, and metastasis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 495-505 [PMID: 23466486]
- 7 Du Q, Hu B, An HM, Shen KP, Xu L, Deng S, Wei MM. Synergistic anticancer effects of curcumin and resveratrol in Hepa1-6 hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Rep* 2013; 29: 1851-1858 [PMID: 23446753]
- 8 Masuelli L, Benvenuto M, Fantini M, Marzocchella L, Sacchetti P, Di Stefano E, Tresoldi I, Izzi V, Ber-

■应用要点

中药姜黄素具有药源广、提取工艺简单、价格低廉的优点, 且姜黄素的无毒性、少不良反应是目前临床所有光敏剂缺乏的优点, 姜黄素本身具有一定的抗癌作用, 能一定程度抑制癌细胞生长, 本研究证实姜黄素本身具有的抗癌作用和其PDT效应产生杀灭癌细胞的叠加效果, 进一步拓展姜黄素的药用价值和开发利用.

■同行评价

光动力学治疗是一种能诱导细胞凋亡和坏死的细胞毒性治疗方法, 主要因素包括光敏剂、可见光及氧分子。光敏剂吸收能量后产生对细胞有不良作用的活性氧, 其中光敏剂是决定PDT效应的关键因素之一。姜黄素已在基础研究中显示出其光敏效应强、毒性低、用量低等优点, 具有很好的应用前景。

- 9 Zhang CY, Zhang L, Yu HX, Bao JD, Sun Z, Lu RR. Curcumin inhibits invasion and metastasis in K1 papillary thyroid cancer cells. *Food Chem* 2013; 139: 1021-1028 [PMID: 23561205]
- 10 焦广宇, 周春凌, 徐桂强, 陈炳卿, 孙长景. 姜黄素、叶绿素辅助治疗胃癌的临床研究. *营养学报* 2001; 23: 237-238
- 11 nardini R, Palumbo C, Mattei M, Lista F, Galvano F, Modesti A, Bei R. Curcumin induces apoptosis in breast cancer cell lines and delays the growth of mammary tumors in neu transgenic mice. *J Biol Regul Homeost Agents* 2013; 27: 105-119 [PMID: 23489691]
- 12 于彦华, 刑达. 激光共焦扫描显微镜及其在生物医学中的应用. *四川激光* 1996; 20: 35-38
- 13 戴维德, 王雷, 刘凡光. 超高灵敏荧光显微成像技术对光敏剂细胞内分布的初步研究. *激光生物学报* 2003; 12: 435-439
- 14 郑景存, 赵鸿, 陈波, 吴忠, 丁强, 张元芳. 应用激光共聚焦显微镜研究光敏剂CDHS801亚细胞定位. *中华实验外科杂志* 2005; 33: 355-356
- 15 汲振余, 禹丽娜, 杨观瑞. 肿瘤光动力学疗法的机制. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1879-1884

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

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

环巴胺对胃癌MKN45细胞株VEGF、MMP-2、MMP-9基因表达的影响

任雪萍, 张全安, 郑勤

任雪萍, 张全安, 郑勤, 东南大学附属南京第二医院肿瘤科
江苏省南京市 210003

任雪萍, 主要从事肿瘤的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由任雪萍、张全安及郑勤设计; 研究过程由任雪萍操作完成; 数据分析由任雪萍与张全安完成; 论文写作由任雪萍完成。

通讯作者: 张全安, 主任医师, 210003, 江苏省南京市鼓楼区钟阜路1-1号, 东南大学附属南京第二医院肿瘤科。

cancerarticle@163.com

电话: 025-83626483

收稿日期: 2013-04-11 修回日期: 2013-04-22

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Effect of cyclopamine on expression of VEGF, MMP-2 and MMP-9 in gastric cancer cell line MKN45

Xue-Ping Ren, Quan-An Zhang, Qin Zheng

Xue-Ping Ren, Quan-An Zhang, Qin Zheng, Department of Oncology, the Second Hospital of Nanjing Affiliated to Southeast University, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Quan-An Zhang, Chief Physician, Department of Oncology, the Second Hospital of Nanjing Affiliated to Southeast University, 1-1 Zhongfu Road, Gulou District, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China. cancerarticle@163.com

Received: 2013-04-11 Revised: 2013-04-22

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of cyclopamine on cell apoptosis and expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gastric cancer cell line MKN45.

METHODS: After MKN45 cells were treated with different concentrations of cyclopamine (7.5, 15, 30, 60, 90, 120 $\mu\text{mol/L}$) for different durations, cell proliferation was assessed by MTT assay, cell apoptosis and cell cycle progression were determined by flow cytometry, and expression of VEGF, MMP-2 and MMP-9 mRNAs was detected by RT-PCR.

RESULTS: Cyclopamine inhibited the growth

of MKN45 cells in a time- and dose-dependent manner. The apoptosis rates of MKN45 cells treated with 30, 60, 90 $\mu\text{mol/L}$ of cyclopamine for 24 h were significantly higher than that of non-treated cells ($18.45\% \pm 0.57\%$, $39.77\% \pm 0.61\%$, $68.52\% \pm 0.89\%$ vs $2.08\% \pm 0.49\%$, all $P < 0.05$). The percentage of cells in G_0/G_1 phase was increased while that in S phase was decreased in cyclopamine-treated cells, and cell cycle was arrested in G_0/G_1 phase. Treatment with cyclopamine for 24 h decreased the expression levels of VEGF, MMP-2 and MMP-9 mRNA in a dose-dependent manner (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Cyclopamine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in gastric cancer cell line MKN45 via mechanisms possibly associated with down-regulating the expression of tumor invasion-related genes VEGF, MMP-2 and MMP-9.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cyclopamine; Gastric cancer; Apoptosis; vascular endothelial growth factor; MMP-2; MMP-9

Ren XP, Zhang QA, Zheng Q. Effect of cyclopamine on expression of VEGF, MMP-2 and MMP-9 in gastric cancer cell line MKN45. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1527-1532 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1527>

摘要

目的: 研究环巴胺诱导胃癌MKN45细胞凋亡的作用及其对血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)表达的影响。

方法: 以胃癌MKN45细胞为研究对象, MTT法检测不同浓度环巴胺作用不同时间对MKN45细胞的增殖抑制作用。应用流式细胞仪测定细胞凋亡率及细胞周期分布。RT-

■背景资料

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 其预后与肿瘤分化程度、浸润深度、病理分期、淋巴结转移及远处转移等密切相关。目前胃癌治疗效果差, 在治疗过程中常出现耐药、复发和转移, 因此寻找高效低毒的药物成为目前研究的热点。

■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院

■ 研发前沿

多数胃癌患者确诊时为晚期,药物治疗是胃癌治疗的基础。环巴胺是一种藜芦类固醇植物碱,研究发现其在多种肿瘤细胞中发挥抗肿瘤的作用,环巴胺作为一种潜在的抗肿瘤新药在世界范围内掀起了研究热潮。

PCR检测环巴胺对*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA表达的影响。

结果:不同浓度(7.5、15、30、60、90、120 $\mu\text{mol/L}$)的环巴胺对人胃癌MKN45细胞均有增殖抑制作用,且呈时间和剂量依赖性。30、60、90 $\mu\text{mol/L}$ 环巴胺作用MKN45细胞24 h后凋亡率分别为 $18.45\% \pm 0.57\%$ 、 $39.77\% \pm 0.61\%$ 、 $68.52\% \pm 0.89\%$,明显高于阴性对照组的细胞凋亡率 $2.08\% \pm 0.49\%$,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。细胞周期分析显示,随着环巴胺浓度升高, G_0/G_1 期细胞比例逐渐增多,S期细胞比例逐渐减少,细胞发生 G_0/G_1 期阻滞($P < 0.05$)。RT-PCR检测显示环巴胺作用24 h后,*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA的表达明显下降,且随着药物浓度的增高表达量逐渐减少($P < 0.05$)。

结论:环巴胺对胃癌细胞MKN45具有明显的增殖抑制及促凋亡作用,其机制可能与下调肿瘤侵袭转移相关基因*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*的表达有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:环巴胺;胃癌;细胞凋亡;血管内皮细胞生长因子;基质金属蛋白酶-2;基质金属蛋白酶-9

核心提示:本研究显示环巴胺对胃癌细胞有抗肿瘤作用,其机制可能与血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9)的表达有关,为胃癌的药物治疗提供新思路,为环巴胺的临床应用提供理论依据。

任雪萍, 张全安, 郑勤. 环巴胺对胃癌MKN45细胞株*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1527-1532 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1527>

0 引言

胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一,胃癌细胞的侵袭和转移是抗肿瘤治疗失败的重要原因,血管新生及细胞外基质降解是肿瘤侵袭转移的重要环节^[1]。参与肿瘤血管生成的因子很多,其中血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是迄今为止发现的作用最强的促血管生长因子^[2]。基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和基质金

属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)家族中的重要成员,能有效降解基底细胞膜及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)^[3]。本实验旨在观察环巴胺对胃癌MKN45细胞株的生长抑制作用及其对*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响,探讨其可能的作用机制,为环巴胺的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌MKN45细胞株由中国科学院上海细胞生物研究所细胞库提供。环巴胺(cyclopamine)购自Biomol公司产品; RPMI 1640培养基、胎牛血清购自杭州四季青有限公司; 四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自美国Sigma公司; Annexin V/PI凋亡试剂盒、细胞周期试剂盒均购自南京凯基生物科技发展有限公司; TRIzol试剂盒购自Invitrogen公司; RT-PCR试剂盒购自宝生物工程大连有限公司; *VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因引物由上海生工生物工程公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:胃癌MKN45细胞用含100 U/mL青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素、10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%饱和湿度条件下培养,1-2 d更换培养液1次,每2-3 d传代一次,实验时选用对数生长期细胞。

1.2.2 MTT法测定细胞增殖抑制率:取对数生长期MKN45细胞,用胰酶消化制成单细胞悬液,调整细胞浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$,接种于96孔板,每孔200 μL 。分为实验组、空白对照组及阴性对照组,实验组加入终浓度为7.5、15、30、60、90、120 $\mu\text{mol/L}$ 的环巴胺,空白对照组不含细胞仅加入培养液,阴性对照组含有细胞并加入等量溶剂;每组设6个复孔。分别于加药后24、48和72 h检测,每孔加入MTT溶液(5 mg/mL)20 μL ;继续孵育4 h,离心、弃上清液,每孔加入150 μL DMSO,摇床混匀充分溶解颗粒;酶联检测仪于波长540 nm处测定吸光度(A)值。实验重复3次,取平均值。

1.2.3 流式细胞术测定细胞凋亡率:取对数生长期细胞,以每孔 5×10^6 个细胞接种于六孔培养板,细胞贴壁生长后,加入终浓度分别为30、60、90 $\mu\text{mol/L}$ 的环巴胺,培养24 h后,收集各组

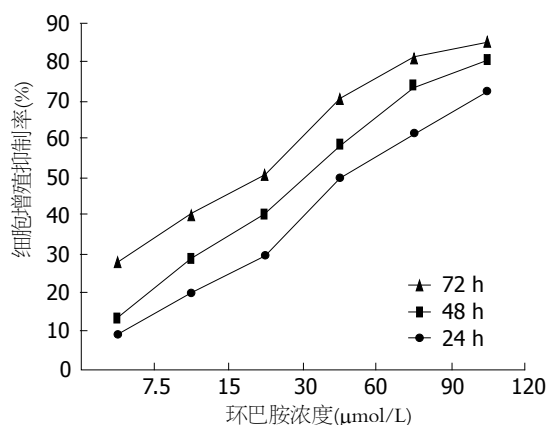


图1 不同浓度环巴胺作用不同时间对胃癌MKN45细胞增殖的影响。

细胞, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 取100 μL 悬液, 加入5 μL AnnexinV-FITC和10 μL PI, 避光反应15 min, 加入300 μL $1 \times$ Annexin-V缓冲液, 流式细胞仪测定细胞凋亡率。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期: 取对数生长期的细胞, 接种于100 mL培养瓶, 培养24 h后, 加入终浓度为30、60、90 $\mu\text{mol/L}$ 的环巴胺, 另设阴性对照组, 孵育24 h后, 胰酶消化收集各组细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ PBS洗涤2次。离心后加入预冷的70%乙醇, 固定过夜, 冷PBS洗涤后, 加入RNase和PI, 避光染色30 min, 流式细胞仪分析细胞周期分布。实验重复3次。

1.2.5 RT-PCR检测VEGF、MMP-2、MMP-9 mRNA表达: 收集30、60、90 $\mu\text{mol/L}$ 环巴胺作用24 h后的MKN45细胞, TRIzol法提取总RNA, 逆转录成cDNA, 进行PCR扩增。β-actin: 上游引物为5'-CCAACTAATGTTTCAGCGTTA-3', 下游引物5'-TACGATGATAGGAATGGTTG-3', 扩增片段400 bp; VEGF: 上游引物5'-ACTTTCTGCTGTCTTGATG-3', 下游引物5'-CTCGGCTTGTCACATCACCG-3', 扩增片段227 bp; MMP-2: 上游引物5'-CTTCCTTCAAGGACCGGTAG-3', 下游引物5'-GTCTGGCTTGGGGTAGGCTA-3', 扩增片段606 bp; MMP-9: 上游引物5'-TGGGAACCAGCTGTGCGGAT-3', 下游引物5'-CGTGTGTACACCCA AGACGC-3', 扩增片段325 bp。PCR反应条件如下: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min, 随后94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min, 共30个循环。PCR产物行琼脂糖凝胶电泳, 利用凝胶成像系统扫描、拍照, 分析数据。实验重复3次。以β-actin作为内参照, 计算VEGF、MMP-2、MMP-9 mRNA的相对表达量。

统计学处理 所得数据采用SPSS13.0软件包进行统计分析。计量资料以mean±SD表示。多样本比较采用单因素方差分析; 组间比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 环巴胺对MKN45细胞的增殖抑制作用 不同浓度(7.5、15、30、60、90、120 $\mu\text{mol/L}$)的环巴胺作用于MKN45细胞24、48、72 h后, MKN45细胞的生长均受到不同程度抑制, 随着药物浓度的升高及作用时间的延长, 细胞增殖抑制作用逐渐增强, 其增殖抑制率与药物浓度和作用时间呈正相关($P < 0.05$, 图1)。

2.2 环巴胺对MKN45细胞凋亡的影响 经30、60、90 $\mu\text{mol/L}$ 的环巴胺作用24 h后, MKN45细胞的凋亡率分别为 $18.45\% \pm 0.57\%$ 、 $39.77\% \pm 0.61\%$ 、 $68.52\% \pm 0.89\%$, 明显高于阴性对照组的细胞凋亡率 $2.08\% \pm 0.49\%$, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。且随着环巴胺药物浓度的逐渐升高, 细胞凋亡率亦逐渐增加, 各浓度组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 环巴胺对MKN45细胞周期的影响 不同浓度环巴胺作用24 h后细胞周期受到不同程度的影响, 与阴性对照组比较, 环巴胺组 G_0/G_1 期比例明显增高, S期细胞比例下降, 且随着药物浓度的增加, G_0/G_1 期细胞比例逐渐升高, S期细胞比例逐渐减少, 细胞发生 G_0/G_1 期阻滞, 各组间差异具有统计学意义($P < 0.05$, 表1)。

2.4 环巴胺对MKN45细胞VEGF、MMP-2、MMP-9 mRNA的表达的影响 RT-PCR结果显示, 空白对照组及阴性对照组的基因表达水平无显著差异, 而不同浓度的环巴胺处理胃癌MKN45细胞24 h后, 细胞内VEGF、MMP-2、MMP-9 mRNA的表达明显下降, 与空白对照组及阴性对照组相比, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 且随着环巴胺药物浓度的增加, 各基因的表达量逐渐减少, 各浓度组间差异亦有统计学意义($P < 0.05$, 图2-4)。

3 讨论

胃癌的发生发展是一个多因素、多步骤的复杂过程, 其预后与分化程度、浸润深度、病理分期、淋巴结转移及远处转移等密切相关^[4,5]。目前胃癌治疗效果差, 且在治疗过程中常出现耐药、复发和转移。环巴胺是一种藜芦属类固醇植物碱, 并在多种肿瘤细胞中发挥抗肿瘤作用,

■ 相关报道

Zheng等研究发现, 在胃癌组织中VEGF、MMP-2和MMP-9的表达与肿瘤的大小、深度浸润、淋巴和静脉浸润、淋巴结转移和UICC分期呈正相关, MMP-2、MMP-9和VEGF在很大程度上促进胃癌血管生成和胃癌进展, 是胃癌不良预后因素。

■创新盘点

目前关于环巴胺的抗肿瘤作用机制尚未明确。本研究发现环巴胺对胃癌细胞MKN45具有明显的增殖抑制及促凋亡作用,其机制可能与下调肿瘤侵袭转移相关基因VEGF、MMP-2、MMP-9的表达有关。

表 1 不同浓度环巴胺作用24 h后MKN45细胞周期分布 (mean $\pm$ SD, $n = 3$, %)

环巴胺(μ mol/L)	G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期
0	57.71 $\pm$ 1.35	26.13 $\pm$ 0.98	16.16 $\pm$ 0.44
30	66.76 $\pm$ 1.45 ^a	17.86 $\pm$ 2.55 ^a	15.38 $\pm$ 3.08
60	76.54 $\pm$ 1.49 ^{ab}	12.32 $\pm$ 1.88 ^{ab}	11.14 $\pm$ 1.03 ^{ab}
90	84.32 $\pm$ 1.66 ^{abc}	7.91 $\pm$ 1.35 ^{abc}	7.77 $\pm$ 1.87 ^{abc}

^a $P < 0.05$ vs 0 μ mol/L组; ^b $P < 0.01$ vs 30 μ mol/L组; ^c $P < 0.05$ vs 60 μ mol/L组。

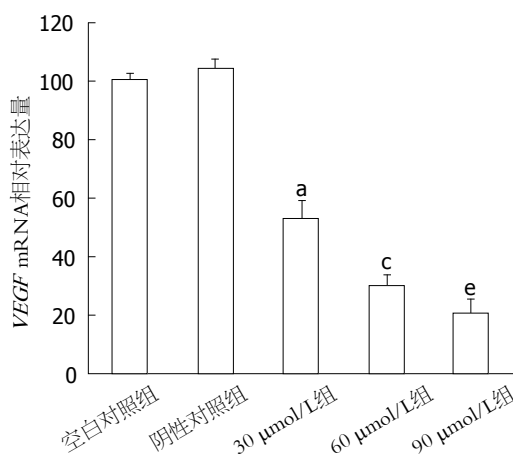


图 2 不同浓度环巴胺对MKN45细胞VEGF mRNA表达的影响。* $P < 0.05$ vs 空白对照组, 阴性对照组; ^a $P < 0.05$ vs 30 μ mol/L组; ^c $P < 0.05$ vs 60 μ mol/L组。

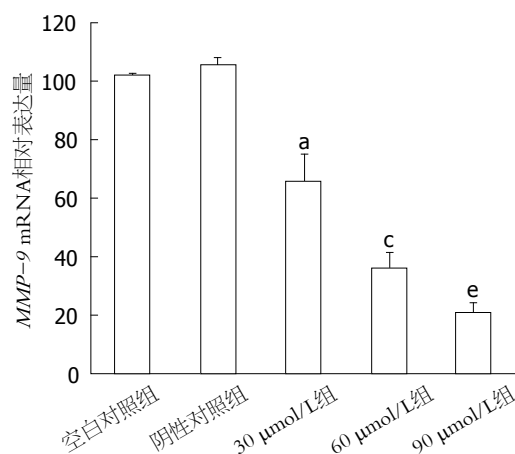


图 4 不同浓度环巴胺对MKN45细胞MMP-9 mRNA表达的影响。* $P < 0.05$ vs 空白对照组, 阴性对照组; ^a $P < 0.05$ vs 30 μ mol/L组; ^c $P < 0.05$ vs 60 μ mol/L组。

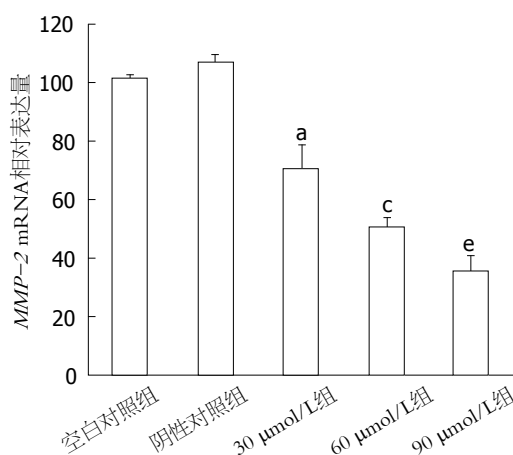


图 3 不同浓度环巴胺对MKN45细胞MMP-2 mRNA表达的影响。* $P < 0.05$ vs 空白对照组, 阴性对照组; ^a $P < 0.05$ vs 30 μ mol/L组; ^c $P < 0.05$ vs 60 μ mol/L组。

但对其研究大多集中在Hedgehog信号通路^[6-8], 关于其他方面的研究较少, 其是否通过其他途径发挥抗肿瘤作用尚不明确。

MKN45细胞为低分化细胞株, 恶性程度高, 本研究我们用环巴胺对MKN45进行干预, MTT结果显示环巴胺对胃癌MKN45细胞具有明显的增殖抑制作用。环巴胺作用于胃癌MKN45细胞

24 h后细胞凋亡率显著升高, 与对照组比较, 差异有统计学意义。细胞周期分析显示环巴胺使MKN45细胞增殖阻滞于G₀/G₁期。

肿瘤细胞的侵袭转移是一个复杂的过程, 其中包括肿瘤血管新生、细胞外基质降解、细胞增殖改变、细胞黏附改变及细胞迁移等环节^[9,10]。肿瘤血管新生与肿瘤的生长、浸润和转移密切相关, 是肿瘤侵袭转移的必要条件^[11,12]。参与肿瘤血管生成的因子很多, 其中VEGF是迄今为止发现的作用最强、最重要的促血管生长因子。VEGF能特异性地促进血管内皮细胞增殖、分化和迁移, 趋化肿瘤细胞, 诱导肿瘤血管生成, 促进肿瘤生长、侵袭及转移^[13,14]。Zhao等^[15]采用免疫组织化学法检测107例胃癌组织和31例癌旁正常胃组织, 结果表明, VEGF在正常胃组织中呈低表达或无表达, 在胃癌组织中呈高表达, 且表达水平与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移和病理分期呈正相关。Liu等^[16]进行的一项荟萃分析包括44项研究, 共计4794例胃癌根治术患者, 结果显示, 对于胃癌根治术后患者, VEGF阳性者比阴性者生存率低, 同时VEGF阳性表达者胃癌肿块大, 易浸润, 更易发生血行转移, 分

期多为进展期, 多因素分析证实VEGF是独立的预后指标。

肿瘤的侵袭转移亦涉及到ECM的破坏, 细胞外基质的降解是肿瘤浸润和转移的先决条件^[17]。MMPs是具有锌指结构的蛋白水解酶, 是降解细胞外基质蛋白最主要的蛋白水解酶, 在肿瘤的浸润和转移中发挥着至关重要的作用^[18]。MMP-2和MMP-9是MMPs家族中的重要成员, 能有效降解基底细胞膜及细胞外基质, 促进血管内皮细胞迁移及血管重塑, 并能上调VEGF, 促进肿瘤血管新生, 是启动血管生成的重要因子^[19]。Hwang等^[20]采用免疫组织化学法检测189例胃癌组织中MMP-2和MMP-9的表达水平, 并分析其与肿瘤的浸润、临床病理特征和临床结果的相关性, 结果表明, MMP-2、MMP-9在正常胃组织黏膜及癌旁组织中呈低表达, 在胃癌组织呈高表达, 且阳性表达程度与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及TNM分期呈正相关。MMP-2、MMP-9的异常表达在胃癌的发生发展、浸润转移过程中发挥了重要作用, 可作为判断胃癌患者预后的独立指标。

我们进一步研究发现, 不同浓度的环巴胺作用于MKN45细胞24 h后, VEGF、MMP-2及MMP-9 mRNA的表达水平下降, 且随着药物浓度增高, 表达量逐渐减少。环巴胺可能通过抑制VEGF、MMP-2及MMP-9的基因表达, 进而减少肿瘤浸润转移, 从而发挥抗肿瘤作用。

总之, 本研究结果表明环巴胺可抑制MKN45细胞的增殖, 并诱导其凋亡, 其机制可能与阻滞细胞周期于G₀/G₁期以及下调细胞中VEGF、MMP-2及MMP-9基因的表达有关, 为胃癌患者的治疗提供新的途径及理论依据。

4 参考文献

- Corso G, Seruca R, Roviello F. Gastric cancer carcinogenesis and tumor progression. *Ann Ital Chir* 2012; 83: 172-176 [PMID: 22595727]
- Pradeep CR, Sunila ES, Kuttan G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in tumor angiogenesis and malignancies. *Integr Cancer Ther* 2005; 4: 315-321 [PMID: 16282508 DOI: 10.1177/1534735405282557]
- Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 2000; 36: 1621-1630 [PMID: 10959048 DOI: 10.1016/S0959-8049(00)00156-8]
- Ayadi S, Daghighi A, Makni A, Fteriche F, Maghrebi H, Rebai W, Bedioui H, Chebbi F, Ksantini R, Ammous A, Jouini M, Kacem M, Ben Safta Z. Prognostic factors in gastric carcinoma after R0 resection with DII lymph node dissection. Tunisian experience. *Tunis Med* 2012; 90: 812-815 [PMID: 23197061]
- Yang X, Takano Y, Zheng HC. The pathobiological features of gastrointestinal cancers (Review). *Oncol Lett* 2012; 3: 961-969 [PMID: 22783373 DOI: 10.3892/ol.2012.628]
- Gould A, Missailidis S. Targeting the hedgehog pathway: the development of cyclopamine and the development of anti-cancer drugs targeting the hedgehog pathway. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 200-213 [PMID: 21222574 DOI: 10.2174/138955711795049871]
- Sheikh A, Alvi AA, Aslam HM, Haseeb A. Hedgehog pathway inhibitors - current status and future prospects. *Infect Agent Cancer* 2012; 7: 29 [PMID: 23116301 DOI: 10.1186/1750-9378-7-29]
- Wu X, Cai ZD, Lou LM, Chen ZR. The effects of inhibiting hedgehog signaling pathways by using specific antagonist cyclopamine on the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 5966-5977 [PMID: 23493060 DOI: 10.3390/ijms14035966]
- Nasr Z, Pelletier J. Tumor progression and metastasis: role of translational deregulation. *Anticancer Res* 2012; 32: 3077-3084 [PMID: 22843876]
- Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904 [PMID: 16892035 DOI: 10.1038/nm1469]
- Robert J. Biology of cancer metastasis. *Bull Cancer* 2013; 100: 333-342 [PMID: 23587644 DOI: 10.1684/bdc.2013.1724]
- Gretschel S, Astrosini Ch, Vieth M, Jöns T, Tomov T, Höcker M, Schlag PM, Kimmner W. Markers of tumour angiogenesis and tumour cells in bone marrow in gastric cancer patients. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 642-647 [PMID: 18023552 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.09.010]
- Roskoski R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 62: 179-213 [PMID: 17324579 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.01.006]
- Wang X, Chen X, Fang J, Yang C. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 586-597 [PMID: 23573305]
- Zhao ZQ, Yang S, Lu HS. Expression of mid-kine and vascular endothelial growth factor in gastric cancer and the association of high levels with poor prognosis and survival. *Mol Med Rep* 2012; 5: 415-419 [PMID: 22051879 DOI: 10.3892/mmr.2011.649]
- Liu L, Ma XL, Xiao ZL, Li M, Cheng SH, Wei YQ. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in resected gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3089-3097 [PMID: 22994715 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.7.3089]
- Pathak A, Kumar S. Independent regulation of tumor cell migration by matrix stiffness and confinement. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 10334-10339 [PMID: 22689955 DOI: 10.1073/pnas.1118073109]
- Lukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Szmitkowski M. Gastric cancer - The role of matrix metalloproteinases in tumor progression. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1725-1730 [PMID: 21693112 DOI: 10.1016/

■同行评价

本文研究环巴胺诱导胃癌MKN45细胞凋亡的作用及其对VEGF、MMP-2、MMP-9基因表达的影响, 有一定的创新性, 条理清晰, 结论可靠, 有科学意义和学术价值。

- j.cca.2011.06.003]
- 19 Zheng H, Takahashi H, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Niwa H, Tsuneyama K, Takano Y. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Res* 2006; 26: 3579-3583 [PMID: 17094486]
- 20 Hwang TL, Lee LY, Wang CC, Liang Y, Huang SF, Wu CM. Claudin-4 expression is associated with tumor invasion, MMP-2 and MMP-9 expression in gastric cancer. *Exp Ther Med* 2010; 1: 789-797 [PMID: 22993603 DOI: 10.3892/etm.2010.116]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病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。

转录因子在食管鳞癌基因表达中的调控作用

吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧

吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧, 河南中医学院 河南省郑州市 450008

吴耀松, 主要从事肿瘤分子生物学的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173177

河南省教育厅自然科学基金资助项目, No. 2010B360004

河南中医学院科技创新人才基金资助项目, No. 2010XCXRC02

作者贡献分布: 吴耀松与陈玉龙对此文所作贡献均等; 课题由陈玉龙设计; 资料收集与数据分析由吴耀松、尹素改及王慧慧完成; 论文撰写由陈玉龙与吴耀松完成。

通讯作者: 陈玉龙, 副教授, 450008, 河南省郑州市金水路1号, 河南中医学院分子生物实验中心。cyl72621@163.com

收稿日期: 2013-03-20 修回日期: 2013-04-20

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Role of transcription factors in regulation of gene expression in esophageal squamous cell carcinoma

Yao-Song Wu, Yu-Long Chen, Su-Gai Yin, Hui-Hui Wang

Yao-Song Wu, Yu-Long Chen, Su-Gai Yin, Hui-Hui Wang, Laboratory of Molecular Biology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81173177; the Foundation of Education Department of Henan Province, No. 2010B360004; the Science & Technology Innovation Talent Foundation of Henan University of Traditional Chinese Medicine, No. 2010XCXRC02

Correspondence to: Yu-Long Chen, Associate Professor, Laboratory of Molecular Biology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui Road, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. cyl72621@163.com

Received: 2013-03-20 Revised: 2013-04-20

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To study the role of transcription factors (TFs) in regulation of gene expression in esophageal squamous cell cancer.

METHODS: Two gene microarray data sets downloaded from the GEO BRB-ArrayTool were used to analyze differentially expressed genes between esophageal squamous cell cancer and normal esophageal tissue. TFs were enriched from differentially expressed genes, and the regulatory role of TFs was assessed by analyzing interactions among target genes, binding proteins and differentially expressed genes.

RESULTS: Eight TFs were obtained from 463 differentially expressed genes. There were 110 genes that may be regulated by TFs, including target genes, genes encoding interaction proteins, and upstream enzyme genes. These genes participated in multiple biological processes such as cell cycle, mitosis, cell division, cell migration, response to DNA damage, and DNA repair. Of these 110 genes, 37 were involved in KEGG pathways, including cancer pathways, focal adhesion, cell cycle, ECM-receptor interaction, small cell lung cancer, oocyte meiosis, p53 signaling pathway, and fatty acid metabolism. The pathways involving these 110 genes showed no significant difference with those involving the 463 differentially expressed genes. These 110 genes interact and form a molecular network which is composed of 110 nodes and 316 edges.

CONCLUSION: Eight TFs identify in this study constitute a complex molecular interaction network and play an important role in ESCC by regulating their target and interactive genes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Transcription factors; Gene microarray; Esophageal squamous cell cancer; Molecular network

Wu YS, Chen YL, Yin SG, Wang HH. Role of transcription factors in regulation of gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1533-1538 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1533.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1533>

摘要

目的: 研究食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中转录因子的调控作用。

方法: 从GEO下载两个基因数据集, 利用BRB-ArrayTool分析食管癌细胞和正常细胞之间差异基因表达。从差异表达基因中富集出转录因子, 根据转录因子目的基因、结合蛋白和差异基因的相互作用来分析其调控作用。

■背景资料

利用基因芯片技术能够成功地判断出和生存率、组织学分级、浸润状态及对化疗反应等临床参数相关的食管癌亚型, 但目前很少有探究差异基因表达改变的原因和差异表达基因之间的相互联系, 转录因子调控基因转录的重要因子, 不少像GSEA这样的工具为从共表达基因中富集转录因子提供了可能。

■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

■ 研发前沿

几种方法可以用来整合基因表达数据和其他类型基因组数据以鉴定转录因子靶基因,其中GRAM、ReMO Discovery和COGRIM就是整合基因表达、ChIP-chip和motif数据寻找基因调控模块的方法。

结果: 根据463个差异表达基因富集了8个转录因子,差异基因中含此8个转录因子的110个调控基因,包括靶基因、和靶基因相互作用基因及其上游的酶基因。这些基因参与了许多生物过程,如细胞周期、有丝分裂、细胞分离、细胞转移、DNA的损伤反应和DNA的修复。其中37个基因参与了KEGG信号通路,包括癌化途径、黏着斑、细胞周期、细胞外基质受体相互作用、小细胞肺癌、卵母细胞减数分裂、P53信号通路和脂肪酸代谢通路等。这110个基因和463个差异表达基因参与信号通路没有明显的差异。这110个基因相互作用,形成有110个节点和316条边组成分子网络。

结论: 在ESCC中,8个转录因子通过调控其靶基因和相互作用基因而发挥重要作用,其调控基因组成一个复杂的相互作用分子网络。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 转录因子; 基因芯片; 食管癌; 分子网络

核心提示: 分析食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma)细胞和正常细胞之间463个差异基因表达,富集了8个转录因子及110个调控基因,这些基因参与了许多的重要生物过程,形成有110个节点和316条边组成分子网络。

吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧. 转录因子在食管鳞癌基因表达中的调控作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1533-1538
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1533.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1533>

0 引言

食管癌是世界范围内第6大最常见而致命的肿瘤,其中95%的患者属食管鳞癌^[1,2]。食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是一种恶性肿瘤,只有在出现症状以后才易诊断,预后性很差。为了减少ESCC的死亡率,许多科学家通过各种技术手段包括cDNA芯片分析技术试图找到一些能进行早期诊断的生物标志物。利用基因芯片技术能够成功地判断出和生存率、组织学分级、浸润状态及对化疗反应等临床参数相关的食管癌亚型^[3,4],但这些研究大部分都只关注不同ESCC亚型中基因表达的改变或单个差异基因功能,很少探究这些基因表达改变的原因和差异表达基因之间的相互联系。

许多因素影响基因的表达,转录因子是其中一种主要的调控因子,他与基因启动子结合,调

控基因的表达。不少像基因探针富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)这样的工具为从共表达基因中富集转录因子提供了可能^[5-7],由此,我们可以通过差异表达基因列表非直接鉴定出激活的转录因子,从而阐述基因表达发生改变的机理。本文目的是寻找调控ESCC基因表达的转录因子,并构建转录因子调控的分子网络。

1 材料和方法

1.1 材料 从GEO下载GSE20347和GSE17351数据集。GSE20347包括34人样本, GSE17351包括了10人样本,皆为ESCC组织和正常组织配对,为Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array平台,该平台包含47000多个转录子和变体,涵盖了38500个已经定性清楚的人类基因。

1.2 方法 BRB-ArrayTools 4.2软件有Dr. Richard Simon和Amy Peng Lam所建立,本研究利用此软件对数据进行挖掘。首先排除相对表达基因中位数任一方向(高于、低于)>1.5倍不到整个芯片数20%的基因数据,或缺失值超过50%样本的基因数据。从GSE20347鉴定出肿瘤和正常组织间差异mRNA,他们必须满足3个统计条件: (1) $P < 0.001$; (2) $P < 0.001$, $FDR < 0.05$; (3) $2 < \text{正常/癌组织的比值} < 0.5$ 。然后,以GSE20347中筛选出的差异基因作为背景,应用BRB-Array Tools 4.2软件预测工具中Support Vector Machine and Bayesian Compound Covariate预测器从GSE17351数据集筛选出差异基因,这样被筛选出的基因认为是ESCC真正相关基因。

利用网上在线的工具(www.tfacts.org), Es-saghir A法^[8]分析这些基因的转录子。从HPRD、IntAct、DIP数据库中^[9-11]寻找转录子相互作用蛋白。同时,从HPRD中寻找转录子上游酶类分子。在下面的分析中,主要对真正相关基因和其相互作用蛋白进行分析。

利用在线的DAVID工具<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>,分析转录子靶基因和相互作用的蛋白的本体功能和信号通路。利用STRING<http://string.embl.de>和PSTINGhttp://pstiing.licr.org/search/a_start_batch.jsp在线分析目标基因的相互作用。用Cytoscape^[12]做出相应的网络图形。

2 结果

2.1 食管鳞癌相关的基因数量 在GSE20347数据库中,有1552个差异探针代表1195基因。以1195个基因为背景,通过Support Vector Machine and

Bayesian Compound Covariate($P<0.01$)预测器, 从GSE17351筛选出463个ESCC相关基因, 其中包括了259个上调基因和204个下调基因, 这些基因能够成功地将癌组织和正常组织区分开来, 其敏感性、特异性、阳性及阴性预测值都等于1.

463个ESCC相关基因主要参与了下面的生物活动: 细胞周期、有丝分裂、细胞分离、DNA复制、转录调控、应对DNA损伤刺激、氧化损伤、发育、细胞增殖、DNA修复、细胞黏附.

有68个基因包括在KEGG信号通路数据中, 其中21个基因参与细胞周期, 10个基因参与DNA复制, 13个基因参与有丝分裂, 9个基因参与ECM受体相互作用, 19个基因参与癌变通路, 14个基因和黏附有关, 8个基因参与p53通路, 5个基因和脂肪代谢有关, 5个基因和错配修复有关, 8个基因参与小细胞肺癌. 有7个基因包括于BioCarta通路库中, 其中, 4个基因参与Role of Ran的纺锤体的调节, 3个基因参与应对DNA损伤信号的RB肿瘤抑制/检查点.

2.2 相关基因的转录因子 应用TFactS富集出8个转录因子, 并符合下列条件的: $P<0.05$, $E<0.05$, $Q<0.05$ 和 $FDR<0.05$. 在ESCC相关基因中, *Myc*、*GLI2*、*TCF/BETA-CATENIN*、*FOXO3*、*SP*、*ETV4*、*FOXO*和*GLI*对应的靶基因数分别为30、14、23、9、13、4、12和13. 只有*Myc*, *SP1*和*FOXO3*分别有19、2、1个相互作用的蛋白, *SP1*有2个上游酶分子.

共有110个基因, 包括了转录因子靶基因、相互作用蛋白基因和上游酶基因. 我们称这些基因为转录因子调控基因. 通过DAVID在线工具分析这些基因的本体功能和通路. 参与的生物过程主要是细胞周期、有丝分裂、细胞移动、应对DNA损伤刺激、DNA修复.

在KEGG通路上包括了37个基因, 其中19个基因参与癌通路, 10个基因与黏着斑有关, 8个基因与细胞周期有关, 5个基因与ECM受体相互作用有关, 6个基因与小细胞肺癌有关, 5个基因与卵母细胞减数分裂有关, 4个基因与p53信号通路相联系, 3个基因参与脂肪代谢, 5个基因与T细胞受体信号通路相关. 有5个基因与BioCarta通路相联系, 包括Erk1/Erk2 Mapk信号通路和BAD磷酸化的调控.

为了探索转录因子的调控作用, 我们用 χ^2 检验比较了463个ESCC相关基因(genuine genes involved in ESCC, *GGE*)和110个转录因子调控

基因(transcription factors regulating genes, *TFG*)参与KEGG信号通路的差异, 发现虽然单个通路上有明显差别, 但从总体性来说, *TFG*和*GGE*没有明显区别, 换言之, 从KEGG通路来角度, *TFG*可以代表*GGE*(表1).

2.3 分子网络构建 首先, 110个基因放入<http://string.embl.de>上的对话框中, 种属选为人类, 所需信度为高信度(0.7), 发现78个相互作用基因. 其中, 37个基因构成71对被其他研究证实的共表达基因, 这些基因中, 22个基因是*Myc*的靶基因. 为了证明他们基因是否共表达, 应用Spearman法把22基因中的一个*CDC6*表达值与其他基因进行相关分析, 发现*CDC6*表达和其他基因的密切相关($P<0.001$, $r>0.7$). 这22个基因主要参与了如细胞周期和DNA复制等生物过程. 总之, 在78个基因中, 他们相互联系, 或激活或相互抑制或共表达.

其次, 110个基因行成了316组相互作用的基因, 包括上面提到的78个基因中的156对. 这316组输入到cytoscape工具中, 构建了一个由转录因子调控的分子网络(图1).

图中显示围绕8个转录因子的分子分布, 第1、2部分的联系比其他部分更加紧密. 第1部分的分子主要参与细胞周期, 第2部分分子参与细胞基质和细胞间的信号联系.

3 讨论

基因芯片技术具有高通量和高灵敏度的特点, 此技术可以实现全基因组基因变化检测. 有不少全基因组表达谱研究ESCC的报道^[13,14], 但是大部分前人的研究只报道所选择的少数几个基因, 没有显示总体的数据. 不同的研究中, 所报道的差异基因很少有重复. 许多因素, 如样品、平台、分析等等会导致芯片结果的重复性差. 许多科学家做了很大的努力去利用Meta分析从不同芯片中得到可靠结果, 但不能克服一些关键性的问题, 如注解、跨平台的比较等^[15]. 在本文中, 我们选择了同一平台的两个数据集分析. 首先, 利用较大的数据集常规分析, 寻找差异基因. 然后, 以这些差异基因为背景, 对另一个数据库进行分类, 确定此数据集中的差异基因. 为了避免假阳性, 我们采用了很多的算法进行分类, 如支持向量机、贝叶斯复合协变量和对角线性判别分析等, 且差异基因必须满足严格的条件, 使肿瘤组织和正常组织100%分离, 且 $P<0.01$. 这个方法不仅避免了通常以计算两个研

■ 相关报道

Ahmed等建立了转录因子靶基因数据库是经过高质量实验验证, 用Hypergeometric公式进行Fisher's test计算P值, 富集表达基因的转录因子, Ma等报道系统挖掘了基因表达谱的顺反子调控原件以揭示转录条调控机制.

■创新盘点

利用生物信息学方法从食管鳞癌差异表达基因中富集出转录因子,根据转录因子目的基因、结合蛋白和差异基因的相互作用来分析其调控作用,并建立了相互作用分子网络。

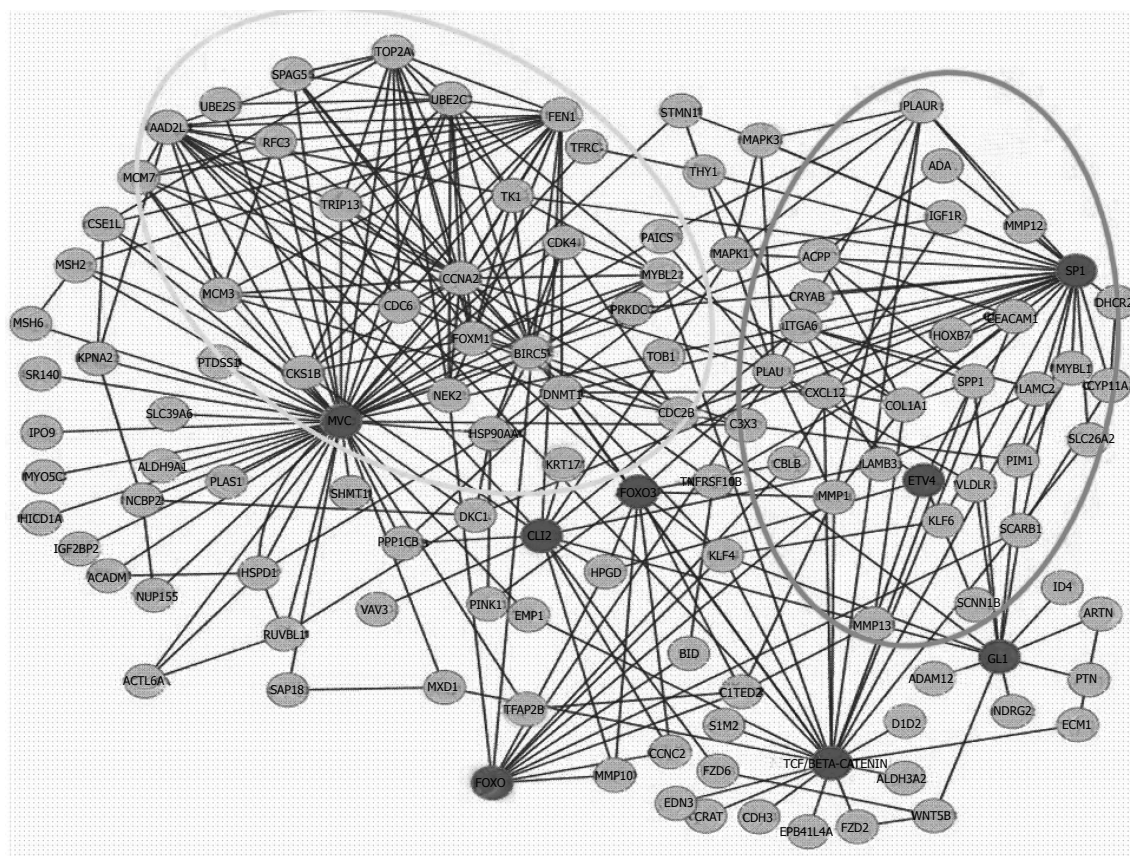


图1 与ESCC相关转录因子的分子网络。

表1 在KEGG通路中GGE和TFG的差异 (*n*)

	癌化	黏着斑	细胞周期	ECM受体	卵母细胞细胞分裂	p53信号通路	肺癌	脂肪酸
GGE	19	14	21	9	13	8	8	5
TFGs	19	10	8	5	5	4	6	3

GGE: 食管鳞癌真正相关基因; TFG: 转录因子调控基因; ECM: 细胞外基质。

研究的差异基因交叉部分为结果所引起的假阳性,而且通过整合两项研究的结果得到了真正的肿瘤相关基因。

转录子是调控基因表达的主要因子。几种方法可以用来整合基因表达数据和其他类型基因组数据以鉴定转录因子靶基因,其中GRAM、ReMO Discovery和COGRIM就是整合基因表达、ChIP-chip和motif数据寻找基因调控模块的方法^[16-18]。ChIP-chip可全基因组检测,但是他费力,费时,并且价格昂贵,至今为止尚缺乏有关ESCC的ChIP-chip的数据。位置权重矩阵常用来确定已知转录因子结合位点,但易产生假阳性和假阴性。我们采用Ahmed Essaghir's的方法,所利用的转录因子靶基因数据库是经过高质量实验验证,用Hypergeometric公式进行Fisher's test计

算 P 值^[8]。我们筛选出了8个重要的转录因子。研究表明这些转录因子和肿瘤发生、发展有关。其中*Myc*是一个癌基因,他特异地影响肿瘤浸润和迁移调节肿瘤转移,这个基因也被Catenin/TCF调节^[19]。GLI与ESCC细胞生存与放疗敏感性密切相关,是hedgehog通路组份^[20]。SP1通过调节细胞周期相关基因和血管内皮生长因子在多种肿瘤生长和转移过程中起到了非常关键作用^[21]。Foxo是直接影响到细胞增殖、氧化应激和肿瘤发生的转录因子家族,其中, Foxo3是肿瘤抑制因子,研究显示在肿瘤细胞核中Foxo3的积累与化疗敏感性增加及食管癌患者存活率提高密切相关^[22]。

为了研究食管癌中转录因子的作用,除了靶基因外,我们查找了其上游分子,并通过PPI数

数据库, 从差异基因中获得与之相互作用的蛋白质基因。这些分子和转录因子一起共有110个, 他们参与了一系列重要的与肿瘤的发生有关的生物过程和信号通路, 如25个基因参与了细胞生物周期, 19个基因参与了癌通路。进一步研究发现, 从KEGG的角度, 这110个基因与463个食管癌相关基因所起作用没有明显的区别, 这意味着这110个基因在通路中的作用能够替代463个食管癌相关基因。

为了研究转录因子之间的关系, 构建了110个基因的分子网络。首先, 转录因子和他们的靶基因、结合因子以及上游酶类相互联系成154对。然后我们研究了110个基因(包括8个转录因子)相互关系, 发现有162对, 他或共表达, 或结合、或催化、或激活或抑制, 如FOXO1结合并抑制FOXO3, 调节CDC25B、NEK2、PLU的表达。最后, 我们研究了转录因子之间的相互关系, 发现: ETV4与SP1形成一个复合物, SP1和 β -蛋白/TCF介导*c-Myc*的表达; *Myc*抑制FOXO3的活性^[23-25]。这样我们构建了一个由110个点和316条边组成的分子网络。

总之, 我们从基因表达的数据中富集了8个重要的转录因子, 这些因子通过靶基因和相互作用的基因在食管鳞癌中起到非常重要的作用, 并组成了一个相互作用的复杂网络。本研究为理解食管癌基因变化及转录因子作用提供了有用信息。今后, 我们将通过实验证明这些结论。

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078]
- 2 Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal Cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 2241-2252 [DOI: 10.1056/NEJM-ra035010]
- 3 Ogawa R, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitsui A, Mori Y, Mori R, Tomoda K, Katada T, Harada K, Fujii Y. Identification of candidate genes involved in the radiosensitivity of esophageal cancer cells by microarray analysis. *Dis Esophagus* 2008; 21: 288-297 [PMID: 18477249 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00759.x]
- 4 Sato T, Iizuka N, Hamamoto Y, Yoshino S, Abe T, Takeda S, Uchimura S, Miyamoto T, Sei F, Hamada K, Yamada-Okabe H, Oka M. Esophageal squamous cell carcinomas with distinct invasive depth show different gene expression profiles associated with lymph node metastasis. *Int J Oncol* 2006; 28: 1043-1055 [PMID: 16596220]
- 5 Defrance M, Touzet H. Predicting transcription factor binding sites using local over-representation and comparative genomics. *BMC Bioinformatics* 2006; 7: 396 [PMID: 16945132]
- 6 Hestand MS, van Galen M, Villerius MP, van Ommen GJ, den Dunnen JT, 't Hoen PA. CORE_TF: a user-friendly interface to identify evolutionary conserved transcription factor binding sites in sets of co-regulated genes. *BMC Bioinformatics* 2008; 9: 495 [PMID: 19036135 DOI: 10.1186/1471-2105-9-495]
- 7 Ma Q, Chirn GW, Szustakowski JD, Bakhtiarova A, Kosinski PA, Kemp D, Nirmala N. Uncovering mechanisms of transcriptional regulations by systematic mining of cis regulatory elements with gene expression profiles. *BioData Min* 2008; 1: 4 [PMID: 18822150 DOI: 10.1186/1756-0381-1-4]
- 8 Essaghir A, Toffalini F, Knoops L. et al. Transcription factor regulation can be accurately predicted from the presence of target gene signatures in microarray gene expression data. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: e120 [DOI: 10.1093/nar/gkq149]
- 9 Keshava Prasad TS, Goel R, Kandasamy K, Keerthikumar S, Kumar S, Mathivanan S, Telikicherla D, Raju R, Shafreen B, Venugopal A, Balakrishnan L, Marimuthu A, Banerjee S, Somanathan DS, Sebastian A, Rani S, Ray S, Harrys Kishore CJ, Kanth S, Ahmed M, Kashyap MK, Mohmood R, Ramachandra YL, Krishna V, Rahiman BA, Mohan S, Ranganathan P, Ramabadran S, Chaerkady R, Pandey A. Human Protein Reference Database--2009 update. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: D767-D772 [PMID: 18988627 DOI: 10.1093/nar/gkn892]
- 10 Aranda B, Achuthan P, Alam-Farouque Y, Armean I, Bridge A, Derow C, Feuerhann M, Ghanbarian AT, Kerrien S, Khadake J, Kerssemakers J, Leroy C, Menden M, Michaut M, Montecchi-Palazzi L, Neuhauser SN, Orchard S, Perreau V, Roechert B, van Eijk K, Hermjakob H. The IntAct molecular interaction database in 2010. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: D525-D531 [PMID: 19850723 DOI: 10.1093/nar/gkp878]
- 11 Xenarios I, Salwinski L, Duan XJ, Higney P, Kim SM, Eisenberg D. DIP, the Database of Interacting Proteins: a research tool for studying cellular networks of protein interactions. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 303-305 [PMID: 11752321]
- 12 Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, Wang PL, Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics* 2011; 27: 431-432 [PMID: 21149340 DOI: 10.1093/bioinformatics/btq675]
- 13 Su H, Hu N, Yang HH, Wang C, Takikita M, Wang QH, Giffen C, Clifford R, Hewitt SM, Shou JZ, Goldstein AM, Lee MP, Taylor PR. Global gene expression profiling and validation in esophageal squamous cell carcinoma and its association with clinical phenotypes. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2955-2966 [PMID: 21385931 DOI: 10.1158/1078-0432]
- 14 Kashyap MK, Marimuthu A, Kishore CJ, Peri S, Keerthikumar S, Prasad TS, Mahmood R, Rao S, Ranganathan P, Sanjeeviah RC, Vijayakumar M, Kumar KV, Montgomery EA, Kumar RV, Pandey A. Genomewide mRNA profiling of esophageal squamous cell carcinoma for identification of cancer biomarkers. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 36-46 [PMID: 18981721]
- 15 Hong F, Breitling R. A comparison of meta-analysis methods for detecting differentially expressed genes in microarray experiments. *Bioinformatics* 2008; 24: 374-382 [PMID: 18204063 DOI: 10.1093/bioinformatics/btm620]
- 16 Bar-Joseph Z, Gerber GK, Lee TI, Rinaldi NJ, Yoo JY, Robert F, Gordon DB, Fraenkel E, Jaakkola TS,

■应用要点

所富集的8个转录因子及其相互作用的基因在食管鳞癌中起到非常重要的作用, 有助于揭示食管癌发生、发展机制, 并可作为药物开发的靶点。

■同行评价

本文技术路线先进,成熟,结果可信,结论客观,对后续的研究有一定的指导作用。

- Young RA, Gifford DK. Computational discovery of gene modules and regulatory networks. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 1337-1342 [PMID: 14555958]
- 17 Chen G, Jensen ST, Stoeckert CJ. Clustering of genes into regulons using integrated modeling-COGRIM. *Genome Biol* 2007; 8: R4 [PMID: 17204163]
- 18 Lemmens K, Dhollander T, De Bie T, Monsieurs P, Engelen K, Smets B, Winderickx J, De Moor B, Marchal K. Inferring transcriptional modules from ChIP-chip, motif and microarray data. *Genome Biol* 2006; 7: R37 [PMID: 16677396]
- 19 Zhao L, Shan B, Du Y, Wang M, Liu L, Ren FZ. Periplocin from Cortex periplocae inhibits cell growth and down-regulates survivin and c-myc expression in colon cancer in vitro and in vivo via beta-catenin/TCF signaling. *Oncol Rep* 2010; 24: 375-383 [PMID: 20596624]
- 20 Zhu W, You Z, Li T, Yu C, Tao G, Hu M, Chen X. Correlation of hedgehog signal activation with chemoradiotherapy sensitivity and survival in esophageal squamous cell carcinomas. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41: 386-393 [PMID: 21127038 DOI: 10.1093/jjco/hyq217]
- 21 Li L, Davie JR. The role of Sp1 and Sp3 in normal and cancer cell biology. *Ann Anat* 2010; 192: 275-283 [PMID: 20810260]
- 22 Chen MF, Fang FM, Lu CH, Lu MS, Chen WC, Lee KD, Lin PY. Significance of nuclear accumulation of Foxo3a in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71: 1220-1229 [PMID: 18572085 DOI: 10.1016/j.ijrobp]
- 23 Jiang J, Wei Y, Shen J, Liu D, Chen X, Zhou J, Zong H, Yun X, Kong X, Zhang S, Yang Y, Gu J. Functional interaction of E1AF and Sp1 in glioma invasion. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 8770-8782 [PMID: 17938207]
- 24 Modak SP, Principaud E, Spohr G. Regulation of Xenopus c-myc promoter activity in oocytes and embryos. *Oncogene* 1993; 8: 645-654 [PMID: 8437848]
- 25 Chandramohan V, Mineva ND, Burke B, Jeay S, Wu M, Shen J, Yang W, Hann SR, Sonenshein GE. c-Myc represses FOXO3a-mediated transcription of the gene encoding the p27(Kip1) cyclin dependent kinase inhibitor. *J Cell Biochem* 2008; 104: 2091-2106 [PMID: 18393360 DOI: 10.1002/jcb.21765]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 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。

新疆哈萨克族食管癌的危险因素

李婧, 蔡金凤, 秦江梅

李婧, 石河子大学医学院预防医学系 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

蔡金凤, 石河子大学第一附属医院老干部科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

秦江梅, 卫生部卫生发展研究中心 北京市 100191

李婧, 在读硕士生, 主要从事消化系统病食管癌研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30660161

作者贡献分布: 此课题由秦江梅设计; 研究过程由蔡金凤操作完成; 数据分析由李婧与蔡金凤完成; 本论文写作由李婧、蔡金凤及秦江梅完成。

通讯作者: 秦江梅, 教授, 100191, 北京市海淀区学院路38号, 卫生部卫生发展研究中心。qinjiangmei@yahoo.com.cn

电话: 010-82801398

收稿日期: 2013-04-01 修回日期: 2013-04-17

接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Risk factors for esophageal cancer in Kazakhs in Xinjiang Uygur Autonomous Region

Jing Li, Jin-Feng Cai, Jiang-Mei Qin

Jing Li, Department of Preventive Medicine, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jin-Feng Cai, Department of Retired Cadres Section, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jiang-Mei Qin, Health Development Research Center, Ministry of Health, Beijing 100191, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30660161

Correspondence to: Jiang-Mei Qin, Professor, Health Development Research Center, Ministry of Health, 38 Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China. qinjiangmei@yahoo.com.cn

Received: 2013-04-01 Revised: 2013-04-17

Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To explore risk factors for esophageal cancer (EC) in Kazakhs in Xinjiang.

METHODS: A 1 : 2 case-control study was conducted with 155 cases of EC and 310 controls. The controls were matched to the cases by sex, nationality, and age. Factors affecting the development of EC were investigated using conditional Logistic regression analysis.

RESULTS: Drinking water (OR = 1.59), spicy diet (OR = 1.51), history of alcohol (OR = 1.50), consumption of old crops (OR = 2.21), eating

less fruit (OR = 1.27), family history of esophageal cancer (OR = 1.77), *TAP2379* A/A or A/G genotype (OR = 1.41), and *CYP2E1* C1/C1 genotype (OR = 1.46) were found to be risk factors for esophageal cancer. There existed interactions among *CYP2E1* and *TAP2379* genotypes, history of alcohol, and consumption of old crops.

CONCLUSION: The development of esophageal cancer in Kazakhs is associated with bad environment, diet, and genetic polymorphisms, and is a result of combined action of various risk factors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Case-control study; Logistic regression; Risk factors

Li J, Cai JF, Qin JM. Risk factors for esophageal cancer in Kazakhs in Xinjiang Uygur Autonomous Region. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1539-1543 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1539.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1539>

摘要

目的: 探讨新疆哈萨克族食管癌(esophageal cancer, EC)发病危险因素。

方法: 采用1 : 2病例对照研究方法, 共收集155个哈萨克族EC患者及310个同性别、同民族、年龄相差不大于±3岁的非EC为对照, 采用条件Logistic回归进行影响因素分析。

结果: 饮用河水(OR = 1.59)、辛辣饮食(OR = 1.51)、饮酒史(OR = 1.50)、食用陈粮(OR = 2.21)、少吃水果(OR = 1.27)、EC家族史(OR = 1.77)、*TAP2379* G/A型或A/A型(OR = 1.41)、*CYP2E1* C1/C1型(OR = 1.46)等8个因素为EC的危险因素, *CYP2E1*基因与*TAP2379*基因型、饮酒史、食用陈粮存在交互作用。

结论: 哈萨克族EC的发生与不良环境、饮食、遗传基因多态性等均有关, 揭示哈萨克族EC是各危险因素综合作用的结果。

© 2013年版权归Baishideng所有。

■背景资料

食管癌(esophageal cancer, EC)的死亡率不同地区、不同民族差异很大, 新疆哈萨克族是我国EC的高发民族。环境、行为危险因素、遗传易感基因等因素均与EC发生有关, 并且各因素间存在交互作用。

■同行评议者

程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

■ 研发前沿

将流行病学方法和分子生物学方法结合起来,从宏观和微观两个角度来综合评价遗传因素和环境因素对哈萨克族EC发生的影响。

关键词: 食管癌; 病例对照研究; Logistic回归; 危险因素

核心提示: 采用条件Logistic回归进行食管癌(esophageal cancer, EC)影响因素综合分析, 得出8个因素与EC的发生密切相关。

李婧, 蔡金凤, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌的危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1539-1543 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1539.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1539>

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是我国常见的癌症. 不同民族、不同地区死亡率差异很大, 高低发病区人群EC死亡率可相差500倍^[1]. 新疆哈萨克族是我国EC的高发民族, 2004-2005年哈萨克族EC的死亡率为67.6/10万, 远高于当地汉族水平. 课题组前期对危险因素研究已经得出生活方式、饮食因素、*MTHFR*C677T基因多态性等与哈萨克族EC有关^[2-5]. 本文在前期研究的基础上增大样本量, 增加基因多态性的相关因素. 拟从环境、行为危险因素、遗传易感基因等多角度入手, 分析哈萨克族EC的危险因素及各因素间的交互作用.

1 材料和方法

1.1 材料 EC病例来自2008-2011年从新疆维吾尔自治区人民医院、伊犁州友谊医院、伊犁州奎屯医院、新源县人民医院、阿勒泰地区人民医院和阿勒泰北屯医院六所医院新发病例, 共155例, 病例经病理活检、X线或内窥镜确诊. 对照来自同一医院的非肿瘤、非消化系统疾病的住院患者或正常人群, 共310例. 匹配条件: 年龄相差不大于±3岁、同民族、同性别.

1.2 方法

1.2.1 调查: (1)基本状况, 包括性别、年龄、婚姻、职业、文化程度、人均收入等; (2)吸烟、饮酒和喝茶等嗜好习惯; (3)饮食习惯、食物结构及饮用水状况; (4)心理因素、上消化道疾病史以及EC家族史.

1.2.2 实验室检测: EC病例及对照均取新鲜全血, -80℃低温保存备用. 提取基因组DNA, 所有抽提的DNA均经1%琼脂糖凝胶电泳验证. 序列特异性引物聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增所使用的引物参照文献, 检测*TAP2*编码区、*CYP2E1*RsaI位点多态性、*MTHFR*C677T 3种基因型的分布和检测*HLA-DR9*等

位基因频率等.

1.2.3 配对: 采用1:2配比的病例对照研究方法按1:2配对, 共匹配155对. 男107对, 占69%; 女性48对, 占31%. 病例和对照平均年龄分别为58.5和58.14岁.

统计学处理 采用Logistic回归分析法. 按课题设计的既定标准对相关变量进行赋值, 利用条件Logistic回归进行EC危险因素分析, 计算回归系数估计值、标准误、*P*值、OR值及OR值的95%CI.

2 结果

2.1 单因素条件Logistic回归分析 将环境、行为及遗传易感基因等25个因素逐个带入Logistic回归模型, 吸烟、饮酒、饮水类型、进食速度、辛辣饮食、经常暴饮暴食、不规律饮食、食用陈粮、食用馕、马奶子、熏制食品、腌菜、胃及食管病变史、家族聚集史、少吃水果、*HLA-DRB1*0901*等位基因阳性、*TAP2379* G/A或A/A基因型、*TAP1637* A/G或G/G基因型、*MTHFR*C677 TC/T或T/T基因型、*CYP2E1* C1/C1基因型等22个相关因素进入模型(表1).

2.2 多因素条件Logistic回归分析 将有意义的22个因素引入多因素条件Logistic回归模型, 结果显示: 食管家族史、辛辣饮食、饮酒史、食用陈粮、饮用河水、少吃水果、*TAP2379* G/A或A/A基因型和*CYP2E1* C1/C1基因型为危险因素等8个危险因素进入模型(表2).

2.3 *CYP2E1*基因多态性与相关危险因素的交互作用分析 *CYP2E1*基因型与*TAP2379*基因、饮酒史、食用陈粮之间均存在交互作用, 两因素联合作用远大于两者单独作用之和(表3).

3 讨论

3.1 EC危险因素比较 本文显示EC家族史、辛辣饮食、饮酒史、食用陈粮、饮用河水、少吃水果、*TAP2379* G/A或A/A基因型和*CYP2E1* C1/C1基因型等8个因素为危险因素. 与课题组前期研究^[2-6]及其他学者的哈萨克族EC危险因素研究结果^[6-8]相比, 食用陈粮对EC的影响最为明显, 其OR值为2.16, 与*CYP2E1* C1/C1基因联合作用可使EC的危险性增加21.6倍. 食用陈粮是哈萨克族EC危险因素首次涉及, 并且与*CYP2E1*基因交互作用最大. 陈年粮食大都有真菌的污染^[9,10], 真菌不仅能将硝酸盐还原成亚硝酸盐, 还能分解蛋白质, 增加食物中胺含量, 促进亚硝胺的合成. 许

表 1 环境、行为及遗传基因因素的单因素条件Logistic回归分析

因素	参数估计	标准误	χ^2 值	P值	OR(95%CI)
饮水类型(对照 = 自来水)					
井水	0.33	0.21	2.61	0.11	1.39(0.93–2.08)
河水	0.83	0.19	19.53	0	2.29(1.59–3.30)
生水(对照 = 不饮)					
偶尔	0.66	0.18	12.9	0	1.94(1.35–2.78)
经常	0.9	0.26	11.93	0	2.46(1.48–4.11)
吸烟史(对照 = 不吸烟)(支/d)					
1–10	0.03	0.19	0.03	0.86	1.03(0.75–1.49)
11–20	0.11	0.22	0.26	0.61	1.12(0.73–1.73)
>20	0.76	0.34	4.99	0.03	2.14(1.10–4.19)
饮酒史(对照 = 否)	0.7	0.16	17.94	0	2.01(1.45–2.77)
进食速度(对照 ≥ 30)(min)					
10–30	0.16	0.2	0.64	0.43	1.18(0.79–1.74)
<10	0.73	0.24	9.38	0	2.08(1.30–3.32)
辛辣饮食(对照 = 否)					
偶尔	0.94	0.2	21.65	0	2.55(1.72–3.78)
经常	1.09	0.25	18.78	0	2.96(1.81–3.91)
暴饮暴食(对照 = 否)					
偶尔	0.18	0.22	0.73	0.39	1.20(0.79–1.83)
经常	0.96	0.26	14.23	0	2.62(1.59–4.32)
规律饮食(对照 = 规律)					
偶尔不规律	0.35	0.18	3.63	0.06	1.41(0.99–2.01)
经常不规律	0.94	0.23	17	0	2.57(1.64–4.01)
粮食存放1年以上	1.01	0.21	24.1	0	2.74(1.83–4.11)
食用馕(对照 = 否)	0.42	0.15	8.4	0	1.52(1.15–2.02)
食用马奶子(对照 = 否)	0.21	0.1	3.95	0.05	1.24(1.00–1.53)
食用熏制肉(对照 = 否)	0.67	0.33	4.4	0.04	1.99(1.05–3.77)
少吃水果(对照 = 常食用)	0.34	0.11	10.11	0	1.41(1.14–1.74)
腌菜(对照 = 不吃或偶尔吃)	0.22	0.06	11.67	0	1.24(1.10–1.41)
胃病变史(对照 = 无病变史)	0.45	0.2	4.78	0.03	1.56(1.05–2.32)
食管病变史(对照 = 无)	1.12	0.23	24.6	0	3.07(1.97–4.78)
家族史(对照 = 无家族史)	0.72	0.16	19.23	0	2.05(1.49–2.82)
CYP2E1基因型(对照 = C1/C2或C2/C2型)					
C1/C1型	0.44	0.16	7.39	0.01	1.55(1.13–2.14)
HLA-DRB1*0901等位基因(对照 = 阴性)					
阳性	0.62	0.19	11.35	0	1.87(1.30–2.68)
TAP2379(对照 = G/G型)					
G/A或A/A型	0.55	0.16	11.46	0	1.74(1.26–2.39)
CTLA-4+49(对照 = A/A型)					
A/G+G/G型	0.21	0.17	1.47	0.23	1.23(0.88–1.72)
TAP1637(对照 = A/A型)					
A/G+G/G型	0.42	0.16	6.61	0.01	1.51(1.10–2.08)
MTHFR C677T(对照 = C/C型)					
C/T+T/T型	0.4	0.19	4.51	0.03	1.50(1.03–2.18)
LMP2(对照 = R/R型)					
C/C+R/C型	0.12	0.16	0.5	0.48	1.12(0.82–1.54)
LMP7(对照 = Q/Q型)					
K/K+K/G型	-0.12	0.16	0.5	0.48	0.89(0.65–1.23)

■ 相关报道

本研究首次对新疆哈萨克族EC及对照人群TAP2、MTHFR C677T、CYP2E1等8个基因的多态性进行检测,分析哈萨克族EC与环境、行为危险因素、遗传易感基因等多方面的关系,为哈萨克族EC的预防及干预策略提供有价值的参考依据。

多研究中已证实^[11]亚硝胺类化合物是EC的危险因素。而CYP2E1作为代谢亚硝胺类化合物的重

要I相代谢酶,其代谢能力是决定个体易感性的重要因素,国内外许多学者认为其代谢能力与基

■应用要点

通过1:2病例对照研究,检测155例病例和310例HLA-DRB1*0901等位基因阳性、TAP2379基因、TAP1637基因、MTHFR C677T基因、CYP2E1基因多态性、饮用河水、辛辣饮食、饮酒史、食用陈粮、少吃水果、EC家族史、TAP2379 G/A型或A/A型、CYP2E1 C1/C1型等8个因素为EC的危险因素,为进一步干预研究提供更多的生物学证据。

表 2 多因素条件Logistic回归分析

因素	参数估计	标准误	χ^2 值	P值	OR(95%CI)
TAP2379(对照 = G/G型)					
G/A型或A/A型	0.34	0.17	4.010	0.05	1.41(1.01-1.98)
CYP2E1(对照 = C1/C2或C2/C2基因型)					
C1/C1型	0.38	0.17	4.870	0.03	1.46(1.04-2.05)
饮酒史(对照 = 否)	0.40	0.18	5.310	0.02	1.50(1.04-3.39)
家族史(对照 = 无)	0.57	0.17	11.16	0.00	1.77(1.27-2.48)
粮食1年以上	0.79	0.22	13.27	0.00	2.21(1.44-3.93)
少吃水果(对照 = 常吃)	0.24	0.11	4.840	0.03	1.27(1.03-1.57)
辛辣饮食(对照 = 否)	0.41	0.13	10.90	0.00	1.51(1.18-1.93)
饮用河水(对照 = 自来水)	0.46	0.20	5.220	0.02	1.59(1.07-2.35)

表 3 CYP2E1基因多态性与相关危险因素的交互作用

CYP2E1	病例	对照	χ^2 值	P值	OR(95%CI)
饮酒史					
- -	25	122	-	-	1.00
- +	36	80	6.99	0.00	2.20(1.23-3.93)
+ -	42	63	15.84	0.00	3.25(1.82-5.82)
+ +	52	35	40.88	0.00	7.25(3.90-13.31)
食用陈粮					
- -	50	180	-	-	1.00
- +	76	123	13.65	0.00	2.22(1.46-3.40)
+ -	17	5	22.06	0.00	12.24(4.30-34.81)
+ +	12	2	15.51	0.00	21.60(4.60-99.69)
TAP2379					
- -	44	146	-	-	1.00
- +	47	94	4.17	0.04	1.66(1.02-2.70)
+ -	23	39	4.57	0.03	1.96(1.06-3.62)
+ +	41	31	25.37	0.00	4.39(2.47-7.80)

因多态性有关. 近年也大多数研究认为CYP2E1基因多态性与EC有关^[12-14], 与王伟等^[15]在南京的研究结果相近.

3.2 EC危险因素的微效性 本文对多个危险因素进行分析, 不仅将环境、不良危险行为等因素引入模型而且还增加了5个易感基因. 研究结果可以看出所有8个危险因素中, OR值最大为2.21(食用陈粮), 最小为1.27(少吃水果), 并为发现一个OR值极高的因素. 在多基因的参与下, 每个因素的影响作用相对较小, 其危险度值基于1-2, 各因素对EC发生的作用均呈现微效性, 目前为止还未发现一个主作用因素. 可见环境、行为、遗传和易感基因等方面对EC的发生均有着推动作用^[16], 而且环境、遗传、不良行为关系相对比较大, 因此对哈萨克族EC的发生应从多方面入手采取综合防控措施.

3.3 研究的局限性 本文对照组选取的也是哈萨克族居民, 由于哈萨克族是游牧民族, 其生活环境和饮食习惯等都具有特殊性, 一些高危因素在人群中会普遍存在, 这使对照组的患病风险同时也很高, 如果将对照组换成汉族或其他民族, 因素的危险性可能会更为明显.

4 参考文献

- Lam AK. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000; 33: 71-90 [PMID: 10737369]
- 王秀梅, 杰恩斯, 马彦清, 陈波, 郭小进, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌危险因素病例对照研究. *中国公共卫生* 2007; 23: 737-738
- 王秀梅, 张卫群, 陈波, 何玲, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. MTHFR基因多态性与哈萨克族食管癌易感性. *中国公共卫生* 2007; 23: 937-938
- 陈波, 马彦清, 杨磊, 李锋, 王秀梅, 廖佩花, 何玲, 秦江梅. 哈萨克族食管癌与CYP2E1基因多态性及烟酒嗜好的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3852-3888

- 5 曾同霞, 张海峰, 雷丽娟, 蔡金凤, 李锋, 廖佩花, 秦江梅. TAP2基因多态性及遗传因素与新疆哈萨克族食管癌的病例对照研究. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3255-3258
- 6 张娇, 沈孝兵. CYP2E1基因多态性与环境因素在胃癌发生中的交互作用. 环境与健康杂志 2006; 23: 7-10
- 7 赵凤娟, 云妙英, 张严, 徐羽. 新疆哈萨克族食管癌研究进展. 中央民族大学学报 2009; 18: 85-87
- 8 张慧霞, 陈艳, 尹东, 邓彦超, 马彦清, 居来提. 新疆哈萨克族食管癌危险因素的探讨. 现代预防医学 2009; 36: 1804-1806
- 9 Marasas WF. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environ Health Perspect* 2001; 109 Suppl 2: 239-243 [PMID: 11359691]
- 10 谢莹, 孙桂菊, 胡旭, 王少康, 开海涛, 崔永生, 胡永祯, 张豪, 蔡青松, 王泽民, 唐耘天, 王加生. 淮安楚州居民饮食、行为因素与食管癌关系的病例一对照研究. 卫生研究 2005; 34: 479-480
- 11 汪求真, 周晓彬, 滕洪松. 中国人群饮食因素与食管癌Meta分析. 中国肿瘤 2007; 16: 3-7
- 12 Lin DX, Tang YM, Peng Q, Lu SX, Ambrosone CB, Kadlubar FF. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, P1, and M1 and cytochrome P450 2E1. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 1013-1018 [PMID: 9829710]
- 13 Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H. The human CYP2E1 gene and lung cancer: DraI and RsaI restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. *Carcinogenesis* 1993; 14: 85-88 [PMID: 8093864]
- 14 林东昕, 唐永明, 彭琼, 陆士新. 细胞色素P4502E1和谷胱甘肽转硫酶P1基因与食管癌易感性. 中华肿瘤杂志 1998; 20: 94-97
- 15 王伟, 施瑞华, 赵志泉. 细胞色素P450 2E1基因多态性与食管癌易感性的关系. 南京医科大学学报 2004; 24: 344-347
- 16 饶克勤, 李连弟. 中国恶性肿瘤危险因素研究. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2003: 235-248

■同行评价

本文样本量大, 实验设计合理. 统计方法运用恰当合理, 在严格控制年龄、性别、居住地等因素的基础上, 利用多因素条件Logistic回归分析有一定的学术价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

食管癌淋巴结转移的危险因素

邢雪, 张志强, 温浩, 李秀娟

■背景资料

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 5年生存率低, 预后差。影响其预后的主要因素就是肿瘤转移和肿瘤外侵, 而淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径。本文结合近年来国内外一些最新的文献报道对食管癌淋巴结转移的危险因素进行探讨, 对判定患者的分期和预后至关重要, 也为食管癌淋巴结转移的防治提供了一定的理论依据。

邢雪, 张志强, 新疆医科大学第一附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

温浩, 新疆医科大学第一附属医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

李秀娟, 新疆医科大学病理生理学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

邢雪, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目, No. 2010211B20

作者贡献分布: 此课题由张志强、温浩及李秀娟设计并组织实施完成; 资料的收集和整理、数据分析及论文写作由邢雪完成; 张志强、温浩及李秀娟对本课题进行了全程指导。

通讯作者: 张志强, 副主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化科, zhiqiangzhang2011@hotmail.com

收稿日期: 2013-02-23 修回日期: 2013-03-27

接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-06-08

Potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer

Xue Xing, Zhi-Qiang Zhang, Hao Wen, Xiu-Juan Li

Xue Xing, Zhi-Qiang Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hao Wen, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Xiu-Juan Li, Department of Pathophysiology, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2010211B20

Correspondence to: Zhi-Qiang Zhang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhiqiangzhang2011@hotmail.com

Received: 2013-02-23 Revised: 2013-03-27

Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To analyze the potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer.

METHODS: Clinicopathologic data for 217 patients with esophageal cancer who underwent surgical treatment from December 2008 to December 2011 were analyzed retrospectively. Clinicopathologic factors affecting lymph node metastasis were analyzed by univariate and

multivariate analyses.

RESULTS: In total, 124 of 217 patients had lymph nodes metastasis, and the incidence of lymph nodes metastasis was 57.1%. Univariate analysis revealed that lymph node metastasis was correlated with pathological grade, lesion length, depth of invasion, and presence of vascular invasion or neural invasion, but not with gender, age, disease site, or pathological type. Invasion to the adventitia (OR = 4.710), vascular invasion (OR = 44.954) and neural invasion (OR = 7.264) were independent risk factors for lymph node metastasis.

CONCLUSION: Lymph node metastasis is associated with large tumors, deep invasion, low differentiation, vascular invasion and neural invasion in patients with esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Clinicopathological characteristics; Lymph node metastasis; Risk factors

Xing X, Zhang ZQ, Wen H, Li XJ. Potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1544-1548 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1544>

摘要

目的: 探讨食管癌淋巴结转移的潜在危险因素。

方法: 回顾性分析2008-12/2011-12经手术治疗的217例食管癌患者的临床病理资料, 对影响食管癌淋巴结转移的潜在危险因素进行单因素及多因素分析。

结果: 217例食管癌中淋巴结转移124例, 转移率为57.1%。单因素分析结果显示, 食管癌淋巴结转移与病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓有关, 分化不良、病变长度>5 cm、浸润至外膜、伴有脉管癌栓及神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移。淋巴结转移与性别、年龄、发病部位、

■同行评议者
张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

病理类型无关. Logistic多因素回归分析显示, 浸润至外膜(OR = 4.710)、有脉管癌栓(OR = 44.954)、有神经癌栓(OR = 7.264)是淋巴结转移的独立性危险因素.

结论: 肿瘤越长(体积越大), 浸润深度越深, 分化程度越低(病理分级越高), 易发生淋巴结转移, 有脉管癌栓及有神经癌栓者易发生淋巴结转移.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管癌; 临床病理特征; 淋巴结转移; 危险因素

核心提示: 食管癌淋巴结转移与病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓有关, 分化不良、病变长度>5 cm、浸润至外膜、伴有脉管癌栓及神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移. 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素.

邢雪, 张志强, 温浩, 李秀娟. 食管癌淋巴结转移的危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1544-1548 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1544>

0 引言

食管癌是常见的消化系恶性肿瘤, 世界各国统计数据表明, 食管癌是世界第7位癌症相关死亡原因^[1]. 全世界每年约有30万人死于食管癌. 其地理分布非常广泛, 发生率地区间差异明显. 在世界范围内, 高发地区为中国、日本、伊朗、南非和俄罗斯. 在我国, 每年至少新增病例约25万, 占全世界新增病例总数的一半. 淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径, 而肿瘤浸润深度与局部或远处淋巴结转移是病变分期的关键指标, 亦是TNM分期中影响预后的独立因素, 对治疗方案的选择也有一定的指导作用. 本文对2008-12/2011-12资料完整的217例食管癌手术切除病例进行分析, 现分别对其淋巴结转移潜在危险因素进行分析.

1 材料和方法

1.1 材料 本组2008-12/2011-12新疆医科大学第一附属医院住院患者确诊食管癌217例, 男149例, 女68例, 男女之比为2.2:1, 年龄29-90岁, 中位年龄62岁, 均行食管癌根治术.

1.2 方法 分别对217例食管癌患者的性别、年

龄、发病部位、病理类型、病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓及神经癌栓等临床病理特征, 进行单因素及多因素分析, 找出影响食管癌的淋巴结转移潜在危险因素. 全部病例采用国际食管癌UICC 1987年分期标准; 发病部位分为上段、中段、下段、双原发癌(其中上段与下段并存1例, 上段与中段并存5例), 病理类型分为鳞癌、腺癌、其他(包括腺鳞癌、小细胞癌等), 组织学类型分为分化良好(高分化、中分化)、分化不良(低分化癌、未分化癌).

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行单因素和多因素Logistic回归分析. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 淋巴结转移 217例食管癌共检出124例发生淋巴结转移, 占有所有病例的57.1%.

2.2 食管癌淋巴结转移潜在危险因素单因素分析 食管癌淋巴结转移潜在危险因素与淋巴结转移显著性相关的因素有患者病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓. 单因素分析结果显示, 分化不良、病变长度>5 cm、浸润至外膜、伴有脉管癌栓及神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移. 淋巴结转移与性别、年龄、发病部位、病理类型无关(表1).

2.3 食管癌淋巴结转移潜在危险因素多因素分析 多因素分析显示, 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素, 3个指标的OR值均>1, 分别为4.710、44.954、7.264. 其淋巴结转移的危险性分别是未浸润至外膜、无脉管癌栓及无神经癌栓的3.398倍、4.504倍和11.400倍. 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移(表2).

3 讨论

食管癌是消化系常见恶性肿瘤, 具有局部浸润、累及淋巴结及由血源性播散引起的广泛转移的生物学行为, 5年生存率低, 预后差. 影响食道癌预后的因素较多, 主要因素就是肿瘤转移和肿瘤外侵. 其侵袭转移是一个复杂的过程, 与多个基因和多个分子水平变化密切相关^[2-9]. 淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径, 食管癌的淋巴结转移部位深、范围广, 涉及颈、胸、腹部等多个区域, 具有上、下双向性和颈、胸、腹跳跃式转移的特点. 即使采用胸、腹、

■研究前沿

影响肿瘤预后的主要因素就是肿瘤转移和肿瘤外侵, 食管癌的发生发展、侵袭和转移涉及许多因素, 而淋巴结是食管癌最常见的侵袭和转移部位. 因此, 进一步探讨食管癌淋巴结转移的危险因素, 对改善食管癌患者的预后至关重要.

■相关报道

食管癌淋巴结转移与肿瘤长度、肿瘤浸润深度、肿瘤分化程度、脉管癌栓有关, 认为脉管侵犯及肿瘤浸润深度是发生淋巴结转移的独立危险因素, 可显著增加淋巴结转移度.

■创新盘点

食管癌淋巴结转移与神经侵犯有关,但此方面研究较少,本研究多因素回归分析证实神经癌栓是淋巴结转移的独立危险因素,有待于扩大样本数量和大规模的临床研究进一步验证。

表 1 食管癌淋巴结转移潜在危险因素的单因素分析

变量	淋巴结转移(+)/n	淋巴结转移(-)/n	淋巴结转移率(%)	P值
性别				0.135
男	99	50	66.44	
女	38	30	55.88	
年龄(岁)				0.969
≤60	55	41	57.29	
>60	69	52	57.02	
发病部位				0.887
上段	13	13	50	
中段	79	60	56.83	
下段	27	19	58.7	
双原发癌	3	3	50	
病理类型				0.695
鳞癌	112	87	56.28	
腺癌	8	4	66.67	
其他	4	2	66.67	
病理分级				0.021
分化良好	105	88	54.4	
分化不良	19	5	79.17	
病变长度(L)(cm)				0
L≤3	13	24	35.14	
3<L≤5	28	45	38.36	
L>5	83	24	77.57	
浸润深度				0
未及外膜	14	56	20	
外膜	110	37	74.83	
脉管癌栓				0
有	117	12	90.7	
无	6	82	6.82	
神经癌栓				0
有	112	10	91.8	
无	12	83	12.63	

颈三野淋巴结清扫的手术方式治疗食管癌患者,仍有11%发生手术后淋巴结转移^[10]。对比UICC对食管癌TNM分期的连续修改,可以看出,食管癌的区域淋巴结转移分型更加细化和扩大,对于食管癌淋巴结手术清扫的要求也细化和扩大化。最新的TNM第7版分期也把淋巴结转移个数因素加入到了新版的食管癌的TNM分期中。国内有文献报道食管癌有淋巴结转移和无淋巴结微转移的复发率分别为50%和9%,5年生存率分别为28%和79%,有明显相关性^[11]。王洲等^[12]的研究中Logistic多因素回归分析结果亦显示淋巴结微转移是独立的预后因素,淋巴结微转移患者死亡的概率是无转移患者的3.7倍。这些都显示出淋巴结转移是食管癌预后的重要影响因素。因此,识别食管癌淋巴结转移的潜在危险因素,对判定患者的预后和采取相应的综合治疗至关重要。

食管癌淋巴结转移极其复杂,并有许多影响因素,主要包括以下:肿瘤长度、肿瘤浸润深度、组织学类型、肿瘤分化程度、肉眼类型等,但是在许多研究中有些因素是不完全一致的。本研究单因素分析显示,食管癌淋巴结转移与病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓有关,多元分析Logistic回归分析显示,浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素。

关于病理分级与淋巴结转移的关系,大多数研究人员认为淋巴结转移率随着肿瘤组织学分级的增加和分化程度的降低而增加,Siewert等^[13]分析表明食管癌肿瘤分化程度对食管癌淋巴结转移是一个独立影响因素,分化程度越高,淋巴结转移越低。本研究通过单因素分析发现不同分化

表 2 食管癌淋巴结转移潜在危险因素的多因素分析

临床病理参数	B	SE	Walds	P值	OR值	95%CI
浸润深度	1.550	0.691	5.033	0.025	4.710	1.216–18.239
脉管癌栓	3.806	0.810	22.101	0.000	44.954	9.198–219.695
神经癌栓	1.983	0.713	7.730	0.005	7.264	1.795–29.396

程度病例组之间淋巴结转移率差别有统计学意义。多因素分析发现病理分级并不是影响食管癌淋巴结转移的独立危险因素。本研究结果显示分化不良组淋巴结转移率明显高于分化良好组,说明病理分级为影响食管癌淋巴结转移的一项重要因素。

病变长度间接地反映了肿瘤的生物学特征,反应了病期的早晚,一般来讲,病变长度越长,肿瘤发展的时期越长,病期也比较晚。关于肿瘤长度与淋巴结转移的关系,文献报道不一致。张合林等^[14]认为,病变长度与淋巴结转移呈正相关。冯庆来等^[15]发现病变越长发生淋巴结转移越多,病变长度>5 cm淋巴结转移率为64.00%,虽高于病变长度≤5 cm淋巴结转移率的44.62%,但无显著性差异。刘海峰等^[16]发现肿瘤长径<3 cm、3-5 cm、>5 cm 3组的淋巴结转移都有显著差异,提示随着肿瘤长径的增加淋巴结转移度升高,肿瘤>5 cm组,淋巴结转移度明显增高。本研究单因素分析显示,不同病变长度病例组之间淋巴结转移率差别有统计学意义。多因素分析发现有病变长度并不是影响食管癌淋巴结转移的独立危险因素。随着病变长度的增加,淋巴结的转移率随之增加,说明病变长度为影响食管癌淋巴结转移的一项重要因素。由于浸润深度不同,食管壁淋巴管的情况下是不同的。肿瘤浸润得越深,淋巴引流越丰富,淋巴结转移率越高。食管壁从黏膜肌层到外膜有丰富的淋巴引流系统。黏膜下层淋巴引流不仅横向而且垂直贯穿到相邻的淋巴结。通过淋巴结形态学研究发现,纵向淋巴引流比横向淋巴引流更丰富。如果肿瘤浸润到黏膜下层或更深,他们将处在相同的淋巴引流网络中。因此,黏膜下层浸润的早期食管癌,可以发现广泛转移,甚至跳跃式转移。Rice等^[17]认为肿瘤侵犯到食管黏膜下层(T1),区域淋巴结转移度就会明显增加,肿瘤侵犯愈深,肿瘤细胞侵入淋巴管的机会愈多,区域淋巴结的转移度也愈高。Gotohda等^[18]在浅表食管癌患者中评估淋巴结转移率发现,肿瘤侵及黏膜层,淋巴结转移率是0,而肿瘤侵入黏膜下层,淋巴结转

移率是44%。本研究单因素分析显示,各不同浸润深度病例组淋巴结转移率比较具有明显统计学差异($P<0.005$)。经多因素Logistic回归分析示浸润深度的OR值为4.710,说明浸润深度是食管癌淋巴结转移的独立危险因素。

关于脉管及神经癌栓与淋巴结转移的关系,本研究单因素分析显示,无脉管及神经癌栓组与有脉管及神经癌栓组比较,淋巴结转移率明显增高,差异有统计学意义($P<0.005$)。经多因素Logistic回归分析示的脉管癌栓的OR值为44.954,神经癌栓的OR值为7.264,有脉管癌栓者发生淋巴结转移的风险是无脉管癌栓的44.954倍,有神经癌栓者发生淋巴结转移的风险是无神经癌栓的7.264倍,说明脉管及神经癌栓是食管癌淋巴结转移的独立危险因素。脉管癌栓是发生淋巴结转移的危险因素,已为许多研究所证实^[19]。本研究显示,神经癌栓亦是淋巴结转移的危险因素,可能与神经伴行的脉管引流有关。

目前食管癌整体治疗效果不佳,治疗方式仍以外科根治术为首选,淋巴结转移是术后复发和死亡的主要原因。本研究多因素分析发现,浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素。因此,临床上选择治疗方式时,浸润深度、脉管及神经癌栓情况是非常重要的因素。由于术前较难判断有无脉管及神经癌栓。因此,浸润深度就成为更有价值的参考指标。对病理证实有脉管及神经癌栓者,亦应结合患者自身情况,考虑有无扩大淋巴结清扫范围的必要性,做到个体化综合治疗。明确食管癌潜在危险因素,对明确患者的分期和预后、规划合理的手术范围及采取相应的术后综合治疗具有重要意义。

4 参考文献

- 1 Cao XF, He XT, Ji L, Xiao J, Lv J. Effects of neoadjuvant radiochemotherapy on pathological staging and prognosis for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2009; 22: 477-481 [PMID: 19703071 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008.00910.x]
- 2 Li X, Lu JY, Zhao LQ, Wang XQ, Liu GL, Liu Z, Zhou CN, Wu M, Liu ZH. Overexpression of ETS2

■应用要点

本文应用多因素回归分析方法探讨食管癌淋巴结转移危险因素,为外科手术中合理清扫淋巴结范围和数量及手术后辅助治疗方案的选择提供了一定的理论依据。

■同行评价

本课题针对食管癌淋巴结转移危险因素(多因素回归分析), 立题较好, 有一定的临床参考及学术价值.

- in human esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 205-208 [PMID: 12532432]
- 3 Xu SH, Qian LJ, Mou HZ, Zhu CH, Zhou XM, Liu XL, Chen Y, Bao WY. Difference of gene expression profiles between esophageal carcinoma and its pericancerous epithelium by gene chip. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 417-422 [PMID: 12632488]
- 4 Chen H, Wang LD, Guo M, Gao SG, Guo HQ, Fan ZM, Li JL. Alterations of p53 and PCNA in cancer and adjacent tissues from concurrent carcinomas of the esophagus and gastric cardia in the same patient in Linzhou, a high incidence area for esophageal cancer in northern China. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 16-21 [PMID: 12508343]
- 5 Wu CM, Huang TH, Xie QD, Wu DS, Xu XH. Expression properties of recombinant pEgr-P16 plasmid in esophageal squamous cell carcinoma induced by ionizing irradiation. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2650-2653 [PMID: 14669305]
- 6 Xu H, Tanimoto A, Murata Y, Kimura S, Wang KY, Sasaguri Y. Difference in responsiveness of human esophageal squamous cell carcinoma lines to epidermal growth factor for MMP-7 expression. *Int J Oncol* 2003; 23: 469-476 [PMID: 12851697]
- 7 Guo WJ, Li J, Ling WL, Bai YR, Zhang WZ, Cheng YF, Gu WH, Zhuang JY. Influence of hepatic arterial blockage on blood perfusion and VEGF, MMP-1 expression of implanted liver cancer in rats. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 476-479 [PMID: 12046073]
- 8 Hou L, Li Y, Jia YH, Wang B, Xin Y, Ling MY, Lü S. Molecular mechanism about lymphogenous metastasis of hepatocarcinoma cells in mice. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 532-536 [PMID: 11819823]
- 9 Jiang YF, Yang ZH, Hu JQ. Recurrence or metastasis of HCC: predictors, early detection and experimental antiangiogenic therapy. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 61-65 [PMID: 11819524]
- 10 Kato H, Tachimori Y, Watanabe H, Igaki H, Nakanishi Y, Ochiai A. Recurrent esophageal carcinoma after esophagectomy with three-field lymph node dissection. *J Surg Oncol* 1996; 61: 267-272 [PMID: 8627996]
- 11 张兆祥. 食管癌淋巴结转移的研究进展. *中国肿瘤临床* 2004; 31: 416-419
- 12 王洲, 刘相燕, 刘凡英, 陈景寒. 食管癌淋巴结微转移的诊断及预后的前瞻性研究. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 121-124
- 13 Siewert JR, Stein HJ, Feith M, Bruecher BL, Bartels H, Fink U. Histologic tumor type is an independent prognostic parameter in esophageal cancer: lessons from more than 1,000 consecutive resections at a single center in the Western world. *Ann Surg* 2001; 234: 360-367; discussion 368-369 [PMID: 11524589 DOI: 10.1097/0000658-200109000-00010]
- 14 张合林, 何明, 孟宪利, 白世祥, 平育敏, 杜喜群. 1146例胸段食管癌淋巴结转移的相关因素. *中国肿瘤临床* 2007; 34: 650-652
- 15 冯庆来, 尚淑艳, 赵锡江. 胸段食管癌淋巴结转移规律的探讨. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 706-708
- 16 刘海峰, 赵松. 胸段食管癌淋巴结转移度与临床病理因素相关性分析. *中国现代手术学杂志* 2006; 10: 127-129
- 17 Rice TW, Zuccaro G, Adelstein DJ, Rybicki LA, Blackstone EH, Goldblum JR. Esophageal carcinoma: depth of tumor invasion is predictive of regional lymph node status. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 787-792 [PMID: 9527214 DOI: 10.1016/S0003-4975(97)01387-8]
- 18 Gotohda N, Nishimura M, Yoshida J, Nagai K, Tanaka N. The pattern of lymphatic metastases in superficial squamous cell carcinoma of the esophagus. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 105-107 [PMID: 15783006]
- 19 Li H, Zhang Y, Cai H, Xiang J. Pattern of lymph node metastases in patients with squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus who underwent three-field lymphadenectomy. *Eur Surg Res* 2007; 39: 1-6 [PMID: 17106199 DOI: 10.1159/000096925]

编辑 田滢 电编 闫晋利



内毒素和内皮素-1与急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的关系

黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星

黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
黄华兰, 硕士, 主要从事肝肾疾病发病机制的研究。
四川省科技支撑基金资助项目, No. 2010SZ0252
作者贡献分布: 此课题由李贵星设计; 研究过程由黄华兰、聂鑫、吴斌及贺勇操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宋昊岚、罗通行及高宝秀提供; 数据分析由李贵星、黄华兰及聂鑫完成; 本论文写作由黄华兰完成。
通讯作者: 李贵星, 副教授, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院实验医学科, liguixing27@163.com
电话: 028-85422615
收稿日期: 2013-03-22 修回日期: 2013-04-15
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Bin Wu, Yong He, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Bin Wu, Yong He, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Supported by: the Supporting Program of Department of Science and Technology of Sichuan Province, No. 2010SZ0252
Correspondence to: Gui-Xing Li, Associate Professor, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Wainan Guoxue Xiang, Chengdu 610041, Sichuan Province China. liguixing27@163.com
Received: 2013-03-22 Revised: 2013-04-15
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis (AP).

METHODS: Fifty-two AP patients with acute kidney injury and equal number of AP patients without acute kidney injury were enrolled in this study. Blood samples were obtained from all patients for laboratory analysis of liver function, renal function, electrolytes, procalcitonin (PCT) and endothelin-1 (ET-1).

RESULTS: The SIRS score showed no significant

difference between cases and controls (2.66 ± 0.86 vs 2.30 ± 1.00 , $t = 1.90$, $P > 0.05$), indicating that both groups suffered from systemic inflammatory response. The levels of PCT (23.24 ng/mL vs 0.23 ng/mL, $Z = -7.31$, $P < 0.05$), ET-1 (7.61 pg/mL vs 2.17 pg/mL vs 2.34 pg/mL ± 1.28 pg/mL, $t = 4.98$, $P < 0.05$), urea ($Z = -2.17$), creatinine ($Z = -7.69$) and cystatin C ($Z = -8.39$) were significantly higher in cases than in controls. The mortality and improvement rates also differed significantly between cases and controls (36.5% vs 5.8% ; 21.2% vs 94.2% , $\chi^2 = 141.92$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Endotoxin and ET-1 are closely associated with the development of acute kidney injury possibly by inducing severe renal vasoconstriction.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endotoxemia; Procalcitonin; Endothelin-1; Acute pancreatitis; Acute kidney injury

Huang HL, Nie X, Wu B, He Y, Song HL, Luo TX, Gao BX, Li GX. Association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1549-1553
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1549.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1549>

摘要

目的: 探讨内毒素和内皮素-1(endothelin-1, ET-1)与急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者并发急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的关系。

方法: 纳入我院2011-01/2012-07 AP并发AKI住院患者52例(病理组)与同期AP无AKI住院患者52例(对照组), 收集研究对象临床资料, 计算全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIRS)评分, 并采集血液分析两组生化指标、白细胞计数、降钙素原(procalcitonin, PCT)和ET-1水平。分析比较两组的临床资料和实验室结果。

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的一种急腹症, 尤其是重症急性胰腺炎, 常并发多器官功能损伤, 包括肾脏、心血管系统等, 其中急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是AP患者的一种致死性并发症, 其死亡率高达74.3%。

■同行评议者

李国威, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

■研究前沿

有效循环血容量不足、肾血流动力学障碍是AP患者发生AKI主要的原因,但AKI发生的确切机制尚未完全阐明。

结果:病理组SIRS评分为 2.66 ± 0.86 ,对照组为 2.30 ± 1.00 ,两组均存在全身炎症反应,但差异无统计学意义($t = 1.90, P > 0.05$)。病理组PCT和ET-1分别为 23.24 ng/mL (9.99 ng/mL , 70.44 ng/mL)和 $7.61 \text{ pg/mL} \pm 2.17 \text{ pg/mL}$,高于对照组的 0.23 ng/mL (0.11 ng/mL , 0.61 ng/mL)($Z = -7.31, P < 0.05$)和 $2.34 \text{ pg/mL} \pm 1.28 \text{ pg/mL}$ ($t = 4.98, P < 0.05$)。病理组尿素、肌酐、血胱抑素C分别为 19.75 mmol/L (13.44 mmol/L , 25.75 mmol/L)、 344.0 mmol/L (281.8 mmol/L , 450.8 mmol/L)、 $3.09 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ($2.43 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $4.11 \text{ } \mu\text{mol/L}$)、高于对照组 4.48 mmol/L (3.45 mmol/L , 7.48 mmol/L)、 49.4 mmol/L (43.8 mmol/L , 70.6 mmol/L)、 $0.86 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ($0.69 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $1.02 \text{ } \mu\text{mol/L}$)(Z 值分别为 -7.69 、 -8.39 和 $-8.31, P < 0.05$)。病理组和对照组死亡率分别为 36.5% 和 5.8% ,好转率分别为 21.2% 和 94.2% ($\chi^2 = 141.92, P < 0.05$)。

结论:内毒素诱导ET-1表达增加,ET-1强烈收缩肾血管引发肾灌注不足,导致AP患者并发AKI。内毒素和ET-1与AP患者并发AKI关系密切。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:内毒素血症;降钙素原;内皮素-1;急性胰腺炎;急性肾损伤

核心提示:内毒素诱导内皮素-1(endothelin-1, ET-1)表达增加,ET-1强烈收缩肾血管引发肾灌注不足,导致急性胰腺炎(acute pancreatitis)患者并发急性肾损伤(acute kidney injury)。

黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星. 内毒素和内皮素-1与急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1549-1553 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1549.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1549>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的一种急腹症,尤其是重症急性胰腺炎,常并发多器官功能损伤,包括肾脏、心血管系统等,其中急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是AP患者的一种致死性并发症,其死亡率达 74.3% 。国内外研究认为^[1-3]:有效循环血容量不足、肾血流动力学障碍是AP患者发生AKI主要原因,但AKI发生的确切机制尚未完全阐明。近年来,流行病学调查显示脓毒血症是院内AKI发生的主要原因,其可能的机制是通过内毒素及其介导

的系列反应引发AKI^[4]。内毒素可引起内皮素(endothelin, ET)表达^[5,6],其中ET-1是目前已知体内最强缩血管因子,其受体在肾血管广泛存在。为探讨AP患者发生AKI是否通过内毒素及其介导的ET-1引起,本文通过对AP并发AKI患者的临床资料、实验室指标、降钙素原(procalcitonin, PCT)和ET-1水平进行分析,探讨了内毒素和ET-1与AP并发AKI的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 纳入我院2011-01/2012-07住院的重症AP患者305例,其中并发AKI患者52例(病理组),未出现AKI患者253例,从中随机选取52例患者作为对照组。AP诊断以亚特兰大会议共识意见为准^[7,8];本研究AKI诊断标准为48 h内血清肌酐水平升高超过 50% 。排除标准为:AP患者入院时肾功能不正常、心功能不全及有各种出血患者,慢性胰腺炎患者不纳入本研究。

1.2 方法 对纳入的研究对象按内科标准化治疗方案治疗,同时密切追踪观察患者。当患者出现肾功能障碍并符合AKI诊断时,记录患者的心率、呼吸频率和体温,计算全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIRS)评分。SIRS评分标准为:(1)体温 $\geq 38.0^\circ\text{C}$ 或 $< 36.0^\circ\text{C}$;(2)心率 > 90 次/min;(3)呼吸频率 > 20 次/min或二氧化碳分压(PaCO_2) $< 32 \text{ mmHg}$;(4)外周血白细胞计数 $\geq 12 \times 10^9/\text{L}$ 或 $< 4 \times 10^9/\text{L}$ 或未成熟白细胞 $> 10\%$ 。同时采集患者空腹静脉血4管,包括无添加剂3管用于生化指标、PCT和ET-1的检查,EDTA抗凝血1管用于白细胞(white blood cell, WBC)计数。采用德国罗氏公司Modular-P800全自动生化分析仪测定生化指标;采用日本Sysmex XE 2100全自动血液分析仪测定WBC;采用德国Roche公司Cobas E170化学发光分析仪测定PCT。在本研究中用PCT水平反映患者血液内毒素水平;ET-1检测采用美国Enzo Life Sciences有限公司Endothelin-1 ELISA kit进行分析。本实验室通过美国病理学家协会(College of American Pathologists, CAP)实验室认可,所有分析指标均通过美国病理学家协会的能力验证(proficiency testing, PT)。

统计学处理 采用SPSS17.0软件分析,计数资料采用 χ^2 检验,正态分布计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,组间比较采用成组资料的 t 检验,非正态分布计量资料采用中位数(P25, P75)表示,组间比较采用Wilcoxon秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

■相关报道

近年来,流行病学调查显示脓毒血症是院内AKI发生的主要原因。

表 1 病理组和对照组一般资料比较

	总体	病理组	对照组	χ^2 或 t 值	P 值
n	104	52	52		
年龄(岁)	49.9 ± 16.0	50.9 ± 15.9	48.6 ± 16.2	0.68	0.50
性别				3.51	0.06
男	69	39	30		
女	35	13	22		
全身炎症反应	2.51 ± 0.92	2.66 ± 0.86	2.30 ± 1.00	1.90	0.06
呼吸	26 ± 7	28 ± 8	24 ± 5		
脉搏	118 ± 24	127 ± 23	106 ± 19		
体温	37.8 ± 1.0	37.9 ± 1.2	37.7 ± 0.7		
白细胞计数	13.9 ± 8.5	12.7 ± 8.0	15.5 ± 9.0		
病情转归 n (%)				141.92	0.00 ^a
死亡	22	19(36.5)	3(5.8)		
自动出院	22	22(42.3)	0		
好转	60	11(21.2)	49(94.2)		

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 2 病理组和对照组实验室指标比较

	总体	病理组	对照组	Z 值	P 值
n	104	52	52		
尿素(mmol/L)	11.30(5.36,22.27)	19.75(13.44,25.75)	4.48(3.45,7.48)	-7.69	0.00 ^a
肌酐(mmol/L)	248.0(56.5,355.3)	344.0(281.8,450.8)	49.4(43.8,70.6)	-8.39	0.00 ^a
胱抑素-C(μ mol/L)	2.16(0.89,3.42)	3.09(2.43,4.11)	0.86(0.69,1.02)	-8.31	0.00 ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 3 病理组与对照组降钙素原和内皮素-1水平比较

	总体	病理组	对照组	Z 值或 t 值	P 值
n	104	52	52		
降钙素原(ng/mL)	3.15(0.21,23.00)	23.24(9.99,70.44)	0.23(0.11,0.61)	$Z = -7.31$	0.00 ^a
内皮素-1(pg/mL)	5.03 ± 2.01	7.61 ± 2.17	2.34 ± 1.28	$t = 4.98$	0.00 ^c

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 对照组.

2 结果

2.1 一般资料 病理组和对照组一般资料比较见表1. 两组患者年龄、性别、SIRS评分差异无显著性($P > 0.05$); 病理组和对照组的死亡率分别为36.5%和5.8%, 好转率分别为21.2%和94.2%, 两组患者的病情转归存在明显差异($\chi^2 = 141.92$, $P < 0.05$).

2.2 两组患者实验室指标比较 两组肾功能指标比较显示: 病理组尿素、肌酐、血清胱抑素C高于对照组(Z 值分别为: -7.69、-8.39和-8.31, $P < 0.05$)(表2).

2.3 两组患者PCT和ET-1水平比较 病理组患者PCT为23.24 ng/mL(9.99 ng/mL、70.44 ng/mL), 高于对照组0.23 ng/mL(0.11 ng/mL、0.61 ng/mL)($Z = -7.31$, $P < 0.05$). 病理组患者ET-1为7.61 pg/mL ± 2.17 pg/mL, 高于对照组的2.34 pg/mL ± 1.28 pg/mL($t = 4.98$, $P < 0.05$)(表3).

3 讨论

AP是临床上常见的疾病, 其发病率为61-288/10万. AP患者并发多种胰外器官损伤, 其胰外器官损伤中肾功能障碍发生率仅次于肺功能障碍,

■创新盘点

内毒素可能通过TLR4-NF- κ B通路过度表达内皮素-1, 后者通过收缩肾脏系膜细胞和平滑肌细胞, 使肾脏血流严重灌注不足, 引发AKI.

■应用要点

积极预防感染、保持肠道功能正常, 减少肠内毒素的产生和吸收, 从而阻止内毒素血症的发生是预防AP患者发生AKI的关键.

■名词解释

急性肾损伤: 急性肾损伤是一组临床综合征, 以短期内(数时至数天)肾功能急剧下降、含氮代谢产物(血肌酐和尿素氮等)积聚为特征, 表现为氮质血症、水电解质和酸碱平衡紊乱以及全身各系统症状, 可伴有少尿或无尿。

大约在14%-43%。本次实验研究AP患者305例, 其中并发AKI患者52例, AP并发AKI的发生率为17%。病理组和对照组的死亡率分别为36.5%和5.8%, 好转率分别为21.2%和94.2%。研究结果显示: AP患者发生AKI后预后较差, 死亡率高, 因此有必要深入研究AP并发AKI的机制, 从而阻止AKI的发生。本研究结果显示: 病理组与对照组SIRS评分均超过2分, 表明两组患者都存在全身炎症反应综合征, 对照组患者存在SIRS也没有发生AKI, 同时发现两组SIRS结果比较差异无显著性($P>0.05$), 表明SIRS与AP并发AKI关系不密切。

据文献报道^[9], 约42%脓毒症患者并发不同程度AKI。AP患者尤其是SAP患者肠黏膜屏障的保护机制易遭到破坏, 肠黏膜的通透性增加, 从而导致机体发生肠源性细菌(尤其是革兰阴性细菌)感染, 内毒素的实质是革兰阴性细菌细胞壁中的脂多糖, 他可通过肠黏膜屏障进入门静脉, 从而发生肠源性内毒素血症^[10,11]。PCT是降钙素(calcitonin, CT)的前体。在正常情况下由甲状腺C细胞产生, 并在细胞内经过特异性蛋白水解过程生成降钙素。正常人血清PCT水平低于0.05 ng/mL^[12], 在内毒素的刺激下, 机体多种细胞和器官均可表达PCT, 由于这些细胞缺乏特异性蛋白水解酶, PCT不能降解为CT, 从而血液中PCT出现升高, PCT水平可代表内毒素水平^[13-15]。本研究发现病理组PCT水平明显高于对照组($P<0.05$), 结果表明AKI患者体内存在高浓度的内毒素。病理组ET-1水平明显高于对照组($P<0.05$), ET-1是迄今为止体内发现的最强烈的血管收缩因子, 肾小球系膜细胞、血管平滑肌细胞等存在高密度ET-1受体, ET-1与其受体结合导致肾血流量减少, 引发AKI^[16]。内毒素是ET-1最强烈的刺激剂, 内毒素血症可以导致体内ET-1水平升高^[17], 其可能机制是内毒素通过Toll样受体4(toll like receptor 4, TLR4)介导核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)途径引发AKI^[18]。TLR4是介导内毒素信号跨膜传导主要受体^[19], 而NF- κ B是一种广泛存在于组织细胞胞质中的具有多向性转录调节的细胞因子, 能与多种基因启动子特异性结合并增强该基因的转录^[20]。内毒素与TLR4结合后在辅助分子CD14和MD-2等的介导下激活NF- κ B, 活化的NF- κ B发生易位与其胞核内目的基因启动子或增强子上的 κ B位点特异性结合, 启动和调控因子的表达, 从而释放大量ET-1, ET-1通过强烈收缩肾血管的作用, 引起肾血流灌注不足, 从而导致AKI的产生。

总之, 内毒素和ET-1与AP患者并发AKI密切相关。内毒素通过TLR4-NF- κ B通路过度表达ET-1, 后者通过收缩肾脏系膜细胞和平滑肌细胞, 使肾脏血流严重灌注不足, 引发AKI。因此, 积极预防感染、保持肠道功能正常减少肠内毒素的产生和吸收, 从而阻止内毒素血症的发生是预防AP患者发生AKI的关键。此外, 有必要深入研究内毒素-TLR4-NF- κ B-ET-1通路和AKI发生的关系, 探讨AKI发生的分子机制, 为阻止和治疗AP并发AKI提供理论基础。

4 参考文献

- 1 Zhang XP, Wang L, Zhou YF. The pathogenic mechanism of severe acute pancreatitis complicated with renal injury: a review of current knowledge. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 297-306 [PMID: 17597411 DOI: 10.1007/s10620-007-9866-5]
- 2 Malleo G, Mazzon E, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. TNF-alpha as a therapeutic target in acute pancreatitis--lessons from experimental models. *ScientificWorldJournal* 2007; 7: 431-448 [PMID: 17450307 DOI: 10.1100/tsw.2007.98]
- 3 Li H, Qian Z, Liu Z, Liu X, Han X, Kang H. Risk factors and outcome of acute renal failure in patients with severe acute pancreatitis. *J Crit Care* 2010; 25: 225-229 [PMID: 19781906 DOI: 10.1016/j.jcrc.2009.07.009]
- 4 El-Achkar TM, Hosein M, Dagher PC. Pathways of renal injury in systemic gram-negative sepsis. *Eur J Clin Invest* 2008; 38 Suppl 2: 39-44 [PMID: 18826480 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.02007.x]
- 5 Andersson A, Fenhammar J, Weitzberg E, Sollevi A, Hjelmqvist H, Frithiof R. Endothelin-mediated gut microcirculatory dysfunction during porcine endotoxaemia. *Br J Anaesth* 2010; 105: 640-647 [PMID: 20710019 DOI: 10.1093/bja/aeq217]
- 6 Jesmin S, Yamaguchi N, Zaedi S, Nusrat Sultana S, Iwashima Y, Sawamura A, Gando S. Time-dependent expression of endothelin-1 in lungs and the effects of TNF- α blocking peptide on acute lung injury in an endotoxemic rat model. *Biomed Res* 2011; 32: 9-17 [PMID: 21383506]
- 7 Bollen TL, van Santvoort HC, Besselink MG, van Leeuwen MS, Horvath KD, Freeny PC, Gooszen HG. The Atlanta Classification of acute pancreatitis revisited. *Br J Surg* 2008; 95: 6-21 [PMID: 17985333 DOI: 10.1002/bjs.6010]
- 8 Zaheer A, Singh VK, Qureshi RO, Fishman EK. The revised Atlanta classification for acute pancreatitis: updates in imaging terminology and guidelines. *Abdom Imaging* 2013; 38: 125-136 [PMID: 22584543 DOI: 10.1007/s00261-012-9908-0]
- 9 Bagshaw SM, George C, Bellomo R. Early acute kidney injury and sepsis: a multicentre evaluation. *Crit Care* 2008; 12: R47 [PMID: 18402655 DOI: 10.1186/cc6863]
- 10 刘晓臣, 彭燕. 肠屏障功能障碍与重症急性胰腺炎. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3131-3135
- 11 Zhang J, Yuan C, Hua G, Tong R, Luo X, Ying Z. Early gut barrier dysfunction in patients with severe acute pancreatitis: attenuated by continuous blood purification treatment. *Int J Artif Organs*

- 2010; 33: 706-715 [PMID: 21077043 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815a399f]
- 12 Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 396-402 [PMID: 11500339 DOI: 10.1164/ajrccm.164.3.2009052]
- 13 Zannoni A, Giunti M, Bernardini C, Gentilini F, Zaniboni A, Bacci ML, Forni M. Procalcitonin gene expression after LPS stimulation in the porcine animal model. *Res Vet Sci* 2012; 93: 921-927 [PMID: 22001598 DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.09.011]
- 14 Endo S, Aikawa N, Fujishima S, Sekine I, Kogawa K, Yamamoto Y, Kushimoto S, Yukioka H, Kato N, Totsuka K, Kikuchi K, Ikeda T, Ikeda K, Yamada H, Harada K, Satomura S. Usefulness of procalcitonin serum level for the discrimination of severe sepsis from sepsis: a multicenter prospective study. *J Infect Chemother* 2008; 14: 244-249 [PMID: 18574663 DOI: 10.1007/s10156-008-0608-1]
- 15 de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, Morgenthaler NG, Papassotiriou J, Elliott PJ, van der Poll T. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med* 2008; 34: 518-522 [PMID: 18080111 DOI: 10.1007/s00134-007-0955-x]
- 16 Fenhammar J, Andersson A, Forestier J, Weitzberg E, Sollevi A, Hjelmqvist H, Frithiof R. Endothelin receptor A antagonism attenuates renal medullary blood flow impairment in endotoxemic pigs. *PLoS One* 2011; 6: e21534 [PMID: 21760895 DOI: 10.1371/journal.pone.0021534]
- 17 Divino JN, Chawla KS, da Silva CM, Bjorge AM, Brittingham A. Endothelin-1 production by the canine macrophage cell line DH82: enhanced production in response to microbial challenge. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 136: 127-132 [PMID: 20207425 DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.02.006]
- 18 Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, Ogawa T, Takeda Y, Takeda K, Akira S. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol* 1999; 162: 3749-3752 [PMID: 10201887]
- 19 Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzeki M, Nakajima T, Kuroda Y. Role of toll-like receptor 4 in the pathophysiology of severe acute pancreatitis in mice. *Surg Today* 2007; 37: 867-873 [PMID: 17879036 DOI: 10.1007/s00595-007-3520-x]
- 20 Rakonczay Z, Hegyi P, Takács T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259-267 [PMID: 17675325 DOI: 10.1136/gut.2007.124115]

■同行评价

本文学术水平较高, 具有一定临床指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 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。

超声造影在急性胰腺炎脾血管并发症诊断中的价值

蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 宋彬

■背景资料

超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)研究急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)已经较为成熟, SAP血管并发症在增强CT检查中经常被诊断, 但CEUS在此方面的情况则很少提及, 为了完善CEUS AP的诊断而设计了此研究。

蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041

宋彬, 四川大学华西医院放射科 四川省成都市 610041

蔡迪明, 主要从事腹部、血管及小器官的超声检查与诊断。

作者贡献分布: 蔡迪明与宋彬对此文所作贡献均等; 此研究由蔡迪明、宋彬、罗燕及李永忠设计; 研究过程由蔡迪明、罗燕、李永忠及万晋州操作完成; 数据分析由蔡迪明、张刚健、陈娟及曾聪完成; 本论文写作由蔡迪明、宋彬及罗燕完成。

通讯作者: 宋彬, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院放射科. cjr.songbin@vip.163.com

电话: 028-85422304 传真: 028-85423196

收稿日期: 2013-04-02 修回日期: 2013-04-16

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis

Di-Ming Cai, Yan Luo, Yong-Zhong Li, Jin-Zhou Wan, Gang-Jian Zhang, Juan Chen, Cong Zeng, Bin Song

Di-Ming Cai, Yan Luo, Yong-Zhong Li, Jin-Zhou Wan, Gang-Jian Zhang, Juan Chen, Cong Zeng, Department of Sonography, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Bin Song, Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Bin Song, Professor, Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, 37 Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. cjr.songbin@vip.163.com

Received: 2013-04-02 Revised: 2013-04-16

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis (AP).

METHODS: One hundred and twelve patients with AP treated at our hospital from January 2012 to December 2012 were included in this study. All patients underwent color Doppler ultrasound (CDUS), CEUS and contrast-enhanced computed tomography (CECT). CECT was considered as the gold standard for the diagnosis of splenic vascular complications of AP, and

findings of CDUS or CEUS were compared with those of CECT. The diagnostic accuracy of different modalities was compared.

RESULTS: Splenic vascular complications were diagnosed by CECT in 15 patients, by CDUS in 3 patients, and by CEUS in 10 patients.

CONCLUSION: CEUS is superior to CDUS in the diagnosis of splenic vascular complications of AP in terms of diagnostic accuracy. CEUS is a good alternative to CECT in the diagnosis of splenic vascular complications of AP.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatitis contrast; Contrast-enhanced ultrasound; Spleen; Vascular; Complications

Cai DM, Luo Y, Li YZ, Wan JZ, Zhang GJ, Chen J, Zeng C, Song B. Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1554-1558 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1554.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1554>

摘要

目的: 探讨急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发生脾血管并发症时超声及超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)诊断价值。

方法: 收集2012-01/2012-12在我院住院的AP患者112例, 分别进行常规彩色多普勒超声(color Doppler ultrasound, CDUS)、超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)以及上腹部增强CT的检查(contrast-enhanced computed tomography, CECT), 以CECT结果作为金标准, 对比CDUS和CEUS对于诊断脾血管并发症的准确性。

结果: 经CECT证实15例胰腺炎发生脾血管并发症, CDUS诊断3例, CEUS诊断10例。

结论: 对于AP的脾血管并发症CEUS优于CDUS, 能够较为准确、无创的诊断脾血管并发症。CEUS对于AP并发症的诊断是一种有效

■同行评议者

杨建民, 教授, 浙江省人民医院消化内科

的方法,特别是在患者不适合进行CECT检查的时候.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺炎; 超声造影; 脾; 血管; 并发症

核心提示: 胰腺炎脾血管并发症对胰腺炎诊断与治疗中都有重要意义. 本文利用超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)判断胰腺炎时是否发生脾血管并发症, 操作简单易行, 是进行胰腺炎CEUS时一种非常有益的补充.

蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 宋彬. 超声造影在急性胰腺炎脾血管并发症诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1554-1558 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1554.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1554>

0 引言

胰腺炎时脾血管并发症是胰腺炎时的较为罕见并发症, 常发生于重症胰腺炎和胰腺炎反复发作时, 而常规彩色多普勒超声(color Doppler ultrasound, CDUS)检查时常常由于受肠道麻痹致腹胀明显、腹膜后血管彩色血流衰减等因素影响, 导致CDUS对于脾血管并发症的诊断存在一定困难, 且与增强CT的结果相差较大, 因而报道也相对较少^[1]. 本研究尝试利用超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)的方法, 在对胰腺炎造影检查时, 加做脾脏的造影检查, 从而提高超声对胰腺炎并发脾脏血管病变的诊断水平.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2012-01/2012-12因急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)住院患者112例, 其中男64例, 女48例, 平均年龄41.3岁. 所有病例均行上腹部增强CT的检查(contrast-enhanced computed tomography, CECT)(CT与超声检查间隔<72 h)、CDUS以及CDES检查, 以CECT结果作为金标准, 对比CDUS和CDES对于脾血管并发症诊断的准确性.

1.2 方法 采用GE LOGIQ E9及PHILIPS IU22, 探头频率2-5 MHz, 选用腹部条件设置, 彩色增益调至刚出现噪音之前为止. 用二维超声连续横切及纵切观察胰腺及脾脏大小、形态、包膜、内部回声、血流分布; 胰周、腹膜后积液情况; 脾动脉、脾静脉的管径、血流速度等参数进行测量, 取样时使声束与血流夹角<60度, 做好图

像储存及记录工作. 造影时采用使用低机械指数造影条件进行检查. 超声医生在不知CT结果的情况下, 对患者进行CEUS检查脾脏及脾脏血管. 造影剂使用声洛维, 5 mL生理盐水溶解以后, 经肘正中静脉以剂量约1.2-2.4 mL团注, 观察脾脏实质内是否有增强的异常区域. 脾实质内发现异常增强区域时, 对脾动脉沿着其走行进行分段检查, 观察脾动脉、静脉的增强情况. 可重复注射造影剂, 以尽最大可能清楚显示脾血管的各段.

2 结果

12例经CECT确诊的重症胰腺炎并发胰周血管并发症的患者中, 经CDUS检查诊断3例, 诊断准确率20%(3/15); 经CEUS诊断10例, 诊断准确率66.7%(10/15)(表1). 脾血管并发症具体分类见表2.

CEUS脾脏梗死灶多表现为楔形, 有时可呈不规则形, 内无血流信号分布; 脾脏CDUS表现为单一或是多发的等回声或稍低回声, CEUS后该区域内无造影剂增强(图1), 或呈现较周围实质低增强的灌注异常区域(图2); 脾脏包膜下积液则表现为脾包膜下无回声或低回声, 其内无造影剂进入而无增强(图3). 本组病例7例发生脾动脉栓塞, 常规彩超诊断0例, 而通过CEUS诊断脾动脉栓塞4例, 而本组中脾动脉瘤5例, CDUS诊断0例, CEUS诊断0例; 脾梗死7例, CDUS诊断1例, CEUS诊断4例. 究其原因, 本组病例脾动脉瘤体积都较小, 最大仅1 cm, 由于脾动脉解剖的特殊性, 超声直接显示比较困难, 故而CEUS时也未准确诊断. 本组病例CEUS诊断脾动脉栓塞均是建立在诊断脾梗死基础之上, 故而诊断4例.

脾静脉狭窄时, CDUS表现为管腔内可见减弱回声部分充填, 血流信号表现为充盈缺损, 血流束纤细. 脾静脉栓塞或闭塞时, 栓塞表现为脾静脉内有异常回声完全充填, 管腔内无血流信号显示. 闭塞时脾静脉的管腔、管壁消失. 脾静脉的狭窄CEUS表现: 脾静脉管腔内造影剂仅呈细线状增强, 可见明显充盈缺损(图4), 脾静脉栓塞则表现管腔内无造影剂增强(图5). 静脉闭塞则表现为解剖位置区的脾静脉内无造影剂增强(图6). 本组病例脾静脉栓塞7例, 常规多普勒超声诊断3例, CEUS诊断5例; 本组病例胰源性门静脉高压7例, 常规多普勒超声诊断1例, CEUS诊断5例.

3 讨论

CECT被公认为AP诊断的金标准^[2,3], 能反映胰腺

■ 研发前沿

CEUS对于重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)诊断, 能够得到类似增强CT的作用, 而CEUS没有肝肺毒性, 无辐射、床旁、反复多次都能检查, 越来越受到临床重视, 但受制于腹腔胀气, 超声对于部分胰腺炎显示不满意. 对于血管并发症也因常常受到腹内气体影响而检出率较低.

■ 相关报道

Rickes等于2006年率先将CEUS技术应用于胰腺炎, 并按照Balthazar CT分级对CEUS后胰腺炎坏死程度评分, 并与CT结果比较, 对CEUS在胰腺炎诊断中的应用具有开创性的意义.

■创新盘点

本文利用脾脏CEUS, 通过脾脏灌注情况改变与否来推断胰腺炎时脾动脉是否受累. 通过脾静脉造影, 能增加医生对脾静脉狭窄、脾静脉栓塞的诊断信心. 操作方法简单易行, 能显著提高超声对脾血管病变的诊断率.

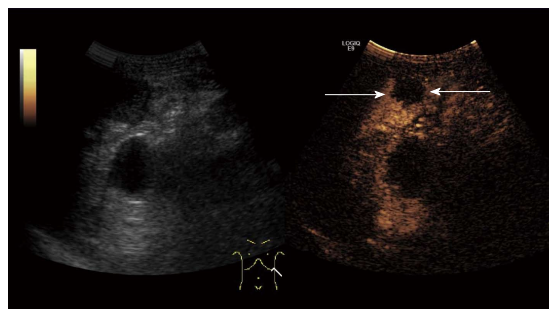


图 1 脾脏造影后无增强区(箭头所示).

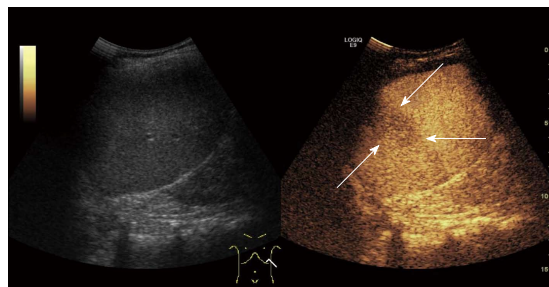


图 2 脾脏造影后实质内低增强区(箭头所示).

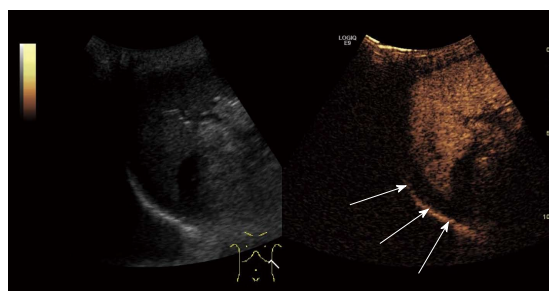


图 3 脾脏造影后, 脾包膜下无增强区(箭头所示).

坏死情况、胰周血管情况等重要指标. 脾血管并发症是由于AP时胰酶激活对周围血管的直接消化侵蚀、血液高凝状态、DIC继发微血栓的形成、胰周脓肿压迫血管等原因引起. 胰腺炎脾血管并发症主要包括胰源性门静脉高压、脾梗死、脾静脉栓塞或闭塞、脾动脉栓塞、脾动脉瘤^[4]. 脾血管并发症对于AP的分级、治疗都有重要的意义^[5], 可以反映胰腺炎危重程度和监测治疗效果的评判.

CDUS是AP、胆道疾病检查的重要的影像检查方法^[6], 但是对于胰腺炎脾血管并发症的诊断主要由于诸如腹部胀气等检查条件受限, 检查医生对该疾病的认识不足等原因都会增加超声对该病诊断的困难^[7]. 患者需要进行CECT检查, 由于要注射碘增强剂, 对于碘剂过敏患者并不适用, 并且重症患者低血容量、肾功能不全者也是禁忌证, 而恰恰重症患者由于多器官功

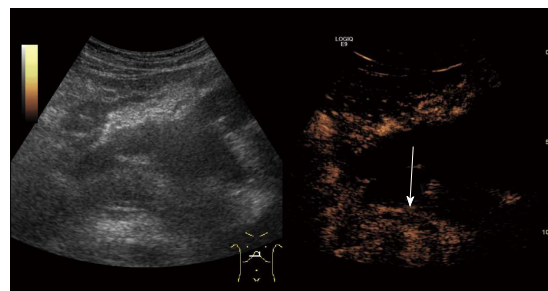


图 4 胰腺造影后, 脾静脉纤细呈细线状(箭头所示).

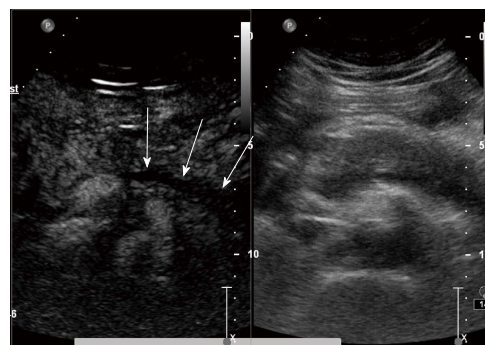


图 5 胰腺造影后, 脾静脉内无造影剂增强(箭头所示).

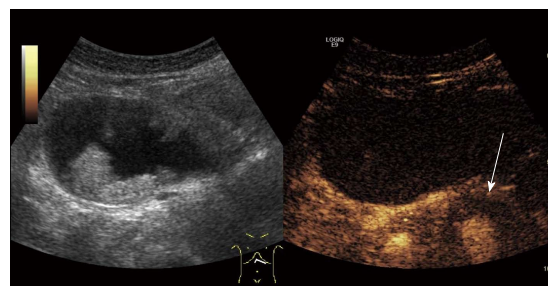


图 6 胰腺造影后, 脾静脉区未见脾静脉显示(箭头所示).

能衰竭往往会出现低血容量、肾功损害的临床表现, 此时在评估病情和疗效是就会发生困难^[8,9]. 随着CEUS的出现, 国内外学者将CEUS应用于AP的诊断, 多篇文献报道了CEUS对于AP有积极意义^[10,11]. 有学者甚至提出在不能进行CT检查时, AP CEUS检查可以代替CECT检查^[12], 而CEUS作为血管检查的应用也已广泛地用于诸如肾动脉、颈动脉及其他部位的血管检查当中^[13,14], 因此CEUS应用于胰腺炎脾血管并发症的检查是合适的.

根据脾脏的解剖, 脾脏是由脾动脉单一供血, 通过显示脾脏血供来反映脾动脉是否受累有理论依据. 而脾动脉是腹腔动脉中的最大分支, 在接近脾门处分出胃网膜左动脉和数支胃短动脉. 脾动脉在进入脾门前多先分为上、下两支, 或上、中、下三支, 再分为二级分支或三

表 1 3种方法诊断脾血管并发症的诊断结果 (n)

检查方法	脾血管并发症	
	阳性	阴性
常规彩色多普勒超声	3	109
超声造影	10	102
上腹部增强CT	15	97

表 2 3种方法诊断脾血管并发症的具体分类结果 (n)

脾血管并发症	常规彩色多普勒超声	超声造影	上腹部增强CT
脾动脉栓塞	0	4	7
脾静脉栓塞	3	5	7
脾静脉闭塞	0	1	1
脾动脉瘤 ¹	0	0	5
脾梗死 ¹	0	4	7
胰源性门静脉高压 ¹	1	5	7

¹脾动脉病变常合并脾动脉瘤、脾梗死, 脾静脉病变常合并胰源性门静脉高压。

级分支进入脾门。由于脾动脉解剖及超声成像的特点, 清楚的脾动脉全程, 超声存在“先天”的困难, 究其原因在于急性胰腺炎时胃肠麻痹胀气, 超声受气体干扰很难显示胃肠后方的脾动脉, 因此超声对于脾动脉病变的直接显示存在困难^[1]。常规超声对于脾脏大的梗死灶可以清楚显示, 但对于小灶梗死或是仅仅出现血流灌注减少的改变而尚未发生梗死时存在诊断困难^[15]。而超声医生在检查胰腺炎时也往往忽视对于脾脏的观察, 且脾血管并发症在AP是属于低发病率, 以上原因造成了超声对于AP时的脾血管并发症罕有提及有无受累。我们的方法是对脾脏的进行造影检查, 通过脾脏造影异常的有无, 间接反映脾动脉的血流有无异常改变, 如果有明显变化, 再依照脾动脉的走行尽量扫查清楚。脾脏实质出现多灶梗死、楔形梗死、脾周积液等, 意味着脾动脉的血供出现异常, 均认为是脾动脉受累: 脾动脉栓塞或脾动脉狭窄。脾脏疾病的CEUS, 国内外学者已经有了一定研究, 而CEUS对于脾脏的灌注异常, 早期梗死灶的检出CEUS可以作为首选方法^[16]。分析本组漏诊3例的原因, 2例是因为脾脏显示不完全, 梗死区刚好被肋骨遮挡未被显示出来, 1例是因为呼吸动度较大, 造影后梗死区发生移位被肋骨遮挡而漏诊。

脾静脉相对于脾动脉来讲检查相对容易一些, 特别是脾静脉胰腺段, 由于可以利用胰腺作

为透声窗, 脾静脉的显示要优于脾动脉, 并且脾静脉病变通常在胰腺段受累, 所以相较于脾动脉病变, 脾静脉病变超声检出率要高些。脾静脉狭窄表现为脾静脉内可见稍弱回声充填, 脾静脉栓塞表现为脾静脉管径增粗, 管腔内可见减弱回声充填, 彩色多普勒表现可见管腔内无或仅见细线状血流信号充盈。而脾静脉闭塞表现为脾静脉管壁、管腔均显示不清, 管腔内亦见等回声, 与周围组织难以区分, 仅能从解剖上在相应位置寻找。对该疾病如无充分认识, 就容易忽视闭塞静脉的存在。CEUS时受累脾静脉内仅见细线状增强或内部没有增强。通过造影, 能增加医生的诊断信心, 对诊断有明显帮助。

脾静脉受累时多时会表现为脾脏的肿大, 并可引起胰源性门静脉高压症, 胃底静脉可见迂曲扩张。分析本组病例漏诊原因, 脾静脉栓塞漏诊在于栓子较短, 位于胰尾区, 胰腺段脾静脉未受累而造成漏诊。由于未发现脾静脉栓塞, 故而在检查胃底区域静脉是否曲张时不够仔细而漏诊, 这是在以后工作中要注意的。

总之, CEUS较CDUS对于胰腺炎脾血管并发症的诊断, 具有明显的诊断优势, 能够给检查医生带来更多的检查信息和增强诊断的信心。CEUS操作方便、安全, 对于传统多普勒超声检查腹膜后血管的难题提供一种新的途径和方法, 而且超声造影剂没有肝肾毒性, 特别适用于肾功能受损的患者。对于重症胰腺炎患者, 搬动困难, 床旁CEUS既方便、及时, 而且对于疗效的评估、胰腺坏死程度的分级以及胰周血管有无受累、血管受累经治疗后有无改善等方面均有着非常重要的意义。随着对AP脾血管并发症的认识加深和CEUS的逐步开展, CEUS必能够在该疾病的诊断及治疗方面发挥更大的作用。

4 参考文献

- 王志辉, 邓又斌, 张青萍. 彩色多普勒血流成像对急性胰腺炎脾血管并发症的诊断价值. 华中华医学杂志 2007; 31: 171-172
- Balthazar EJ. Acute pancreatitis: assessment of severity with clinical and CT evaluation. *Radiology* 2002; 223: 603-613 [PMID: 12034923]
- Working Party of the British Society of Gastroenterology; Association of Surgeons of Great Britain and Ireland; Pancreatic Society of Great Britain and Ireland; Association of Upper GI Surgeons of Great Britain and Ireland. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54 Suppl 3: iii1-iii9 [PMID: 15831893]
- Fishman EK, Soyer P, Bliss DF, Bluemke DA, Devine N. Splenic involvement in pancreatitis: spectrum of CT findings. *AJR Am J Roentgenol* 1995;

■应用要点

通过脾脏的CEUS, 对于胰腺炎时的脾血管并发症的诊断准确性明显提高, 而且操作简便。对于进行胰腺炎CEUS也是一项非常有益的补充, 能够给临床提供更多的诊断信息。对于胰腺炎的诊治意义重大。

■同行评价

本文设计合理、
数据可信,有一定
临床指导意义。

- 164: 631-635 [PMID: 7863884]
- 5 钟跃, 罗燕, 卢强. 超声造影评价急性胰腺炎严重度的初步研究. 临床超声医学杂志 2012; 14: 589-592
- 6 Gandolfi L, Torresan F, Solmi L, Puccetti A. The role of ultrasound in biliary and pancreatic diseases. *Eur J Ultrasound* 2003; 16: 141-159 [PMID: 12573783 DOI: 10.1016/S0929-8266(02)00068-X]
- 7 Whitcomb DC. Clinical practice. Acute pancreatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 2142-2150 [PMID: 16707751]
- 8 Lu Q, Zhong Y, Wen XR, Huang ZW, Fan YT, Xia Q, Luo Y. Can contrast-enhanced ultrasound evaluate the severity of acute pancreatitis? *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1578-1584 [PMID: 21113802]
- 9 Luo Y, Yuan CX, Peng YL, Wei PL, Zhang ZD, Jiang JM, Dai L, Hu YK. Can ultrasound predict the severity of acute pancreatitis early by observing acute fluid collection? *World J Gastroenterol* 2001; 7: 293-295 [PMID: 11819778]
- 10 Rickes S, Rauh P, Uhle C, Ensberg D, Mönkemüller K, Malferteiner P. Contrast-enhanced sonography in pancreatic diseases. *Eur J Radiol* 2007; 64: 183-188 [PMID: 17869470]
- 11 Rickes S, Uhle C, Kahl S, Kolffenbach S, Monke-müller K, Effenberger O, Malferteiner P. Echo enhanced ultrasound: a new valid initial imaging approach for severe acute pancreatitis. *Gut* 2006; 55: 74-78 [PMID: 16033880]
- 12 Ripollés T, Martínez MJ, López E, Castelló I, Delgado F. Contrast-enhanced ultrasound in the staging of acute pancreatitis. *Eur Radiol* 2010; 20: 2518-2523 [PMID: 20532782 DOI: 10.1007/s00330-010-1824-5]
- 13 李超伦, 王文平, 黄备建, 丁红, 何年安. 造影前后彩色多普勒超声诊断血管疾病的对照研究. 中国临床医学 2007; 14: 731-733
- 14 朱庆莉, 姜玉新, 蔡胜, 程铁花. 经周围静脉SonoVue超声造影诊断肾动脉狭窄价值的探讨. 中国医学影像技术 2004; 20: 56-58
- 15 李晓光, 张晓波, 石海峰, 潘杰, 周慷, 王志伟, 金征宇. 胰腺炎并发假性动脉瘤大出血的影像诊断及经导管动脉栓塞治疗. 协和医学杂志 2010; 1: 77-81
- 16 陈惠莉, 杜联芳, 白敏, 顾继英, 周洋, 何颖倩. 超声造影应用于脾脏的初步探讨. 中国医学影像技术 2007; 23: 1355-1357

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 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}不能写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*ln*-(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.

急诊肠镜对结肠息肉电凝切除术后并发迟发性出血的诊疗价值

孙彩龙, 周兰芳, 金国文, 谢秀丽

孙彩龙, 周兰芳, 金国文, 谢秀丽, 浙江省杭州市萧山第三人民医院消化内科 浙江省杭州市 311251

孙彩龙, 副主任医师, 主要从事消化内科、消化内镜的临床研究。作者贡献分布: 此课题由孙彩龙设计; 研究过程由孙彩龙、金国文及谢秀丽操作完成; 数据采集分析由孙彩龙、周兰芳及谢秀丽完成; 本论文撰写由孙彩龙完成。

通讯作者: 孙彩龙, 副主任医师, 311251, 浙江省杭州市萧山区临浦峙山北路, 浙江省杭州市萧山第三人民医院消化内科。

clsun2006@126.com

收稿日期: 2013-03-21 修回日期: 2013-04-17

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Diagnostic and therapeutic value of emergency colonoscopy in delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps

Cai-Long Sun, Lan-Fang Zhou, Guo-Wen Jin, Xiu-Li Xie

Cai-Long Sun, Lan-Fang Zhou, Guo-Wen Jin, Xiu-Li Xie, Department of Gastroenterology, Xiaoshan Third People's Hospital, Hangzhou 311251, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Cai-Long Sun, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiaoshan Third People's Hospital, Zhishan North Road, Hangzhou 311251, Zhejiang Province, China. clsun2006@126.com

Received: 2013-03-21 Revised: 2013-04-17

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To assess the value of emergency colonoscopy in the diagnosis and therapy of delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps.

METHODS: Three of 972 patients who underwent colonic electrocoagulation resection for colorectal polyps developed delayed hemorrhage and underwent emergency colonoscopy.

RESULTS: Immediately after bleeding sites were identified by emergency endoscopy, colonoscopic electrocoagulation, injection therapy and titanium clip ligation treatment were given. Bleeding was stopped in all patients, and no

complications developed.

CONCLUSION: Emergency colonoscopy is a safe, effective method for the diagnosis and treatment of delayed hemorrhage following high-frequency electrocoagulation resection of colorectal polyps.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colonic polyps; High frequency electric; Colonoscopy; Delayed hemorrhage

Sun CL, Zhou LF, Jin GW, Xie XL. Diagnostic and therapeutic value of emergency colonoscopy in delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1559-1562
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1559.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1559>

摘要

目的: 探讨急诊肠镜在大肠息肉电凝切除术后迟发性出血诊治中的价值。

方法: 对972例大肠息肉经电凝切除术后发生肠道迟发性出血的3例患者急诊进行结肠镜检查和治疗。

结果: 急诊肠镜找到出血部位后立即分别进行结肠镜下电凝、注射治疗和钛夹结扎等处置, 全部病例出血停止, 内镜诊疗未发生任何并发症。

结论: 在大肠息肉高频电凝切除术后迟发性出血并发症中进行急诊肠镜检查和治疗是一种安全、有效的手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 结肠息肉; 高频电; 肠镜; 迟发性出血

核心提示: 本文通过对972例大肠息肉经电凝切除术后发生肠道迟发性出血的3例患者急诊进行结肠镜检查和治疗, 探讨了急诊肠镜在大肠息肉电凝切除术后迟发性出血诊治中的价值, 指出在大肠息

■背景资料

迟发性出血是在大肠息肉内镜下高频电凝切除术后并发症之一, 属医源性出血, 一般发生率较低, 一旦发生未及时处理严重者可致患者生命危险。

■同行评议者

阴赓宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学

■创新盘点

注重在大肠息肉高频电凝切除术前、中、后环节的防治,一旦发生迟发性出血并发症应及时进行急诊肠镜检查并进行相应内镜下微创治疗。

肉高频电凝切除术后迟发性出血并发症中进行急诊肠镜检查和治疗是一种安全、有效的手段。

孙彩龙,周兰芳,金国文,谢秀丽. 急诊肠镜对结肠息肉电凝切除术后并发迟发性出血的诊疗价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1559-1562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1559>

0 引言

迟发性出血是在大肠息肉内镜下高频电凝切除术后所发并发症之一,属医源性出血,一般发生率较低,临床报告一般为0.4%-2.0%^[1,2],一旦发生未及时处理严重者可致患者生命危险,2001-10/2012-12我院消化内科肠镜下高频电凝切除结肠息肉972例共1547枚,发生迟发出血3例,其中术后48 h 1例,术后第6天1例;术后第7天1例,分别在输液止血基础上予急诊肠镜下电凝切除、黏膜下注射、钛夹结扎治疗等控制,效果满意,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2001-10/2012-12在我院消化内科门诊、住院患者中进行结肠镜下高频电凝切除结肠息肉972例共1547枚。采用奥林巴斯CF-240型电子结肠镜、奥林巴斯PSD-20型高频电发生器、美国伟伦心电监护仪、德威APC9000型氩等离子电凝器、HX610-90钛夹、HX610-135钛夹、NM-1K注射针、1:10000肾上腺素注射液、库克一次性电圈套器等。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: 急诊肠镜术前积极补液、止血治疗,休克者输血、扩容、抗休克治疗,找到出血灶后: 分别进行钛夹结扎、电凝切除、黏膜下注射、氩离子束烧灼等处理。

1.2.2 术后处理: 例3术后门诊输液,嘱咐术后1 wk内流质、半流质饮食,2 wk内避免剧烈活动,其余2例均住院观察,予输液止血抗炎治疗,禁食24 h,监测生命体征及血常规、大便潜血等,3例均加服美沙拉嗪肠溶片0.8 g, tid。

2 结果

病例1: 女,49岁,因腹痛3 mo,腹泻1 mo在本院门诊行结肠镜检查,高频电凝圈套切除息肉6枚,最大1.2 cm×1.5 cm,术中无出血,术后门诊静滴抗炎、止血2 d并在当地工厂上班,术后第5天出现便血,为鲜血,共8次,每次量约70-100 mL,门诊予酚磺乙胺针0.75静滴、血凝酶针2 ku静推,

凝血酶冻干粉500 U化水100 mL分次口服,症状未缓解,继解暗红色血液带凝血块2次,量约500 mL,自觉头晕、乏力,测Bp 88/62 mmHg, p95次/分,积极予补液扩容、抗休克治疗,500 mL清水清洁灌肠后急诊结肠镜检查,见肠腔内大量血液滞留,反复冲洗进镜见距肛70 cm—0.6 cm×0.8 cm溃疡,附血痂,边缘少量渗血;距肛50 cm见一新鲜创面,呈搏动性出血,既往有糖尿病史10年,高血压病史9年,不规则服药至今,内镜直视下距肛70 cm溃疡处置钛夹4枚结扎预防出血;距肛50 cm搏动性出血处置钛夹5枚结扎止血,术毕收入院治疗(图1, 2)。

病例2: 女,67岁,因大便性状改变半年在本院肠镜下息肉切除术,切除息肉4枚,最大约1.8 cm×2.0 cm,术中顺利无出血,术后第6天排无痛鲜血便,量约250 mL,门诊予输液止血、抗炎治疗后急诊肠镜距肛70 cm见一创面,残蒂较长、血液不断涌出,既往高血压史18年,间断服用替米沙坦、氨氯地平胶囊,血压维持在145/90-165/100 mmHg,内镜下再次电凝圈套切除,血止(图3)。

病例3: 男,49岁,主诉直肠癌术后1年,肛门坠胀感2 mo,肠镜见距肛7 cm—2.0 cm×3.0 cm不规则扁平状侧向发育型肿瘤,予EMR术,术后2 d出现下腹隐痛伴便血,量约150 mL,予8 mg去甲肾上腺素+100 mL生理盐水保留灌肠2 h,仍有便血,急诊肠镜见创面边缘2处渗血,分别予1:10000肾上腺素注射液黏膜下注射、氩气烧灼,术后8%孟氏液10 mL喷洒止血(图4)。

3例术后均无活动性出血,例1、例2分别住院7、5 d后治愈出院。

3 讨论

内镜下高频电凝切除术已成为治疗大肠息肉的常规手段,但其并发症不容忽视,尤其迟发性出血,虽发生率低但严重者可致命,临床上对于发生于24 h以后的出血称为延迟出血,文献报道多发生于术后24 h-1 wk,常见是3-7 d,部分可延长至以上^[3-5],2001-10/2012-12我院消化内科肠镜下高频电凝切除结肠息肉972例共1547枚,发生迟发出血3例,时间节点符合24 h-1 wk,发生率0.31%,低于有关临床报告的0.4%-2%,分析可能与术前、术后积极采用预防出血措施有关^[6-8]。

迟发性出血一旦发生,首先尽早做出判断: 首先判断是否术后所致出血,可根据病史、症状体征及辅助检查,排除肛门病变、上消化道及全身疾病如血液系统、感染性疾病等,其次

■应用要点

对3例迟发性出血患者在积极充分补液、扩容、抗休克基础上,不强求清洁肠道急诊行结肠镜检查,找到出血病灶后选择性进行相应内镜治疗。

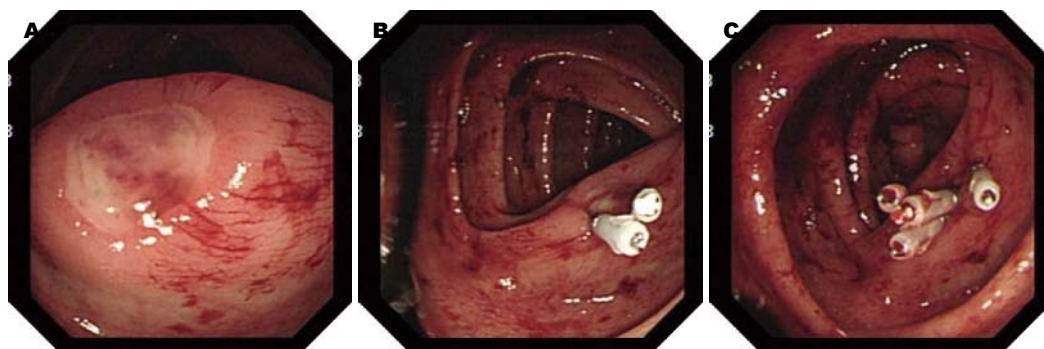


图 1 距肛70 cm. A: 创面边缘渗血; B, C: 钛夹结扎.

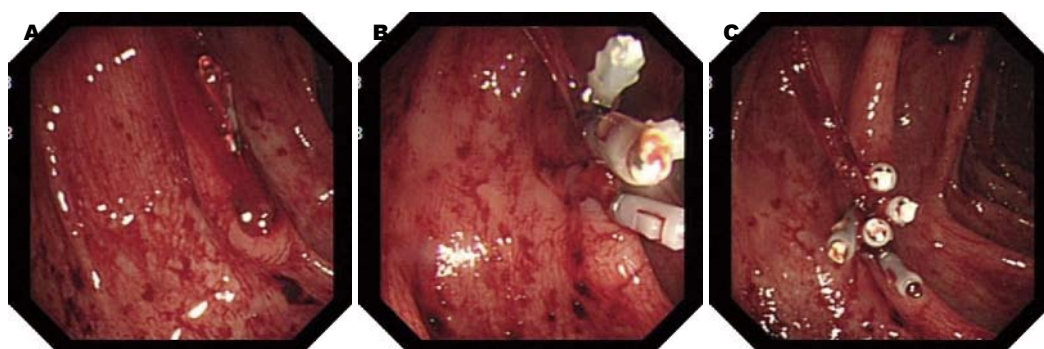


图 2 距肛50 cm. A: 搏动性出血; B, C: 钛夹结扎.

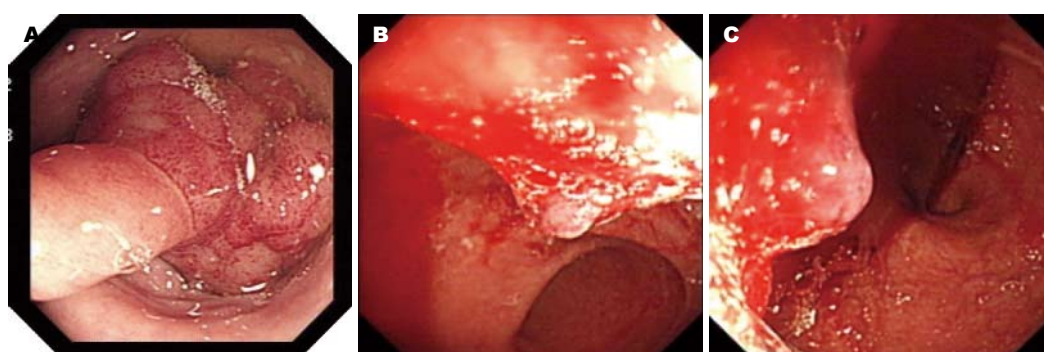


图 3 过长出血残蒂再次圈套切除. A: 长蒂息肉切除前; B, C: 残蒂过长并出血.

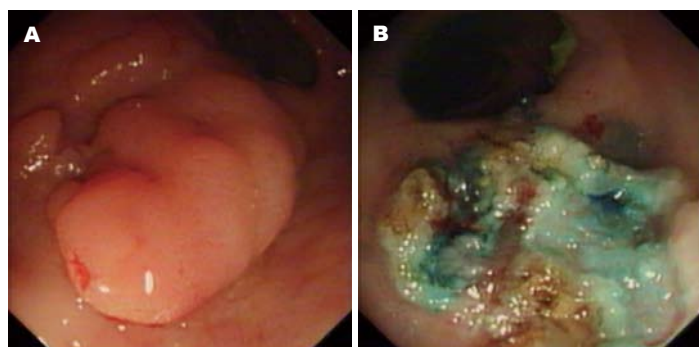


图 4 出血创面氩气烧灼. A: 侧向发育肿瘤术前; B: 术后出血氩气束凝固术后.

■名词解释

延迟出血: 系大肠息肉经肠镜下高频电凝圈套切除术后超过24 h发生的出血, 临床主要表现为便血, 可伴有(或无)腹痛、腹胀、恶心、乏力、肛门下坠感等, 内镜下见残端活动出血, 严重者可出现休克甚至危及生命, 一般发生率较低, 大约0.4%-2.0%. 文献报道多发生于术后24 h-1 wk, 部分可延长至2 wk, 甚至更长.

判断出血的量, 鉴别是否休克早期或休克, 再次估计出血的部位、性质, 鲜血、果酱、暗红色便, 是否带黏液脓血、黑便, 有助于鉴别上消化道出血、炎症性肠病、血管性疾病(老年应警惕

血管畸形、缺血性肠炎), 术前措施到位: 补液、止血, 必要时抗休克, 部位低可灌肠(8 mg去甲肾上腺素+100 mL生理盐水), 保守治疗失败急诊肠镜介入.

■同行评价

本文对972例大肠息肉经电凝切除术后发生肠道迟发性出血的3例患者进行结肠镜检查和治疗,具有一定的实用价值。

普通肠镜检查均需口服全肠道灌洗择期进行^[9],但下消化道活动出血患者身体状况较差、病情急,大剂量饮水难耐受,且肠道准备时间较长,不利于及时诊疗,由于血液是天然的导泻剂,一般大出血患者肠道内粪便剩余较少,急诊肠镜比常规检查更容易看到新鲜出血灶,有报导急诊肠镜发现出血部位阳性率高于择期2.6倍^[10,11],对于血液动力学不稳定者,在积极充分补液、扩容、抗休克基础上,不强求清洁肠道急诊检查及早准确寻出血病灶、有效内镜治疗;对于血流动力学稳定的急性出血患者,出血量不大或出血暂时停止者允许清水灌肠,500-800 mL, 1-2次,术前须查阅前次肠镜手术报告中标记的部位,在急诊重复肠镜时重点关注,据循腔进镜原则,自下而上排除肛门病变、缓慢进镜,动作要轻柔,观察要仔细,避免冲气过度,加重出血、甚至穿孔,粪便多时可用50 mL针筒经活检钳道冰生理盐水反复冲洗、吸引;肠腔内见柏油样大便,系陈旧性出血,还不到出血部位,继续进镜寻找;见暗红色便,示快到出血部位;见鲜红色便,示附近活动出血,沿血迹线索进镜至肠腔清洁处,表面已越过出血部位撤镜,仔细查找出血病灶,若到回盲部仍有暗红色大便,逆行进入末端回肠仍有暗红色血液流出,示病变在小肠甚至在上消化道,相反整个结肠无活动出血,应考虑病变在小肠并排除肛门病变,找到病灶后根据实际分别予1:10000肾上腺素针黏膜下注射、氩气刀烧灼、残余长蒂电凝切除、创口血管搏动处钛夹结扎止血等处理。

迟发性出血原因不外乎医、患两方因素及术前、中、后环节,术前应常规进行血常规、凝血酶谱检查排除出血性疾病;高血压、糖尿病是迟发性出血的危险因素^[12,13],高血压患者血液流变率不稳定,易出血;糖尿病患者结肠黏膜血管较脆、术后愈合差,对高危患者减少其危险因子,密切观察以及及早对症处理、预防出血是必要的^[14],因此术前均须正规服药力求控制在合理水平,本组资料显示1例患者高血压未控制导致出血。1例高血压合并糖尿病患者创面影响愈合,术中操作者经验不足、医护配合不默契、电凝不充分等均是导致迟发性出血的重要原因^[15],术后环节也应重视,不宜过早剧烈活动,

本组资料一例患者术后第2天下地干重活,导致术后大出血,分析此期创面焦痂脱落,新生肉芽组织未完全生长导致出血。为预防术后出血我们体会术后常规适量使用止血药、抗生素;术后短期应用美沙拉嗪肠溶片口服利于创面修复;嘱咐患者术后1 wk内流质、半流质饮食,2 wk内避免活动,均收到较好效果。

总之,在大肠息肉高频电凝切除术后迟发性出血并发症中进行急诊肠镜检查和治疗是一种安全、有效的手段。

4 参考文献

- 1 谭诗云, 沈磊, 罗和生, 沈志祥, 于皆平. 大肠息肉及息肉样病变高频电凝切除术后延迟出血的原因及处理. 武汉大学学报(医学版) 2002; 23: 352-353
- 2 Mergener K, Baillie J. Complications of endoscopy. *Endoscopy* 1998; 30: 230-243 [PMID: 9592664 DOI: 10.1055/s-2007-1001249]
- 3 吴学琴, 孙宏利, 丁小兰. 下消化道急性大出血急诊肠镜检查22例分析. 河北医药 2008; 30: 1027
- 4 张文俊, 江学良, 李兆申. 结肠镜诊疗的并发症. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2727-2730
- 5 李益农, 陆星华主编. 消化内镜学. 第2版. 北京: 科学出版社, 676-693
- 6 Shioji K, Suzuki Y, Kobayashi M, Nakamura A, Azumaya M, Takeuchi M, Baba Y, Honma T, Narisawa R. Prophylactic clip application does not decrease delayed bleeding after colonoscopic polypectomy. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 691-694 [PMID: 12709699 DOI: 10.1067/mge.2003.193]
- 7 Watabe H, Yamaji Y, Okamoto M, Kondo S, Ohta M, Ikenoue T, Kato J, Togo G, Matsumura M, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Risk assessment for delayed hemorrhagic complication of colonic polypectomy: polyp-related factors and patient-related factors. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 73-78 [PMID: 16813806 DOI: 10.1016/j.gie.2006.02.054]
- 8 赵保民, 赵曙光, 刘震雄, 王旭霞, 杨琦, 赵玉玲, 周惠萍, 姜慧玲, 闻勤生. 内镜治疗并发胃肠道出血的预防与处理. 世界华人消化杂志 2011; 19: 289-294
- 9 蔡文智, 智发朝, 李凤玲, 陈秀云, 姜泊. 肠镜检查肠道准备无效率的影响因子. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1785-1787
- 10 童仕伦, 吴红学. 下消化道出血的诊断及处理策略. 腹部外科 2010; 23: 134-135
- 11 吴江, 罗庆元, 丁永平, 朱丽蓉. 结肠息肉摘除术后延迟出血的结肠镜检查和治疗. 新疆医科大学学报 2004; 27: 504-505
- 12 孙斌, 许建明, 谢惠君. 金属钛夹减少结肠息肉切除术后迟发出血的临床观察. 临床荟萃 2006; 21: 868-869
- 13 江应平, 何正在, 郭良忠. 大肠息肉高频电切除术后迟发性出血四例报告. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 60
- 14 黄丽福, 毛华, 金少琴, 余建林. 大肠息肉切除术后迟发性出血的危险因素分析. 中国内镜杂志 2012; 18: 809-812
- 15 荆巧玲, 周力, 朱素华. 大肠息肉高频电切除术后迟发性出血5例. 中国肛肠病杂志 2004; 6: 43

编辑 田滢 电编 闫晋利



熊去氧胆酸预防溃疡性结肠炎癌变的Meta分析

崔德军, 黄博, 朱敏, 任映

崔德军, 黄博, 朱敏, 贵州省人民医院消化内科 贵州省贵阳市 550002

任映, 贵州省交通医院内科 贵州省贵阳市 550002

崔德军, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的基础与临床研究。
贵阳市社会发展与民生科技计划基金资助项目, No. 筑科合同[2012103]50号

作者贡献分布: 此课题由崔德军设计; 研究过程由崔德军、黄博及朱敏完成; 文献筛选与质量评价由崔德军、黄博及任映完成; 数据的提取和统计分析由崔德军与黄博完成; 本论文写作由崔德军完成。

通讯作者: 崔德军, 副主任医师, 550002, 贵州省贵阳市南明区中山东路83号, 贵州省人民医院消化内科。hxcuidj@163.com

收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-04-17

接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Ursodeoxycholic acid for preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis

De-Jun Cui, Bo Huang, Min Zhu, Ying Ren

De-Jun Cui, Bo Huang, Min Zhu, Department of Gastroenterology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China

Ying Ren, Department of Internal Medicine, Guizhou Provincial Traffic Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China

Supported by: the Social Development and People Livelihood Science and Technology Program of Guiyang, No. [2012103]50

Correspondence to: De-Jun Cui, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guizhou Provincial People's Hospital, 83 Zhongshan East Road, Nanming District, Guiyang 550002, Guizhou Province, China. hxcuidj@163.com

Received: 2013-01-28 Revised: 2013-04-17

Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of ursodeoxycholic acid (UDCA) in preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis (UC).

METHODS: Keyword and MeSH searches of the Cochrane Database, Pubmed, Embase, Science Citation Index, Full-text Database of Chinese Journals, the Database of Chinese Science Journals and Wanfang Database from the inception of each database to December 2012 were performed to identify all available randomized controlled trials. Two independent reviewers as-

sessed studies for inclusion and exclusion based on methodological quality criteria. Summary estimates of preventive effects were produced with Review Manager 5.2, using odds ratio (OR).

RESULTS: Three randomized controlled trials comparing UDCA with placebo were qualified for the meta-analysis according to inclusion criteria. Patients who received UDCA had a similar risk of developing colorectal dysplasia or cancer compared with those who received placebo (dysplasia: OR = 1.11, 95%CI: 0.22-5.73, $P = 0.90$; cancer: OR = 0.54, 95%CI: 0.12-2.54, $P = 0.44$). UDCA-treated patients had lower progression scores of dysplasia than those treated with placebo.

CONCLUSION: UDCA may prevent further progression of low-grade colorectal dysplasia but does not decrease incidence of colorectal dysplasia or cancer in patients with UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ursodeoxycholic acid; Ulcerative colitis; Meta-analysis; Systematic review

Cui DJ, Huang B, Zhu M, Ren Y. Ursodeoxycholic acid for preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1563-1567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1563>

摘要

目的: 评价熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)预防溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)癌变的有效性。

方法: 用关键词或主题词检索Cochrane图书馆、Pubmed、Embase、ISI数据库、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库和万方数据库以获得相关随机对照试验, 检索时间从建库至2012-12。根据纳入和排除标准由2名研究者独立进行文献质量评价, 应用Review Manager 5.2统计软件分析UDCA预防UC癌变的有效性, 效应量为比值比(odds ratio, OR)。

■背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是慢性非特异性炎症性疾病, 病程越长、病变范围越大, 患结肠癌的风险越高, UC合并原发性硬化性胆管炎时癌变风险更高。熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)常用于治疗合并原发性硬化性胆管炎的UC患者。目前UDCA预防UC癌变的作用存在争议。

■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

■研发前沿

UDCA 预防 UC 癌变的作用存在量效关系, 甚至长期大剂量使用 UDCA 可增加 UC 癌变风险可能。亟待开展不同剂量 UDCA 与 UC 癌变关系的基础和临床研究。

结果: 根据纳入标准纳入3个比较 UDCA 与安慰剂的随机对照试验。UDCA 组结直肠非典型性增生或癌的发病率与安慰剂组无统计学差异(非典型性增生: OR = 1.11, 95%CI: 0.22-5.73, $P = 0.90$; 癌: OR = 0.54, 95%CI: 0.12-2.54, $P = 0.44$)。与安慰剂比较, UDCA 可减少非典型性增生积分。

结论: UDCA 可阻止 UC 结直肠低度非典型性增生的进展, 但不能降低 UC 相关性非典型性增生和结直肠癌的发病率。

© 2013 年版权归 Baishideng 所有。

关键词: 熊去氧胆酸; 溃疡性结肠炎; Meta 分析; 系统评价

核心提示: 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)有阻止溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)结直肠低度非典型性增生的进展可能, 但不能降低 UC 相关性非典型性增生和结直肠癌的发病率。

崔德军, 黄博, 朱敏, 任映. 熊去氧胆酸预防溃疡性结肠炎癌变的 Meta 分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1563-1567
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1563>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一类病因不很清楚的肠道非特异性炎症性疾病。UC 病程常呈慢性迁延过程, 有癌变倾向。UC 相关性结直肠癌发病风险随病程逐年增加^[1]。目前采用内镜监测 UC 癌变^[2], 但未见内镜监测可延长 UC 生存期的确切证据^[3]。因而探索药物预防 UC 癌变显得很重要。熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)可用于 UC 合并原发性硬化性胆管炎的治疗。目前 UDCA 预防 UC 癌变的作用存在争议。因而, 本研究就 UDCA 预防 UC 癌变作一 Meta 分析, 以期能为药物预防 UC 癌变提供循证医学证据。

1 材料和方法

1.1 材料 检索 Cochrane Library、PubMed、Embase、ISI 数据库、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库和万方数据库, 检索时限为从建库至 2012-12。在临床试验注册中心查询正在研究的临床试验。英文检索词: ulcerative colitis, inflammatory bowel disease, ursodeoxycholic acid; 中文检索词: 溃疡性结肠炎, 炎症性肠病, 熊去氧胆酸。手工检索相关文献的参考文献和国内外重要胃肠病会议的摘要, 如美国消化疾

病周、亚太消化疾病周等。联系有关医药公司获取熊去氧胆酸相关信息。

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: 纳入标准: 纳入已发表及未发表的随机对照试验(randomised controlled trials, RCTs), 语言不限。研究对象为确诊 UC 的患者, 性别、年龄、人种和国籍等不限。干预措施为试验组使用熊去氧胆酸治疗, 治疗剂量、疗程、给药途径不限。对照组采用安慰剂或空白对照。主要测量指标为癌变发生率、非典型性增生发生率, 具体标准由相应的纳入研究定义。次要测量指标为不良反应发生率。排除标准: 排除数据资料不全或未表明终点结局而无法纳入利用的资料。排除重复的报道。

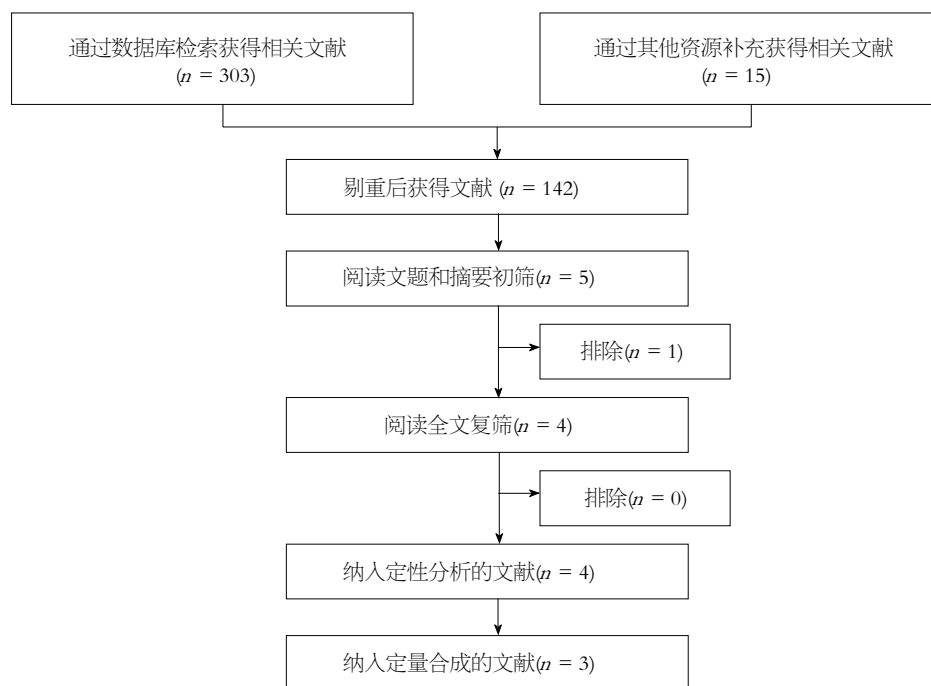
1.2.2 质量评价: 根据纳入与排除标准由两位研究者独立进行文献质量评价, 有分歧时由第3位研究者参与讨论并最终决定是否纳入文献。按照 Cochrane 系统评价员手册(5.0版)^[4]对纳入的研究进行文献质量评价。评价内容为: 随机方法、分配隐藏、盲法、退出与失访、选择性报告和其他偏倚来源。文献质量分 A、B、C 3 个等级。文献质量 A 级为所有质量评价标准均完全满足, 偏倚可能性最小; B 级为任何一条或多条质量评价标准部分满足, 偏倚可能性为中度; C 级为任何一条或多条质量评价标准完全不满足, 偏倚可能性为高度。

1.2.3 资料提取: 由两位研究者独立进行资料提取, 交叉核查, 有分歧时征求第3位研究者意见。资料提取表内容包括: 基本情况、试验对象特征、干预措施、研究特征、研究结果。对纳入的每一个 RCT 分别提取数据。对失访和退出情况, 尽量获得意向性分析(intention-to-treat analysis, ITT)数据。通过邮件与作者联系以索取缺乏的数据。涉及多组研究的 RCT 时, 提取与本研究相关的数据。

统计学处理 采用 Cochrane 协作网提供的 RevMan 5.2 软件进行统计分析。效应量为比值比(odds ratio, OR), 并计算其 95% 置信区间(confidence interval, CI)。统计学异质性采用卡方检验(chi-square test, χ^2), 若 $P > 0.1$, $I^2 \leq 50\%$ 时异质性不明显, 采用固定效应模型估计合并效应量; 若 $P \leq 0.10$, $I^2 > 50\%$ 时异质性明显, 选用随机效应模型。异质性过大时($I^2 > 75\%$)需要分析异质性原因和来源, 必要时进行亚组分析、敏感性分析, 甚至放弃 Meta 分析。合并效应量的检验采用 Z 检验, $P \leq 0.05$ 有统计学意义。纳入研究在 9 篇以上

■相关报道

Ashraf 等采用 Meta 分析方法发现 UDCA 不能降低 UC 合并原发性硬化性胆管炎患者的腺瘤变或癌变风险。



■创新盘点

本文严格评价UDCA预防UC癌变的有效性, 纳入研究证据强度大, 结果的真实性和可靠性好。本研究为UC临床合理用药提供一定证据, 具有一定创新性。

图1 文献筛选流程与结果。

表1 纳入研究特征与质量评价

纳入研究	样本量	试验组	对照组	基线情况	随机方法	隐蔽分组	盲法	失访/退出	选择性报告	其他偏倚来源	质量等级
Pardi等 ^[6] 2003	52	UDCA(13-15 mg/kg·d)	安慰剂	可比	计算机随机提及	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B
Sjöqvist等 ^[6] 2004	19	UDCA(500 mg bid)	安慰剂	可比	计算机随机提及	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B
Eaton等 ^[7] 2011	56	UDCA(28-30 mg/kg·d)	安慰剂	可比	计算机随机提及	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B
Lindström等 ^[8] 2012	98	UDCA(17-23 mg/kg·d)	安慰剂	基本可比	计算机随机提及	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B

UDCA: 熊去氧胆酸。

时采用倒漏斗图检验发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索结果 文献筛选流程和结果见图1。最终纳入4个RCTs^[5-8]进行评价, 其中3个RCTs进行定量合成(Meta分析)。

2.2 纳入研究的基本特征与质量评价 纳入研究的RCTs皆为国外文献, 均为随机、双盲、安慰剂对照试验。纳入的4个RCTs对隐蔽分组、失访与退出、选择性报告、其他偏倚来源的描述不很清楚, 质量等级皆为B级。各纳入研究的基本特征与质量评价详见表1。

2.3 Meta分析结果

2.3.1 UC非典型性增生发生率: 纳入4个RCTs^[5-8],

其中1个RCT^[6]研究UDCA对已发生非典型性增生或DNA异倍体的炎症性肠病患者的治疗作用, 采用UDCA与安慰剂对照的随机双盲试验。结果发现UDCA组与安慰剂组无显著差异, 但安慰剂组非典型性增生有加重或转化为异型增生有关的病变或肿块情况, 而UDCA组病灶无加重情况。该RCT认为UDCA可能会阻止炎症性肠病结肠低度非典型性增生的发展。但该RCT与本研究拟探讨的UDCA预防UC癌变作用的目的不一致, 因而未纳入Meta分析。

纳入定量分析的3个研究^[5,7,8]皆监测了UDCA组与安慰剂组的非典型性增生发生率。其中试验组102例, 对照组104例。Meta分析结果显示各组间异质性差异有统计学意义($P<0.10$, $I^2 =$

■应用要点

本研究表明UDCA可阻止UC结肠低度非典型性增生的发展,但不能降低UC相关性结肠癌和非典型性增生的发病率。本文为UC并发原发性硬化性胆管炎的合理治疗提供参考。

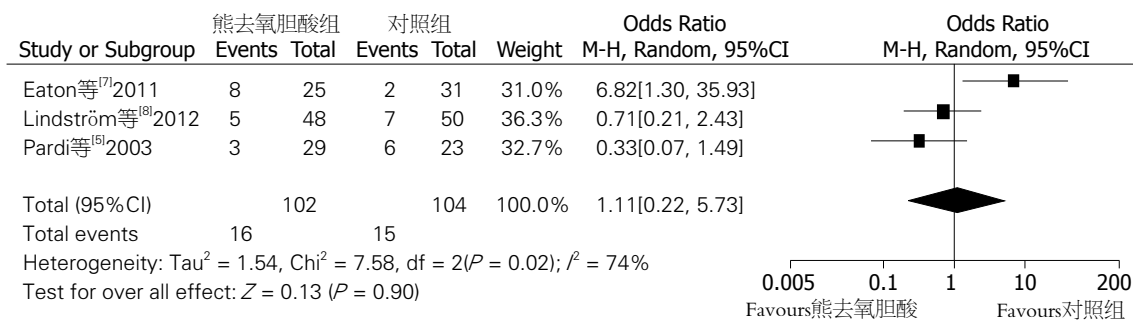


图2 两组非典型性增生发生率比较的Meta分析。

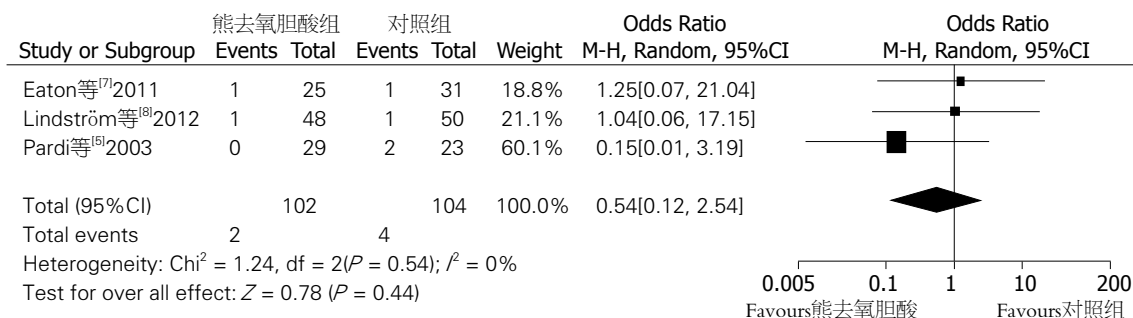


图3 两组癌变发生率比较的Meta分析。

74%), 采用随机效应模型分析. UDCA组与安慰剂组的非典型性增生发生率差异无统计学意义 ($OR = 1.11$, 95%CI: 0.22-5.73, $P = 0.90$)(图2). 排除含常规剂量UDCA的试验后重新进行Meta分析, 结果稳定性好.

2.3.2 UC癌变发生率: 纳入分析的3个研究^[5,7,8]比较了UDCA组与安慰剂组的癌变发生率. Meta分析结果显示各组间异质性差异没有统计学意义 ($P > 0.10$, $I^2 = 0\%$), 采用固定效应模型分析. UDCA组与安慰剂组的癌变发生率差异没有统计学意义 ($OR = 0.54$, 95%CI: 0.12-2.54, $P = 0.44$)(图3). 敏感性分析显示结果稳定性好.

2.3.3 UC发表偏倚: 因纳入的RCTs < 9个, 未绘制倒漏斗图分析发表偏倚.

3 讨论

UC是一种慢性非特异性结肠炎, 病程越长、病变范围越大, 患结肠直肠癌的风险越高. UC并发原发性硬化性胆管炎时癌变风险更高^[9,10]. 因而如何预防UC癌变是临床医生亟待解决的难题. UDCA是最早从北极熊胆汁中分离得到的一种亲水二羟胆盐, 有增加胆汁酸的分泌, 抑制肝脏胆固醇的合成等作用. 临床上主要用于原发性胆汁性肝硬化、胆固醇型胆结石、原发性硬化性胆管炎等肝胆系统疾病的治疗. 近来有研究表明, UDCA对结肠直肠癌、异型增生有化学预

防作用^[11,12], 欧洲克罗恩病与结肠炎组织和美国胃肠病学会皆推荐UDCA治疗并发原发性硬化性胆管炎的UC患者^[13,14]. 近来UDCA预防UC癌变的临床研究结论不完全一致, 甚至有研究发现长期大剂量使用UDCA可增加并发原发性硬化性胆管炎的UC患者的癌变风险^[7]. 因而有必要对UDCA预防溃疡性结肠炎癌变的作用作一系统评价, 为UC临床合理用药提供证据.

本研究较全面地检索全世界范围内UDCA预防UC癌变的RCTs. 纳入分析的RCTs都为随机、安慰剂对照试验, 质量等级高. 纳入分析的RCTs皆使用双盲法, 可避免测量性偏倚, 但部分RCTs^[6,8]仅提及随机, 未具体描述随机方法, 可能存在选择性偏倚. 隐蔽分组不清楚, 也可导致选择性偏倚. 隐蔽分组不清楚的临床试验的比值比可达30%的偏倚, 隐蔽分组不充分的临床试验中可有41%的偏倚^[15]. 纳入Meta分析的RCTs的试验组UDCA用药剂量、时间不一致, 存在一定异质性. 纳入的文献皆为国外文献, 在国外开展的研究. 评价结果是否适用于我国患者, 是否可推广应用, 需要慎重对待.

Meta分析结果表明UDCA组与安慰剂组的非典型性增生发生率差异无统计学意义, 但存在异质性. 考虑异质性与用药剂量、时间、随访时间、内镜监测等有关. 由于 $I^2 < 75\%$, 未进一步作敏感性分析和亚组分析. UDCA组与安慰剂

组的癌变发生率差异也无统计学意义。本研究与Ashraf等^[16]的研究结果相似。但本研究纳入的RCTs证据强度较高, 敏感性分析提示稳定性较好, 结果的真实性和可靠性更好。另外, 本研究定性分析还发现UDCA可能会阻止UC结肠低度非典型性增生的发展。

本研究就UDCA预防UC癌变作一Meta分析, 前瞻性的UDCA治疗UC非典型性增生或DNA异倍体的RCT少。纳入的RCTs样本量有限, 且Meta分析为2次研究, 结果证据强度依赖于纳入RCTs的质量, Meta分析在设计、资料收集、质量评价、统计分析可能存在偏倚, 因而在评价UDCA预防UC癌变效果时可能存在一定局限性。

总之, UDCA可阻止UC结肠低度非典型性增生的发展, 但不能降低UC相关性结肠直肠癌和非典型性增生的发病率。由于纳入RCTs少, 存在一些方法学上的局限性, 应慎重对待评价结论。今后有必要严格按照CONSORT标准^[17]开展大样本、多中心、高质量的临床随机对照试验, 并长期随访, 以进一步验证上述结论。

4 参考文献

- Herszenyi L, Miheller P, Tulassay Z. Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2007; 25: 267-269 [PMID: 17827953]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012•广州). *中华内科杂志* 2012; 51: 818-831
- Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942]
- Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.0.0 [updated February 2008]. The Cochrane Collaboration, 2008
- Pardi DS, Loftus EV, Kremers WK, Keach J, Lindor KD. Ursodeoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 2003; 124: 889-893 [PMID: 12671884]
- Sjöqvist U, Tribukait B, Ost A, Einarsson C, Oxelmark L, Löfberg R. Ursodeoxycholic acid treatment in IBD-patients with colorectal dysplasia and/or DNA-aneuploidy: a prospective, double-blind, randomized controlled pilot study. *Anticancer Res* 2004; 24: 3121-3127 [PMID: 15510599]
- Eaton JE, Silveira MG, Pardi DS, Sinakos E, Kowdley KV, Luketic VA, Harrison ME, McCashland T, Befeler AS, Harnois D, Jorgensen R, Petz J, Lindor KD. High-dose ursodeoxycholic acid is associated with the development of colorectal neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1638-1645 [PMID: 21556038 DOI: 10.1038/ajg.2011.156]
- Lindström L, Boberg KM, Wikman O, Friis-Liby I, Hultcrantz R, Prytz H, Sandberg-Gertzén H, Sangfelt P, Rydning A, Folvik G, Gangsøy-Kristiansen M, Danielsson A, Bergquist A. High dose ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis does not prevent colorectal neoplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 451-457 [PMID: 22221173 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04966.x]
- Soetikno RM, Lin OS, Heidenreich PA, Young HS, Blackstone MO. Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 48-54 [PMID: 12085034]
- Silveira MG, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 689-698 [PMID: 18701947]
- Khare S, Mustafi R, Cerda S, Yuan W, Jagadeeswaran S, Dougherty U, Tretiakova M, Samarel A, Cohen G, Wang J, Moore C, Wali R, Holgren C, Joseph L, Fichera A, Li YC, Bissonnette M. Ursodeoxycholic acid suppresses Cox-2 expression in colon cancer: roles of Ras, p38, and CCAAT/enhancer-binding protein. *Nutr Cancer* 2008; 60: 389-400 [PMID: 18444174 DOI: 10.1080/01635580701883003]
- Tung BY, Emond MJ, Haggitt RC, Bronner MP, Kimmey MB, Kowdley KV, Brentnall TA. Ursodiol use is associated with lower prevalence of colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Ann Intern Med* 2001; 134: 89-95 [PMID: 11177311]
- Biancone L, Michetti P, Travis S, Escher JC, Moser G, Forbes A, Hoffmann JC, Dignass A, Gionchetti P, Jantschek G, Kiesslich R, Kolacek S, Mitchell R, Panes J, Soderholm J, Vucelic B, Stange E. European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: Special situations. *J Crohns Colitis* 2008; 2: 63-92 [PMID: 21172196 DOI: 10.1016/j.crohns.2007.12.001]
- Farraye FA, Odze RD, Eaden J, Itzkowitz SH, McCabe RP, Dassopoulos T, Lewis JD, Ullman TA, James T, McLeod R, Burgart LJ, Allen J, Brill JV. AGA medical position statement on the diagnosis and management of colorectal neoplasia in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2010; 138: 738-745 [PMID: 20141808 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.037]
- Schulz KF, Chalmers I, Hayes RJ, Altman DG. Empirical evidence of bias. Dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials. *JAMA* 1995; 273: 408-412 [PMID: 7823387 DOI: 10.1001/jama.273.5.408]
- Ashraf I, Choudhary A, Arif M, Matteson ML, Hammad HT, Puli SR, Bechtold ML. Ursodeoxycholic acid in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis for prevention of colon cancer: a meta-analysis. *Indian J Gastroenterol* 2012; 31: 69-74 [PMID: 22528343 DOI: 10.1007/s12664-012-0175-3]
- Schulz KF, Moher D, Altman DG. CONSORT 2010 comments. *Lancet* 2010; 376: 1222-1223 [PMID: 20934594 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61879-X]

■同行评价

本文就UDCA预防UC癌变作一Meta分析, 研究结论为指导临床用药提供了重要依据。

编辑 田滢 电编 闫晋利



新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素

霍晓灵, 秦健, 张炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子,且与胃癌的发生密切相关。对新疆伊犁地区上消化道疾病患者*H. pylori*感染率相关因素进行分析,为临床有效的*H. pylori*防治措施提供科学依据。

霍晓灵, 秦健, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜, 新疆生产建设兵团四师医院 新疆维吾尔自治区伊宁市 835000

张炜, 江苏大学附属医院消化科 江苏省镇江市 212001

霍晓灵, 教授, 主任医师, 主要从事幽门螺杆菌的治疗、消化系统早癌、胰腺疾病诊治的研究。

作者贡献分布: 此课题由霍晓灵设计, 并且提供资金; 由霍晓灵、张炜、秦健、叶妮娜及朱雪莲提供临床病例; 张文珍完成¹⁴C尿素呼气试验检查并收集记录临床资料; 秦健、叶妮娜、窦玉勤及张炜完成胃镜检查; 数据分析由霍晓灵、张炜及秦健完成; 本论文写作由霍晓灵、张炜及秦健完成; 霍晓灵与张炜负责组织协调。

通讯作者: 霍晓灵, 教授, 主任医师, 835000, 新疆维吾尔自治区伊宁市新华西路56号, 新疆生产建设兵团四师医院消化内科。huoxl963@126.com

电话: 0999-8039027

收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-03-25

接受日期: 2013-05-08 在线出版日期: 2013-06-08

Factors related to rate of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili

Xiao-Ling Huo, Jian Qin, Wei Zhang, Wen-Zhen Zhang, Xue-Lian Zhu, Yu-Qin Dou, Ni-Na Ye

Xiao-Ling Huo, Jian Qin, Wen-Zhen Zhang, Xue-Lian Zhu, Qin-Yu Dou, Ni-Na Ye, Xinjiang Production and Construction Corps-Four Division Hospital, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Wei Zhang, Department of Gastroenterology, Jiangsu University Affiliated Hospital, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Xiao-Ling Huo, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xinjiang Production and Construction Corps-Four Division Hospital, 56 Xinhua West Road, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. huoxl963@126.com

Received: 2013-01-31 Revised: 2013-03-25

Accepted: 2013-05-08 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the status of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili, Xinjiang.

METHODS: A total of 3925 patients with upper gastrointestinal symptoms, including 2183 males and 1742 females, were included in the study. All patients received gastroscopy and ¹⁴C-UBT.

The rate of *H. pylori* infection was calculated. The effect of disease type, gender, age, ethnicity, occupation and living region on the rate of *H. pylori* infection was analyzed.

RESULTS: The overall rate of *H. pylori* infection was 50.57%, obviously lower than that ten years ago. The rate of *H. pylori* infection was different among each age group. Han nationality patients had a lower rate of *H. pylori* infection than minority patients. Rural residents had a higher rate of *H. pylori* infection than urban and suburban residents.

CONCLUSION: *H. pylori* infection is closely related to ethnicity, living area, age, economic level, and environment in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Infection rate; Upper gastrointestinal diseases; Yili

Huo XL, Qin J, Zhang W, Zhang WZ, Zhu XL, Dou YQ, Ye NN. Factors related to rate of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(16): 1568-1572 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1568>

摘要

目的: 研究新疆伊犁地区各类上消化道疾病患者幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染情况以及与10年前本地区患各类上消化道疾病*H. pylori*感染情况对比分析。

方法: 有上消化道症状前来我院就诊的患者3925例, 其中男2183例, 女1742例, 所有患者均行胃镜检查并同时行¹⁴C尿素呼气试验检查, 阳性者为*H. pylori*感染。针对不同疾病种类、性别、年龄、族别、职业、生活地区分布进行分析。并将现在的感染率与10年前的感染率进行对比分析。

结果: *H. pylori*总感染率为50.57%。与10年前

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科; 邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科

本地区患各类上消化道疾病 *H. pylori* 感染率对比明显下降, 各年龄组 *H. pylori* 感染率有所不同; 汉族患者 *H. pylori* 感染率低于少数民族患者; 农村居民感染率高于城区和郊区居民感染率。

结论: *H. pylori* 感染与民族、区域、年龄、经济水平、环境卫生等因素密切相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 感染率; 上消化道疾病; 伊犁地区

核心提示: 目前确认幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子, 与胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤(mucosa-associated lymphoid tissue)的发生有关, 将 *H. pylori* 定为第1类致癌因子。本文针对新疆伊犁地区上消化道疾病患者 *H. pylori* 感染率相关因素及10年对比分析, 从而明确本地区人群 *H. pylori* 感染率与区域、民族、年龄、性别、经济水平、生活条件及环境卫生等因素均相关。

霍晓灵, 秦健, 张炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜. 新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1568-1572 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i16.1568>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)研究已成为学术界的热点。目前确认 *H. pylori* 是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子, 并可能与胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)的发生相关, 且与胃癌的发生也有着非常密切的关系^[1]。1994年世界卫生组织/国际癌症研究机构(WHO/IARC)将 *H. pylori* 定为第1类致癌因子, 并明确为胃癌的危险因素^[2]。1988年Correa等^[3]提出胃癌的发生模式: “正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎-小肠型肠上皮化生-大肠型肠上皮化生-异型增生(中重度)-胃癌(肠型)”, 这是目前较为认可的胃癌进展模式。由于 *H. pylori* 的存在可以诱导慢性萎缩性胃炎、肠化生、胃黏膜上皮内瘤变, 加速胃癌癌前病变癌变的速度, 根除 *H. pylori* 对于逆转胃癌癌前病变起到了关键的作用^[4]。流行病学调查提示, 不同国家和地区之间 *H. pylori* 感染可有显著差异, 新疆伊犁地区处于我国西北边陲。社会经济状况与人民生活水平与内地省

区相对落后, 各种消化系疾病的发病率均很高, 尤其新疆伊犁地区哈萨克族食管癌发病率很高, 为了解本地区 *H. pylori* 感染情况, 我们对来我院就诊的有上消化道疾病的门诊及住院的3925例患者进行¹⁴C呼气试验, 并与10年前本地区 *H. pylori* 感染率对比研究分析, 以了解伊犁地区人群 *H. pylori* 感染状况及相关因素, 从而为临床有效的 *H. pylori* 防治措施提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-07/2012-06于我院就诊的有上消化道症状的门诊及住院患者3925例, 对每位患者均行胃镜检查并选择¹⁴C呼气试验检查 *H. pylori* (所有检查者应排除1 mo内服用过抗 *H. pylori* 感染药物, 如: 质子泵抑制剂、抗生素、铋剂和非甾体类抗炎药物, 并排除合并心、脑、肝、肾和造血系统等严重疾病者及严重精神疾病者, 如抑郁症、焦虑症以及妊娠和哺乳期患者)其中男2183例, 女1742例; 汉族2867例, 少数民族(维、哈萨克、回、蒙古)1058例。

1.2 方法

1.2.1 胃镜检查: 采用OLYMPUS-H260、140电子胃镜(日本), 胃镜诊断采用修订后的悉尼标准。
1.2.2 *H. pylori* 感染率测定: 采用HUBT-01型¹⁴C尿素呼气试验 *H. pylori* 测试仪(灵敏度90%-97%, 特异性89%-100%), 试剂盒采用尿素[¹⁴C]微量胶囊; *H. pylori* 感染率结果判断标准为, 每分钟衰变值(disintegration per minute, DPM)以¹⁴C-DPM值≥100 dpm/(mmol)者为阳性, <100 dpm/(mmol)为阴性。

统计学处理 计数资料以例数和百分率进行描述, 分析方法采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别 *H. pylori* 感染率 *H. pylori* 总感染率为50.57%(1985/3925); 男性 *H. pylori* 感染率50.98%(1113/2183), 女性 *H. pylori* 感染率为49.25%(872/1742), 性别比较感染率无统计学意义($\chi^2 = 0.76$, $P>0.50$) (表1)。

2.2 *H. pylori* 感染与年龄的关系 各年龄组 *H. pylori* 感染率不同, 21-30岁、31-40岁为最高峰, 自51岁后开始下降, 到71岁开始逐渐升高。各年龄组感染率比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 18.134$, $P<0.05$, 表2)。

2.3 汉族与少数民族 *H. pylori* 感染特点 3925例有

■ 研发前沿

H. pylori 是上消化道疾病发生的重要致病因子, 针对本地区消化系统疾病发病率高, 对新疆伊犁地区上消化道疾病患者 *H. pylori* 感染率及十年对比分析, 从而了解本地区 *H. pylori* 的感染率相关因素, 对临床消化系疾病的诊治具有一定指导意义。

■创新盘点

本文主要针对处于新疆伊犁地区社会经济状况、生活习惯等与内地省区有所不同、且属多民族地区,各种消化系统疾病及食管癌发病率很高,了解本地区*H. pylori*的感染率相关因素同时进行了十年对比分析,为提高本地区根除*H. pylori*的治疗提供了科学依据。

表 1 不同性别组*H. pylori*感染率分布情况

性别	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	感染率(%)
男	2183	1113	1070	50.98
女	1742	872	870	49.25
合计	3925	1985	1940	50.57

表 2 各年龄组*H. pylori*感染率

年龄	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	感染率(%)
20岁以下	75	42	33	56
21-30岁	232	128	104	55.17
31-40岁	787	429	358	54.51
41-50岁	1015	523	492	51.53
51-60岁	598	291	307	48.66
61-70岁	731	330	401	45.14
71-80岁	433	213	220	49.19
81岁以上	54	29	25	53.7
合计	3925	1985	1940	50.57

表 3 汉族与少数民族*H. pylori*感染

民族	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)
少数民族	1058	660	398	62.38
汉族	2867	1325	1542	46.21
总合	3925	1985	1940	50.57

表 4 不同消化系统疾病*H. pylori*感染率

疾病	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
十二指肠溃疡	410	334	81.46
胃溃疡	378	285	75.40
胃炎	2380	1163	48.87
胃癌	68	32	47.06
其他胃病	689	171	24.82
合计	3925	1985	50.57

消化系统症状人群中,汉族、少数民族(维、哈萨克、回、蒙古)*H. pylori*感染率差异($\chi^2 = 80.800$, $P < 0.005$)有统计学意义(表3)。

2.4 不同上消化道疾病与*H. pylori*感染的关系 不同消化系统疾病*H. pylori*感染率不同,其中十二指肠溃疡81.46%(334/410),胃溃疡75.40%(285/378),胃炎(包括浅表性、活动性及萎缩性胃炎)48.87%,胃癌47.06%(32/68),其他胃病(包括食管癌、反流性食管炎、胃息肉、残胃炎等)24.82%(表4)。

2.5 不同生活地区*H. pylori*感染状况 3925例有消化系统症状人群中,城区居民1532例,阳性者729例, *H. pylori*感染率47.56%;郊区居民965例,阳性者493例, *H. pylori*感染率48.91%;农村居民1428例,阳性者784例,感染率54.87%。农村居民感染率高于城区居民感染率,差异有统计学意义($\chi^2 = 15.836$, $P < 0.005$)。农村居民感染率高于郊区居民感染率,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.226$, $P < 0.005$)。城区与郊区感染率无统计学意义($\chi^2 = 0.418$, $P > 0.05$)(表5)。

2.6 与10年前*H. pylori*感染状况的对比 1997-06/1998-02伊犁地区患各类胃部疾病*H. pylori*总感染率为61.9%,其中消化性溃疡*H. pylori*感染率为81.74%,慢性胃炎*H. pylori*感染率为55.69%,胃癌*H. pylori*感染率为57.2%^[5]。2009-07/2012-06本地区上消化道疾病患者*H. pylori*总感染率为50.57%,消化性溃疡*H. pylori*感染率为78.55%,

胃炎感染率*H. pylori*为48.87%,胃癌*H. pylori*感染率为47.06%,总感染率及部分疾病*H. pylori*感染率均较前明显下降(表6, 7)。

3 讨论

有资料研究报道表明,我国*H. pylori*感染率平均为55%^[6],在不同国家之间、同一国家的不同地区、不同种族之间*H. pylori*感染率存在着明显的差异(1.0%-79%)^[7]。本研究显示新疆伊犁地区有上消化道疾病患者*H. pylori*感染阳性率为50.57%,略低于全国平均感染率,但高于我国普通人群*H. pylori*感染率底线水平^[8],也高于新疆谢会忠等报道的*H. pylori*感染率^[9]。这与伊犁地区经济、生活水平以及区域等有关。男性感染率略高于女性,二者比较无显著差异,有统计学意义,与相关报道一致^[7,8]。本研究显示*H. pylori*感染率在各年龄的分布有以下特点,20岁以下患者感染率为56%,21-30岁、31-40岁为最高峰,分别为55.17%和54.51%。此年龄段正值青壮年,社交、应酬、聚餐最多,并与无分餐饮食习惯造成交叉感染有关^[10]。41-50岁为51.53%、51-60岁、61-70岁分别为48.66%和45.14%。自51岁后开始下降,到71岁开始逐渐升高。20岁以下患者感染率较高,考虑与样本较少有关,及与其中儿童人员为易感人群,与儿童胃酸分泌过少、免疫力低下有关。流行病学显示,50%以上成人*H. pylori*相关疾病患者其*H. pylori*感染是在儿童期获得。

有关*H. pylori*感染与民族的关系,据文献报道彝族、藏族、维族、白族等少数民族人群感

表 5 城区、郊区、农村 *H. pylori* 感染率

生活地区	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	感染率(%)
城区	1532	729	803	47.56
郊区	965	472	493	48.91
农村	1428	784	644	54.87
合计	3925	1985	1940	50.57

表 6 1997-06/1998-02与2009-07/2012-06 *H. pylori* 的感染率

时间段	<i>n</i>	阳性数(<i>n</i>)	感染率(%)
1997-06/1998-02	917	568	61.9
2009-07/2012-06	3925	1985	50.57

表 7 1997-06/1998-02与2009-07/2012-06 *H. pylori* 感染率比较 (%)

时间段	消化性溃疡	胃炎	胃癌
	<i>H. pylori</i> 感染率	<i>H. pylori</i> 感染率	<i>H. pylori</i> 感染率
1997-06/1998-02	81.74	55.69	57.2
2009-07/2012-06	78.55	48.87	47.06

感染率为53.00%-66.80%, 本次调查少数民族感染率为62.38%, 明显高于汉族 *H. pylori* 感染率, 两者比较有统计学意义。本地区少数民族大多数居住在农牧区。可能与不同的民族背景、生活方式、饮食习惯以及居住条件、生活环境等复杂因素有关^[9-11]。并有报道 *H. pylori* 感染率的差别可能与遗传因素有关。本次研究浅表性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡及胃癌中 *H. pylori* 感染率分别为48.87%、75.40%、81.46%、47.06%, 本研究结果与文献报道^[9]基本一致。其中消化性溃疡 *H. pylori* 感染率明显>50%, 因此认为消化性溃疡与 *H. pylori* 的感染有密不可分的关系, *H. pylori* 的感染增加了胃十二指肠溃疡的危险性^[12]。

本次研究农村 *H. pylori* 感染率为54.87%, 明显高于郊区、城区, 有统计学意义, 表明 *H. pylori* 的感染受经济状况、居住、卫生条件差及密切生活接触等因素有关, 导致 *H. pylori* 经口-口、粪-口传播的可能性加大, 这与胡伏莲^[13]、王凯娟等^[14]的报道一致。

1997-06/1998-02与2009-07/2012-06新疆伊犁地区上消化道疾病患者 *H. pylori* 感染率分别为61.9%、50.57%, 相比较10年来, 本地区上消

化道疾病患者 *H. pylori* 感染率明显下降, 可能与本地区经济水平的提高、环境卫生及生活条件的不断改善、人们健康意识的提高以及对 *H. pylori* 感染认识增强有关, 更重要的是普及了有上消化道疾病的患者进行 *H. pylori* 的检测, 并不断规范了根除 *H. pylori* 的治疗等方面均有关^[15]。

本研究显示, *H. pylori* 的感染率与区域、民族、年龄、性别、经济水平、生活条件及环境卫生等因素均相关, *H. pylori* 感染是形成萎缩性胃炎以及向胃癌转化的重要促进因素。通过对 *H. pylori* 检测, 对 *H. pylori* 阳性者采取积极有效的根除治疗, 对萎缩性胃炎的发生和对胃癌的早期预防具有重要意义^[16]。因此, 通过大力健康宣教, 提高对 *H. pylori* 感染危害的认识, 开展 *H. pylori* 的检测, 积极根除 *H. pylori* 感染, 在上消化道疾病的诊治中应重视本地区的 *H. pylori* 感染情况和特点, 起到预防及治疗的积极作用, 从而减少胃癌的发生。

4 参考文献

- 1 萧树东, 许国铭. 中华胃肠病学. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 276
- 2 Mégraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-1384 [PMID: 15306603]
- 3 Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2: 58-60 [PMID: 49653]
- 4 范尧夫, 魏睦新. 胃癌癌前病变的研究进展及防治对策. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1807-1812
- 5 霍晓灵, 李霞. 伊犁地区患各类胃部疾病感染幽门螺杆菌阳性率的研究分析. 农垦医学 1999; 21: 179-180
- 6 世界胃肠病学组织(WGO-OMGE)临床指南-发展中国家幽门螺杆菌感染. 胃肠病学 2007; 12: 41
- 7 Moran AP. Relevance of fucosylation and Lewis antigen expression in the bacterial gastroduodenal pathogen *Helicobacter pylori*. *Carbohydr Res* 2008; 343: 1952-1965 [PMID: 18279843]
- 8 中华医学会消化病学分会. 对幽门螺杆菌若干问题的共识意见(2003.中国). 中华医学杂志 2004; 84: 522
- 9 艾斯凯尔·阿斯木, 麦麦提图尔荪·麦麦提, 麦地尼也提, 谢会忠. 新疆维、汉、哈族有消化道症状患者幽门螺杆菌感染率分布特征与高危因素及相关疾病的分析. 新疆医学 2012; 42: 4-9
- 10 Rodriguez-Diaz E, Bigio IJ, Singh SK. Integrated Optical Tools for Minimally Invasive Diagnosis and Treatment at Gastrointestinal Endoscopy. *Robot Comput Integr Manuf* 2011; 27: 249-256 [PMID: 21152112]
- 11 Celiński K, Kurzeja-Miroslaw A, Słomka M, Cichoż-Lach H, Madro A, Kasztelan-Szczerbińska B. The effects of environmental factors on the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in inhabitants of Lublin Province. *Ann Agric Environ Med* 2006; 13: 185-191 [PMID: 17195990]
- 12 周文斌, 李志英. 上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染情况分析. 中华医院感染学杂志 2012; 22: 962-963
- 13 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染治疗中的问题及其处理策略.

■应用要点

了解新疆伊犁地区 *H. pylori* 的感染率与区域、民族、年龄、性别、经济水平、生活条件及环境卫生等因素均相关。提高对 *H. pylori* 感染危害的认识, 重视本地区 *H. pylori* 的感染情况和特点, 开展 *H. pylori* 的检测和规范根除治疗, 起到积极预防及治疗的作用。

■同行评价

本文思路清晰、内容丰富,方法科学、先进,统计学分析结果明确,研究有一定深度,对本地区消化系疾病的诊治有一定指导意义。

- 14 中国中西医结合杂志 2010; 3: 229-232
王凯娟, 王润田. 中国幽门螺杆菌流行病学Meta分析. 中华流行病学杂志 2003; 24: 443-446
- 15 Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus

Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180 [PMID: 11860399]

- 16 Lee CW, Rickman B, Rogers AB, Ge Z, Wang TC, Fox JG. *Helicobacter pylori* eradication prevents progression of gastric cancer in hypergastrinemic INS-GAS mice. *Cancer Res* 2008; 68: 3540-3548 [PMID: 18441088]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 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)

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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, 循证医学, 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

《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期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °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} , V_d , $T_{1/2}$ CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 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 $37.6^{\circ}\text{C} \pm 1.2^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$, $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, 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 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 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。

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1 000-1 500 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6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 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 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

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 and 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.

《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: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《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。

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 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: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 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.

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 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 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天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

6.1 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.

6.2 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, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 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.

6.3 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: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》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.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

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!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

黄恒青 主任医师
福建省第二人民医院消化内科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘丽江 教授
江汉大学医学院

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染病学

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

张志坚 教授
福州总医院消化内科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、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到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：_____

2012年1月





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

