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

世界华人消化杂志

世界华人消化杂志®

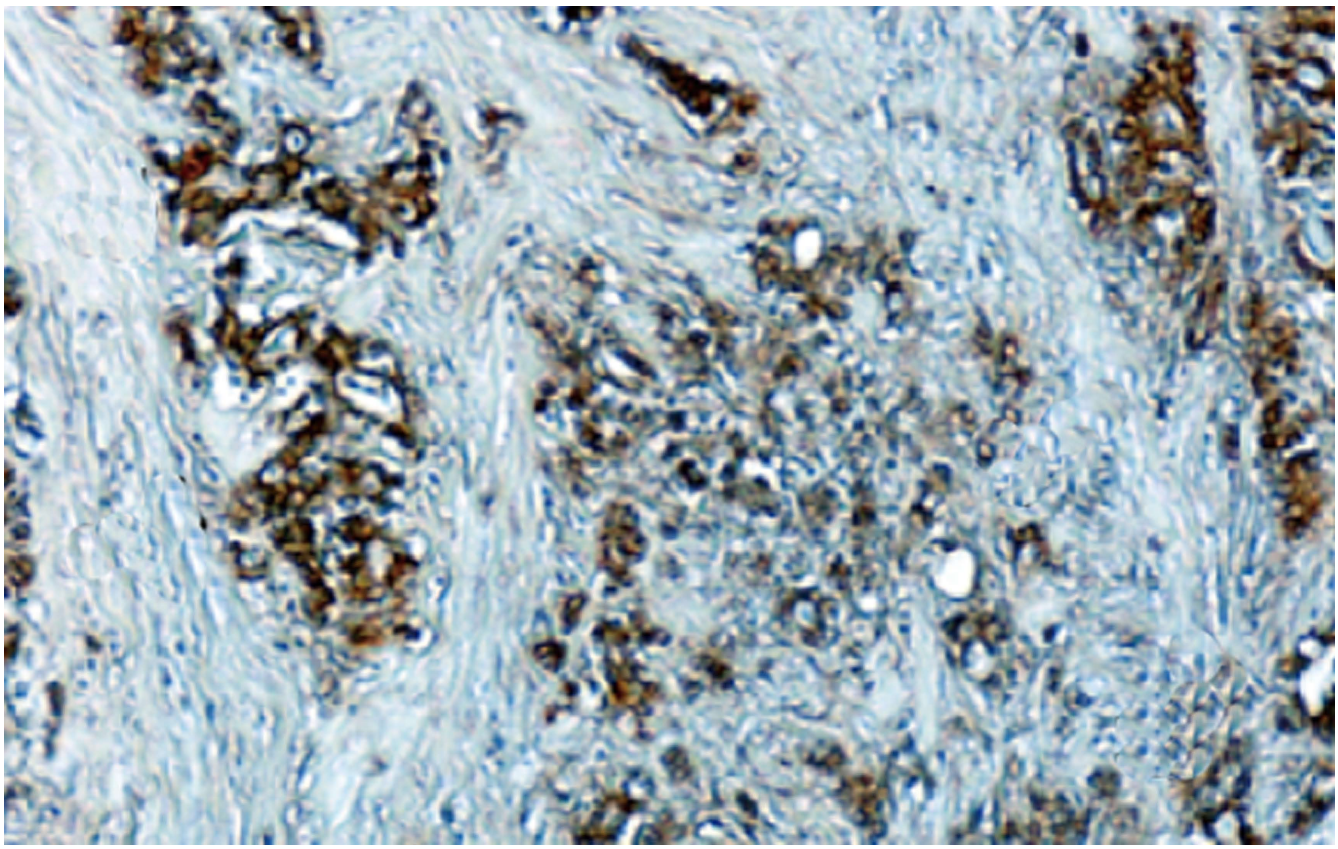
WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 8 月 18 日　第 21 卷　第 23 期　(Volume 21 Number 23)

www.wjgnet.com

二零一三年八月十八日　第二十一卷　第二十三期



23/2013

《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.

ISSN 1009-3079
23>
9 771009 307056

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
季国忠教授
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
庹必光教授
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
张志坚教授
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
陈凛教授
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
英卫东教授
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
麻勇副研究员
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
石毓君副研究员
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
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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
侯凤刚副教授
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
黄园教授
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
刘淼副教授
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
阴赖宏研究员
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 8 月 18 日　第 21 卷　第 23 期　(总第427期)

基础研究

2241 上调*CDX2*基因表达对人胃癌SGC-7901细胞miRNA表达谱及生物学功能的影响
张健锋, 董丽娟, 蒋伟, 张弘, 丁伟峰, 周国雄, 毛振彪

2250 PI3K/Akt信号通路抑制剂对人肝癌HepG2细胞的体外抑制作用及其机制
张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓

2258 纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用
王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄

2267 小鼠放射性十二指肠炎模型的建立
万芝清, 陈晓, 周平, 韩根成, 王济东, 夏廷毅

2275 丹参多酚酸盐注射液治疗小鼠实验性结肠炎的疗效
蒋晓芸, 戎兰, 宋艳艳, 蒋义斌, 钟良, 孙大裕

临床研究

2282 NSAIDs相关性溃疡再出血的预防
郭淦华, 宋丰前, 王俊, 王芳芳

文献综述

2289 MicroRNA与胃癌相关性的研究进展
刘皓, 范尧夫, 魏睦新

2294 累及下腔静脉肝癌治疗的进展
段昌虎, 邰升

2300 炎症性肠病的脑肠互动及针灸干预
包春辉, 窦传宇, 徐斌, 刘慧荣, 吴焕淦

2308 难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展
张毅, 黄光明

研究快报

2315 水通道蛋白3、8、9在结肠大部切除大鼠剩余结肠黏膜中的表达
张国平, 袁维堂

临床经验

2320 尖端电喷雾萃取电离质谱技术诊断食管癌22例
赵宗盛, 徐建军, 陈焕文, 陈立如, 温华, 朱腾高, 魏益平

2325 慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征
李鑫静, 曲利娟, 郑雄伟, 陈丽红, 董菁, 李东良, 潘晨, 吕旭江, 郑智勇

2331 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗胃食管反流病60例
姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华

2335 熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病的系统评价
李韦, 王枫, 吕宗舜, 张爱青

2344 人免疫球蛋白治疗肝硬化合并感染105例
余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周 芳, 吕其军

2349 肝动脉灌注化疗栓塞术对混合型肝癌的疗效分析50例
蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石

2355 老年高血脂性急性胰腺炎患者行血浆置换法术后的临床效果分析74例
赵爱荣, 张慧, 田晓华, 刘阳, 刘卫荣

2359 麦粒灸结合针刺与单纯针刺治疗慢性功能性便秘的疗效比较
李春日, 荆秦, 刘林, 谷忠悦

2364 成人腹型过敏性紫癜临床表现及内镜特点分析26例
刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波

病例报告

2367 食管结石2例
张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧

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	2257　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 2281　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 2288　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2299　《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) 2307　《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 2314　2012年《世界华人消化杂志》发文情况 2324　《世界华人消化杂志》正文要求 2330　《世界华人消化杂志》外文字符标准 2334　《世界华人消化杂志》栏目设置 2343　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄. 纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2258-2266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258
本期责任人	编务 车鑫鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界華人消化雜志

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 2013-08-18
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
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
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, 分别位居内科学研究领域类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

August 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 23

BASIC RESEARCH

2241 Effect of up-regulation of CDX2 expression on miRNA expression profiles and biological behavior in gastric cancer SGC-7901 cells
Zhang JF, Dong LJ, Jiang W, Zhang H, Ding WF, Zhou GX, Mao ZB

2250 Inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2
Zhang M, Peng L, Qiao ZB, He HT, Zhou Y, Xu Z

2258 Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells
Wang HT, Guo HF, Tan XD, Zhang J, Li HS, Yang YF, Wang ZP, Sun Y, Zhang XB

2267 Development of a mouse model of radiation-induced duodenitis
Wan ZQ, Chen X, Zhou P, Han GC, Wang JD, Xia TY

2275 Efficacy of Salvianolate Injection in the treatment of experimental colitis in mice
Jiang XY, Rong L, Song YY, Jiang YB, Zhong L, Sun DY

CLINICAL RESEARCH

2282 Strategies for prevention of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers
Guo GH, Song FQ, Wang J, Wang FF

REVIEW

2289 Progress in understanding association between microRNAs and gastric cancer
Liu H, Fan YF, Wei MX

2294 Progress in treatment of hepatocellular carcinoma with inferior vena cava invasion and/or thrombosis
Duan CH, Tai S

2300 Brain-gut interactions and inflammatory bowel disease: Implications for acupuncture and moxibustion treatment
Bao CH, Dou CZ, Xu B, Liu HR, Wu HG

2308 *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: An update
Zhang Y, Huang GM

RAPID COMMUNICATION

2315 Expression of AQPs 3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection
Zhang GP, Yuan WT

CLINICAL PRACTICE

2320 Tip-spray ionization mass spectrometry for diagnosis of esophageal cancer: An analysis of 22 cases
Zhao ZS, Xu JJ, Chen HW, Chen LR, Wen H, Zhu TG, Wei YP

2325 Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis
Li XJ, Qu LJ, Zheng XW, Chen LH, Dong J, Li DL, Pan C, Lv XJ, Zheng ZY

2331 Efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with anxiety: An analysis of 60 cases
Jiang QH, Chen Y, Wang AX, Luo ZH

2335 Efficacy of ursodesoxycholic acid in treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis
Li W, Wang F, Lv ZS, Zhang AQ

2344 Human immunoglobulin for treatment of infection in patients with cirrhosis
Yu YQ, Liu HQ, Chen TS, Zhou F, Lv QJ

2349 Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after transcatheter arterial chemoembolization: Therapeutic response and prognostic factors
Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S

2355 Therapeutic effect of plasma exchange in treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis in elderly patients: An analysis of 74 cases
Zhao AR, Zhang H, Tian XH, Liu Y, Liu WR

2359 Clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in management of chronic functional constipation
Li CR, Jin Q, Liu L, Gu ZY

2364 Clinical manifestations and endoscopic characteristics of adult abdominal type allergic purpura: An analysis of 26 cases
Liu LX, Zhu FQ, Lin H, Wen P, Wen JB

CASE REPORT	2367 Esophageal calculus: Report of two cases *Zhang MM, Jiang DL, Li WL, Lv M, Zhan SH*
APPENDIX	Ⅰ－Ⅴ Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* Ⅰ Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	Ⅰ Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Wang HT, Guo HF, Tan XD, Zhang J, Li HS, Yang YF, Wang ZP, Sun Y, Zhang XB*. Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2258-2266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xin-Xin Che* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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 August 18, 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.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2241-2249
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

上调*CDX2*基因表达对人胃癌SGC-7901细胞miRNA表达谱及生物学功能的影响

张健锋, 董丽娟, 蒋 伟, 张 弘, 丁伟峰, 周国雄, 毛振彪

张健锋, 董丽娟, 蒋伟, 张弘, 周国雄, 毛振彪, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001
丁伟峰, 南通大学附属医院医学检验中心 江苏省南通市 226001
张健锋, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的基础与临床研究.
作者贡献分布: 张健锋与董丽娟对此文所作贡献均等; 此课题由张健锋、董丽娟及毛振彪设计; 研究过程由张健锋、董丽娟、蒋伟、张弘、丁伟峰及周国雄操作完成; 研究所用试剂与分析工具由张健锋与张弘提供; 数据分析由张健锋与董丽娟完成; 本论文写作由张健锋、董丽娟及毛振彪完成.
通讯作者: 毛振彪, 教授, 主任医师, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科. mzb63@163.com
收稿日期: 2013-04-20 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Effect of up-regulation of CDX2 expression on miRNA expression profiles and biological behavior in gastric cancer SGC-7901 cells

Jian-Feng Zhang, Li-Juan Dong, Wei Jiang, Hong Zhang, Wei-Feng Ding, Guo-Xiong Zhou, Zhen-Biao Mao

Jian-Feng Zhang, Li-Juan Dong, Wei Jiang, Hong Zhang, Guo-Xiong Zhou, Zhen-Biao Mao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Wei-Feng Ding, Medical Laboratory Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Zhen-Biao Mao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. mzb63@163.com
Received: 2013-04-20 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To screen differentially expressed miRNAs in human gastric carcinoma cells with up-regulated caudal type homeobox gene 2 (*CDX2*) expression and to analyze their effect on biological behavior of cells.

METHODS: A recombinant eukaryotic expression plasmid carrying the *CDX2* gene was constructed. SGC-7901 cells were divided into three groups: non-transfected cells, cells transfected with PEGFP-N1 or PEGFP-N1-CDX2. The expression of GFP was observed by fluorescent microscopy. Expression of CDX2 mRNA and EGFP-CDX2 fusion protein was detected by qRT-PCR and Western blot, respectively. Cell proliferation was measured using CCK8 assay. *In vitro* cell migration and adhesion were measured by cell scratch assay, Transwell assay and cell adhesion assay. Differentially expressed miRNAs were detected using a miRNA chip, and their target genes were forecasted using Miranda, TargetScan and Mirtarget2 software.

RESULTS: The eukaryotic expression vector PEGFP-N1-CDX2 was successfully constructed. The expression levels of CDX2 mRNA and protein were higher in SGC-7901 transfected with PEGFP-N1-CDX2 than in control cells. In SGC-7901 cells transfected with PEGFP-N1-CDX2, cell proliferation, invasion and adhesion were significantly inhibited (all $P < 0.05$) compared with non-transfected cell or cells transfected with PEGFP-N1. Of 59 identified differentially expressed miRNAs between cells transfected PEGFP-N1-CDX2 and those transfected with PEGFP-N1, 25 had > 2-fold up-regulation and 34 had > 2-fold down-regulation in cells transfected with PEGFP-N1-CDX2. Many target genes of these differentially expressed miRNAs were predicted using miRNA target predication tools.

CONCLUSION: Up-regulation of CDX2 expression inhibits the growth, migration and adhesion of SGC-7901 cells. The antitumor effect of CDX2 may be associated with miRNA expression.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Caudal type homeobox gene 2; Gastric cancer; Cell proliferation; Cell movement; Microarray

Zhang JF, Dong LJ, Jiang W, Zhang H, Ding WF, Zhou GX, Mao ZB. Effect of up-regulation of CDX2 expression on miRNA expression profiles and biological behavior in gastric cancer SGC-7901 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2241-2249 URL: http://www.

■背景资料
胃癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 严重危害着人类的生命健康. 胃癌的发生发展是一个多阶段、多步骤、涉及多基因的病理过程, 其确切的发病机制至今尚不清楚.

■同行评议者
斯坎德尔•白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

■研发前沿
研究发现尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)能够抑制肠化生组织向胃癌的转变，推测他是抑制胃癌侵袭和转移的重要因素. 近年来发现miRNA与肿瘤的发病密切相关，参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭或血管形成等过程.

wjgnet.com/1009-3079/21/2241.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2241

摘要

目的: 筛选上调尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)基因表达时人的胃癌细胞SGC-7901中差异表达的miRNA并预测其靶基因，并观察其对胃癌细胞生物学行为的影响.

方法: 提取瞬时转染48 h后空载体组(转染PEGFP-N1组)和转染组(转染PEGFP-N1-CDX2组)细胞的总RNA，应用miRNA芯片检测差异表达的miRNA，并通过Miranda、TargetScan、Mirtarget2软件预测其靶基因，通过Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析了解靶基因功能. CCK8法检测细胞增殖能力，划痕试验、Transwell小室、细胞黏附实验检测各组细胞体外迁移黏附能力.

结果: PEGFP-N1-CDX2组较空载体组有59种差异表达的miRNA，其中25种miRNA发生2倍以上表达上调，34种miRNA发生2倍以上表达下调. 通过Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析得到部分miRNA靶基因功能，这些靶基因参与了肿瘤的发生、发展、转移及预后. 与对照组相比，PEGFP-N1-CDX2组的胃癌细胞生长、迁移和黏附能力均明显受到抑制($P<0.05$).

结论: 上调*CDX2*基因表达可明显抑制人胃癌细胞SGC-7901的生长，抑制其迁移黏附能力，*CDX2*基因的抗肿瘤作用可能与miRNA有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 尾型同源盒基因2; 胃肿瘤; 细胞增殖; 细胞运动; miRNA微列阵

核心提示: 近年来发现miRNA与肿瘤的发病密切相关，参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭或血管形成等过程. 上调尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)基因表达可明显抑制人胃癌细胞SGC-7901的生长，抑制其迁移黏附能力，*CDX2*基因的抗肿瘤作用可能与miRNA有关.

张健锋, 董丽娟, 蒋伟, 张弘, 丁伟峰, 周国雄, 毛振彪. 上调*CDX2*基因表达对人胃癌SGC-7901细胞miRNA表达谱及生物学功能的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2241-2249 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2241.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2241

0 引言

胃癌是常见的消化系恶性肿瘤之一，在我国其发病率占消化系恶性肿瘤的首位，严重危害着人类的生命健康. 胃癌的发生发展是一个多阶段、多步骤、涉及多基因的病理过程，其确切的发病机制至今尚不清楚[1,2].

尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)是一种特异性核转录因子，在正常胃黏膜上皮中CDX2阴性表达，在慢性萎缩性胃炎伴肠化的胃黏膜上皮中，随着杯状细胞等一系列肠道特异性细胞的出现，CDX2的表达明显增强，提示CDX2的表达是胃黏膜癌变过程中的早期事件[3,4]. 研究发现CDX2能够抑制肠化生组织向胃癌的转变，因此推测他是抑制胃癌侵袭和转移的重要因素[5-7]. 近年来发现miRNA与肿瘤的发病密切相关，参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭或血管形成等过程[8,9]. 本项目通过分子克隆、实时荧光定量PCR、Western blot、CCK8法、细胞划痕试验、Transwell小室、细胞黏附实验等现代分子生物学技术、在体外环境的试验中研究上调*CDX2*基因表达对胃癌细胞生物学行为的影响，并通过基因芯片扫描技术筛选上调*CDX2*基因表达时差异表达的miRNA，预测其靶基因，分析*CDX2*基因在胃癌发生发展中的可能作用及机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌细胞株AGS、MKN-45和SGC-7901均购自中国科学院细胞库. 3种人胃癌细胞株均在含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液、37 ℃、5%CO_2培养箱内培养. PEGFP-N1、大肠杆菌感受态细胞由南通大学外科实验室提供. TRIzol、PrimeScript RT reagent Kit、SYBR Premix Ex Taq™(Perfect Real Time)(日本TaKaRa公司)，引物合成(上海生工生物工程有限公司)，CDX2抗体(Santa Cruz公司)，辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(碧云天生物技术研究所)，T4 DNA连接酶、限制性核酸内切酶*Xho* Ⅰ、*Hind*Ⅲ(Fermentas公司)，纯化回收试剂盒(Omega公司)，质粒抽提试剂盒(Axygen公司)，TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent(Fermentas公司)，CCK8(日本同仁)，Matrigel胶(BD公司)，结晶紫染色液(碧云天生物技术研究所)，多聚甲醛(Sigma公司)，Transwell小室(Costar公司)，多功能酶标仪(Thermo公司)，

miRCURY™ Hy3™/Hy5™ Power标记试剂盒(丹麦Exiqon公司), Axon GenePix4000B芯片扫描仪(美国Molecular Devices公司).

1.2 方法

1.2.1 CDX2低表达: 胃癌细胞株筛选: 取人胃癌细胞株AGS、SGC-7901、MKN-45各组对数生长期的细胞, TRIzol试剂抽提细胞总RNA. 按说明书分别进行逆转录合成cDNA和实时荧光定量PCR. (1)逆转录反应: 20 μL反应体系含5×PrimeScript Buffer 4 μL、1.5 μL PrimeScript RT Enzyme Mix 1 μL、1 μL Oligo dT Primer(50 μmol/L)、1 μL Random 6 mers(100 μmol/L)、2.7 μL RNA模板、10.3 μL RNase Free ddH_2O; 逆转录反应37 ℃ 15 min, 逆转录酶失活85 ℃ 5 s; (2)实时荧光定量PCR: CDX2引物由Primer 5.0软件设计CDX2 mRNA上游引物序列: 5'-CGC CGC AGA ACT TCG TCA G-3', 下游引物序列: 5'-CGT AGC CAT TCC AGT CCT CCC-3', β-actin上游引物序列: 5'-TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG-3', 下游引物序列: 5'-CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG-3'. 20 μL反应体系含10 μL SYBRPremix Ex Taq™(2×)、0.4 μL PCR Forward Primer(10 μmol/L)、0.4 μL PCR Reverse Primer(10 μmol/L)、0.4 μL ROX Reference Dye(50×)、2.0 μL DNA模板、6.8 μL dH_2O. 反应条件: 95 ℃ 30 s预变性, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 34 s, 共40个循环. 实验结果重复3次. 扩增完毕后分析溶解曲线, 用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析数据结果.

1.2.2 PEGFP-N1-CDX2真核表达质粒的构建: 提取人胃癌细胞株AGS总RNA, 按逆转录试剂盒操作步骤得到CDX2 cDNA, 从Genbank中查找CDX2开放阅读框(942 bp), 用Primer Primier 5.0软件设计带有*Xho* Ⅰ和*Hind*Ⅲ酶切位点的引物. 上游引物: 5'-TTTT CTC GAG ATG TAC GTG AGC TAC CTC CTG-3', 下游引物: 5'-TTTT AAG CTT CTG GGT GAC GGT GGG GTT TAG-3'. 以CDX2 cDNA为模板进行PCR反应扩增目的基因, 反应产物为5'端带有*Xho* Ⅰ位点, 3'端带有*Hind*Ⅲ位点的目的基因片段. PCR扩增反应条件: 94 ℃预变性2 min, 94 ℃变性1 min, 55 ℃退火1 min, 72 ℃延伸2 min, 共25个循环, 最后72 ℃延伸5 min. 取PCR反应产物在1%琼脂糖凝胶中电泳分析, 得到一条特异性区带, 切取目的条带, 将含目的片段的琼脂糖凝胶经DNA纯化回收试剂盒回收. 用*Xho* Ⅰ和*Hind*Ⅲ分别双酶切回收的CDX2片段和PEGFP-N1空载体, 酶切反应体系如下: CDX2(或PEGFP-N1)40 μL, 10×buffer 10 μL, *Xho* Ⅰ 1 μL, *Hind*Ⅲ 1 μL, 37 ℃酶切消化12-16 h, 后行琼脂糖电泳后用纯化回收试剂盒回收. 接下来采用T4 DNA连接酶将经酶切的目的片段及经相同酶切的PEGFP-N1空载体连接, 将连接产物转化大肠杆菌, 在含有卡那霉素的LB培养板中培养16 h. 挑取菌落进行质粒扩增, 提取质粒. 用*Xho* Ⅰ和*Hind*Ⅲ双酶切提取的重组质粒, 反应体系如下: PEGFP-N1-CDX2 40 μL, 10×buffer 10 μL, *Xho* Ⅰ 1 μL, *Hind*Ⅲ 1 μL, 37 ℃酶切消化12-16 h. 取酶切产物5 μL进行琼脂糖凝胶电泳鉴定, 将双酶切鉴定阳性的重组载体送Invitrogen公司进行测序.

1.2.3 重组质粒在SGC-7901细胞中的表达与检测: 实验分为3组: 未转染组, 转染PEGFP-N1组, 转染PEGFP-N1-CDX2组. 取对数生长期细胞重悬, 以2.5×10^5/孔接种于六孔板上, 待细胞融合达70%-90%时用阳离子聚合物TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent介导转染, 4 h后换液继续培养. 转染24 h后倒置荧光显微镜下观察增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)的表达情况. 分别取转染48 h后3组细胞应用实时荧光定量PCR检测mRNA表达, 操作同1.2.1. Western blot检测融合蛋白表达: 用细胞裂解液分别提取转染48 h后3组细胞的蛋白质, 紫外分光光度计测定蛋白质浓度, 以1∶4比例与5×样品缓冲液混匀, 煮沸5 min. 将样品(60 μg/lane)在10%SDS-PAGE胶上电泳(80 V, 40 min, 后100 V, 90 min). 后通过湿转(恒流300 mA, 2 h)转印到PVDF膜上, 在含5%脱脂奶粉的TBS封闭液中封闭2 h, 按预染Marker标记的分子量剪裁转印膜, 加入CDX2抗体(稀释度均为1∶100), 4 ℃过夜, 加入辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(稀释度均为1∶5000)室温孵育2 h, 显色、图像采集及分析处理, 以β-actin为内参照. 实验重复3次.

1.2.4 CCK8法观察细胞增殖: 于96孔板中按3×10^3/孔接种转染PEGFP-N1、转染PEGFP-N1-CDX2和未转染的SGC-7901细胞, 每组设6个复孔, 分为0、24、48、72 h 4个时间段观测, 每孔加入10 μL CCK8液, 37 ℃、5%CO_2培养箱培养3 h, 酶标仪测定各孔A_{450}值. 计算细胞生长抑制率(IR) = (1-实验组*A*值/对照组*A*值)×100%.

1.2.5 划痕试验观察细胞迁移能力: 取对数生长

■相关报道
miRNA不仅可以作为肿瘤抑制因子, 也可以作为肿瘤发生因子, miRNA的表达失控是各种疾病尤其是肿瘤的重要特征.

■**创新盘点**
CDX2是一种特异性核转录因子，文献报道CDX2的异位表达是胃黏膜癌变过程中的早期事件，但上调*CDX2*基因表达对胃癌生物学行为的影响及其与miRNA的关系目前尚不清楚.

期细胞重悬，以2.5×10^5/孔接种于六孔板上，待细胞融合达70%-90%时用阳离子聚合物TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent介导转染48 h后，将各组细胞PBS洗2遍，用无菌200 μL枪尖在单细胞层上划痕，PBS将脱壁的细胞洗掉，用含1%胎牛血清的RPMI 1640培养液，放入培养箱继续培养，分别于划痕后0、24 h在倒置显微镜下每孔随机取4个视野拍照，观察划痕的修复情况，划痕修复率 = [(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度]×100%.

1.2.6 Transwell观察细胞迁移能力：收集瞬时转染48 h后各组细胞重悬，1×10^5/孔接种于Transwell小室的上室，上室为无血清RPMI 1640培养液，下室为含20%胎牛血清的RPMI 1640培养液600 μL，37 ℃、5%CO_2培养箱中培养24 h，用棉签轻轻拭去上室滤膜内侧面贴壁细胞，PBS洗两遍，4%的多聚甲醛固定10 min，吸去固定液，将膜风干，每孔加入600 μL 0.1%结晶紫染液，室温置放30 min，除去染色液，PBS洗2遍，将上室取出，显微镜下计数膜背面迁移的细胞数，计数每张膜的中央部分和周围部分随机3个视野(共15个视野)，计算平均值.

1.2.7 CCK8法检测细胞黏附能力：取96孔培养板，覆以Matrigel胶8 μg/孔，4 ℃过夜，使用前37 ℃孵育1 h，无血清RPMI 1640洗2次，加入瞬时转染48 h后各组细胞，5×10^3/孔，37 ℃孵育，分别于1、2、3、4 h弃培养液，PBS洗2遍，每孔各加入100 μL无血清RPMI 1640及10 μL CCK8液，37 ℃、5%CO_2培养箱培养3 h，酶标仪测定各孔A_{450}值，每组细胞每个时间段各设6个复孔.

1.2.8 miRNA表达谱的检测：收集瞬时转染48 h后空载体组(转染PEGFP-N1组)及转染组(转染PEGFP-N1-CDX2组)细胞，细胞数在1×10^6-1×10^7，PBS洗2遍，用TRIzol和miRNeasy mini kit 提取总RNA，操作按说明书进行. 应用miRCURY™ Hy3™/Hy5™标记试剂盒标记miRNA. 将25 μL Hy3TM标记样品和25 μL杂交缓冲混合物首先95 ℃变性2 min，冰上孵育2 min，然后应用12排杂交系统在56 ℃芯片杂交16-20 h，杂交之后，取得芯片，洗涤液洗片，400 r/min，5 min离心干燥. 使用Axon GenePix4000B芯片扫描仪扫描芯片的荧光强度. 比较标准化后的数据值，上调或下调2倍以上即认为存在显著上调或下调趋势.

1.2.9 实时定量PCR验证miRNA：随机选取hsa-miR-374a和hsa-miR-374b，实时定量PCR验证miRNA表达谱芯片结果，引物序列如下：U6: F: 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', R: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'; hsa-miR-374a: GSP: 5'-GGGCTTATAATACAACCT-GA-3', R: 5'-TGCGTGTCGTGGAGTC-3'; hsa-miR-374b: GSP: 5'-GGGGATATAATACAACCT-GC-3'; R: 5'-CAGTGCGTGTCGTGGAGT-3'. 其中，GSP是对应miRNA的特异引物，R是与RT引物相匹配的引物. 反应条件如下：95 ℃，5 min；40个PCR循环(95 ℃，10 s；60 ℃，20 s；72 ℃，20 s；78 ℃，20 s). 各样品的目的miRNA和内参(U6)分别进行实时定量PCR反应. 数据采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法进行分析.

1.2.10 靶基因预测及功能分析：应用Miranda、TargetScan、Mirtarget2软件分别对其进行目标miRNA的预测，取同时满足3个软件预测到的基因作为靶基因. 对各个miRNA的靶基因分别进行Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析了解其功能.

统计学处理 所有数据均用统计软件SPSS13.0处理，计量资料以mean±SD表示，组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用*t*检验. 芯片图像扫描后导入GenePix Pro 6.0软件，重复的miRNA和miRNA的强度≥50的所有样品使用中位数进行数据标准化处理. 标准化后差异表达的miRNA鉴定通过的倍数变化进行分析和使用MEV软件进行层次聚类分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 重组质粒CDX2在人胃癌细胞SGC-7901的表达 实时荧光定量PCR和Western blot检测结果提示，转染48 h后转染PEGFP-N1-CDX2组细胞CDX2 mRNA和蛋白含量均高于对照组，差异均具有统计学意义($P<0.05$)(图1, 2).

2.2 上调*CDX2*基因对胃癌细胞生物学行为的影响

2.2.1 细胞增殖实验：瞬时转染48、72 h后，转染PEGFP-N1-CDX2组的细胞与未转染组、转染PEGFP-N1组相比出现明显生长抑制($P<0.05$, 表1).

2.2.2 细胞迁移能力：瞬时转染48 h后的各组细胞，比较划痕后24 h划痕宽度，结果提示，转染PEGFP-N1-CDX2组(划痕修复率为3.64%±2.3%)的细胞与未转染组(划痕修复率为57.60%±8.8%)、转染PEGFP-N1组(划痕修复率为51.52%

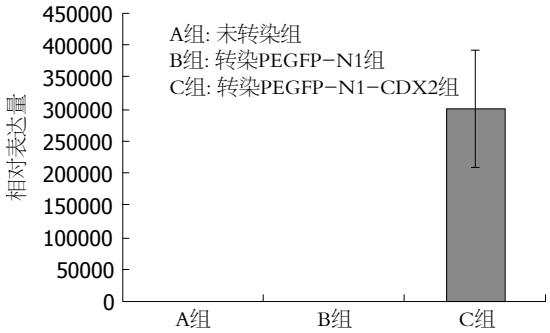


图 1 实时荧光定量PCR检测3组CDX2 mRNA的表达. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.A组: 未转染组; B组: 转染PEGFP-N1组; C组: 转染PEGFP-N1-CDX2组.

±3.09%)相比迁移能力受到抑制(P<0.05, 图3).

2.2.3 细胞侵袭能力: 瞬时转染48 h后的各组细胞, 通过计数穿过Transwell小孔细胞数目比较侵袭运动能力, 转染PEGFP-N1-CDX2组(22.33±4.77)的细胞与未转染组(47.93±6.29)、转染PEGFP-N1组(45.33±4.59)相比侵袭能力受到抑制(P<0.05)(图4).

2.2.4 细胞黏附能力: 瞬时转染48 h后的各组细胞, 根据CCK8法检测的A值可见在覆盖Matrigel胶的96孔板培养1、2 h时, 转染PEGFP-N1-CDX2组(0.621±0.151和0.874±0.127)的细胞黏附能力低于未转染组(0.932±0.121和1.369±0.120)和转染PEGFP-N1组(0.915±0.119和1.277±0.172)(P<0.05, 图5).

2.3 miRNA芯片实验结果 与空载体组细胞比较, 转染组细胞有59种miRNA的表达出现显著改变, 其中25种表达上调2倍以上, 包括miR-150, miR-3170, miR-374a, miR-4292, miR-BHRF1-1, miR-625, miR-4285, miR-138-1, miR-19a, miR-32, miR-498, miR-877, miRPlus-A1086, miR-361-3p, miR-K12-5, miRPlus-I874, miR-29c, miR-1915, miR-525-5p, miR-20a, miR-30bm, miR-374b, miR-106a, miR-17, miR-3126-3p; 34种表达下调2倍以上, 包括let-7b, miR-3178, miR-423-5p, miR-125b, miR-21, miR-361-5p, miR-320c, miR-181a, miR-130a, miR-320b, let-7g, miR-196a, miR-92a, miR-BART19-3p, miR-4301, miR-125a-5p, miR-513a-5p, miRPlus-A1087, miR-33b, miR-1973, miR-205, miR-299-3p, miRPlus-A1072, miR-186, miR-25, miR-106b, miR-K12-6-3p, miR-320a, let-7i, miRPlus-G1246-3p, miR-BHRF1-2, miR-100, miRPlus-A1015, miR-378. 随机选取hsa-miR-374a和hsa-miR-374b进行实时定量PCR验证, 以U6为内参, 结果与芯片检测结果一致(图6).

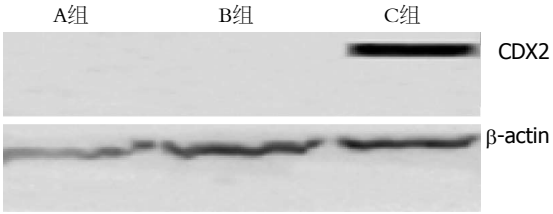


图 2 Western免疫印迹检测3组CDX2 mRNA的表达. A组: 未转染组, B组: 转染PEGFP-N1组, C组: 转染PEGFP-N1-CDX2组. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

2.4 miRNA靶基因预测及功能分析 大多数miRNA基因均具有多个可能的靶位点, 其功能涉及细胞增殖、细胞周期调控、肿瘤浸润转移、肿瘤免疫、细胞信号转导、癌基因、抑癌基因等生物特性密切相关的基因, 参与肿瘤发生、发展、转移的各个方面(表2).

3 讨论

近年来, 大量研究已证实胃癌的发生、发展和预后是多基因改变的结果, 研究胃癌相关基因及其蛋白分子不仅对于理解胃癌的发病机制十分重要, 而且对于发现在诊断和评价预后中有临床意义的分子标志物也同样重要.

*CDX2*基因及相关蛋白最早由Mlodzik于果蝇中分离成功, 与parahox家族呈高度同源性[10,11]. 研究表明, 在人体正常上皮细胞中, CDX2可表达于内胚层来源的肠道上皮及胰腺导管和腺泡上皮, 但在食管和正常胃黏膜上皮中不表达[12]. Mallo等[11]研究发现CDX2 mRNA在85%的结直肠癌中表现出下调, 从而推测*CDX2*确为一种肿瘤抑制基因. 尽管确切机制尚不清楚, 但CDX2与其他肿瘤抑制因子如APC和E-Cadherin及细胞凋亡蛋白Bcl-2的相互作用进一步支持了这一观点[12-16]. Song等[17]认为*CDX2*基因突变将使得肠化生中的CDX2表达消失从而促使了肠型胃癌的发生. 由此可见, *CDX2*基因在胃癌的发生发展中起着重要的作用.

基因转染是指采用一定的方法和途径将DNA、RNA等外源性分子导入特定的细胞, 并表达目的基因, 产生特定功能的蛋白质的过程[18]. 一些传统的转染技术, 如DEAE右旋糖苷法, 磷酸钙法、电穿孔法、脂质体法各有利弊, 阳离子聚合物转染试剂可以用于多种细胞系的转染, 对细胞毒性小, 转染效率高, 操作简单, 转染时不需要除血清及抗生素, 重复性好, 转染安全可

■应用要点

上调*CDX2*基因表达后人胃癌细胞SGC-7901有59种差异表达的miRNA, 其中25种miRNA上调和34种miRNA下调, 这些靶基因参与了肿瘤的发生、发展、转移及预后, 为我们进一步研究其与胃癌的发生、发展的关系奠定基础.

■同行评价
本文研究内容充实，应用方法较多，得出的结果在胃癌研究中具有重要意义.

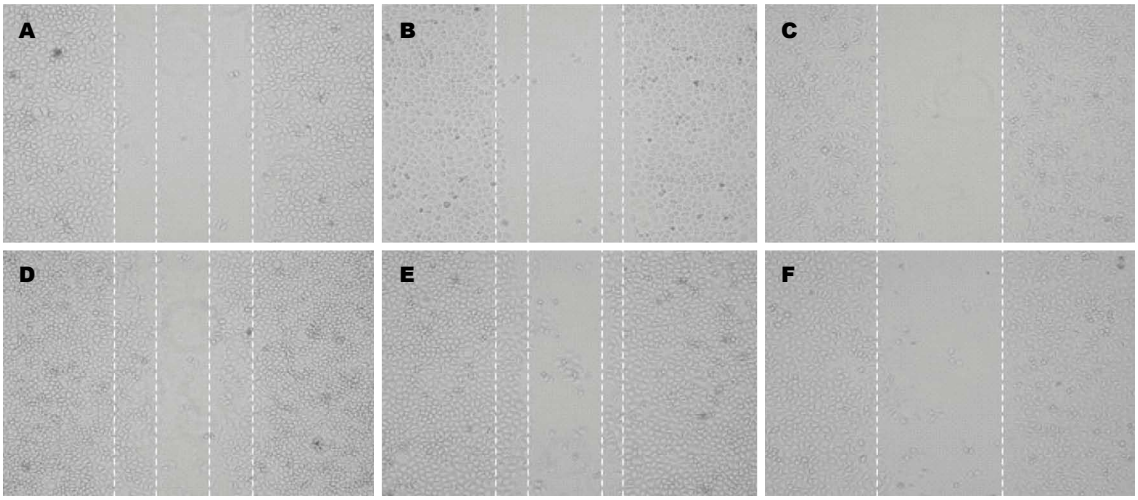


图 3 各组细胞迁移能力比较. A–C: 0 h; D–F: 24 h. A, D: 未转染组; B, E: 转染PEGFP–N1组; C, F: 转染PEGFP–N1–CDX2组. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

表 1 CDX2对SGC–7901细胞增殖的影响 (mean ± SD)

分组	转染0 h	转染24 h		转染48 h		转染72 h	
	*A*值	*A*值	IR(%)	*A*值	IR(%)	*A*值	IR(%)
A组	0.709 ± 0.070	1.004 ± 0.158	0	1.349 ± 0.135[a]	0	1.571 ± 0.118[a]	0
B组	0.715 ± 0.098	0.933 ± 0.167	7.46 ± 2.9	1.230 ± 0.164[a]	9.17 ± 4.4	1.406 ± 0.157[a]	10.73 ± 4.7
C组	0.722 ± 0.100	0.862 ± 0.146	14.3 ± 1.4	0.924 ± 0.10	31.67 ± 1.8	1.003 ± 0.10	36.24 ± 2.1

[a]$P<0.05$ *vs* 转染PEGFP–N1–CDX2组. 抑制率(IR) = (1–实验组*A*值/对照组*A*值) × 100%, A: 未转染组; B: 转染PEGFP–N1组; C: 转染PEGFP–N1–CDX2组. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

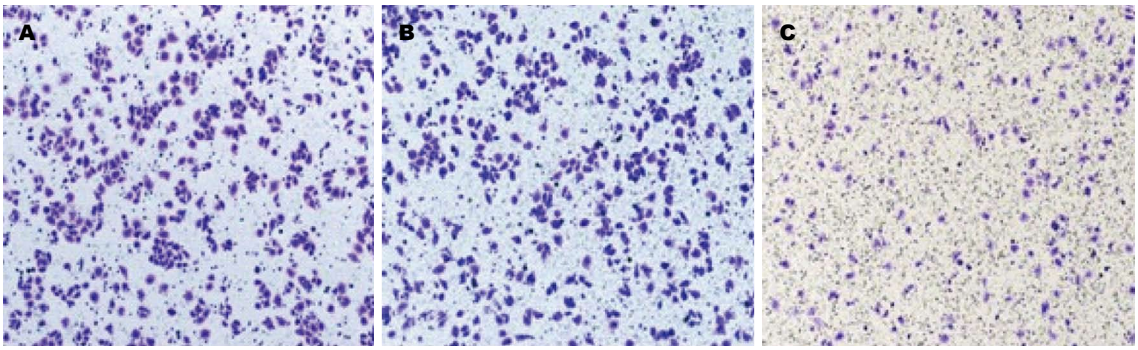


图 4 光学显微镜观察各组细胞迁移能力(×100). A: 未转染组; B: 转染PEGFP–N1组; C: 转染PEGFP–N1–CDX2组.

靠，日益受到人们的重视，本实验我们选用Fermentas公司研发的阳离子聚合物TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent转染试剂来介导基因转染. 真核表达载体PEGFP-N1是较常用的真核细胞表达外源蛋白的质粒，他不仅具有多克隆位点，便于目的基因插入，而且能在增殖的细胞中稳定表达[19-23]. 本研究通过实时荧光定量PCR法筛选出低表达CDX2的胃癌细胞SGC-7901，将成功构建的PEGFP-N1-CDX2真核表达载体成功转染胃癌细胞SGC-7901，显著上调了CDX2 mRNA和蛋白的表达. 实验在此基础上设未转染组、转染PEGFP-N1组、转染PEGFP-N1-CDX2组. 分别观察研究转染前后肿瘤细胞增殖能力、细胞迁移、黏附能力，以探讨CDX2重组载体对胃癌细胞SGC-7901生物学行为的影响，从而了解*CDX2*基因在胃癌中发生发展中的作用.

无限增殖是肿瘤细胞的基本特征，也是肿瘤转移、侵袭的基础和前提，随着细胞的增殖导致

表 2 部分miRNA靶基因及其功能预测

名称	CDX2/空载	靶基因	功能
hsa-miR-32	14.42	*Bim*, *BTG2*等	与人类髓系白血病和前列腺癌发生和预后有关
hsa-miR-374a	9.95	*PBEF*, *CDH17*, *K-ras*等	与胃癌的转移及预后有关
hsa-miR-374b	2.32	*CDH17*等	与胃癌的转移及预后有关
hsa-miR-150	2.62	*c-Myb*, *NOTCH3*, *EGR2*, *P2X7*等	通过靶向c-Myb抑制肝癌干细胞; 靶向NOTCH3抑制T细胞的分化和生存; 靶向抑癌基因*EGR2*促进胃癌细胞增生和生长; 靶向影响凋亡调控细胞生长的P2X7等
hsa-miR-106a	3.24	*IL-10*等	星形细胞瘤预后指标; 调节IL-10表达
hsa-miR-320c	0.44	*MUC2*等	与肿瘤侵袭转移有关
hsa-miR-320b	0.30	*MUC2*, *TFF3*等	与肿瘤侵袭转移有关
hsa-miR-196a	0.44	*CDH17*等	与胃癌的发生、发展、转移及预后有关
hsa-miR-92a	0.43	*GATA-2*等	GATA-2可能是白血病细胞的增殖过程中所需要的转录因子之一
hsa-miR-320a	0.42	*BMP2*, *Osteocalcin*, *Runx2*, *MUC2*, *TFF3*等	与胃癌的发生、发展、转移及预后有关
hsa-let-7i	0.46	*TRIM41*, *SOX13*, *SLC25A4*, *SEMA4F*, *RPUSD2*, *BTBD3*, *PLEKHG6*, *CCND2*等	与肠癌转移及预后有关

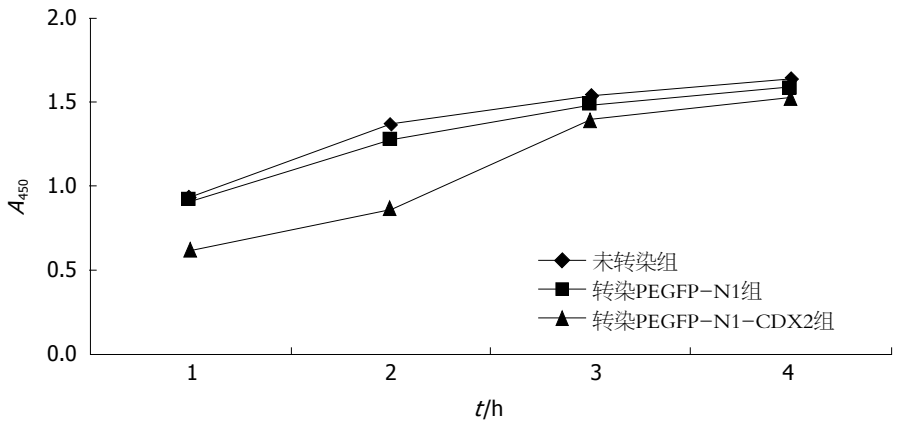


图 5 各组细胞黏附能力比较. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

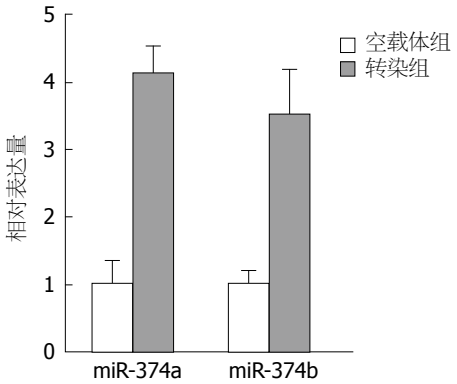


图 6 Real-time RCR验证图.

肿瘤组织内部压力增高, 这种扩张性的压力有利于癌细胞向压力低的方向侵袭和转移[24,25]. 通过实验我们发现: 在转染48、72 h后, 转染PEGFP-N1-CDX2组细胞增殖抑制率明显高于未转染组、转染PEGFP-N1组($P<0.05$), 未转染组和转染PEGFP-N1组细胞增殖抑制率相比无显著性差异($P>0.05$). 推测CDX2具有抑制胃癌细胞SGC-7901增殖的作用. 运动性是评价肿瘤细胞体外转移潜能之一[26,27]. 本研究应用体外划痕试验测定3组细胞迁移能力, 结果显示转染PEGFP-N1-CDX2组细胞迁移能力与未转染组及转染PEGFP-N1组细胞相比受到明显抑制($P<0.05$). Transwell小室培养是目前常用的体外研究肿瘤细胞迁移行为的经典而快速的方法[28], 通过计数穿过Transwell小孔细胞数目比较迁移运动能力, 结果显示转染PEGFP-N1-CDX2组细胞穿过小孔数目低于未转染组及转染PEGFP-N1组($P<0.05$). 肿瘤细胞黏附其他肿瘤细胞、宿主

细胞或细胞外基质成分的能力, 在原发肿瘤的侵袭、穿入和穿出血管以及在靶器官的侵袭中均有重要意义. 将Matrigel铺在96孔板上, 通过CCK8法检测细胞与细胞外基质的黏附能力. 实验结果证实: 将瞬时转染48 h后的各组细胞重悬于覆盖Matrigel胶的96孔板培养1、2、3、4 h, 在培养1、2 h时, CCK8检测显示转染PEGFP-N1-CDX2组的细胞黏附能力低于未转染组、转染PEGFP-N1(P<0.05), 推测CDX2抑制胃癌细胞SGC-7901与细胞外基质的黏附, 而在培养3、4 h时3组细胞黏附能力无明显区别(P>0.05), 可能是因为此时3组细胞基本全部黏附在基底膜上的原因.

到目前为止, 已报道有几千种miRNA存在于动物、植物、真菌等多细胞真核生物中, 进化上高度保守. 已有许多研究表明不同的miRNA在不同肿瘤中增高或者降低, 同一种肿瘤的不同发展阶段, miRNA的表达水平也不相同, 证明miRNA不仅可以作为肿瘤抑制因子, 也可以作为肿瘤发生因子[29,30]. miRNA的表达失控是各种疾病尤其是肿瘤的重要特征. 本实验我们通过miRNA芯片技术筛选出上调*CDX2*基因表达时胃癌细胞SGC-7901差异表达的miRNA, 结果发现转染组(转染PEGFP-N1-CDX2组)有59种miRNA的表达出现显著改变, 其中25种表达上调2倍以上, 34种表达下调2倍以上(P<0.05). miRNA芯片尽管融合了各种改良技术, 仍难以避免假阳性, 因此检测结果仍需要通过实时定量PCR进行验证[31]. 我们从筛选出的差异表达的miRNA中随机选取hsa-miR-374a和hsa-miR-374b, 以U6为内参, 进行实时定量PCR验证, 结果显示与芯片结果变化趋势一致, 从而认为本次芯片实验结果是可信的. miRNA检测技术发现差异表达的miRNA分子后, 可以通过靶基因预测的生物信息学方法对其靶基因进行预测, 进行电脑上的功能分析. 我们将得到的差异表达的miRNA应用Miranda、TargetScan、Mirtarget2软件分别预测其靶基因, 取同时满足3个软件预测到的基因作为靶基因. 对各个miRNA的靶基因分别进行Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析了解其功能. 大多数miRNA均具有多个可能的靶位点, 其功能涉及细胞增殖、细胞周期调控、肿瘤浸润转移、肿瘤免疫、细胞信号转导、癌基因、抑癌基因等生物特性密切相关的基因, 为我们进一步研究其与胃癌的发生、发展的关系奠定基础.

4 参考文献

1 Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, van de Velde CJ. Gastric cancer. *Lancet* 2009; 374: 477-490 [PMID: 19625077 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60617-6]

2 Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 17-20 [PMID: 16440411]

3 毛振彪, 许钟, 张健锋, 朱慧君, 章建国, 潘正平. 鸟苷酸环化酶C和尾型同源盒转录因子2在胃癌及癌前病变组织中的表达及意义. 中华消化杂志 2008; 28; 673-677

4 Saad RS, Ghorab Z, Khalifa MA, Xu M. CDX2 as a marker for intestinal differentiation: Its utility and limitations. *World J Gastrointest Surg* 2011; 3: 159-166 [PMID: 22180832 DOI: 10.4240/wjgs.v3.i11.159]

5 许海泉, 王邦茂, 章明放, 阎雪燕. Cdx2和PTEN在胃粘膜肠上皮化生及肠型胃癌组织中的表达. 天津医科大学学报 2004; 10: 510-513

6 李姝, 王邦茂, 张洁, 方维丽. Cdx2与MUC2在反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌中的表达. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 355-357

7 Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, Tamada K, Kita H, Osawa H, Tomiyama T, Sato Y, Yamamoto H, Isoda N, Yoshida T, Ido K, Sugano K. Development of gastric carcinoma from intestinal metaplasia in Cdx2-transgenic mice. *Cancer Res* 2004; 64: 7740-7747 [PMID: 15520178 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1617]

8 He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-833 [PMID: 15944707 DOI: 10.1038/nature03552]

9 Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302: 1-12 [PMID: 16989803 DOI: 10.1016/j.ydbio.2006.08.028]

10 Beck F, Chawengsaksophak K, Luckett J, Giblett S, Tucci J, Brown J, Poulsom R, Jeffery R, Wright NA. A study of regional gut endoderm potency by analysis of Cdx2 null mutant chimaeric mice. *Dev Biol* 2003; 255: 399-406 [PMID: 12648499 DOI: 10.1016/S0012-1606(02)00096-9]

11 Mallo GV, Rechreche H, Frigerio JM, Rocha D, Zweibaum A, Lacasa M, Jordan BR, Dusetti NJ, Dagorn JC, Iovanna JL. Molecular cloning, sequencing and expression of the mRNA encoding human Cdx1 and Cdx2 homeobox. Down-regulation of Cdx1 and Cdx2 mRNA expression during colorectal carcinogenesis. *Int J Cancer* 1997; 74: 35-44 [PMID: 9036867 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19970220)74:1<35::AID-IJC7>3.0.CO;2-1]

12 Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, Gown AM. CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 303-310 [PMID: 12604886]

13 Mallo GV, Soubeyran P, Lissitzky JC, André F, Farnarier C, Marvaldi J, Dagorn JC, Iovanna JL. Expression of the Cdx1 and Cdx2 homeotic genes leads to reduced malignancy in colon cancer-derived cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 14030-14036 [PMID: 9593754 DOI: 10.1074/jbc.273.22.14030]

14 Freund JN, Domon-Dell C, Kedinger M, Duluc I. The Cdx-1 and Cdx-2 homeobox genes in the intestine. *Biochem Cell Biol* 1998; 76: 957-969 [PMID:

10392709]
15 da Costa LT, He TC, Yu J, Sparks AB, Morin PJ, Polyak K, Laken S, Vogelstein B, Kinzler KW. CDX2 is mutated in a colorectal cancer with normal APC/beta-catenin signaling. *Oncogene* 1999; 18: 5010-5014 [PMID: 10490837]
16 Hinoi T, Lucas PC, Kuick R, Hanash S, Cho KR, Fearon ER. CDX2 regulates liver intestine-cadherin expression in normal and malignant colon epithelium and intestinal metaplasia. *Gastroenterology* 2002; 123: 1565-1577 [PMID: 12404231]
17 Song JH, Kim CJ, Cho YG, Chae JS, Cao Z, Nam SW, Lee JY, Park WS. Genetic alterations of the Cdx2 gene in gastric cancer. *APMIS* 2008; 116: 74-80 [PMID: 18254783 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2008.00881.x]
18 Yoshida D, Watanabe K, Noha M, Takahashi H, Teramoto A, Sugisaki Y. Anti-invasive effect of an anti-matrix metalloproteinase agent in a murine brain slice model using the serial monitoring of green fluorescent protein-labeled glioma cells. *Neurosurgery* 2003; 52: 187-196; discussion 196-197 [PMID: 12493117]
19 Cormack BP, Valdivia RH, Falkow S. FACS-optimized mutants of the green fluorescent protein (GFP). *Gene* 1996; 173: 33-38 [PMID: 8707053 DOI: 0378-1119(95)00685-0]
20 Tao W, Evans BG, Yao J, Cooper S, Cornetta K, Ballas CB, Hangoc G, Broxmeyer HE. Enhanced green fluorescent protein is a nearly ideal long-term expression tracer for hematopoietic stem cells, whereas DsRed-express fluorescent protein is not. *Stem Cells* 2007; 25: 670-678 [PMID: 17138958 DOI: 10.1634/stemcells.2006-0553]
21 Ueta Y, Fujihara H, Serino R, Dayanithi G, Ozawa H, Matsuda K, Kawata M, Yamada J, Ueno S, Fukuda A, Murphy D. Transgenic expression of enhanced green fluorescent protein enables direct visualization for physiological studies of vasopressin neurons and isolated nerve terminals of the rat. *Endocrinology* 2005; 146: 406-413 [PMID: 15375027 DOI: 10.1210/en.2004-0830]
22 Vitriol EA, Uetrecht AC, Shen F, Jacobson K, Bear JE. Enhanced EGFP-chromophore-assisted laser inactivation using deficient cells rescued with functional EGFP-fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 6702-6707 [PMID: 17420475 DOI: 10.1073/pnas.0701801104]
23 Tamberg N, Lulla V, Fragkoudis R, Lulla A, Fazakerley JK, Merits A. Insertion of EGFP into the replicase gene of Semliki Forest virus results in a novel, genetically stable marker virus. *J Gen Virol* 2007; 88: 1225-1230 [PMID: 17374766 DOI: 10.1099/vir.0.82436-0]
24 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931]
25 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
26 Klein CA. Cancer. The metastasis cascade. *Science* 2008; 321: 1785-1787 [PMID: 18818347 DOI: 10.1126/science.1164853]
27 Eccles SA, Welch DR. Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet* 2007; 369: 1742-1757 [PMID: 17512859 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60781-8]
28 Ponath PD, Wang J, Heath H. Transwell chemotaxis. *Methods Mol Biol* 2000; 138: 113-120 [PMID: 10840748 DOI: 10.1385/1-59259-058-6]
29 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269 [PMID: 16557279 DOI: 10.1038/nrc1840]
30 Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780 [PMID: 16495913 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603023]
31 Castoldi M, Schmidt S, Benes V, Noerholm M, Kulozik AE, Hentze MW, Muckenthaler MU. A sensitive array for microRNA expression profiling (miChip) based on locked nucleic acids (LNA). *RNA* 2006; 12: 913-920 [PMID: 16540696 DOI: 10.1261/rna.2332406]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2250-2257
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

PI3K/Akt信号通路抑制剂对人肝癌HepG2细胞的体外抑制作用及其机制

张 萌, 彭 利, 乔治斌, 何宏涛, 周 烨, 徐 卓

■背景资料
原发性肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 侵袭性强、易复发、预后差, 深入研究其发生发展的机制有助于寻找新的有效的治疗靶点. PI3K/Akt通路是十分重要的"凋亡抑制"通路, 通过调控下游多种靶蛋白发挥效应, 但在肝细胞癌中该通路的具体作用机制尚未明确.

张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓, 河北医科大学第四医院肝胆外科 河北省石家庄市 050011
张萌, 博士, 副主任医师, 主要从事肝胆肿瘤的基础与临床研究.
河北省普通高校强势特色学科建设基金资助项目, No. 2005(52)
河北省卫生厅基金资助项目, No. 06142
作者贡献分布: 本课题设计与审阅由彭利完成; 文章写作与修改由张萌与何宏涛完成; 统计分析由张萌与徐卓完成; 主要实验与资料整理由周烨与乔治斌完成.
通讯作者: 彭利, 教授, 主任医师, 050011, 河北省石家庄市健康路12号, 河北医科大学第四医院肝胆外科. pengli72@sina.com
电话: 0311-86095340
收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-08
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Meng Zhang, Li Peng, Zhi-Bin Qiao, Hong-Tao He, Ye Zhou, Zhuo Xu

Meng Zhang, Li Peng, Zhi-Bin Qiao, Hong-Tao He, Ye Zhou, Zhuo Xu, Department of Hepatobiliary Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Supported by: the Foundation of Strong Characteristic Subjects of Hebei University, No. 2005(52); the Foundation of Health Department of Hebei Province, No. 06142
Correspondence to: Li Peng, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, 12 Jiankang Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. pengli72@sina.com
Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-08
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of the PI3K/Akt signaling pathway inhibitor wortmannin on cell proliferation, apoptosis and expression of pAkt, Skp2 and $P27^{kip1}$ in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2.

METHODS: After treatment with different concentrations of wortmannin (0, 10, 50, 100, 200 nmol/L) for different durations (3, 10, 24 h), proliferation of HepG2 cells was analyzed by MTT assay, cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry, expression of pAkt, Skp2 and $P27^{kip1}$ proteins was detected by Western blot, and the mRNA expression of Skp2 and $P27^{kip1}$ was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction.

RESULTS: Wortmannin inhibited the proliferation of HepG2 cells in a dose- and time-dependent manner. The apoptosis rates of HepG2 cells significantly increased from 8.46% ± 1.17% to 28.03% ± 2.67% after treatment with wortmannin ($P < 0.05$). Wortmannin induced an increase in the percentage of cells in G_0/G_1 phase and a decrease in the percentage of cells in S phase cells (both $P < 0.05$). After treatment with wortmannin, the expression of pAkt and Skp2 proteins was down-regulated, while that of $P27^{kip1}$ protein was up-regulated (all $P < 0.05$). In addition, Skp2 mRNA expression in HepG2 cells was significantly down-regulated ($P < 0.05$), although the expression of $P27^{kip1}$ mRNA was not changed.

CONCLUSION: Wortmannin inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 possibly by regulating the expression of Skp2 and $P27^{kip1}$.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B signaling pathway; Wortmannin; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis; pAkt; S-phase kinase associated protein 2; $P27^{kip1}$

Zhang M, Peng L, Qiao ZB, He HT, Zhou Y, Xu Z. Inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2250-2257 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2250.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2250

摘要

目的: 研究磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶

■同行评议者
李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路抑制剂渥曼青霉素对人肝癌HepG2细胞增殖、细胞周期与凋亡的影响以及相关基因*pAkt*、*Skp2*及*P27^{kip1}*表达的变化.

方法: 将不同浓度的渥曼青霉素(0、10、50、100、200 nmol/L)分别作用于对数生长期的人肝癌HepG2细胞3、10、24 h, MTT法测定细胞增殖抑制率, 流式细胞术检测细胞凋亡率及细胞周期的变化, Western blot检测pAkt、Skp2及P27^{kip1}蛋白表达变化, RT-PCR检测Skp2及P27^{kip1} mRNA表达变化.

结果: 渥曼青霉素可明显抑制HepG2细胞的增殖, 在一定范围内具有时间和浓度依赖性. 渥曼青霉素可导致G_0/G_1期HepG2细胞比例明显升高, S期细胞比例明显降低($P<0.05$). 随着渥曼青霉素浓度的增加及作用时间的延长, HepG2细胞凋亡率逐渐升高(8.46%±1.17%至28.03%±2.67%)($P<0.05$). Western blot结果显示渥曼青霉素可下调pAkt和Skp2蛋白的表达, 上调P27^{kip1}蛋白表达($P<0.05$). RT-PCR结果显示渥曼青霉素可明显下调Skp2 mRNA的表达, 而P27^{kip1} mRNA表达无明显变化.

结论: PI3K/Akt信号通路抑制剂渥曼青霉素可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 引发G_0/G_1期阻滞并诱导其凋亡, 其机制可能与PI3K/Akt信号通路参与Skp2及P27^{kip1}调控有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: **磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B; 渥曼青霉素; 肝细胞癌; 凋亡**; pAkt; **S期激酶相关蛋白2**; P27^{kip1}

核心提示: 阻断磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 引发细胞周期阻滞并诱导凋亡, 其机制可能与PI3K/Akt信号通路参与Skp2及P27^{kip1}的调控有关. 这一研究结果为以PI3K/Akt信号通路为靶点的肝细胞癌临床辅助治疗提供了一定的实验基础及理论依据.

张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓. PI3K/Akt信号通路抑制剂对人肝癌HepG2细胞的体外抑制作用及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2250-2257 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2250.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2250

0 引言

原发性肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 其中90%为肝细胞癌, 发病率居全世界恶性肿瘤的第5位, 每年死亡病例约69.6万, 居肿瘤相关死因的第3位[1]. 我国是肝癌发病率最高的国家, 每年新发病例数占全球总数的55%, 在我国肿瘤相关死因中仅次于肺癌, 位居第2位[2]. 肝细胞癌侵袭性强、易复发、预后差, 是我国恶性肿瘤防治研究的重点. 目前研究发现, 多条信号通路参与肿瘤的恶性生物学行为[3], 其中磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)通路在调控肿瘤细胞的增殖、分化、存活和迁移等方面发挥功能, 是十分重要的凋亡抑制通路, 以这条通路为靶点的肿瘤治疗策略正在广泛研究中[4,5]. P27^{kip1}蛋白为细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂Cip/Kip蛋白家族的重要成员, 研究发现几乎所有人类恶性肿瘤中均存在P27^{kip1}蛋白的表达下调或缺失, 是公认的抑癌蛋白[6]. 而S期激酶相关蛋白2(S-phase kinase associated protein 2, Skp2)参与P27^{kip1}的降解, 使细胞周期调节失控, 最终导致癌变的发生[7]. 我们的前期研究发现, 在肝细胞癌组织中也存在PI3K/Akt通路的异常激活, 同时伴有Skp2及P27^{kip1}蛋白的表达失调, 并且与患者的预后有密切相关[8]. 目前有关肝细胞癌中PI3K/Akt通路与Skp2及P27^{kip1}关系的报道较少. 本实验选取体外培养的人肝癌HepG2细胞为研究对象, 加入PI3K/Akt信号通路抑制剂渥曼青霉素, 观察HepG2增殖、细胞周期与凋亡的变化, 检测pAkt、Skp2和P27^{kip1}蛋白及mRNA的表达, 进一步研究PI3K/Akt信号通路的作用机制, 为临床治疗肝细胞癌提供新的实验依据.

■研发前沿
PI3K/Akt通路在肿瘤细胞增殖、凋亡和放、化疗抵抗方面起重要作用, 目前以这条信号通路为靶点的肿瘤治疗策略正在广泛的研究中, 有关Skp2及P27^{kip1}在该通路中发挥的作用报道较少.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系HepG2由河北医科大学第四医院科研中心提供. 渥曼青霉素购自美国Sigma公司, 分子量428.43, 纯度>99%, 用二甲基亚砜(DMSO)配置成储存液, 过滤除菌后分装, 置-20 ℃冰箱保存、备用. RT-PCR试剂盒购自北京华美公司, *GAPDH*、*Skp2*和*P27^{kip1}*基因引物由上海生工生物工程公司合成. 鼠抗人β-actin和P27^{kip1}单克隆抗体及兔抗人Skp2多克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司, 兔抗人pAkt单克隆抗体购自美国Epitomics公司. 四甲基偶氮唑蓝[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra-

■相关报道
Ecker等研究表明PI3K/Akt信号通路可通过控制转录因子*E2F1*与*Skp2*启动子的结合调节*Skp2*基因的表达，还可以直接磷酸化激活Skp2调控其稳定性，从而减少Skp2的降解，因此认为Skp2为PI3K/Akt信号通路的下游底物.

zolium bromide, MTT]及PI染液购自美国Sigma公司. 细胞蛋白提取试剂盒、Bradford法蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝有限公司. DAB试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司. RPMI 1640培养基和TRIzol总RNA提取试剂购自美国Gibco公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 用含有100 U/mL青霉素、100 μg/mL链霉素, 不含胎牛血清的RPMI 1640培养基在5%CO_2、37 ℃恒温培养箱中培养人肝癌细胞系HepG2. 每2-3 d传代1次, 取对数生长期的细胞进行实验.

1.2.2 MTT法检测细胞增殖: 将对数生长期的HepG2细胞按1×10^4个/孔接种于96孔培养板, 孵育24 h待细胞贴壁后加入以DMSO溶解的渥曼青霉素(终浓度分别为0、10、50、100、200 nmol/L), 每组设6个复孔, 设阴性对照(只加等量DMSO)及空白对照(只加培养液). 分别培养3、10、24 h后, 每孔加入MTT 20 μL(5 mg/mL), 继续孵育4 h, 弃上清液, 每孔加入100 μL DMSO, 振荡10 min待结晶充分溶解后在酶标仪490 nm波长处测定每孔吸光度(*A*)值. 计算细胞增殖抑制率, 抑制率 = (对照组*A*值-试验组*A*值)/(对照组*A*值-空白组*A*值)×100%. 实验重复3次.

1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期的变化: 取对数生长期的HepG2细胞(5×10^5个/培养瓶), 经渥曼青霉素(终浓度分别为0、50、100、200 nmol/L)作用10 h后收获细胞. 另取细胞经终浓度为100 nmol/L的渥曼青霉素分别作用3、10、24 h后收获细胞. 用预冷700 mL/L乙醇固定12 h. 离心弃固定液, PBS重悬5 min后300目筛网过滤, 加入PI染液, 4 ℃避光染色30 min, 采用美国Beckman公司的Epics-XL Ⅱ型流式细胞仪, 分析细胞周期和细胞凋亡的变化. 实验重复3次.

1.2.4 Western blot检测蛋白表达变化: 按照方法1.2.3进行细胞培养和分组, 收集细胞, 按照细胞蛋白质提取试剂盒的步骤提取细胞总蛋白. Bradford比色法检测蛋白浓度. 取50 μg样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将凝胶中分离的蛋白转印PVDF膜. 5%脱脂牛奶封闭2 h后, 分别加入1∶200稀释的鼠抗人β-actin单克隆抗体、兔抗人Skp2多克隆抗体、鼠抗人$P27^{kip1}$单克隆抗体及1∶150稀释的兔抗人pAkt单克隆抗体, 4 ℃孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗溶液, 37 ℃孵育2 h, 洗膜后DAB显色, β-actin为内参照. 条带进行光密度值分析, 将目标条带与β-actin条带的灰度值之比作为其蛋白表达水平的参数. 实验重复3次.

1.2.5 RT-PCR检测mRNA表达变化: 按照方法1.2.3进行细胞培养和分组, 收集细胞, 提取各组细胞的总RNA, 进行RNA完整性及纯度的鉴定. 使用一步法反转录试剂盒, 合成cDNA. 以GAPDH为内参照, GAPDH上游引物序列: 5'-GGAAGGTGAAGGTCGGAGT-3', 下游引物序列: 5'-CCTGGAAGATGGTGATGGG-3', 扩增产物大小为250 bp. Skp2上游引物序列: 5'-GACAGTGAGAACATCCCCC-3', 下游引物序列: 5'-GAGAGACAGTATGCCGTGGA-3', 扩增产物大小为476 bp. $P27^{kip1}$上游引物序列: 5'-CCGACGATTCTTCTACTC-3', 下游引物序列: 5'-CTGATAAACAAGGAAACATA-3', 扩增产物大小为165 bp. 扩增条件: 95 ℃预变性5 min, 94 ℃变性30 s, 相应退火温度(55 ℃-62 ℃)30 s, 72 ℃延伸30 s, 30个循环; 72 ℃延伸7 min. 产物在1.5%琼脂糖凝胶中电泳, 紫外凝胶成像仪拍照. 条带进行光密度值分析, 将目标条带与GAPDH条带的光密度值之比作为其mRNA表达水平的参数. 实验重复3次.

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0统计软件进行分析. 计量资料以mean±SD表示, 多组间均数比较采用χ^2分析, 其中两两比较用S-N-K检验. 两组均数比较用*t*检验, $P<0.05$时被认为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 渥曼青霉素对HepG2细胞增殖的抑制作用 MTT结果显示, 渥曼青霉素能够明显抑制HepG2细胞的增殖, 且具有一定的时间及浓度依赖性(图1). 50 nmol/L渥曼青霉素作用3 h后, HepG2细胞的抑制率为(20.13%±2.52%), 而200 nmol/L渥曼青霉素作用24 h后抑制率可达到(74.93%±3.25%, $P<0.05$, 表1).

2.2 渥曼青霉素对HepG2细胞凋亡及细胞周期的影响 流式细胞检测结果显示, 渥曼青霉素可诱导HepG2细胞发生凋亡, 随着药物浓度增加及作用时间延长, HepG2细胞凋亡率逐渐升高, 呈现明显的时间和浓度依赖性($P<0.05$). 同时HepG2细胞周期进程有所改变, 表现为G_0/G_1期细胞比例显著升高, S期细胞比例显著降低, 且呈时间及浓度依赖性($P<0.05$) (表2, 图2).

2.3 渥曼青霉素对HepG2细胞pAkt, Skp2和$P27^{kip1}$蛋白表达的影响 Western blot结果显示: 随着药

表 1 渥曼青霉素对HepG2细胞的增殖抑制作用 (n = 6, mean±SD)

渥曼青霉素(nmol/L)	抑制率(%)		
	3 h	10 h	24 h
0	–	–	–
10	14.46 ± 2.35	21.84 ± 5.22[g]	30.33 ± 1.53[i]
50	20.13 ± 2.52[a]	30.37 ± 2.33[ag]	39.72 ± 6.08[ai]
100	28.44 ± 3.77[c]	45.88 ± 9.70[cg]	56.07 ± 3.06[ci]
200	37.59 ± 2.37[e]	58.02 ± 4.16[eg]	74.93 ± 3.25[ei]

[a]P<0.05 *vs* 10 nmol/L; [c]P<0.05 *vs* 10, 50 nmol/L; [e]P<0.05 *vs* 10, 50,100 nmol/L; [g]P<0.05 *vs* 3 h; [i]P<0.05 *vs* 3,10 h.

表 2 渥曼青霉素对HepG2细胞周期及凋亡的影响 (n = 3, mean ± SD)

分组	凋亡率(%)	细胞周期分布 (%)		
		G_0/G_1	S	G_2/M
处理10 h浓度(nmol/L)				
0(Control)	2.10 ± 0.12	33.77 ± 2.93	50.90 ± 5.52	15.33 ± 2.60
50	8.46 ± 1.17[a]	42.20 ± 4.11[a]	39.93 ± 3.92[a]	17.90 ± 0.50
100	13.76 ± 2.47[c]	55.23 ± 3.90[c]	31.87 ± 2.31[a]	12.90 ± 1.64
200	28.03 ± 2.67[e]	71.00 ± 5.17[e]	17.17 ± 1.86[e]	11.80 ± 3.90
浓度100 nmol/L处理时间(h)				
3	3.95 ± 1.07	41.17 ± 4.71	39.80 ± 4.16[a]	19.03 ± 0.78
24	26.34 ± 3.25[g]	68.10 ± 5.42[g]	19.67 ± 3.87[g]	12.23 ± 1.79

[a]P<0.05 *vs* 10 nmol/L; [c]P<0.05 *vs* 10, 50 nmol/L; [e]P<0.05 *vs* 10, 50,100 nmol/L; [g]P<0.05 *vs* 3 h; [i]P<0.05 *vs* 3,10 h.

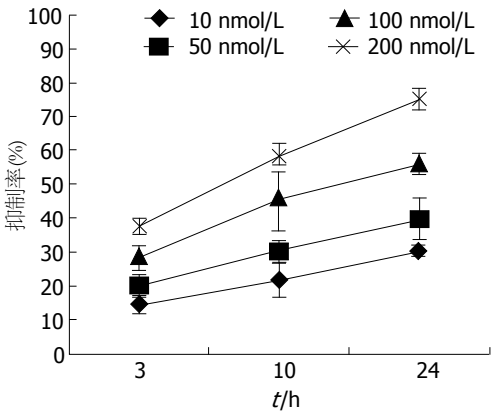


图 1 渥曼青霉素对HepG2细胞的增殖抑制作用.

物浓度的增加和作用时间的延长, pAkt和Skp2蛋白的表达水平逐渐降低, P27^{kip1}蛋白的表达水平逐渐升高, 组间差异有统计学意义(P<0.05)(图3).

2.4 渥曼青霉素对HepG2细胞Skp2和P27^{kip1} mRNA表达的影响 RT-PCR检测结果显示: 随着药物浓度的增加和作用时间的延长, Skp2 mRNA表达水平逐渐降低, 组间差异有统计学意义(P<0.05), 而P27^{kip1} mRNA表达水平无明显变化(图4).

3 讨论

PI3K/Akt信号通路在广泛的人类肿瘤中表达失调, 如胃癌、前列腺癌、卵巢癌及乳腺癌等[9-12]. 目前认为, Akt的活性调节主要依赖于PI3K, Ser473和Thr308位点的磷酸化是Akt激活的必要条件, 磷酸化Akt(pAkt)是PI3K/Akt信号通路的效应核心[13], 而且pAkt处于细胞内多种信号途径的交汇点, 通过激活或抑制下游30余种靶蛋白, 参与多种细胞活动、物质代谢调节, 尤其是与促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、调控细胞周期等有密切关系[14]. 渥曼青霉素分离自丝状真菌, 通过与PI3K的催化亚基p110结合, 不可逆的抑制PI3K的激酶活性, 从而阻断PI3K/Akt信号通路[15]. 本实验发现, 渥曼青霉素可抑制HepG2细

■创新盘点
本实验证实阻断PI3K/Akt通路可导致肝癌细胞的增殖抑制并引发周期阻滞及凋亡, 并从mRNA及蛋白水平分析了Skp2及P27^{kip1}在其中发挥的作用, 发现PI3K/Akt信号通路直接或间接的参与Skp2及P27^{kip1}的调控.

■应用要点

本实验发现PI3K/Akt通路抑制剂渥曼青霉素具有一定的抑癌作用，并初步分析了其作用机制，为以PI3K/Akt信号通路为靶点的肝细胞癌临床辅助治疗提供了一定的实验基础及理论依据.

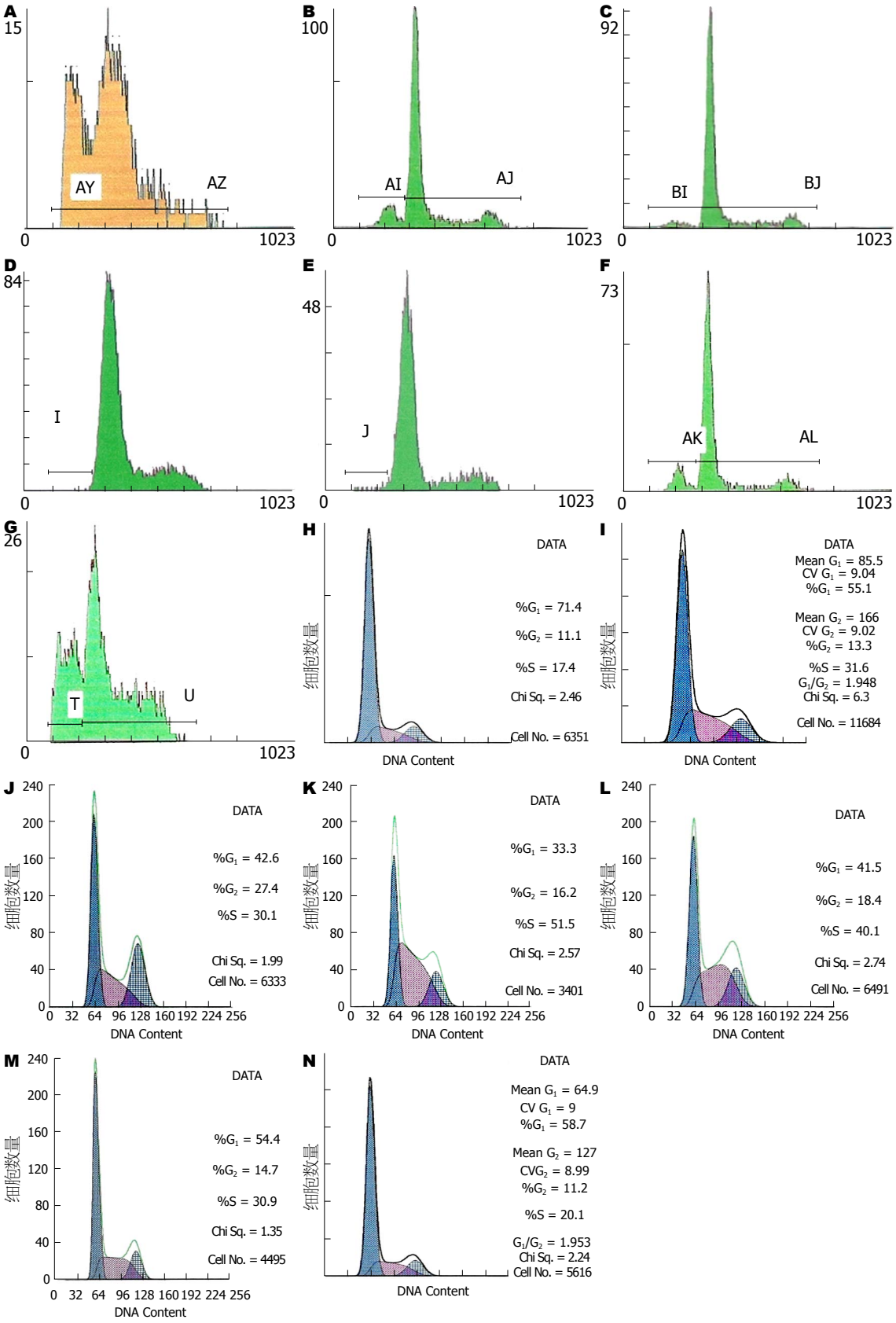


图 2 渥曼青霉素对HepG2细胞周期及凋亡的影响. A: 200 nmol/L 10 h; B: 100 nmol/L 10 h; C: 50 nmol/L 10 h; D: 0(Control); E: 100 nmol/L 3 h; F: 100 nmol/L 10 h; G: 100 nmol/L 24 h; H: 200 nmol/L 10 h; I: 100 nmol/L 10 h; J: 50 nmol/L 10 h; K: 0(Control); L: 100 nmol/L 3 h; M: 100 nmol/L 10 h; N: 100 nmol/L 24 h.

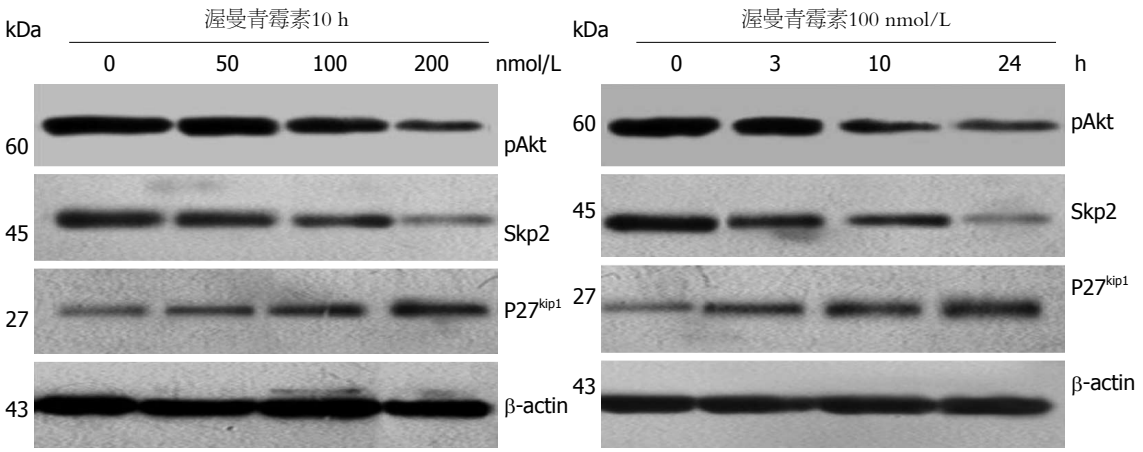


图 3 渥曼青霉素对HepG2细胞pAkt, Skp2和P27^{kip1}蛋白表达的影响.

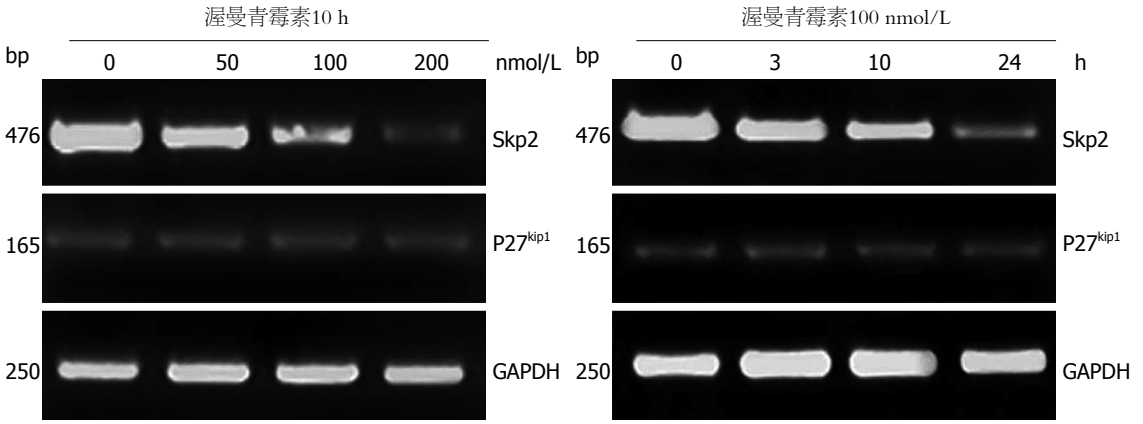


图 4 渥曼青霉素对HepG2细胞Skp2和P27kip1 mRNA表达的影响.

■同行评价

本实验通过研究不同浓度的渥曼青霉素(0、10、50、100、200 nmol/L)分别作用于对数生长期的人肝癌HepG2细胞, 观察细胞凋亡率及细胞周期的变化, 得出渥曼青霉素抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 有一定科学价值.

胞的增殖、诱导凋亡并导致细胞发生G_0/G_1期阻滞, 同时伴有pAkt蛋白表达水平明显下调, 且此效应一定范围内具有明显的时间及浓度依赖性, 说明人肝癌HepG2细胞中存在PI3K/Akt信号通路, 渥曼青霉素的上述作用与阻断PI3K/Akt信号通路有关. Yun等[16]将渥曼青霉素作用于人乳腺癌MCF-7细胞, 也得出了与本实验一致的结论.

P27^{kip1}是细胞周期负性调控因子, 主要抑制CyclinE-CDK2和CyclinD-CDK4等G_1期激酶复合物活性, 使细胞停滞于G_1期, 防止细胞过度增殖, 并与细胞凋亡有着密切的关系[17]. 本实验经流式细胞学检测发现, 渥曼青霉素引发了HepG2细胞的G_0/G_1期阻滞, 同时细胞凋亡率也明显升高, 故此我们考虑P27^{kip1}可能参与其中. 我们进一步以浓度和时间两种方式研究了经渥曼青霉素处理后HepG2细胞P27^{kip1}的表达变化, 发现P27^{kip1}在mRNA水平无明显变化, 而蛋白表达水平明显升高, 此结果提示阻断PI3K/Akt信号通路引发的效应与P27^{kip1}蛋白水平上调有关. 许多研究发现, 大多数肿瘤中P27^{kip1}很少发生基因缺失或突变, 转录水平也很少发生改变, 对P27^{kip1}的调控主要发生在翻译后水平[18,19]. 我们的实验也发现P27^{kip1}在转录水平未受到渥曼青霉素的影响. P27^{kip1}蛋白在肿瘤组织中的表达下调或缺失主要为其降解加速所致. 虽然目前对于P27^{kip1}蛋白降解的机制尚未完全明了, 但一般认为其主要的负性调节方式为Skp2介导的泛素-蛋白酶体途径[20]. G_1晚期P27^{kip1}第187位苏氨酸被磷酸化, 随后被包括Skp2在内的泛素连接酶复合体(SCFSkp2)结合, 泛素化的P27^{kip1}在蛋白酶体内降解, 细胞由G_1期进入S期, 其中Skp2的参与是P27kip1的泛素化和降解所必需的[21].

人正常细胞中Skp2蛋白的表达水平是较低的, 而在绝大多数恶性肿瘤如大肠癌[22]、前列腺癌[23]、胃癌[24]及肝细胞癌[8]中表达明显增高, 与肿瘤的恶性生物学行为密切相关, 提示预后不良, 并且大都同时伴有P27^{kip1}蛋白的负性表达变化[25]. 近期研究发现, PI3K/Akt信号通路可通

过控制转录因子*E2F1*与*Skp2*启动子的结合调节*Skp2*基因的表达, 还可以通过直接磷酸化激活Skp2调控其稳定性, 从而减少Skp2的降解[26,27]; 因此可以将Skp2定义为PI3K/Akt信号通路的下游底物[28]. 我们进一步研究也证实, 阻断PI3K/Akt信号通路可以在mRNA水平及翻译后水平同时下调HepG2细胞中Skp2的表达, 说明*Skp2*为pAkt下游的靶基因, 同时提示我们阻断PI3K/Akt信号通路可能通过下调Skp2间接上调P27kip1蛋白的表达水平. Ho等[29]在乳腺癌的研究中发现, 钙蛋白酶2缺失导致的Akt活性降低, 可通过叉头转录因子FoxO上调$P27^{kip1}$蛋白的表达. 也有研究发现在肝癌细胞中pAkt可磷酸化$P27^{kip1}$蛋白的多个位点, 其中第157位苏氨酸位于$P27^{kip1}$的核内定位信号区域, 被磷酸化后$P27^{kip1}$将无法进入细胞核内发挥细胞周期调控的作用[30]. 这就说明$P27^{kip1}$蛋白功能的发挥不但与其表达水平有关, 而且与其亚细胞定位有关, PI3K/Akt信号通路可直接参与$P27^{kip1}$蛋白功能的调控.

总之, PI3K/Akt信号通路抑制剂渥曼青霉素可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 引发G_0/G_1期阻滞并诱导其凋亡, 其机制可能与PI3K/Akt信号通路参与Skp2及$P27^{kip1}$调控有关. 本实验也为以PI3K/Akt信号通路为靶点的肝细胞癌临床辅助治疗提供了一定的理论依据.

4 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 龚新雷, 秦叔逵. 原发性肝癌的分子靶向治疗研究新进展. 临床肿瘤学杂志 2008; 13: 1-10

3 张文杰, 禄韶英. 肝细胞癌的分子靶向治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19: 331-337

4 Franke TF. PI3K/Akt: getting it right matters. *Oncogene* 2008; 27: 6473-6488 [PMID: 18955974 DOI: 10.1038/onc.2008.313]

5 De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N. The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16 Suppl 2: S17-S27 [PMID: 22443084 DOI: 10.1517/14728222.2011.639361]

6 Borriello A, Bencivenga D, Criscuolo M, Caldarelli I, Cucciolla V, Tramontano A, Borgia A, Spina A, Oliva A, Naviglio S, Della Ragione F. Targeting p27Kip1 protein: its relevance in the therapy of human cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2011; 15: 677-693 [PMID: 21355788 DOI: 10.1517/14728222.2011]

7 Barré B, Perkins ND. The Skp2 promoter integrates signaling through the NF-kappaB, p53, and Akt/GSK3beta pathways to regulate autophagy and apoptosis. *Mol Cell* 2010; 38: 524-538 [PMID: 20513428 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.03.018]

8 张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓, 杨涛, 梁占强. pAkt、Skp2和P27kip1蛋白在肝细胞癌中的表达及意义. 肿瘤防治研究 2011; 38: 1283-1287

9 周晓东, 陈红霞, 关润年, 吕农华. Akt的活化对胃癌血管新生的促进作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 744-748

10 Priulla M, Calastretti A, Bruno P, Azzariti A, Paradiso A, Canti G, Nicolin A. Preferential chemosensitization of PTEN-mutated prostate cells by silencing the Akt kinase. *Prostate* 2007; 67: 782-789 [PMID: 17373720]

11 Huang J, Zhang L, Greshock J, Colligon TA, Wang Y, Ward R, Katsaros D, Lassus H, Butzow R, Godwin AK, Testa JR, Nathanson KL, Gimotty PA, Coukos G, Weber BL, Degenhardt Y. Frequent genetic abnormalities of the PI3K/AKT pathway in primary ovarian cancer predict patient outcome. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 606-618 [PMID: 21563232 DOI: 10.1002/gcc.20883]

12 Foubert E, De Craene B, Berx G. Key signalling nodes in mammary gland development and cancer. The Snail1-Twist1 conspiracy in malignant breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2010; 12: 206 [PMID: 20594364 DOI: 10.1186/bcr2585]

13 Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 4387-4392 [PMID: 22199303]

14 Mosca E, Barcella M, Alfieri R, Bevilacqua A, Canti G, Milanesi L. Systems biology of the metabolic network regulated by the Akt pathway. *Biotechnol Adv* 2012; 30: 131-141 [PMID: 21856401 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.08.004]

15 Workman P, Clarke PA, Raynaud FI, van Montfort RL. Drugging the PI3 kinome: from chemical tools to drugs in the clinic. *Cancer Res* 2010; 70: 2146-2157 [PMID: 20179189 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4355]

16 Yun J, Lv YG, Yao Q, Wang L, Li YP, Yi J. Wortmannin inhibits proliferation and induces apoptosis of MCF-7 breast cancer cells. *Eur J Gynaecol Oncol* 2012; 33: 367-369 [PMID: 23091892]

17 Mitrea DM, Yoon MK, Ou L, Kriwacki RW. Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27. *Biol Chem* 2012; 393: 259-274 [PMID: 23029651 DOI: 10.1515/hsz-2011-0254]

18 Lee J, Kim SS. The function of p27 KIP1 during tumor development. *Exp Mol Med* 2009; 41: 765-771 [PMID: 19887899 DOI: 10.3858/emm.2009.41.11.102]

19 Yoon MK, Mitrea DM, Ou L, Kriwacki RW. Cell cycle regulation by the intrinsically disordered proteins p21 and p27. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 981-988 [PMID: 22988851]

20 Hershko DD. Oncogenic properties and prognostic implications of the ubiquitin ligase Skp2 in cancer. *Cancer* 2008; 112: 1415-1424 [PMID: 18260093 DOI: 10.1002/cncr.23317]

21 Kitagawa K, Kotake Y, Kitagawa M. Ubiquitin-mediated control of oncogene and tumor suppressor gene products. *Cancer Sci* 2009; 100: 1374-1381 [PMID: 19459846 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01196.x]

22 孙立春, 隋广杰, 刘亚琴. SKP2在大肠癌组织中的表达及预后意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2516-2520

23 Wang Z, Gao D, Fukushima H, Inuzuka H, Liu P, Wan L, Sarkar FH, Wei W. Skp2: a novel potential therapeutic target for prostate cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1825: 11-17 [PMID: 21963805 DOI: 10.1016/j.bbcan.2011.09.002]

24 Wei Z, Jiang X, Liu F, Qiao H, Zhou B, Zhai B, Zhang

L, Zhang X, Han L, Jiang H, Krissansen GW, Sun X. Downregulation of Skp2 inhibits the growth and metastasis of gastric cancer cells in vitro and in vivo. *Tumour Biol* 2013; 34: 181-192 [PMID: 23229098 DOI: 10.1007/s13277-012-0527-8]

25 Wang G, Chan CH, Gao Y, Lin HK. Novel roles of Skp2 E3 ligase in cellular senescence, cancer progression, and metastasis. *Chin J Cancer* 2012; 31: 169-177 [PMID: 22200179 DOI: 10.5732/cjc.011.10319]

26 Chan CH, Lee SW, Wang J, Lin HK. Regulation of Skp2 expression and activity and its role in cancer progression. *ScientificWorldJournal* 2010; 10: 1001-1015 [PMID: 20526532 DOI: 10.1100/tsw.2010.89]

27 Lin HK, Wang G, Chen Z, Teruya-Feldstein J, Liu Y, Chan CH, Yang WL, Erdjument-Bromage H, Nakayama KI, Nimer S, Tempst P, Pandolfi PP. Phosphorylation-dependent regulation of cytosolic localization and oncogenic function of Skp2 by Akt/PKB. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 420-432 [PMID: 19270694 DOI: 10.1038/ncb1849]

28 Ecker K, Hengst L. Skp2: caught in the Akt. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 377-379 [PMID: 19337320 DOI: 10.1038/ncb0409-377]

29 Ho WC, Pikor L, Gao Y, Elliott BE, Greer PA. Calpain 2 regulates Akt-FoxO-p27(Kip1) protein signaling pathway in mammary carcinoma. *J Biol Chem* 2012; 287: 15458-15465 [PMID: 22427650 DOI: 10.1074/jbc.M112.349308]

30 He S, Lu M, Xue W, Wang Y, Zhao Y, Gao S, Ke Q, Liu Y, Li P, Cui X, Cheng C, Shen A. Phosphorylated p27Kip1 on Thr157 is an important prognosis in human hepatocellular carcinoma in vivo and in vitro. *Med Oncol* 2011; 28: 94-104 [PMID: 20108172 DOI: 10.1007/s12032-009-9408-4]

编辑 黄新珍 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 •

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.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2258-2266
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用

王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张 峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙 杨, 张小薄

■背景资料
胰腺癌恶性程度高, 发病率呈逐年上升趋势, 诊断困难, 手术创伤大, 预后差, 加强其侵袭转移机制研究有助于治疗. 纤溶酶(原)参与多种肿瘤早期细胞解离过程, 在肿瘤发生发展中起到重要的作用.

王怀涛, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄, 中国医科大学附属盛京医院胰腺甲状腺外科 辽宁省沈阳市 110004
郭鸿飞, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004
王怀涛, 硕士, 医师, 主要从事胰腺癌的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30973501
作者贡献分布: 此课题由王怀涛与谭晓冬设计; 研究过程由王怀涛、郭鸿飞、张峻、李捍司、杨一帆、王兆平、孙杨及张小薄操作完成; 研究所用试剂与分析工具由谭晓冬提供; 数据分析由王怀涛、郭鸿飞及谭晓冬完成; 本论文写作由王怀涛完成.
通讯作者: 谭晓冬, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院胰腺甲状腺外科. tanxd@hotmail.com
电话: 024-96615-31111
收稿日期: 2013-05-04 修回日期: 2013-07-07
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells

Huai-Tao Wang, Hong-Fei Guo, Xiao-Dong Tan, Jun Zhang, Han-Si Li, Yi-Fan Yang, Zhao-Ping Wang, Yang Sun, Xiao-Bo Zhang

Huai-Tao Wang, Xiao-Dong Tan, Jun Zhang, Han-Si Li, Yi-Fan Yang, Zhao-Ping Wang, Yang Sun, Xiao-Bo Zhang, Department of Pancreatic and Thyroidal Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Hong-Fei Guo, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30973501
Correspondence to: Xiao-Dong Tan, Professor, Chief Physician, Department of Pancreatic and Thyroidal Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. tanxd@hotmail.com
Received: 2013-05-04 Revised: 2013-07-07
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To discuss the potential role of plasminogen cascade proteins in the dissociation and subsequent invasion of pancreatic cancer cells.

METHODS: The expression of plasminogen, urokinase type plasminogen activator (uPA) and uPA receptor (uPAR) was detected by Western blot and immunocytochemistry in cell lines and by immunohistochemistry in tissue samples of pancreatic cancer. The correlation between expression of plasminogen cascade proteins and cell dissociation and invasion was analyzed.

RESULTS: Plasminogen, uPA and uPAR were strongly expressed in conditioned medium of dissociated pancreatic cancer cells (PC-1.0), but weakly expressed in conditioned medium of non-dissociated pancreatic cancer cells (PC-1). uPA treatment significantly induced the expression of plasminogen and uPAR in conditioned medium of non-dissociated pancreatic cancer cells (PC-1). Stronger expression of plasminogen and uPAR was observed at the invasive front end than at the center of human pancreatic cancer tissue. Plasmin treatment induced matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-7 and MMP-9 expression in PC-1 cells. Treatment with plasmin or uPA obviously induced invasiveness and dissociation of cell colonies in PC-1 cells.

CONCLUSION: The plasminogen cascade is involved in cell dissociation in the early stage of invasion of pancreatic cancer cells. The plasminogen cascade may be a potential molecular target for anti-invasion and anti-metastasis therapy for pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Invasion; Metastasis; Plasminogen; Urokinase type plasminogen activator; Urokinase type plasminogen activator receptor

Wang HT, Guo HF, Tan XD, Zhang J, Li HS, Yang YF, Wang ZP, Sun Y, Zhang XB. Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2258-2266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258

■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; 夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

摘要

目的: 探讨纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞解离和侵袭过程中的作用.

方法: 利用Western blot、免疫细胞化学、免疫组织化学和体外侵袭试验检测胰腺癌细胞

系和组织中纤溶酶(原)、尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA)和uPA受体(uPAR)的表达, 分析其与细胞解离和侵袭的相关性.

结果: 纤溶酶(原)、uPA和uPAR蛋白在解离型高转移株胰腺癌细胞PC-1.0的条件培养基中高表达, 而在非解离型低转移株胰腺癌细胞PC-1的条件培养基中低表达. 然而, 经uPA处理后的PC-1细胞的条件培养基中纤溶酶(原)和uPAR表达显著增加. 并且, 纤溶酶(原)和uPAR在胰腺癌组织的侵袭前端的表达强于其在组织中心处的表达. 此外, 纤溶酶处理可诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-7和MMP-9在PC-1细胞中的表达. PC-1细胞通过纤溶酶或uPA处理后可显著增强细胞解离和体外侵袭能力.

结论: 在胰腺癌细胞侵袭过程中, 纤溶酶(原)级联反应与细胞早期解离密切相关. 纤溶酶(原)级联反应可作为抗胰腺癌侵袭转移分子靶向治疗的新靶点.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺癌; 侵袭; 转移; 纤溶酶(原); 尿激酶型纤溶酶原激活物; 尿激酶型纤溶酶原激活物受体

核心提示: 本研究通过检测纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞和组织中的表达情况, 明确其密切参与胰腺癌肿瘤侵袭早期阶段的细胞解离过程. 本实验为胰腺癌侵袭转移的研究提供了理论依据, 也为抗胰腺癌侵袭转移分子靶向治疗提供新的靶点.

王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄. 纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2258-2266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258

0 引言

胰腺癌是人类恶性程度最高的肿瘤之一, 具有很强的侵袭和转移特性[1,2]. 肿瘤的侵袭转移是一个多步骤的复杂过程[3]. 然而, 迄今为止, 胰腺癌侵袭转移过程的细胞和分子机制尚未完全明确.

在早期研究中, 我们已确定两种具有不同侵袭转移潜能的仓鼠胰腺癌细胞系[解离型高转移株胰腺癌细胞系, PC-1.0和非解离型低转移株胰腺癌细胞系, 非解离型细胞(pancreatic cancer, PC-1)][4]. 在近期的研究中我们发现胰腺癌细胞中基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase, MMP-7)和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)介导的促分裂素原活化蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MEK)/细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号转导通路的活化与细胞解离和侵袭密切相关[5-7]. 另一方面, 分泌性蛋白酶的两个家族, 丝氨酸蛋白酶[本质上, 纤溶酶(原)]和MMP对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是非常重要的[8,9]. 纤溶酶的最重要的生理功能之一就是激活MMP-7[10]. 纤溶酶原激活物有两种类型, 分别为尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA)和组织型纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activator, tPA). 纤溶酶原活化形成纤溶酶是通过tPA或者uPA结合到其受体(uPAR)上引起细胞外基质成分和基膜的逐步降解, 也可能引起金属蛋白激酶、潜在的生长因子的活化以及膜糖蛋白的水解[11-13]. 所有的这些过程都可能导致肿瘤的侵袭转移. 然而关于胰腺癌早期侵袭转移过程(细胞解离)中纤溶酶(原)级联反应的作用的文章却很少. 并且纤溶酶(原)级联反应与MMP在胰腺癌侵袭转移的早期阶段的关系尚未明确.

本研究通过检测纤溶酶(原)级联蛋白和MMP在胰腺癌中的表达情况来分析纤溶酶(原)级联蛋白参与胰腺癌细胞解离和侵袭过程以及在此过程中和MMP的关系.

■研发前沿
纤溶酶(原)级联蛋白参与肿瘤侵袭的机制不清楚, 有少量相关研究报道其在胃癌、膀胱移行细胞癌、肾母细胞瘤、肝癌等恶性肿瘤中的作用, 目前关于其在胰腺癌中的作用机制不明确.

1 材料和方法

1.1 材料 本实验采用仓鼠胰腺癌细胞系PC-1.0和PC-1. 其中非解离型低转移株细胞PC-1是通过BOP诱导的叙利亚仓鼠实验性胰腺癌模型建立. 解离型高转移株细胞PC-1.0是由同系仓鼠皮下接种PC-1细胞产生的肝转移瘤建立[4]. PC-1细胞呈岛样细胞克隆方式生长, 而PC-1.0细胞呈单个细胞方式生长. 上述细胞均以RPMI 1640(Gibco-BRL, Grand Island, NY)培养, 并加10%胎牛血清(Bioserum, Victoria, Australia)、100 U/mL青霉素G和100 μg/mL链霉素, 在含5%CO_2的37 ℃孵箱内培养. 实验前上述细胞需无血清培养过夜. 所有的组织样本均取自中国医科大学附属盛京医院胰腺甲状腺外科2009-10/2012-07实行手术治疗的37位胰腺癌患者, 其中男14例, 女23例, 年龄35-78岁, 平均63.5岁. 这些样本在组织学上包括13例高分化, 20例中分化和4例低分

■相关报道
目前, 已有研究发现纤溶酶(原)级联蛋白在多种肿瘤细胞中表达增强, 介导基底膜的破坏和和细胞外基质的降解, 从而参与肿瘤的侵袭转移. 但其具体作用机制有待进一步探索.

化腺癌. 上述标本类型均经过组织学检查和病理诊断证实. 本研究采用鼠抗纤溶酶原/纤溶酶抗体(American Diagnostica, CT), 兔抗uPA抗体(Innovative Research, Southield, MI), 兔抗uPAR抗体(American Diagnostica)和山羊抗MMP-2、MMP-7和MMP-9抗体(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). FITC标记的荧光抗体(Santa Cruz Biotechnology)作为二抗.

1.2 方法

1.2.1 细胞裂解产物的制备和细胞培养液的缩合: 上述胰腺癌细胞在含10%胎牛血清的10 mL RPMI 1640培养液的90 mm 细胞培养皿中培养. 当细胞生长到亚融合状态时, 培养液用无血清培养液代替, 并孵育36 h. 实验组PC-1细胞用1 μg/mL uPA处理(Innovative Research). 然后收集培养液上清, 使用Vivaspin concentrator(Vivascience, Hannover, Germany)浓缩50倍. 同时, 细胞培养皿中加入1 mL RIPA蛋白裂解液(50 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl, 1%NP-40, 0.5%脱氧胆酸钠, 0.1%SDS, pH 7.5. 使用前加入1 mmol/L苯甲磺酰氟, 1 g/L亮肽酶素, 1 g/L抑肽酶), 冰上反应15 min. 4 ℃ 5000 r/min离心5 min后将细胞裂解产物的上清液和浓缩的细胞培养液保存于-80 ℃中备用.

1.2.2 Western blot分析: 蛋白样本与4倍加样缓冲液混合, 95 ℃加热. 取等量的20 μg样本行7.5%聚丙烯酰胺平板凝胶电泳, 利用PVDF膜(Bio-Rad), 以含5%脱脂奶粉和0.1%Tween-20的PBS液在室温下封闭转膜2 h, 然后用0.1%PBS/Tween-20稀释的一抗在4 ℃下培养过夜. 漂洗后用0.1%PBS/Tween-20以1∶5000稀释马源性过氧化物酶结合的二抗, 漂洗2次15 min. 以柯达科学成像胶片(Eastman Kodak Company, Rochester, NY)化学发光法检测信号强度. 人纤溶酶原, 纤溶酶(Innovative Research), uPA和uPAR阳性对照组(American Diagnostica)作为阳性对照.

1.2.3 免疫荧光染色和荧光强度(FI)的分析: 上述各组细胞系种植于chamber slides中孵育. 实验组PC-1细胞用5 μg/mL纤溶酶处理36 h. 培养后, 将细胞室温下以0.5%多聚甲醛固定10 min. 为了明确纤溶酶(原)在细胞膜上的表达情况, 细胞处理液中不含Triton X-100. 用10%正常山羊血清阻滞30 min防止非特异性染色. 之后加多克隆抗体(1∶200, 以含1%小牛白蛋白的PBS液稀释), 在4 ℃下培养过夜. 在室温下加若丹明标记的二抗培养2 h. 上述各步骤间均以PBS液冲洗3次, 封片后上述细胞于共聚焦激光显微镜(FV500-IX, Olympus, Japan)下观察并摄取图像. 对照组标本制备如下: (1)切片不用一抗处理; (2)正常山羊或鼠血清和非特异山羊或鼠IgG代替一抗. 最后, 利用Fluoview 500(version 4.3, Olympus, Japan)软件随机选取6处不同图像中纤溶酶(原)、MMP-2、MMP-7和MMP-9的表达在细胞总体、细胞核、细胞质及细胞膜的平均FI值, 并将6个FI值的均值作为最终FI分析值.

1.2.4 体外侵袭实验: 体外侵袭实验采用Invasion Chamsters(Bectn Dickinson Labware, Bedford, MA)检测细胞的体外侵袭能力. Transwell培养板上室加入500 μL细胞悬液(1×10^5/mL)和相同体积的无血清培养液. 将含1 mL含10%FBS的RPMI 1640培养基和等体积的Balb/3T3细胞的无血清培养基作为趋化因子的加入培养板下室中. PC-1.0细胞和PC-1细胞在37 ℃下培养12 h, 实验组PC-1细胞用5 μg/mL纤溶酶或1 μg/mL uPA处理. 取出小室, 用湿棉签轻轻擦去凝胶和聚碳酯膜上表面的细胞, 留下侵袭至Transwell底部膜的癌细胞, 以固定后行Diff-Quik染色. 在显微镜下(100倍视野)计数, 以任意5个视野的细胞数的平均数作为侵袭至膜上的细胞, 计算侵袭率, 侵袭率 = 侵袭至膜上的细胞/种植的细胞数.

1.2.5 免疫组织化学分析: 免疫组织化学染色应用亲和素-生物素-过氧化物酶复合物技术(Vectastain Elite ABC Kit; Vector Laboratories, Burlingame, CA). 外科切除组织样本应尽快用40g/L甲醛固定. 然后用石蜡包埋并切成5 μm的连续切片. 脱蜡复水后, 用1.5%H_2O_2(甲醇)浸泡30 min以消除内源性过氧化物酶活性, 并用蒸馏水洗3次. 用正常山羊血清做非特异性封闭. 加入一抗(含1%小牛血清PBS 1∶200稀释, pH 7.4)室温2 h孵育. PBS洗涤3遍, 生物素化二抗室温50 min孵育, 洗涤3次, 加卵白素过氧化物酶结合物孵育1 h, 洗涤. 最后, DAB-H_2O_2(Vector Laboratories)室温显色. 洗涤后, 苏木精复染3 s, 脱水, 封片. 对照组标本制作如下: (1)切片不用一抗处理; (2)正常鼠或兔血清和非特异鼠或兔IgG代替一抗.

统计学处理 采用Stat View计算机软件(SAS Institute Inc., Cary, NC)利用非配对Student's *t*检验分析不同实验组总细胞内、细胞核、细胞质及细胞膜的纤溶酶(原), MMP-2、MMP-7和MMP-9表达的平均FI值以及体外侵袭试验中胰腺癌细胞的数目. $P<0.05$认为差异具有统计学意义.

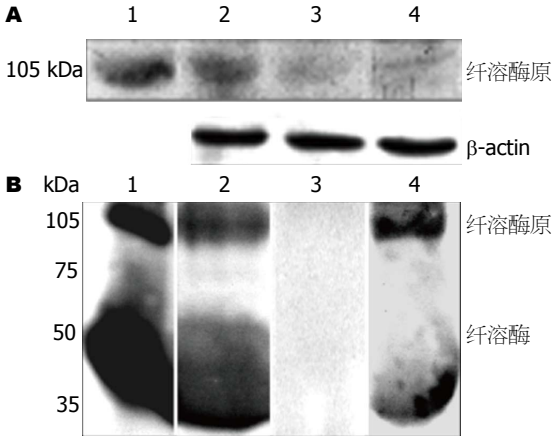


图 1 纤溶酶(原)在胰腺癌细胞和细胞培养液中的表达. A: 胰腺癌细胞中纤溶酶原和纤溶酶蛋白的Western blot分析结果; B: 纤溶酶原和纤溶酶蛋白在细胞培养液中的Western blot结果.1: 阳性对照; 2: PC−1.0细胞; 3: PC−1细胞; 4: uPA处理过的PC−1细胞.

2 结果

2.1 解离型(PC-1.0)和非解离型(PC-1)胰腺癌细胞中纤溶酶(原)级联蛋白的差异表达

2.1.1 PC-1.0和PC-1细胞中纤溶酶(原)的表达: Western blot分析结果表明纤溶酶(原)在PC-1.0细胞中表达强于其在PC-1细胞中的表达. 经uPA处理后的PC-1细胞中纤溶酶(原)的诱导表达没有明显变化(图1A). 相对于其在细胞中的表达, 应用Western blot检测纤溶酶原和纤溶酶在PC-1.0和PC-1细胞的培养液中的表达明显不同(图1B). 在PC-1.0细胞的培养液中检测出大量的纤溶酶原和纤溶酶蛋白, 而在PC-1细胞的培养液中未检测出. 然而经uPA处理后的PC-1细胞的条件培养基中检测出纤溶酶原和纤溶酶蛋白的表达.

另外, 荧光染色图像进一步表明细胞膜上的纤溶酶(原)在PC-1.0细胞(FI: 33.6±7.1, 图2A)中的表达显著强于其在PC-1细胞(FI: 2.2±0.8, $P<0.05$, 图2B)中的表达. 然而胞浆中的纤溶酶原在PC-1.0细胞(FI: 7.5±1.8, 图2C)和PC-1细胞(FI: 8.0±1.1, $P>0.05$, 图2D)中表达均较弱. 荧光强度(FI)值列于图2E.

2.1.2 PC-1.0和PC-1细胞中uPA的表达: Western blot分析表明pro-uPA蛋白在PC-1.0和PC-1细胞内表达均很弱, 并无明显差异(图3A). 与此相反, 在PC-1.0细胞的条件培养基中发现了更多的uPA蛋白(图3B).

2.1.3 PC-1.0和PC-1细胞中uPAR的表达: Western blot结果表明uPAR蛋白在PC-1.0和PC-1细胞内的表达无明显差异. 并且, PC-1细胞经uPA处理后细胞内uPAR的表达无明显的改变(图3C).

然而, 在PC-1.0细胞的条件培养基中检测出可溶性uPAR(suPAR)蛋白, 而在PC-1细胞的条件培养基中几乎未检测出suPAR. uPA处理后的PC-1细胞的条件培养基中suPAR蛋白的表达显著增加(图3D).

2.2 人类胰腺癌组织中纤溶酶(原)级联蛋白的表达

在胰腺非恶性肿瘤组织中, 纤溶酶(原)蛋白呈现微弱的免疫染色(图4A), 而uPAR(图4C)和uPA(图4E)蛋白无免疫染色. 在胰腺癌组织中心(白色箭头)和侵袭前端(黑色箭头), 纤溶酶(原)(图4B)、uPAR(图4D)和uPA(图4F)蛋白的表达显著增加.并且在同一胰腺癌组织中, 侵袭前端处的纤溶酶(原)和uPAR蛋白的表达明显强于组织中间处的表达(图4B, D).

2.3 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞形态学、细胞内MMP表达和体外侵袭的关系

2.3.1 PC-1细胞经纤溶酶或uPA处理后细胞解离的变化: 解离型胰腺癌细胞(PC-1.0)呈单个细胞方式生长(图5A), 而非解离型胰腺癌细胞(pancreatic cancer, PC-1)呈岛样细胞克隆方式生长(图5B). 然而, PC-1细胞经5 μg/mL纤溶酶或1 μg/mL uPA处理36 h后出现明显的细胞克隆团解离(图5C, D).

2.3.2 PC-1细胞经纤溶酶处理后MMP-2、MMP-7和MMP-9表达的变化: 在解离型胰腺癌细胞(PC-1.0)中, 可观察到细胞内MMP-2[荧光强度(FI): 15.6±4.3, 图6A], MMP-7(FI: 19.2±5.2, 图6B), 和MMP-9(FI: 22.6±5.6, 图6C)蛋白的强表达. 然而, PC-1细胞内MMP-2(FI: 3.5±1.7, $P<0.05$, 图6D), MMP-7(FI: 11.5±2.9, $P<0.05$, 图6E)和MMP-9(FI: 3.4±1.9, $P<0.05$, 图6F)蛋白的表达却很微弱. 相比之下, 经纤溶酶处理后的PC-1细胞内MMP-2(FI: 32.0±6.7, $P<0.05$, 图6G), MMP-7(FI: 23.7±5.4, $P<0.05$, 图6H), MMP-9(FI: 18.6±4.9, $P<0.05$, 图6I)蛋白的表达发生了明显的改变. MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白表达的FI值列于图6J.

2.3.3 PC-1细胞经纤溶酶或uPA处理后体外侵袭能力的变化: 如图7表示, 解离型细胞(PC-1.0)呈现出一种强侵袭力(侵袭细胞数量 = 31.3±4.2). PC-1却呈现出一种弱侵袭力(侵袭细胞数量 = 10.7±3.1, $P<0.01$), 然而PC-1细胞经过纤溶酶或uPA处理12 h后侵袭力显著增强, 侵袭细胞数量分别为60.3±11.5, $P<0.01$和32.7±7.4, $P<0.01$.

■创新盘点

本研究利用多方法, 多角度检测尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator)及其受体, 纤溶酶(原)在不同侵袭潜能的胰腺癌细胞系中的表达情况, 通过增加不同的处理因素来观察表达的变化情况来探讨其对胰腺癌细胞解离过程中的作用机制.

■应用要点
本实验明确了纤溶酶(原)在胰腺癌侵袭过程早期的细胞解离阶段的具体机制. 为胰腺癌分子靶向治疗提供了新靶点.

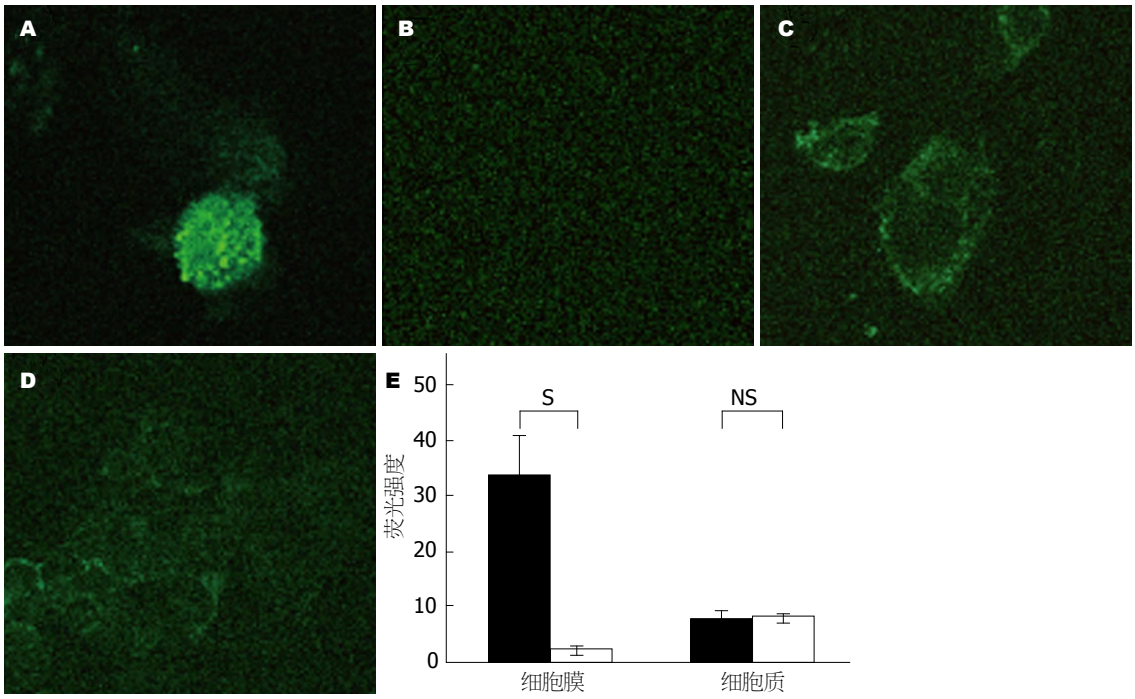


图 2 纤溶酶(原)在细胞中的定位. A: 纤溶酶(原)在PC−1.0细胞膜上的表达; B: 纤溶酶(原)在PC−1细胞膜上的表达; C: 纤溶酶原在PC−1.0细胞浆中的表达情况; D: 纤溶酶原在PC−1细胞浆中的表达情况. 免疫荧光染色×400. E: 纤溶酶(原)表达的FI值. 黑条: PC−1.0细胞; 白条: PC−1细胞; S: 差异显著; NS: 差异不显著.

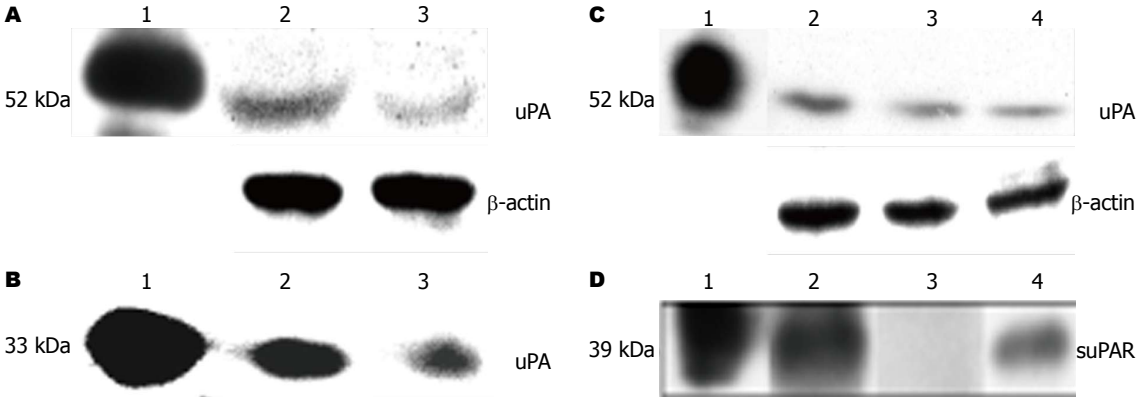


图 3 uPA和uPAR蛋白在胰腺癌细胞中的表达. A: uPA在细胞内的表达; B: uPA在条件培养基中的表达; C: uPAR在细胞内的表达; D: uPAR在条件培养基中的表达. 1: 阳性对照; 2: PC−1.0细胞; 3: PC−1细胞; 4: uPA处理过的PC−1细胞. uPA: 尿激酶型纤溶酶原激活物; suPAR: 可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体.

3 讨论

细胞周围蛋白水解在肿瘤细胞侵袭过程中起到关键作用[14-16]. 纤溶酶可直接和间接(通过激活某些MMP)降解细胞外基质和基底膜的蛋白质, 从而促进细胞外基质降解、肿瘤细胞增殖、侵袭和转移[17]. 本研究表明, 纤溶酶(原)蛋白在不同解离状态和侵袭力的胰腺癌细胞中均强表达. 解离型胰腺癌细胞呈单个细胞生长方式, 具有高侵袭能力, 纤溶酶(原)蛋白在此类细胞胞膜和培养液中呈现强表达状态. 相比之下, PC-1呈岛样细胞克隆方式生长, 具有较弱的侵袭力, 纤溶酶(原)蛋白在此类细胞胞膜和培养液中不表达. 此外, PC-1经纤溶酶处理后细胞解离和体外侵袭能力明显地增加. 纤溶酶(原)蛋白在人类胰腺癌组织中呈现强表达, 并且纤溶酶在肿瘤组织侵袭前端处的表达强于其在肿瘤中心处的表达. 总的来说, 目前的结果表明, 纤溶酶(原)密切参与胰腺癌细胞的侵袭转移过程, 尤其是细胞解离过程, 这是其第一个重要步骤[18,19]. 纤溶酶(原)在胰腺癌细胞膜和培养液中存在差异表达, 而不是在胞质中, 这可能意味着纤溶酶(原)和其他分子的相互作用对于纤溶酶(原)功能的激活是必需的.

另一方面, 基底膜的主要成分是Ⅳ型胶

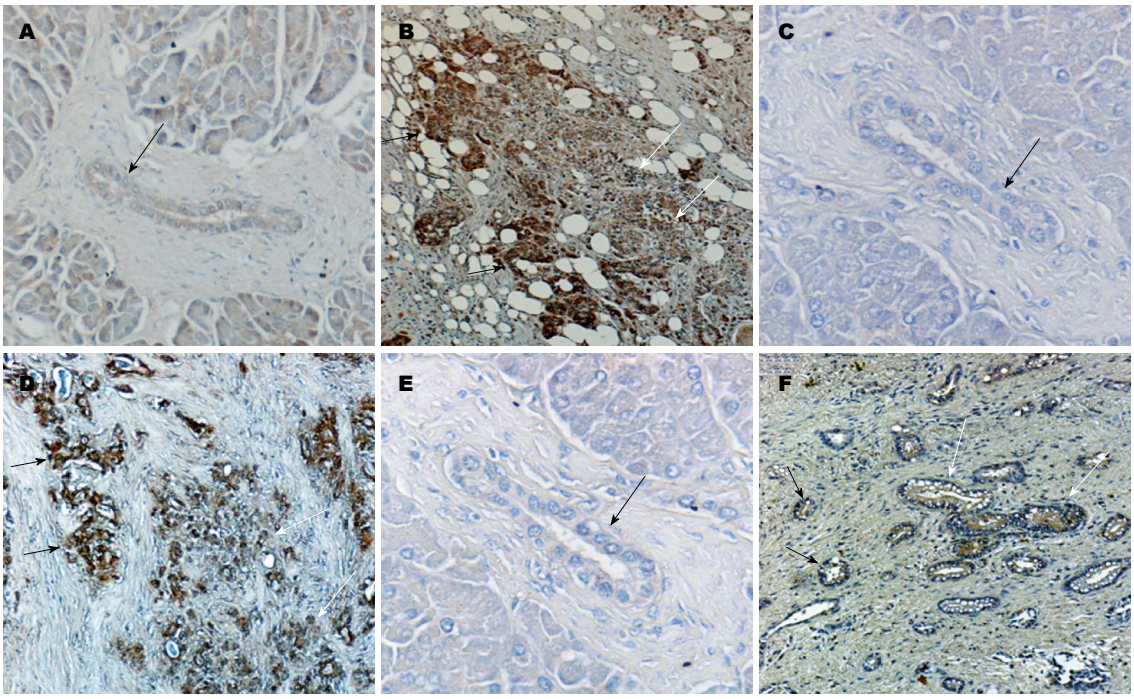


图 4 纤溶酶(原)级联蛋白在人类胰腺癌组织中的表达. A: 纤溶酶(原)在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达; B: 纤溶酶(原)在胰腺恶性肿瘤组织中的表达; C: uPAR在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达; D: uPAR在胰腺恶性肿瘤组织中的表达; E: uPA在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达; F: uPA在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达. uPA: 尿激酶型纤溶酶原激活物.

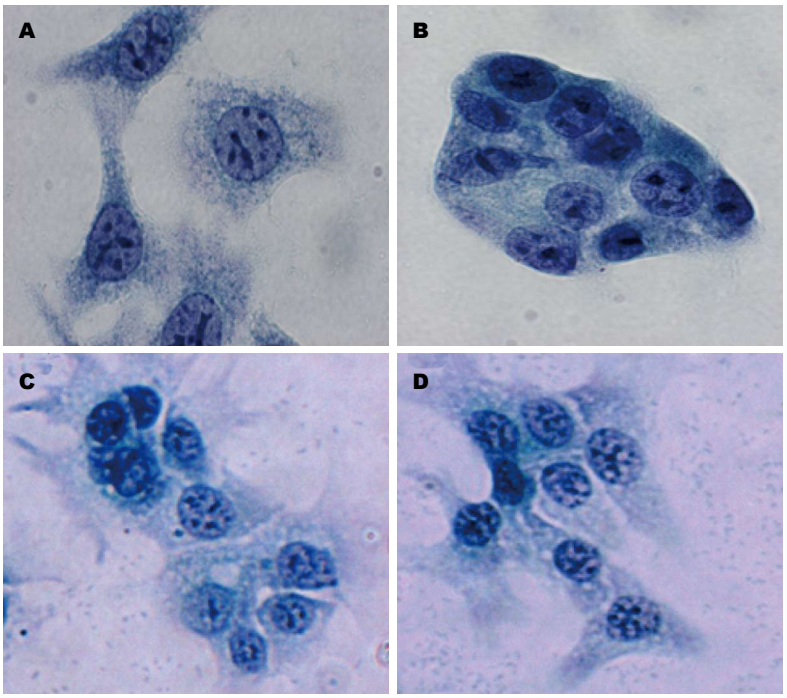


图 5 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞形态学的关系(巴氏染色×400). A: 解离型胰腺癌细胞(PC-1.0细胞)的生长方式; B: 非解离型胰腺癌细胞(PC-1细胞)的生长方式; C: PC-1细胞经纤溶酶处理后的生长方式; D: PC-1细胞经uPA处理后的生长方式.

■**同行评价**
本文设计合理, 角度全面, 结果客观, 具有一定的科学意义.

原、层粘连蛋白、硫酸乙酰肝素蛋白多糖和巢蛋白[20]. 明胶酶A(MMP-2)和明胶酶B(MMP-9)在肿瘤细胞中的平衡被认为是和细胞的侵袭性有关[21,22]. 此外, 有报道称MMP-7阳性和胰腺癌肿瘤侵袭、淋巴结及远端转移程度密切相关[23-25]. 在本研究中, PC-1经纤溶酶处理后细胞解离和MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白的表达明显改变. 这些结果表明, 纤溶酶(原)级联蛋白和MMPs的相互作用降解细胞外基质. 此外, 几种激活的MMP可以激活其他的MMP, 从而形成一个正反馈机制[26,27], 从而胰腺癌细胞的解离和侵袭力被诱导增强了.

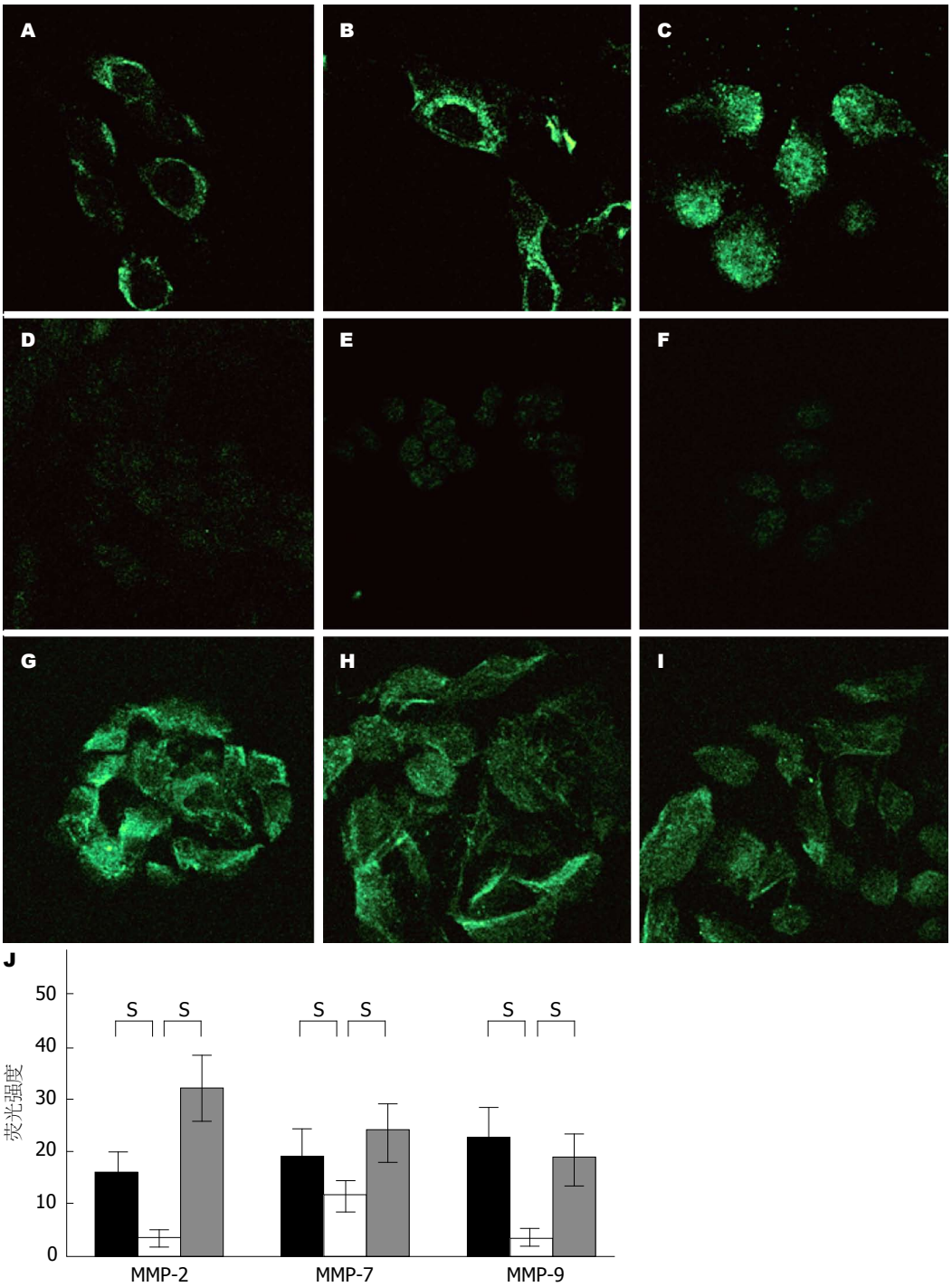


图 6 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞内基质金属蛋白酶(MMP)表达的关系. A, B, C: 分别为解离型胰腺癌细胞(PC−1.0)中MMP−2, MMP−7和MMP−9蛋白表达; D, E, F: 分别为非解离型胰腺癌细胞(PC−1)中MMP−2, MMP−7和MMP−9蛋白表达; G, H, I: PC−1细胞经纤溶酶处理后MMP−2, MMP−7和MMP−9蛋白表达变化. 免疫荧光染色×400. MMP−2, MMP−7和MMP−9蛋白表达的荧光强度(FI)值列于J. 黑色柱: PC−1.0细胞; 白色柱: PC−1细胞; 灰色柱: 纤溶酶处理PC−1细胞; S: 显著.

uPA, 纤溶酶(原)级联反应中另一个重要的分子, 在解离型和PC-1的培养液中存在差异表达. uPA处理非解离型细胞可诱导纤溶酶(原)的表达, 细胞解离以及细胞侵袭力. 然而, tPA是另一种纤溶酶原的激活物, 在初步实验(数据未示出)中证实其在解离型和非解离型细胞的胞质或培养液中的表达没有差异. 虽然tPA也可将纤溶酶原转换成纤溶酶, 但他主要参与纤维蛋白溶解[28,29]. 这些结果表明, uPA可能是胰腺癌细胞解离中纤溶酶原的激活剂, 并参与随后的侵袭转移过程.

与细胞内的uPAR相比, 存在于体液中的

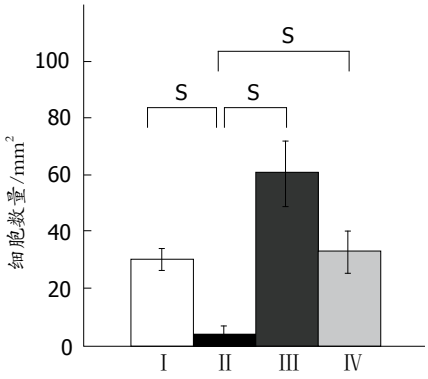


图 7 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞体外侵袭的关系. Ⅰ: PC−1.0细胞; Ⅱ: PC−1细胞; Ⅲ: 纤溶酶处理后PC−1细胞; Ⅳ: uPA处理后PC−1细胞; S: 显著.

uPAR(可溶性的uPAR, suPAR)被认为是一个更重要的预后指标[30,31]. 虽然uPAR蛋白在解离型和非解离型细胞内的表达无明显差异, 但是解离型细胞的培养液中suPAR蛋白多于非解离型细胞的条件培养基中的suPAR蛋白. 另外, 在uPA处理后的非解离型细胞的条件培养基中suPAR蛋白的表达显著增加. uPAR蛋白在人类胰腺癌组织中也呈现强表达, 并且uPAR在肿瘤组织侵袭前端处的表达强于其在肿瘤中心处的表达. 因此, 所有这些数据表明, uPAR也是参与胰腺癌的侵袭转移过程的重要分子之一. 然而, uPA在胰腺癌组织侵袭前端和中心处表达无差异, 而uPAR和uPA在这两处的表达却存在差异, 这可能意味着, 在胰腺癌侵袭转移过程中除了和uPA结合外, uPAR可能独立发挥作用.

总之, 纤溶酶(原)级联反应密切参与胰腺癌细胞的细胞解离和侵袭过程. 纤溶酶原的产生、分泌和激活, 可能是胰腺癌细胞解离和侵袭过程的限速步骤. 通过研究胰腺癌的侵袭特性, 如纤溶酶(原)级联反应, 可能为胰腺癌的抗肿瘤治疗提供一个具有重要参考价值的新靶标.

4 参考文献

1 Jaffee EM, Hruban RH, Canto M, Kern SE. Focus on pancreas cancer. *Cancer Cell* 2002; 2: 25-28 [PMID: 12150822 DOI: 10.1016/S1535-6108(02)00093-4]

2 Real FX. A "catastrophic hypothesis" for pancreas cancer progression. *Gastroenterology* 2003; 124: 1958-1964

3 Torimura T, Ueno T, Kin M, Harada R, Nakamura T, Kawaguchi T, Harada M, Kumashiro R, Watanabe H, Avraham R, Sata M. Autocrine motility factor enhances hepatoma cell invasion across the basement membrane through activation of beta1 integrins. *Hepatology* 2001; 34: 62-71 [PMID: 11431735 DOI: 10.1053/jhep]

4 Egami H, Tomioka T, Tempero M, Kay D, Pour PM. Development of intrapancreatic transplantable model of pancreatic duct adenocarcinoma in Syrian golden hamsters. *Am J Pathol* 1991; 138: 557-561 [PMID: 2000935]

5 Hofmann I, Weiss A, Elain G, Schwaederle M, Sterker D, Romanet V, Schmelzle T, Lai A, Brachmann SM, Bentires-Alj M, Roberts TM, Sellers WR, Hofmann F, Maira SM. K-RAS mutant pancreatic tumors show higher sensitivity to MEK than to PI3K inhibition in vivo. *PLoS One* 2012; 7: e44146 [PMID: 22952903 DOI: 10.1371/journal.pone.0044146]

6 Tan X, Egami H, Kamohara H, Ishikawa S, Kurizaki T, Yoshida N, Tamori Y, Takai E, Hirota M, Ogawa M. Involvement of the mitogen-activated protein kinase kinase 2 in the induction of cell dissociation in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2004; 24: 65-73 [PMID: 14654942]

7 Tan X, Egami H, Ishikawa S, Sugita H, Kamohara H, Nakagawa M, Nozawa F, Abe M, Ogawa M. Involvement of matrix metalloproteinase-7 in invasion-metastasis through induction of cell dissociation in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2005; 26: 1283-1289 [PMID: 15809719 DOI: 10.1136/jcp.2004.025338]

8 Keely PJ. Proteolytic remodeling of the ECM and the geometric control of stem cell fate. *Dev Cell* 2013; 25: 325-326 [PMID: 23725758 DOI: 10.1016/]

9 Huttenlocher A. ECM: chemoattraction but not adhesion. *Blood* 2013; 121: 1489-1491 [PMID: 23449615 DOI: 10.1182/blood-2013-01-474221]

10 Farina AR, Cappabianca L, Di Ianni N, Ruggeri P, Ragone M, Merolle S, Gulino A, Mackay AR. Alendronate promotes plasmin-mediated MMP-9 inactivation by exposing cryptic plasmin degradation sites within the MMP-9 catalytic domain. *FEBS Lett* 2012; 586: 2366-2374 [PMID: 22677171 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.05.048]

11 Zhou DH, Yang LN, Roder C, Kalthoff H, Trauzold A. TRAIL-induced expression of uPA and IL-8 strongly enhanced by overexpression of TRAF2 and Bcl-xL in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 94-98 [PMID: 23392805 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60012-0]

12 Taubert H, Magdolen V, Kotzsch M. Impact of expression of the uPA system in sarcomas. *Biomark Med* 2013; 7: 473-480 [PMID: 23734810 DOI: 10.2217/bmm.12.105]

13 Mani T, Wang F, Knabe WE, Sinn AL, Khanna M, Jo I, Sandusky GE, Sledge GW, Jones DR, Khanna R, Pollok KE, Meroueh SO. Small-molecule inhibition of the uPAR•uPA interaction: synthesis, biochemical, cellular, in vivo pharmacokinetics and efficacy studies in breast cancer metastasis. *Bioorg Med Chem* 2013; 21: 2145-2155 [PMID: 23411397 DOI: 10.1016/j.bmc.2012.12.047]

14 Martin KH, Hayes KE, Walk EL, Ammer AG, Markwell SM, Weed SA. Quantitative measurement of invadopodia-mediated extracellular matrix proteolysis in single and multicellular contexts. *J Vis Exp* 2012; (66): e4119 [PMID: 22952016 DOI: 10.3791/4119]

15 Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Semin Cancer Biol* 2010; 20: 161-168 [PMID: 20470890 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.05.002]

16 Sugiyama N, Gucciardo E, Tatti O, Varjosalo M, Hyytiäinen M, Gstaiger M, Lehti K. EphA2 cleavage by MT1-MMP triggers single cancer cell invasion via homotypic cell repulsion. *J Cell Biol* 2013; 201: 467-484 [PMID: 23629968 DOI: 10.1083/jcb.201205176]
17 He XJ, Jiang XT, Ma YY, Xia YJ, Wang HJ, Guan TP, Shao QS, Tao HQ. REG4 contributes to the invasiveness of pancreatic cancer by upregulating MMP-7 and MMP-9. *Cancer Sci* 2012; 103: 2082-2091 [PMID: 22957785 DOI: 10.1111/]
18 Wang W, Tan X, Zhou L, Gao F, Dai X. Involvement of the expression and redistribution of claudin-23 in pancreatic cancer cell dissociation. *Mol Med Rep* 2010; 3: 845-850 [PMID: 21472324 DOI: 10.3892/mmr.2010.334]
19 Tang Z, Geng G, Huang Q, Xu G, Hu H, Chen J, Li J. Expression of tissue factor pathway inhibitor 2 in human pancreatic carcinoma and its effect on tumor growth, invasion, and migration in vitro and in vivo. *J Surg Res* 2011; 167: 62-69 [PMID: 20018303 DOI: 10.1016/j.jss.2009.06.015]
20 Kawada M, Umezawa K. Suppression of in vitro invasion of human fibrosarcoma cells by a leupeptin analogue inhibiting the urokinase-plasmin system. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 209: 25-30 [PMID: 7726842 DOI: 10.1006/]
21 Van Tubergen EA, Banerjee R, Liu M, Vander Broek R, Light E, Kuo S, Feinberg SE, Willis AL, Wolf G, Carey T, Bradford C, Prince M, Worden FP, Kirkwood KL, D'Silva NJ. Inactivation or loss of TTP promotes invasion in head and neck cancer via transcript stabilization and secretion of MMP9, MMP2, and IL-6. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 1169-1179 [PMID: 23349315 DOI: 10.1158/1078-0432]
22 Gao J, Ding F, Liu Q, Yao Y. Knockdown of MACC1 expression suppressed hepatocellular carcinoma cell migration and invasion and inhibited expression of MMP2 and MMP9. *Mol Cell Biochem* 2013; 376: 21-32 [PMID: 23232575 DOI: 10.1007/s11010-012-1545-y]
23 Ito TK, Ishii G, Saito S, Yano K, Hoshino A, Suzuki T, Ochiai A. Degradation of soluble VEGF receptor-1 by MMP-7 allows VEGF access to endothelial cells. *Blood* 2009; 113: 2363-2369 [PMID: 18974372 DOI: 10.1182/Blood-2008-08-172742]
24 Park JK, Kim MA, Ryu JK, Yoon YB, Kim SW, Han HS, Kang GH, Kim H, Hwang JH, Kim YT. Postoperative prognostic predictors of pancreatic ductal adenocarcinoma: clinical analysis and immunoprofile on tissue microarrays. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2664-2672 [PMID: 22395988 DOI: 10.1245/s10434-012-2277-7]
25 Shi WD, Meng ZQ, Chen Z, Lin JH, Zhou ZH, Liu LM. Identification of liver metastasis-related genes in a novel human pancreatic carcinoma cell model by microarray analysis. *Cancer Lett* 2009; 283: 84-91 [PMID: 19375852 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.03.030]
26 Ashina M, Tvedskov JF, Lipka K, Bilello J, Penkowa M, Olesen J. Matrix metalloproteinases during and outside of migraine attacks without aura. *Cephalalgia* 2010; 30: 303-310 [PMID: 19614693 DOI: 10.1111/j.1468-2982]
27 Lin L, Bankaitis E, Heimbach L, Li N, Abrink M, Pejler G, An L, Diaz LA, Werb Z, Liu Z. Dual targets for mouse mast cell protease-4 in mediating tissue damage in experimental bullous pemphigoid. *J Biol Chem* 2011; 286: 37358-37367 [PMID: 21880713 DOI: 10.1074/jbc.M111]
28 Baron A, Hommet Y, Cassé F, Vivien D. Tissue-type plasminogen activator induces plasmin-dependent proteolysis of intracellular neuronal nitric oxide synthase. *Biol Cell* 2010; 102: 539-547 [PMID: 20636282 DOI: 10.1042/BC20100072]
29 Dejouvencel T, Doeuvre L, Lacroix R, Plawinski L, Dignat-George F, Lijnen HR, Anglés-Cano E. Fibrinolytic cross-talk: a new mechanism for plasmin formation. *Blood* 2010; 115: 2048-2056 [PMID: 19996088]
30 Jacobsen B, Muley T, Meister M, Dienemann H, Christensen IJ, Santoni-Rugiu E, Lærum OD, Ploug M. Ly6/uPAR-related protein C4.4A as a marker of solid growth pattern and poor prognosis in lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 152-160 [PMID: 23287851 DOI: 10.1097/JTO.0b013e318279d503]
31 Fidan E, Mentese A, Ozdemir F, Deger O, Kavgaci H, Caner Karahan S, Aydin F. Diagnostic and prognostic significance of CA IX and suPAR in gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 540 [PMID: 23512428 DOI: 10.1007/s12032-013-0540-9]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2267-2274
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

小鼠放射性十二指肠炎模型的建立

万芝清, 陈 晓, 周 平, 韩根成, 王济东, 夏廷毅

万芝清, 陈晓, 周平, 王济东, 夏廷毅, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科 北京市 100142
韩根成, 中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所分子免疫室 北京市 100850
万芝清, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 万芝清、陈晓、周平、韩根成、王济东及夏廷毅对此文所作贡献均等; 此课题由万芝清与陈晓设计; 研究过程由周平、韩根成、王济东及夏廷毅进行技术指导, 万芝清与陈晓操作完成; 数据分析由万芝清与陈晓完成; 本论文写作由万芝清完成.
通讯作者: 周平, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科.
zhouping4946@163.com
收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-06-20
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Development of a mouse model of radiation-induced duodenitis

Zhi-Qing Wan, Xiao Chen, Ping Zhou, Gen-Cheng Han, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia

Zhi-Qing Wan, Xiao Chen, Ping Zhou, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia, Department of Radiation Oncology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China
Gen-Cheng Han, Department of Molecular Immunology, Institute of Basic Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China
Correspondence to: Ping Zhou, Associate Professor, Department of Radiation Oncology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China. zhouping4946@163.com
Received: 2013-05-10 Revised: 2013-06-20
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract
AIM: To develop a mouse model of radiation-induced duodenitis.

METHODS: Ninety-three female Balb/c mice were randomly divided into seven groups: a control group (n = 13), a 4.5 Gy group (n = 13), a 6.0 Gy group (n = 13), a 9.0 Gy group (n = 13), a 12.0 Gy group (n = 13), a 13.5 Gy group (n = 13) and a 15.0 Gy group (n = 15). Mice were sacrificed 3.5 or 7.0 d after abdominal irradiation with a single dose of Cobalt-60. Duodenal samples were taken for histopathological analysis, and blood, spleen and mesenteric lymph nodes were sampled to detect the levels of inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), IL-1β and tumor necrosis factor-α (TNF-α).

RESULTS: The levels of inflammatory factors IL-6, IL-1β and TNF-α increased in all the irradiation groups compared to the control group. The length of villi and the number of crypt were significantly reduced in the 12.0, 13.5 and 15.0 Gy groups compared to the control group on day 3.5, which was consistent with the changes in radiation-induced enteritis. The 13.5 and 15.0 Gy groups had a high mortality, and the 12.0 Gy group was better in simulating clinical radioactive duodenitis.

CONCLUSION: A mouse model of radiation-induced duodenitis can be successfully developed by abdominal irradiation with a single dose (12.0 Gy) of ^{60}Co.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Radiation-induced duodenitis; Mouse model; Radiation dose

Wan ZQ, Chen X, Zhou P, Han GC, Wang JD, Xia TY. Development of a mouse model of radiation-induced duodenitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2267-2274 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2267.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2267

摘要
目的: 建立小鼠放射性十二指肠炎模型.

方法: ♀Balb/c小鼠93只, 随机分为对照组(13只)、4.5 Gy组(13只)、6.0 Gy组(13只)、9.0 Gy组(13只)、12.0 Gy组(13只)、13.5 Gy组(13只)、15.0 Gy组(15只), ^{60}Co射线对小鼠上腹部一次性照射, 在照射后第3.5、7天处死解剖取十二指肠组织做病理切片, 并取肠系膜淋巴结、脾和外周血血清检测细胞因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1β、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α).

结果: 照射后3.5 d, 6个照射组促炎性因子IL-6、IL-1β、TNF-α均较对照组升高; 照射后3.5 d, 12.0、13.5、15.0 Gy 3个照射组小鼠十二指肠绒毛高度降低, 隐窝深度变浅、数目减少, 隐窝腔变大, 均出现放射性肠炎改变, 13.5、15.0 Gy组死亡较多, 12.0 Gy组更能模

■背景资料
胰腺癌发病率呈上升趋势, 放疗成为重要的治疗手段, 由于胰腺位置毗邻十二指肠, 使得胰腺癌放疗过程中十二指肠放射性的损伤不可避免.

■同行评议者
刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

■研发前沿
目前关于放射性损伤的具体机制的研究成为热点，找到统一有效的防护药物成为亟待解决的问题.

拟临床放射性十二指肠炎，为研究提供模型.

结论：^{60}Co射线一次性腹部照射建立小鼠放射性十二指肠炎模型，12 Gy照射剂量更为合适.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词：放射性十二指肠炎；小鼠模型；照射剂量

核心提示：急性放射性十二指肠炎模型的建立，采用^{60}Co射线一次性腹部照射，12 Gy照射剂量更为合适. 在放射性十二指肠炎模型中炎性因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1β、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α)呈现高表达.

万芝清，陈晓，周平，韩根成，王济东，夏廷毅. 小鼠放射性十二指肠炎模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2267-2274 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2267.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2267

0 引言

随着胰腺恶性肿瘤发病率日益升高，现代放疗技术已成为胰腺癌主要治疗手段. 蔡晶、周桂霞、夏廷毅等[1-4]采用伽马刀立体定向放射治疗胰腺癌总有效率88.4%，Ⅱ-Ⅳ期1、2年总生存率分别为56.5%和23.1%，已超过外科手术切除的效果. 胰腺癌的根治性放射治疗在考虑肿瘤自身放射生物学因素外，应充分评估放疗可能危及周围正常组织器官及功能[5,6]. 由于与胰腺的解剖关系，十二指肠放射性损伤不可避免. 既往放射性肠炎的研究多关注于空回肠及结直肠，对十二指肠放射性损伤的研究报道较少. 为了便于开展十二指肠放射性损伤的研究，本研究建立了接近临床需要的小鼠放射性十二指肠炎模型.

1 材料和方法

1.1 材料 ♀清洁级Balb/c小鼠93只，6-8周龄，体质量18-20 g，由华阜康生物科技有限公司提供，实验动物合格证许可证号：SLXK京2009-0007，饲养于中国人民解放军军事医学科学院SPF级动物中心，实验室条件：温度21 ℃±2 ℃，60%相对湿度，自由饮水及实验室标准饲料喂养. PCR仪、实时定量PCR仪：购自Bio-Rad公司；ELISA用酶标仪(MK3)：购自Thermo公司. Real-time PCR试剂盒：购自TOYOBO公司(无水乙醇/异丙醇/三氯甲烷配套). 白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1β、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)ELISA试剂盒：购自eBioscience公司. IL-6、IL-1β、TNF-α抗体：购自eBioscience公司(PBS洗液、1xAssy封闭液自制). mIL-1β、mIL-6、mTNF-α和mGAPDH引物购自北京天一辉远生物科技有限公司. 反转录试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司.

表 1 小鼠健康评分

标准		分数
活动	活跃	1
	静止	0
姿势	正常	1
	蜷缩	0
脱水	不脱水	1
	脱水	0
皮毛	光滑	1
	粗糙	0

健康评分包括4分(健康小鼠)和0分(病态小鼠)给予评价.

1.2 方法

1.2.1 照射条件：军事医学科学院放射与辐射医学研究所^{60}Co照射室给予照射. 各组小鼠照射前给予禁食水6-8 h，于照射前30 min给予麻醉药物0.04 mL/只腹腔注射麻醉，药物为自制麻药速眠新联合氯胺酮(速眠新：氯胺酮 = 1.5：2). 麻醉完成后将小鼠固定在自制的小鼠固定架上，给予^{60}Co射线小鼠上腹部一次性照射，照射范围为从剑突至剑突下1 cm，照射面积约为1.0 cm×2.0 cm，照射部位距离^{60}Co照射源4 m，小鼠除了上腹部暴露外，其余部位均有专门设置的挡铅设备给予屏蔽，照射剂量率为137.31 cGy/min，不同剂量组照射时间分别为4.5 Gy组3 min，6 Gy组4 min 50 s，9 Gy组6 min 16 s，12 Gy组8 min 27 s，13.5 Gy组9 min 32 s，15 Gy组10 min 37 s，照射后待小鼠苏醒送回动物中心.

1.2.2 实验动物分组及一般情况观察 清洁级Balb/c♀小鼠93只，6-8周龄，体质量18-20 g，按体质量随机分为：0 Gy照射组(13只)、4.5 Gy照射组(13只)、6.0 Gy照射组(13只)、9 Gy照射组(13只)、12 Gy照射组(13只)、13.5 Gy照射组(13只)、15 Gy照射组(15只)，分组后放入军事医学科学院SPF级动物房内适应性喂养3 d，白天黑夜12 h制，温度21 ℃±2 ℃，60%相对湿度，自由饮水及实验室标准饲料喂养，每日定时测量小鼠体质量，观察小鼠精神状态、活动、进食水量. 小鼠健康状况评分按照Van Landefhem等制定的

表 2 GAPDH/IL-6/TNF-α/IL-1β基因引物

名称	序列(5'→3')	GC含量(%)	溶解温度(℃)	长度(bp)
GAPDH下游引物	TCTTgggCTACACTgAggAC	55	60	20
GAPDH上游引物	CATACCAggAAATgAgCTTgA	42.8	60	21
IL-6下游引物	gATggATgCTACCAAACTggA	45	60	21
IL-6上游引物	TCTgAAggACTCTggCTTTg	47.6	60	20
TNF-α下游引物	CAgCCTCTTCTCATTCCTgC	55	60	20
TNF-α上游引物	ggTCTgggCCATAgAACTgA	55	60	20
IL-1β下游引物	TgAAgCAgCTATggCAACTg	50	60	20
IL-1β上游引物	AggTCAAAggTTTggAAgCA	45	60	20

IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; IFN: 干扰素.

■相关报道
目前关于放射性肠炎的模型建立, 发病机制和药物治疗研究较多.

小鼠健康评分系统[7](表1). 并观察有无稀便、黏液脓血便等.

1.2.3 取材: 参考文献报道[8], 于照射后第3.5天眼球取血后颈椎脱臼法处死小鼠, 小鼠处死前12 h禁食, 不禁水, 腹正中垂直切口, 依次暴露胃、十二指肠、空肠、回肠, 取肠系膜淋巴结及脾置于盛有生理盐水的玻璃平皿中, 通过Real-time PCR方法检测细胞因子, 从胃幽门部向下取十二指肠1 cm, 生理盐水冲洗干净, 40g/L甲醛固定. 摘眼球取血置于1.5 mL EP管中, 通过ELISA方法检测炎性因子的浓度.

1.2.4 小鼠一般状态观察: 照射后每天观察小鼠精神状态、活动情况、进食水量及大便、体质量情况, 用健康评分法给予评分.

1.2.5 脾和肠系膜淋巴结组织中细胞因子IL-6、IL-1β、TNF-α的表达分析: 将脾和肠系膜淋巴结, 研磨成组织匀浆, 2000 r/min, 离心5 min, 弃上清, 留底部沉淀物, TRIzol法提取细胞总RNA, 将总mRNA逆转录为cDNA, Real-time PCR, mIL-1β、mIL-6、mTNF-α和mGAPDH引物根据其引物总长进行设计, mIL-1β、mIL -6、mTNF-α和mGAPDH引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成, 引物序列如表2. Real-time PCR扩增反应采用20 μL体系, RT-PCR扩增的条件: 第一步: 预变性95 ℃ 3 min, 反应1个循环; 第二步: 变性95 ℃ 10 s, 退火60 ℃ 15 s, 延伸72 ℃ 10 s(收集荧光), 反应50个循环; 第三步: 60 ℃ 30 s(收集溶解曲线), 反应71个循环. 扩增产物用实时定量PCR仪Bio-rad IQ5软件进行分析.

1.2.6 外周血中细胞因子IL-6、IL-1β、TNF-α的表达变化: 取小鼠外周血于1.5 mL EP管中, 放于4 ℃离心机中8000 r/min, 离心5 min, 置于-20 ℃冰箱备用. ELISA双抗夹心法检测细胞因子IL-6、IL-1β、TNF-α浓度, 结果通过酶标仪Ascent software versiona软件进行分析.

1.2.7 十二指肠组织病理学观察: (1)病理标本肉眼观察: 肠管颜色, 有无充血、水肿和肠腔扩张; (2)十二指肠组织镜下观察: 十二指肠组织生理盐水清洗后40g/L甲醛溶液固定, 将固定好的1 cm十二指肠乙醇脱水, 石蜡包埋, 切片, HE染色, 镜下观察病理形态学变化, 观察十二指肠绒毛高度、黏膜厚度、隐窝深度、炎性细胞浸润, 用改良的Chiu氏法[9]评价肠黏膜损伤程度, 于光镜下计算每单位长度肠壁的平均绒毛长度及肠隐深度.

统计学处理 使用SPSS13.0软件进行数据统计分析, 计量资料以mean±SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用t检验, 检验水准$\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组小鼠受照射后一般状态及死亡情况 4.5、6.0、9.0 Gy照射组未见稀便, 照射后2 d出现不同程度的精神差, 食欲降低, 饮水量下降, 照射约5-7 d即可恢复正常, 12.0、13.5、15.0 Gy照射组照射后2 d出现精神极差、行动迟缓、皮毛粗糙、弓背行走及脱水现象, 均有程度不一的稀便, 偶有小鼠出现血便, 至照射后7 d仍未能好转, 其中13.5、15.0 Gy照射组出现小鼠死亡, 13.5 Gy组至第3.5天处死前, 共死亡4只, 总死亡率为30.1%, 15.0 Gy照射组至第3.5 d处死前, 共死亡6只, 总死亡率为40%. 各组小鼠体质量均有下降(图1), 4.5、6.0 Gy组在照射后5 d出现体质量回升, 余组持续下降, 以12.0、15.0 Gy组下降最为显著. 各组健康评分随照射后时间延长均有不同程度下降, 以12.0、13.5、15.0 Gy照射组

■**创新盘点**
本研究关注的十二指肠的放射性损伤，和既往放射性肠炎多关注结直肠、空回肠不同.

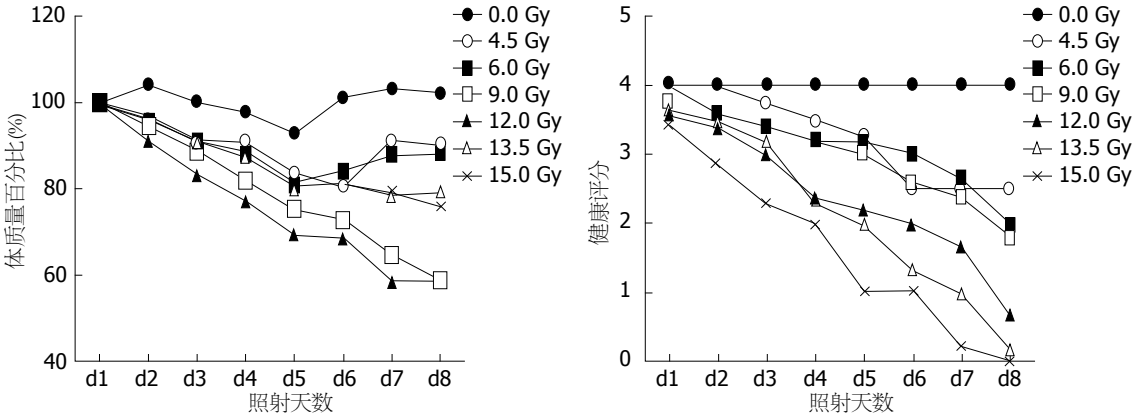


图 1 图示^{60}CO小鼠腹部单次照射后不同剂量组小鼠体质量百分比和健康评分.

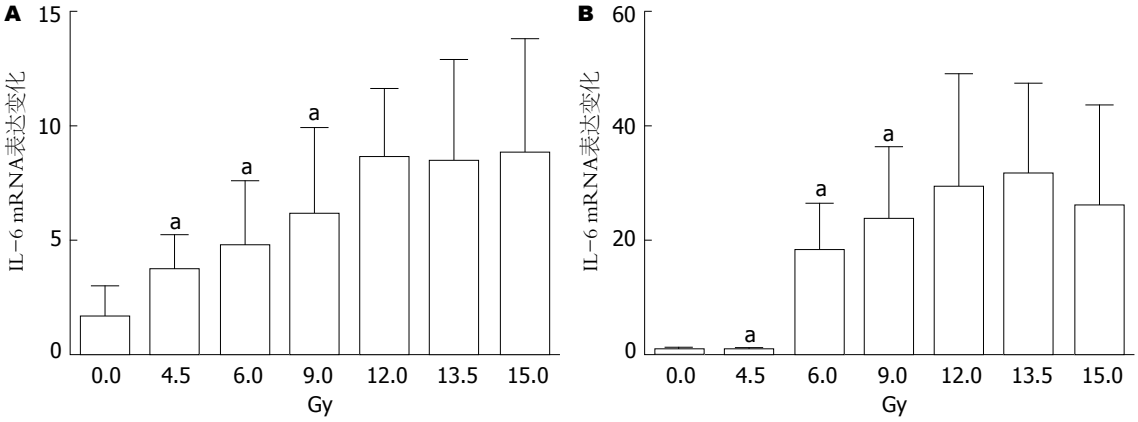


图 2 Real-time PCR检测急性放射性肠炎模型中小鼠脾、肠系膜淋巴结中IL-6 mRNA的表达变化. A: 脾; B: 肠系膜淋巴结. $^{a}P<0.05$ *vs* 12 Gy组.

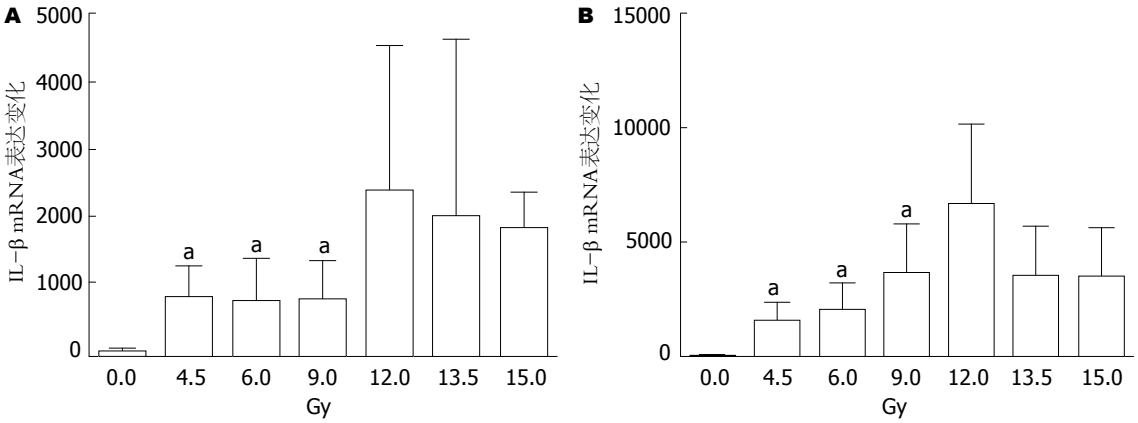


图 3 Real-time PCR检测急性放射性肠炎模型中小鼠脾、肠系膜淋巴结中IL-1β mRNA的表达变化. A: 脾; B: 肠系膜淋巴结. $^{a}P<0.05$ *vs* 12 Gy组.

最为明显，三者与9.0 Gy组之间的差异有统计学意义($P<0.05$)，但彼此之间的差异无统计学意义($P>0.05$).

2.2 十二指肠放射性损伤后脾、肠系膜淋巴结中IL-6、IL-1β、TNF-α的表达变化 为了进一步证明IL-6、IL-1β、TNF-α与放射性肠损伤的关系，我们检测了不同受照剂量下小鼠脾及淋巴结组织中IL-6、IL-1β、TNF-α的表达变化. 结果表明不同剂量组小鼠脾、肠系膜淋巴结组织中IL-6、IL-1β、TNF-α与空白对照组比较表达均有上升，而且随着剂量的提升，表达升高的趋势更为明显，以12 Gy剂量组表达上升最为显著，

表 3 小鼠十二指肠组织形态学变化 (mean ± SD)

分组	小鼠数量(n)	绒毛高度(h/μm)	隐窝深度(L/μm)
正常对照组	13	597.34 ± 44.30	431.09 ± 28.50
12 Gy剂量组	13	472.94 ± 70.55[ad]	299.27 ± 52.13[a]
15 Gy剂量组	15	336.10 ± 30.16[a]	229.86 ± 45.66[a]

[a]P<0.05 *vs* 正常对照组; [d]P<0.01 12 Gy剂量组 *vs* 15 Gy剂量组.

■应用要点
本文通过建立急性放射性十二指肠炎小鼠模型的建立, 能够更好的研究放射性肠炎的发病机制, 并能够为以后药物研究提供稳定的模型基础.

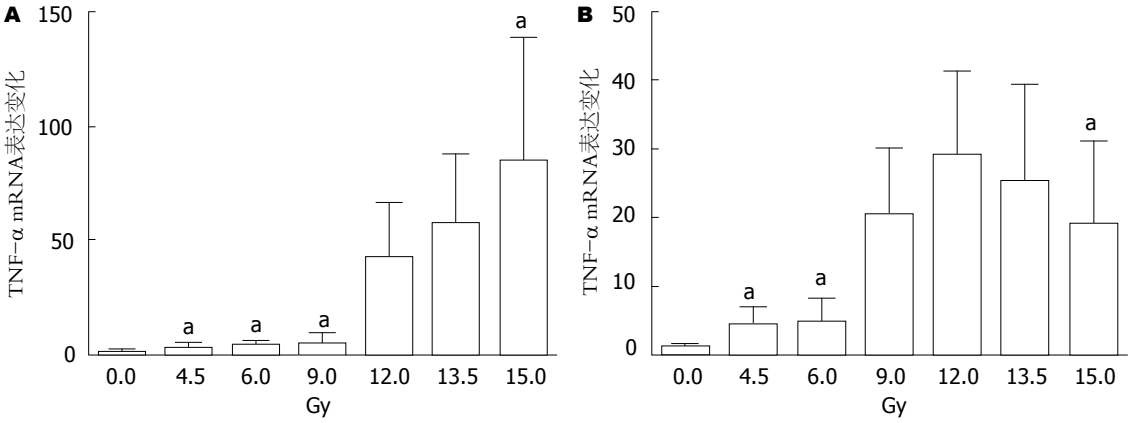


图 4 Real-time PCR 检测急性放射性肠炎模型中小鼠脾、肠系膜淋巴结中TNF-α mRNA的表达变化. A: 脾; B: 肠系膜淋巴结. [a]P<0.05 *vs* 12 Gy组.

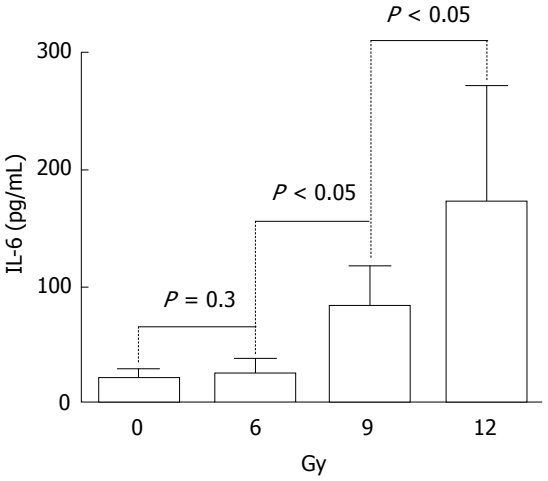


图 5 放射性肠损伤诱导机体分泌IL-6. IL: 白介素.

13.5、15 Gy剂量组升高趋势不如12 Gy剂量组明显, 如图2、图3、图4所示, 以上结果表明在放射性肠损伤中炎性因子IL-6、IL-1β、TNF-α表达上调, 参与炎症反应, 与既往研究基本一致.

2.3 十二指肠放射性损伤后血清中IL-6、IL-1β、TNF-α的浓度变化 由于13.5、15.0 Gy组死亡率较高, 分别为30.1%(4/13)、40.0%(6/15), 所以我们仅通过ELISA双抗夹心法分别测定其余各剂量组及空白对照组血清中IL-6、IL-1β、TNF-α的浓度. 图5显示了不同剂量放射性十二指肠损伤诱导机体分泌IL-6升高, 组间产生差异, IL-1β、TNF-α结果与之相似, 在此未全给予图示. 其中9.0 Gy、12.0 Gy照射组与空白对照差异有统计学意义(P<0.05), 6.0 Gy组与之仅有升高趋势, 差异无统计学意义(P = 0.30).

2.4 不同剂量照射组十二指肠放射性损伤的病理学观察

2.4.1 肉眼观察: 正常对照组小鼠肠管呈粉红色, 无充血、水肿、肠腔扩张. 4.5、6.0、9.0 Gy照射剂量组小鼠肠管呈粉红色, 可见轻度水肿, 无充血、肠腔扩张. 12.0、13.5、15.0 Gy剂量组肠管呈暗红色, 肠腔扩张、充血, 解剖时发现其肠壁脆性增高, 轻微碰触即可引起肠壁破裂, 有不同程度的肠壁变薄、黏膜出血.

2.4.2 镜下观察: 正常对照组肠绒毛长而整齐, 结构完整, 中央乳糜管清晰可见, 腺体结构正常. 4.5、6.0、9.0 Gy组肠绒毛结构尚完整, 绒毛轻度水肿, 中央乳糜管可见, 腺体结构基本正常, 炎性细胞少量浸润; 12.0、13.5 Gy组肠绒毛变短、稀疏, 上皮不完整, 腺体裸露, 形成糜烂, 隐窝腔缩小, 大量炎性细胞浸润; 15.0 Gy组肠绒毛几乎全部脱落, 只剩少量点状突起, 上皮不完整, 中央乳糜管结构不清, 腺体及黏膜下层裸露, 固有层隐窝减少, 隐窝腔变大, 固有层结缔组织大量炎细

■同行评价
本文建立接近临床需要的小鼠放射性十二指肠炎模型，能够为下一步实验研究提供较好的动物模型，具有重要价值.

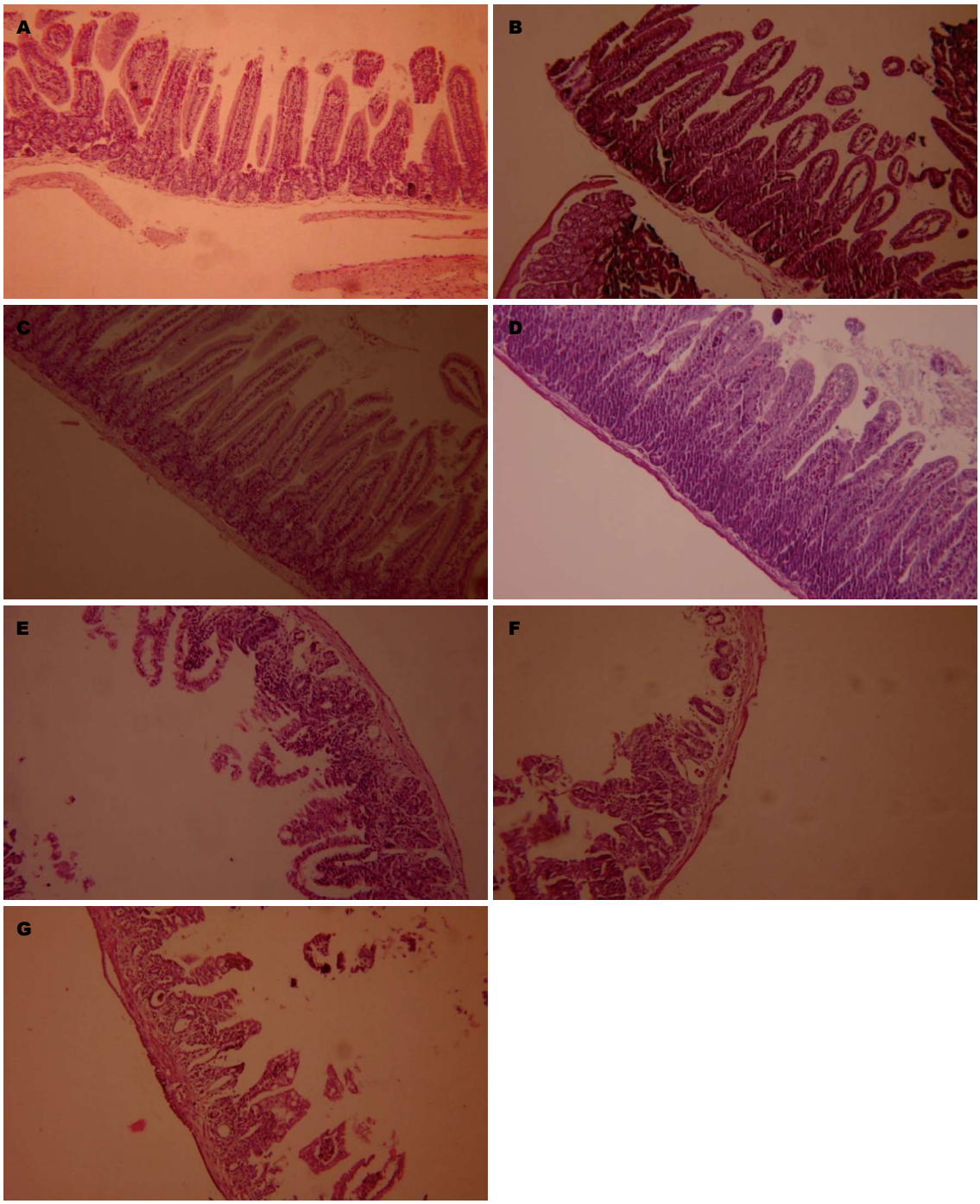


图 6 不同剂量组小鼠十二指肠(照射后第3.5天, HE染色×100). A: 正常对照组; B: 4.5 Gy剂量照射组; C: 6 Gy剂量照射组; D: 9 Gy剂量照射组; E: 12 Gy剂量照射组; F: 13.5 Gy剂量照射组; G: 15 Gy剂量照射组.

胞浸润. 12.0、13.5、15.0 Gy剂量组的病理表现均满足Guzman-Stein等[10]制定的放射性肠炎模型标准. 各剂量组病理组织图片如图6所示.

2.4.3 图像分析: 根据各剂量组十二指肠病理损伤变现和各组小鼠死亡率, 我们选取正常对照组、12 Gy剂量组和15 Gy剂量组, 测量其小鼠十二指肠平均绒毛高度和隐窝深度检测结果(表3): 12 Gy剂量组和15Gy剂量组十二指肠绒毛高度和隐窝深度均明显低于正常对照组, 差异有统计学意义(P<0.05). 12 Gy剂量组十二指肠绒毛高度较15 Gy剂量组高, 差异有统计学意义(P<0.05); 12 Gy剂量组十二指肠隐窝深度较15 Gy剂量组高, 差异无统计学意义(P = 0.80).

3 讨论

放射性十二指肠炎的发病机制复杂[11-14], 目前尚

未完全清楚. 其病理生理学表现为: 放射线损伤肠道上皮细胞和血管内皮细胞, 使小肠绒毛变短, 肠黏膜变薄, 毛细血管扩张、水肿, 炎性细胞浸润, 形成肠黏膜的糜烂、溃疡, 肠壁增厚和肠腔狭窄, 使患者出现腹泻、腹痛、血便、脓血便或者肠梗阻等临床症状, 严重降低患者的生活质量, 目前治疗十分困难, 因此很有必要建立动物模型行进一步研究.

目前, 放射性肠炎模型的建立多见, 研究较多是空回肠及结直肠, 对十二指肠放射性损伤研究较少. 放射性肠炎模型, 造模时多采用大鼠腹部照射[15-18], 小鼠全身照射[19-22]. 腹部局部照射建立放射性十二指肠炎的模型, 文献未见报道. 本实验用小鼠上腹部局部照射造模, 能更好地模拟临床放射性十二指肠炎的形成过程.

文献报道, 小鼠全身造模的照射剂量最小为4 Gy[19], 最大为12 Gy[20], 小鼠全身接受12、15、16 Gy照射可以发生轻型肠型放射性损伤[23], 小鼠腹部造模的最大剂量为10 Gy[24]. 本实验分别取4.5、6.0、9.0、12.0、13.5、15.0 Gy较密梯度的剂量造模, 以确定用小鼠腹部局部照射建立放射性十二指肠炎的最佳剂量.

本实验研究结果显示, 各剂量照射组小鼠照射后均出现体质量下降, 健康评分降低, 4.5、6.0、9.0 Gy剂量组小鼠十二指肠大体观察和镜下组织形态学观察较正常对照组无明显变化. 12.0、13.5、15.0 Gy剂量组小鼠出现稀便、血便, 十二指肠大体观察见肠管呈暗红色, 肠腔扩张、充血; 镜下组织形态学观察见肠绒毛变短、稀疏, 上皮不完整, 中央乳糜管结构不清, 腺体裸露, 形成糜烂, 隐窝腔缩小, 大量炎性细胞浸润, 符合放射性肠炎的病理变化, 故用12.0、13.5、15.0 Gy剂量对小鼠腹部局部照射, 均能出现放射性十二指肠炎. 15 Gy剂量组十二指肠大体变现和镜下病理变化较12 Gy更明显, 更严重. 13.5 Gy剂量组和12.0 Gy剂量组十二指肠大体表现和镜下病理变化相似, 但13.5、15.0 Gy剂量组小鼠死亡率高, 很难用于进一步的实验研究.

既往文献报道, 细胞因子IL-6、IL-1β、TNF-α与放射性肠炎的发生、发展关系密切. IL-6、IL-1β、TNF-α均为促炎性因子[25,26], 由单核细胞和巨噬细胞产生, 在放射性肠炎中, 观察到放射治疗后6 h其开始高表达, 高转录水平一直要持续3 d. IL-6、IL-1β、TNF-α均为急性炎性因子在辐射损伤后短时间内较为活跃, 其中IL-1β、TNF-α更为显著, 而且IL-1β、TNF-α有可能与辐射损伤介导内毒素的释放有关[28]; IL-1β的大量产生可以引起对中性粒细胞的趋化作用, 加重肠黏膜屏障的炎性损伤和组织破坏, 且促进肠黏膜细胞凋亡的过度发生, 影响肠上皮层的及时修复[29]. 另外大量产生的IL-1β, 能够引发细胞内信号级联反应, 激活核因子-κB, 上调促炎症细胞因子的转录活性, 并提高其mRNA的稳定性, 从而引发炎症反应[30]. 而且研究发现, 当肠道发生炎症时, IL-1β较其他炎症因子变化明显[31]. 细胞因子TNF-α可增强其他炎性细胞因子[26]. IL-6在各系统的炎症性疾病中都有其参与[32]. 另有研究表明, 减少促炎性细胞因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)对局部组织的刺激, 可显著降低慢性炎症的风险[33]. 本实验结果显示, 各剂量组照射后, 细胞因子IL-6、IL-1β、TNF-α均有明显升高, 与既往研究报道结果一致, 促进十二指肠的炎症发生, 加重十二指肠的放射性损伤.

总之, 本实验结果表明4.5、6.0、9.0 Gy照射损伤较轻, 无法很好模拟放射性肠损伤临床症状, 12.0、13.5、15.0 Gy照射组体质量下降、健康评分下降、稀便、食水量减少等情况与临床较为吻合, 细胞因子IL-6、IL-1β、TNF-α的高表达及病理学改变与临床放射性十二指肠炎相似, 但13.5、15.0 Gy组小鼠存活差, 死亡率高, 且炎性因子升高与12.0 Gy组相比并无优势, 不能为实验研究提供模型. 选择12.0 Gy剂量组造模, 既出现放射性十二指肠炎, 且小鼠死亡率不高和临床相似, 符合模型成功的要求, 能够为下一步实验研究提供较好的动物模型.

4 参考文献

1 蔡晶, 谢国栋, 吴志军, 季雪梅, 储开岳. 立体定向适形放射治疗胰腺癌18例分析. 中华放射肿瘤学杂志 2003; 12: 268-269

2 周桂霞, 陈国雄, 崔书祥, 赵卫东, 杨东. 体部立体定向适形放射治疗胰腺癌的临床探讨. 中华肝胆外科杂志 2001; 7: 415-417

3 夏廷毅, 申文江, 王绿化. 头, 体γ-刀的临床应用. 放疗学新技术进展. 北京: 北京科学技术出版社, 2003: 65-77

4 夏廷毅, 孙庆选, 于涌, 常冬姝, 崔纪青. 体部γ-刀治疗52例胰腺癌的疗效分析. 中华肝胆外科杂志 2006; 2: 86-88

5 夏廷毅. X(γ)线立体定向放射治疗临床应用规范和治疗进展. 中国癌症杂志 2006; 16: 454-458

6 殷蔚伯, 谷铣之. 肿瘤放射治疗学. 第3版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2002: 776-781

7 Van Landeghem L, Blue RE, Dehmer JJ, Henning SJ, Helmrath MA, Lund PK. Localized intestinal radiation and liquid diet enhance survival and permit evaluation of long-term intestinal responses to high dose radiation in mice. *PLoS One* 2012; 7: e51310 [PMID: 23236468 DOI: 10.1371/journal.

pone.0051310]
8 Carr KE, Hume SP, Nelson AC, O'Shea O, Hazzard RA, McCullough JS. Morphological profiles of neutron and X-irradiated small intestine. *J Radiat Res* 1996; 37: 38-48 [PMID: 8699395 DOI: 10.1269/jrr.37.38]
9 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245 DOI: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009]
10 Guzman-Stein G, Bonsack M, Liberty J, Delaney JP. Abdominal radiation causes bacterial translocation. *J Surg Res* 1989; 46: 104-107 [PMID: 2918713]
11 Leadon SA. Repair of DNA Damage Produced by Ionizing Radiation: A Minireview. *Semin Radiat Oncol* 1996; 6: 295-305 [PMID: 10717187]
12 敖睿. 放射性肠炎发生机理最新研究进展. 使用医院临床杂志 2009; 6: 112-114
13 Gremy O, Benderitter M, Linard C. Acute and persisting Th2-like immune response after fractionated colorectal gamma-irradiation. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7075-7085 [PMID: 19084914 DOI: 10.3748/wjg.14.7075]
14 Crawford PA, Gordon JI. Microbial regulation of intestinal radiosensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 13254-13259 [PMID: 16129828 DOI: 10.1073/pnas.0506706102]
15 赵元珍, 高春芳. 谷氨酰胺全肠外营养对急性放射性肠炎大鼠消化道营养作用的研究. 中华放射医学与防护杂志 2004; 24: 428-430
16 董光龙, 刘晓玲, 王为忠. 腹部辐射致肠粘膜屏障损伤模型的建立. 中国临床营养杂志 2000; 8: 154-156
17 Abbasoğlu SD, Erbil Y, Eren T, Giriş M, Barbaros U, Yücel R, Olgaç V, Uysal M, Toker G. The effect of heme oxygenase-1 induction by octreotide on radiation enteritis. *Peptides* 2006; 27: 1570-1576 [PMID: 16375990]
18 Raguso CA, Leverve X, Pichard C. Protective effects of recombinant growth hormone on intestinal mucosa in rats receiving abdominal radiotherapy. *Clin Nutr* 2002; 21: 487-490 [PMID: 12468368]
19 刘颖, 金宏, 许志勤, 王先远, 南文考. 谷氨酰胺对电离辐射损伤小鼠小肠保护作用研究. 营养学报 2004; 26: 426-429
20 Kawashima R, Kawamura YI, Kato R, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Dohi T. IL-13 receptor alpha2 promotes epithelial cell regeneration from radiation-induced small intestinal injury in mice. *Gastroenterology* 2006; 131: 130-141 [PMID: 16831597]
21 Brook I, Tom SP, Ledney GD. Quinolone and glycopeptide therapy for infection in mouse following exposure to mixed-field neutron-gamma-photon radiation. *Int J Radiat Biol* 1993; 64: 771-777 [PMID: 7903345 DOI: 10.1080/09553009314552021]
22 Williams JP, Brown SL, Georges GE, Hauer-Jensen M, Hill RP, Huser AK, Kirsch DG, Macvittie TJ, Mason KA, Medhora MM, Moulder JE, Okunieff P, Otterson MF, Robbins ME, Smathers JB, McBride WH. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure. *Radiat Res* 2010; 173: 557-578 [PMID: 20334528]
23 莱永萍, 程天民, 刘贤华. 放射损伤及放烧复合伤对小肠上皮损害的量效研究. 第三军医大学学报 1994; 16: 313-315
24 Mollà M, Gironella M, Salas A, Closa D, Biete A, Gimeno M, Coronel P, Piqué JM, Panés J. Protective effect of superoxide dismutase in radiation-induced intestinal inflammation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61: 1159-1166 [PMID: 15752897 DOI: org/10.1016/j.ijrobp.2004.11.010]
25 张青, 徐剑铖, 毛宝龄, 钱桂生, 陈正堂, 李琦. 内毒素致伤大鼠肺组织 TNF-a, IL-6的mRNA表达及NF-IL6活化研究. 中国危重病急救医学 2001; 13: 523-526
26 Ishii S, Shimizu T. Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice. *Prog Lipid Res* 2000; 39: 41-82 [PMID: 10729607]
27 Indaram AV, Visvalingam V, Locke M, Bank S. Mucosal cytokine production in radiation-induced proctosigmoiditis compared with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1221-1225 [PMID: 10811331]
28 Kim K, McBride WH. Modifying radiation damage. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 1352-1365 [PMID: 20583981]
29 吴焕淦, 刘慧荣, 施茵, 杨文英, 李双, 张琳珊, 华雪桂. 隔药灸对溃疡性结肠炎大鼠结肠IL-1β, IGF-1表达影响的研究. 江西中医学院学报 2004; 16: 56-60
30 宋敏. 丁酸钠与5-氨基水杨酸联合用药对TNBS诱发大鼠结肠炎三叶因子3, 白介素1β及核因子κB表达的影响. 武汉大学, 2005: 14-18
31 简燕婷, 王继德, 麦国丰, 张亚历, 赖卓胜. 姜黄素对模型大鼠肠粘膜炎症因子的调控. 第一军医大学学报 2004; 24: 1353-1359
32 孙永年, 龚守军, 黄祝青. 苦参素对慢性乙型肝炎血清肿瘤坏死因子-α, 白细胞介素-6, 白细胞介素-8的影响. 中国综合临床 2003; 19: 908-909
33 Toward R, Montandon S, Walton G, Gibson GR. Effect of prebiotics on the human gut microbiota of elderly persons. *Gut Microbes* 2012; 3: 57-60 [PMID: 22555548]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2275-2281
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

丹参多酚酸盐注射液治疗小鼠实验性结肠炎的疗效

蒋晓芸, 戎 兰, 宋艳艳, 蒋义斌, 钟 良, 孙大裕

蒋晓芸, 戎兰, 蒋义斌, 钟良, 孙大裕, 复旦大学附属华山医院消化科 上海市200040
宋艳艳, 上海交通大学医学院生物统计学教研室 上海市200025
蒋晓芸, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的研究.
作者贡献分布: 此课题由蒋晓芸、戎兰及蒋义斌设计; 钟良、孙大裕参与课题指导; 研究过程由蒋晓芸操作完成; 数据分析由宋艳艳完成; 本论文写作由蒋晓芸完成.
通讯作者: 戎兰, 副主任医师, 200040, 上海市乌鲁木齐中路12号, 复旦大学医学院附属华山医院消化内科.
ronglr@medmail.com.cn
电话: 021-52888476
收稿日期: 2012-12-03 修回日期: 2013-03-05
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Efficacy of Salvianolate Injection in the treatment of experimental colitis in mice

Xiao-Yun Jiang, Lan Rong, Yan-Yan Song, Yi-Bin Jiang, Liang Zhong, Da-Yu Sun

Xiao-Yun Jiang, Lan Rong, Yi-Bin Jiang, Liang Zhong, Da-Yu Sun, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital, Shanghai 200040, China
Yan-Yan Song, Department of Biostatistics, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China
Correspondence to: Rong Lan, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital, 12 Urumqi Middle Road, Shanghai 200040, China. ronglr@medmail.com.cn
Received: 2012-12-03 Revised: 2013-03-05
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To observe whether dextran sulfate sodium (DSS) has a therapeutic effect on colitis and to discuss the possible mechanisms involved.

METHODS: 50 Balb/c mice were randomly divided into a control group, a model group, and low-, medium-, and high-dose interventional groups. Colitis was induced by oral administration of 5% DSS for 7 d. Indices were determined 14 days after colitis induction.

RESULTS: Treatment with Salvianolate Injection could reduce colonic inflammation induced with DSS ($P < 0.01$). Immunohistochemistry analysis showed that treatment with different doses of Salvianolate Injection significantly reduced CD40/CD40L protein expression compared to the model group (CD40: 20.50 $\mu m^2 \pm 1.517$ μm^2, 15.50 $\mu m^2 \pm 4.680$ μm^2, 13.33 $\mu m^2 \pm 0.816$ μm^2 *vs* 30.33 $\mu m^2 \pm 4.227$ μm^2, all $P < 0.01$; CD40L: 23.17 $\mu m^2 \pm 2.714$ μm^2, 15.50 $\mu m^2 \pm 2.739$ μm^2, 14.17 $\mu m^2 \pm 4.262$ μm^2 *vs* 27.83 $\mu m^2 \pm 3.710$ μm^2, all $P < 0.01$). RT-PCR analysis showed that treatment with different doses of Salvianolate Injection significantly reduced CD40/CD40L mRNA expression compared to the model group (CD40: 1.20% ± 0.30%, 0.78% ± 0.26%, 0.41% ± 0.15% *vs* 1.78% ± 0.41%, all $P < 0.01$; CD40L: 2.59% ± 1.68%, 1.75% ± 0.64%, 1.11% ± 0.53% *vs* 3.54% ± 0.85%, all $P < 0.01$). The concentration of sCD40L in medium was decreased in the medium- and high-dose interventional groups compared to the model group (2.12 ng/mL ± 0.18 ng/mL, 1.96 ng/mL ± 0.12 ng/mL *vs* 5.62 ng/mL ± 0.36 ng/mL, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Salvianolate Injection can exert a therapeutic effect on colitis in mice possibly by reducing sCD40L and thus restraining the CD40/CD40L pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colitis; Salvianolate; Mice; sCD40L; CD40/CD40L

Jiang XY, Rong L, Song YY, Jiang YB, Zhong L, Sun DY. Efficacy of Salvianolate Injection in the treatment of experimental colitis in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2275-2281 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2275.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2275

摘要

目的: 观察葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)对炎症性结肠炎是否存在治疗作用, 并讨论其可能的机制.

方法: 选用♂Balb/c小鼠50只随机分为对照组、模型组、丹参多酚酸盐低、中、高剂量干预组, 饮用5%DSS造模, 14 d后检测相应的指标.

■背景资料
我国炎症性肠病(imflammatory bowel disease, IBD)的发病率日高, 对安全有效的治疗药物需求日盛. 血小板及其活化产物如PAF、CD40L广泛参与了炎症反应, 血小板活化在IBD发病中的所起的作用日益得到重视. 基于临床工作中的发现及各类文献的总结, 我们选用了丹参多酚酸这一安全有效的药物, 试图以抗血小板活化为切入点对结肠炎进行实验性治疗.

■同行评议者
杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院

■研发前沿
目前炎症性肠病的研究主要集中在发病机制及相关靶点药物治疗，白介素-23(interleukin-23, IL-23)、Toll样受体、炎症小体等各种炎症通路相关的蛋白及其拮抗剂都是药物研究的热点.

结果：与模型组比较，各药物干预组的肠道炎症明显减轻(P<0.01). 肠黏膜组织免疫组织化学显示模型组肠黏膜CD40/CD40L阳性面积表达明显升高(分别为30.33 μm^2±4.227 μm^2; 27.83 μm^2±3.710 μm^2)，而低、中、高剂量各干预组CD40/CD40L显著下调(分别为20.50 μm^2±1.517 μm^2, 15.50 μm^2±4.680 μm^2, 13.33 μm^2±0.816 μm^2; 23.17 μm^2±2.714 μm^2, 15.50 μm^2±2.739 μm^2, 14.17 μm^2±4.262 μm^2)，具有统计学意义(P<0.01). 模型组肠黏膜CD40 mRNA表达升高(1.78%±0.41%)，低、中、高各剂量干预组CD40 mRNA明显下调，分别为1.20%±0.30%, 0.78%±0.26%, 0.41%±0.15%(P<0.01). 模型组肠黏膜CD40L mRNA表达亦明显升高(3.54%±0.85%)，中、高剂量组可见其下调，分别为2.59%±1.68%, 1.75%±0.64%, 1.11%±0.53%(P<0.01). 模型组小鼠可溶性CD40L(sCD40L)高于其他各组(5.62 ng/mL±0.36 ng/mL)，中、高剂量组与模型组比较sCD40L下降，分别为2.12 ng/mL±0.18 ng/mL, 1.96 ng/mL±0.12 ng/mL(P<0.01).

结论：丹参多酚酸盐对于小鼠实验性结肠炎具有一定的治疗作用，可能是通过下调sCD40L，抑制CD40/CD40炎症通路达到治疗目的.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词：结肠炎；丹参多酚酸盐；小鼠；sCD40L；CD40/CD40L

核心提示：丹参多酚酸盐对于小鼠实验性结肠炎具有一定的治疗作用，可能是通过下调sCD40L，抑制CD40/CD40L炎症通路达到治疗目的.

蒋晓芸，戎兰，宋艳艳，蒋义斌，钟良，孙大裕. 丹参多酚酸盐注射液治疗小鼠实验性结肠炎的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2275-2281 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2275.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2275

0 引言

炎症性肠病(imflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)，其发病机制及病因至今未明，临床治疗存在不少困难. 欧洲的一项流行病学调查显示UC的年发病率为11.2/100000, CD为5.6/100000[1]. 而国内尚无前瞻性的IBD流行病学调查，但有研究显示，我国IBD发病逐年增高，且总病死率高于欧洲报道，对整个社会及患者家庭造成了沉重的负担. 目前常用的药物主要为氨基水杨酸类、糖皮质激素类、免疫抑制剂以及生物制剂，这些药物往往存在不可避免的不良反应. 本文首次采用丹参多酚酸治疗小鼠实验性结肠炎，观察其疗效，并对其可能作用机制进行初步研究.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂Balb/c小鼠50只，清洁级，购自国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心，6-8周龄，平均体质量22 g. 分子量5000 DSS(右旋葡聚糖硫酸钠)，Sigma公司出品，批号：BCBD6951V. 丹参多酚酸盐注射液由上海绿谷制药有限公司提供，批号：09118(丹参乙酸镁含量99.04%). 可溶性白细胞分化抗原40配体(sCD40L)ELISA试剂盒购自R&D公司；CD40一抗由SANTA CRUZ公司出品；CD40L一抗由Cell Signaling Technology公司出品；即用型Rb/M多用途二抗由丹麦 DAKO公司出品；SYBRGreen PCR试剂盒购自上海达为科生物科技公司；TRIzol由Invitrogen公司出品. 引物设计使用Primer 5.0软件由Invitrogen公司合成. CD40上游引物atggagatggccactgagac，下游引物ccgggactttaaaccacaga，扩增片段长度180 bp. CD40L上游引物tacccccaaggcacatagag，下游引物gaatcagtggggttgctgtt，扩增片段长度110 bp.

XW-80A旋涡振荡器(上海青浦泸西仪器厂)，K10CD干式恒温器(杭州蓝焰科技有限公司)，F6/10手持式匀浆机(德国FLUKO)，BDC-280e冷藏冰箱(伊莱克斯，湖南长沙)，1-15K 3K15低温冷冻离心机(美国Sigma公司)，TYPE B2生物安全柜(美国Sigma公司)，ZXC型紫外杀毒车(上海跃进医用光学器械厂)，ABI-7500 Real-time检测仪(美国ABI公司)，Olympus BH2显微镜，Nikon 4500数码相机.

1.2 方法

1.2.1 造模：每日制备5%DSS溶液，供对照组外所有小鼠自由饮用，不再予其他饮水，7 d可造成急性肠炎模型.

1.2.2 小鼠分组及处理：50只小鼠随机分为对照组、模型组、丹参多酚酸盐低、中、高剂量干预组. 每组10只. 正常对照组：每天予正常饮水. 模型组：造模同时予生理盐水腹腔注射2 wk. 低剂量干预组：造模同时予丹参多酚酸盐腹腔注射60 mg/(kg·d) 2 wk. 中剂量干预组：造模同时予丹参多酚酸盐腹腔注射120 mg/(kg·d) 2 wk. 高剂量干预组：造模同时与丹参多酚酸盐腹腔注

表 1 肠黏膜组织CD40/CD40L阳性表达面积 (n = 10, μm²)

分组	CD40	CD40L
对照组	9.50 ± 3.834	8.75 ± 1.500
模型组	30.33 ± 4.227	27.83 ± 3.710
低剂量组	20.50 ± 1.517[ac]	23.17 ± 2.714[ac]
中剂量组	15.50 ± 4.680[ac]	15.50 ± 2.739[ac]
高剂量组	13.33 ± 0.816[ac]	14.17 ± 4.262[ac]

[a]P<0.05 *vs* 模型组; [c]P<0.05 中/高剂量组 *vs* 低剂量组.

表 2 肠黏膜CD40/CD40L mRNA表达 (n = 10, %)

分组	CD40	CD40L
对照组	0.34 ± 0.14	0.72 ± 0.24
模型组	1.78 ± 0.41	3.54 ± 0.85
低剂量组	1.20 ± 0.30[ac]	2.59 ± 0.68
中剂量组	0.78 ± 0.26[ac]	1.75 ± 0.64[ac]
高剂量组	0.41 ± 0.15[ac]	1.11 ± 0.53[ac]

[a]P<0.05 *vs* 模型组; [c]P<0.05 *vs* 低剂量组.

■相关报道 文献显示丹参多酚酸盐可使IL-1、IL-6、PAF、TNF-α、IL-1β等水平显著下降, 起到保护机体作用. 丹酚酸B可能通过抑制NF-κβ信号通路, 显著降低细胞IL-1β, TNF-α、NO水平, 并可抑制DC细胞成熟(抑制CD40等细胞膜表面蛋白的表达).

射240 mg/(kg·d) 2 wk. 处死前称质量, 眼球采血, 3000 r/min离心, 吸取血清后分装-20 ℃深低温冰箱冻存备用. 开腹, 取肛门1 cm处以上病变明显处组织标本(约5 mm×10 mm), 部分予40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 切片HE染色观察肠黏膜形态并做免疫组织化学染色. 部分组织深低温冰箱冻存备RT-PCR检测.

1.2.3 观察: 造模过程中观察小鼠便血情况.

1.2.4 组织病理学评分: HE染色切片观察肠黏膜形态. 评分标准按Coopers HS组织评分, 前3项评分相加后与第4项的乘积为组织学评分.

1.2.5 CD40/CD40L免疫组织化学: EnVision法, 取组织蜡块按说明书操作. 镜下观察, 细胞核紫蓝色, 阳性呈棕黄色. 测量免疫组织化学图象中阳性区域面积和阳性比率以及吸光度值(A值). 每张切片至少分析3个视野, 每组数据至少10个. CD40等阳性表达主要表现为细胞浆呈棕黄色反应, 由医学图象分析软件(上海求为生物科技有限公司MIQAS医学图象定量分析系统、医学图象定量分析软件)进行测量计算.

1.2.6 CD40/CD40L实时定量PCR: 取深低温冰箱冻存备组织, RT-PCR检测按照说明书操作, 数据采用仪器自带软件ABI Prism 7500 SDS Software分析.

1.2.7 血清sCD40L: 取深低温冰箱冻存备用血清, 按说明书操作, 根据各A值, 使用计算机软件, 绘制出标准曲线, 计算样品含量.

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件进行统计分析. 计量资料若为正态分布且方差齐性, 进行t检验或方差分析, 否则进行Kruskal-Wallis秩和检验. 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 症状 造模5d后, 模型组、低剂量组小鼠广泛肛门部位有血迹; 中剂量与高剂量小鼠部分肛门部位有血迹, 正常组无明显异常. 10 d后除模型组、低剂量组小鼠外, 其余各组小鼠肛门部位血迹逐渐消失.

2.2 体质量 对照组、模型组、各干预组小鼠平均体重分别为26.90 g±0.9944 g、24.800 g±1.6193 g、25.500 g±1.2693 g、25.500 g±1.0801 g、25.500 g±1.0801 g. 各组体质量均无统计学差异.

2.3 肠黏膜炎症程度 根据各组病理评分进行统计, 正常组、模型组、低、中、高剂量组秩均值分别为3.92、22.67、20.25、20.00、10.67, 模型组炎症最重, 各干预组因剂量不同炎症程度递减, 肠道炎症情况如图1.

2.4 各组小鼠肠黏膜组织CD40/CD40L阳性表达面积 模型组肠黏膜CD40/CD40L表达明显升高, 而各干预组CD40/CD40L显著下调, 具有统计学意义(P<0.01). 各剂量CD40/CD40L下调情况存在一定剂量依赖关系(图2, 表1).

2.5 各组小鼠肠黏膜CD40/CD40L mRNA表达 模型组肠黏膜CD40 mRNA表达明显升高, 各干预组CD40 mRNA则明显下调(P<0.01), 又以高剂量组效果最为明显. 模型组肠黏膜CD40L mRNA表达亦明显升高, 中、高剂量组可见其下调(P<0.01); 低剂量组与模型相比无统计学意义(P>0.05). 其中又以高剂量组效果更为明显(与对照组比较P>0.05, 表2).

2.5小鼠血清sCD40L水平 模型组小鼠sCD40L高于其他各组, 统计学显示中、高剂量组与模型组比较sCD40L下降(P<0.01); 组间比较无统计学意义(P>0.05); 与低剂量相比P<0.05; 低剂量组与模型组比较P>0.05(表3).

3 讨论

丹参乙酸镁(即丹酚酸B镁盐)为主要成分的丹参多酚酸盐注射液是中国第一个拥有人体药代动力学参数的中医药制剂, 是迄今各种丹参制剂

■创新盘点
丹参多酚酸主要应用于心脑血管疾病领域，用于IBD的治疗以往没有报道. 而从血小板功能异常方面入手治疗IBD也是全新的尝试.

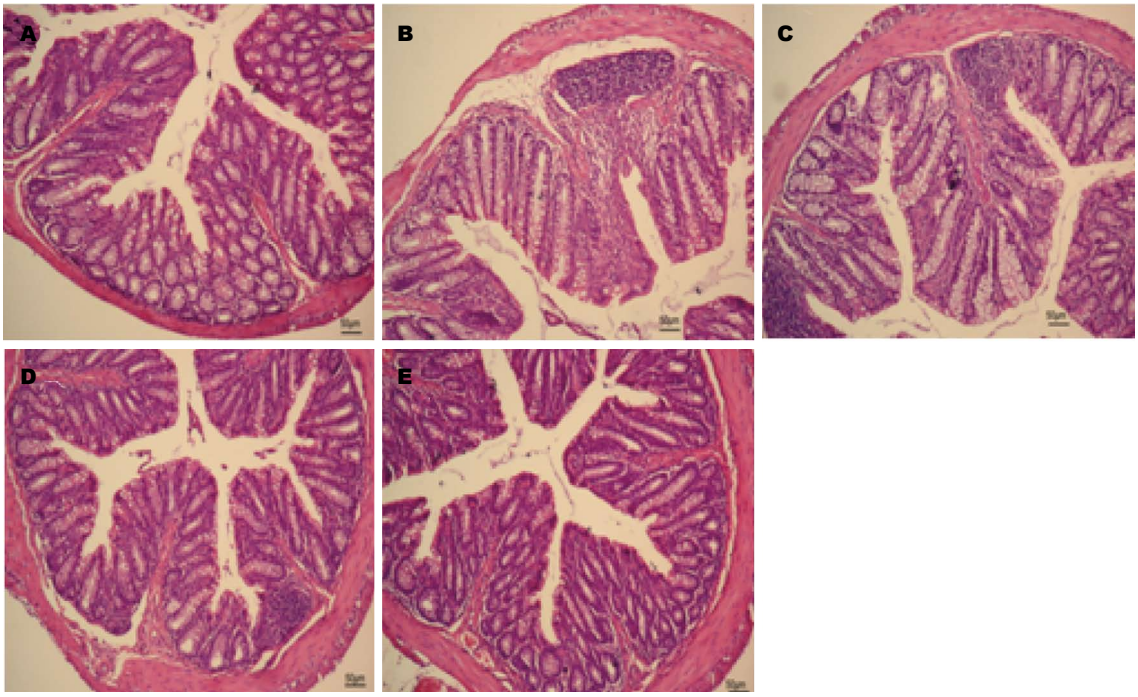


图 1 各组小鼠肠黏膜病理(×100). A: 对照组; B: 模型组; C: 低剂量组; D: 中剂量组; E: 高剂量组.

表 3 小鼠血清sCD40L (n = 10, ng/mL)

分组	sCD40L
对照组	0.39 ± 0.03
模型组	5.62 ± 0.36
低剂量组	3.10 ± 1.12
中剂量组	2.12 ± 0.18[ac]
高剂量组	1.96 ± 0.12[ac]

[a]P<0.05 *vs* 模型组; [c]P<0.05 *vs* 低剂量组.

中含有效成分最明确、含量高的一个品种，具有抗血小板聚集、抗炎、清除自由基等多种作用. 目前尚没有应用于IBD治疗的报道.

长期临床研究表明IBD患者的外周血小板计数增加且聚集反应增强. 我们在临床工作中收集炎症性肠病患者资料后亦曾报道过外周血小板计数的增多、异常活化、平均体积的变化与疾病活动及严重程度存在一定的关系[1-3]. 有观点认为血小板的变化可作用观察疾病活动的重要指标之一，而且国内外均有类似报道[4-11].

血小板活化后能释放多种炎性介质，促使炎症细胞聚集、趋化. 或通过调节其他炎性细胞活性，释放更多的炎症因子通过各自的信号通路参与IBD肠黏膜的炎症反应[12]，其中CD40/CD40L系统与血小板的联系较为密切. 以往认为CD40/CD40L主要由B细胞、$CD4^+$ T淋巴细胞、内皮细胞等表达，但血小板表面也有CD40表达，活化的血小板还可表达CD40L[13,14]. CD40L由胞质内区、跨膜疏水区和胞质外区组成，其胞质外区214个氨基酸可形成可溶性蛋白，即可溶性CD40L(sCD40L). sCD40L是CD40L在血清中的活性形式，是反映血小板活化的主要标志之一，IBD患者的血浆sCD40L可以升高. 有文献认为血循环中95%以上的sCD40L来源于血小板，血小板可认为是与单核细胞、T细胞同等重要的sCD40L提供者[15-20]. 表达CD40L的血小板以及从血小板脱落至血浆中的sCD40L可与$CD40^+$的内皮细胞和T细胞等结合，而文献显示活动期IBD肠黏膜中可见黏膜和黏膜下的单核细胞，内皮细胞及肠间质细胞的CD40染色均为强阳性且广泛分布[21-24]. 两者结合的协同刺激可使更多细胞因子和化学因子产生，上调细胞黏附分子，导致炎症长期存在[21,24]. 实验中发现模型组血清sCD40L明显高于其他组，反映了结肠炎小鼠血小板处于异常活化状态，而中高剂量药物干预组sCD40L明显下降，提示丹参多酚酸盐下调了血小板活化相关的sCD40L高表达，说明其对肠道炎症的血小板活化可能具有抑制作用. 同时，模型组小鼠无论从消化道出血症状还是镜下肠道炎症程度来说都最为严重，免疫组织化学染色CD40L表达明显升高，CD40表达亦明显升高，测定两者mRNA含量同样明显升

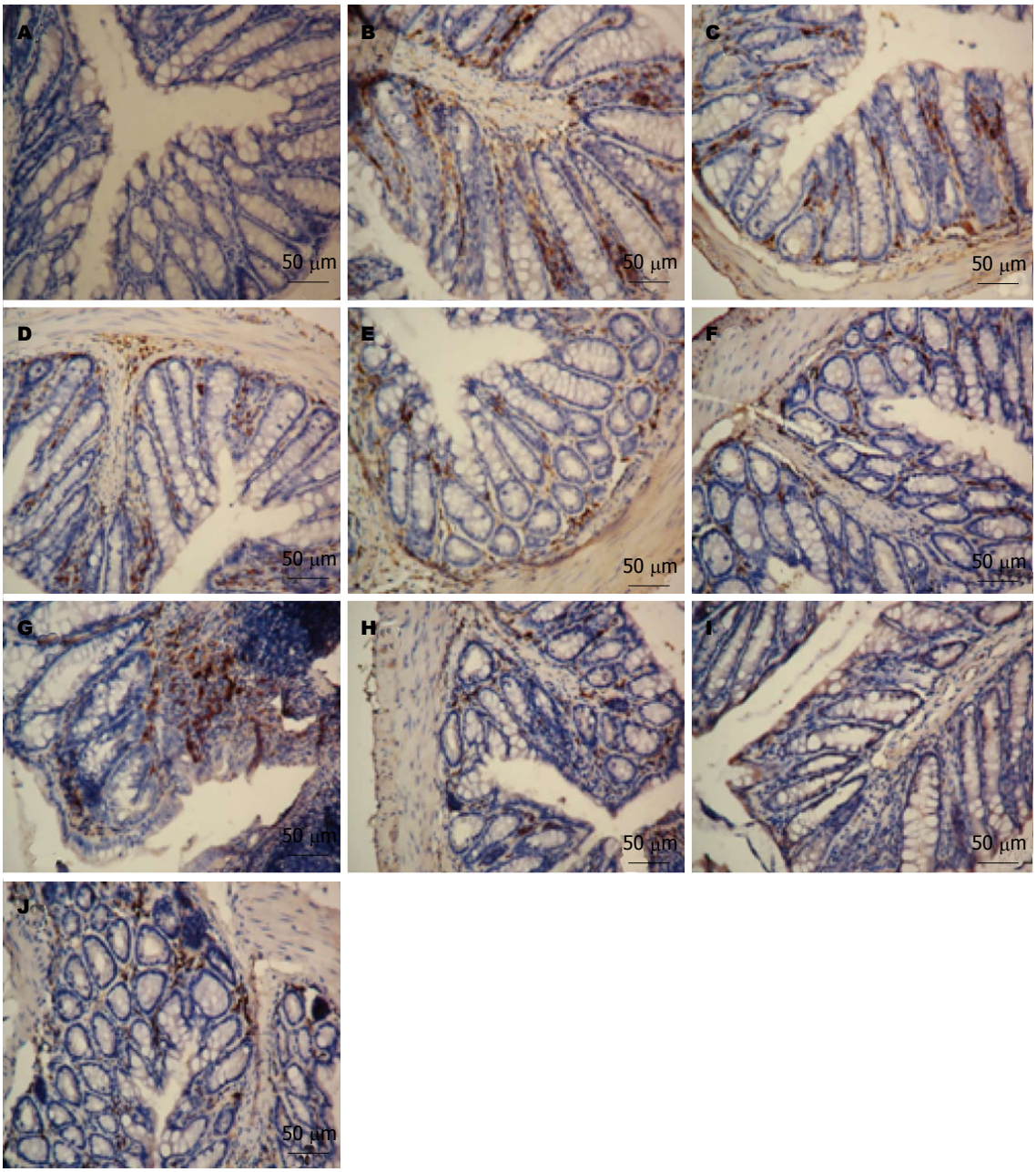


图 2 肠黏膜组织CD40/CD40L表达. A: CD40对照组; B: CD40模型组; C: CD40低剂量组; D: CD40中剂量组; E: CD40高剂量组; F: CD40L对照组; G: CD40L模型组; H、I: CD40L中剂量组; J: CD40L高剂量.

■应用要点

药理实验证明丹参多酚酸盐可减少VCAM-1、TNF-α、ICAM-1、IL-1、IL-6, TGF-β1、ET、VEGF等释放而抑制炎症反应. 而这些炎症因子也参与了IBD的发病过程. 本研究将其应用于实验性结肠炎的治疗, 或能开发新的临床适应症.

高. 药物干预组与模型组比较存在显著差异, 药物干预组(特别是中高剂量组)的肠道炎症减轻, CD40/CD40L表达下降, 验证了其他研究报道的CD40/CD40L系统与肠道炎症程度的关系, 并提示丹参多酚酸盐的治疗有效.

丹参多酚酸盐已知的主要药理作用是抗血小板聚集、抑制血小板活化、抗血栓形成. 本实验发现丹参多酚酸盐可下调与血小板活化相关的sCD40L, 抑制CD40/CD40L炎症通路. 鉴于以上情况, 且药物干预组小鼠肠道炎症在未使用其他任何已知对结肠炎有治疗作用的药物的前提下出现好转, 是否能大胆推测丹参多酚酸盐可能通过抑制血小板的活化对肠道炎症起到治疗作用? 有研究发现丹酚酸B可以抑制单核细胞来源的树突状细胞表达CD40[25], 因此还需考虑丹参多酚酸盐可直接抑制单核细胞等表达CD40/CD40L起到治疗作用, 但是目前未见丹参多酚酸具有类似作用的报道. 本实验只是观察到上述现象, 而丹参多酚酸治疗肠炎的作用机制尚不完全明确, 有待完善.

以丹参乙酸镁为主要成分的丹参多酚酸盐注射液是迄今各种丹参制剂中含有效成分最明

■同行评价
本文是基于前期临床基础的实验研究，为IBD的治疗提供一个可能的新治疗药物进行了初步研究，具有一定参考价值.

确、含量高的一个品种，可下调多个血清炎症因子水平，疗效确切. 临床应用至今尚无直接导致出血的报道. 研究观察40例肝硬化失代偿患者应用该药物后认为不仅没有增加出血危险反而可改善出凝血功能[26]. 另有研究表明丹参多酚酸盐在有效抗血栓形成时不影响正常凝血功能，不引起出血[27]，有高度的安全性，但尚无应用于治疗IBD的报道. 由于DSS诱导实验性结肠炎的动物模型在临床表现和病理改变上更接近于人类UC，我们观察到整个研究过程中未发现有动物因药物导致出血加重，相反能减轻出血症状，证明了其安全性. 虽然IBD的预防性抗凝治疗尚存争议，已有不少研究将肝素用于治疗严重或合并血栓的UC，且取得良好疗效，且肝素用于治疗UC的安全性还是公认的[28-31]. 相对于肝素，丹参多酚酸盐的安全性自然更为可靠.

本实验希望能拓宽该药的临床适应症，并为IBD新的治疗策略提供新的线索. 当然，关于该药物的最佳剂量和更确切的作用机制还有待于更多的实验加以深入研究.

4 参考文献

1 戎兰，蒋晓芸，乔健，蒋义斌，钟良. 炎症性肠病患者血小板活化和血小板聚集力的变化. 中华消化杂志 2009; 29: 264-266
2 蒋晓芸，戎兰，宋艳艳，钟良，蒋义斌. 溃疡性结肠炎患者血小板功能变化的观察. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 59-61
3 刘春燕，戎兰，蒋晓芸. 60例炎症性肠病患者血小板检测的临床意义. 临床内科杂志 2007; 24: 713
4 陈隆典，杨英. 炎症性肠病疾病活动程度与血小板参数的相关性分析. 中华消化杂志 2006; 26: 771-773
5 何斌，孔超美，张振玉. 血小板激活与炎症性肠病. 医学综述 2008; 14: 392-395
6 胡正华，吴胡明. 血小板参数与溃疡性结肠炎活动性的关系. 浙江实用医学 2009; 14: 209
7 许丽莉，王吉耀. 活动期溃疡性结肠炎患者体内血小板激活状态的评价. 中华消化杂志 2002; 22: 285-289
8 张星星，叶柏，沈洪. 溃疡性结肠炎严重程度与血小板计数的相关性分析. 中国现代医药杂志 2009; 11: 16-18
9 陶继勇，寇继光，袁岸龙. 溃疡性结肠炎与血小板的相关性探讨. 中国医疗前沿 2009; 4: 26
10 Yüksel O, Helvaci K, Başar O, Köklü S, Caner S, Helvaci N, Abayli E, Altiparmak E. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets* 2009; 20: 277-281 [PMID: 19459134 DOI: 10.1080/09537100902856781]
11 Öztürk ZA, Dag MS, Kuyumcu ME, Cam H, Yesil Y, Yilmaz N, Aydinli M, Kadayifci A, Kepekci Y. Could platelet indices be new biomarkers for inflammatory bowel diseases? *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 334-341 [PMID: 23426536]
12 章荣华. 炎症性肠病的免疫学研究进展. 国外医学免疫学分册 2000; 23: 59-61
13 Schönbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 4-43 [PMID: 11229815]
14 Antoniades C, Bakogiannis C, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Stefanadis C. The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 669-677 [PMID: 19679244 DOI: 10.1016/j.jacc.2009.03.076]
15 Ludwiczek O, Kaser A, Tilg H. Plasma levels of soluble CD40 ligand are elevated in inflammatory bowel diseases. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 142-147 [PMID: 12548417]
16 谢芳. sCD40L在炎症性肠病中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2009; 17: 737-739
17 Danese S, Katz JA, Saibeni S, Papa A, Gasbarrini A, Vecchi M, Fiocchi C. Activated platelets are the source of elevated levels of soluble CD40 ligand in the circulation of inflammatory bowel disease patients. *Gut* 2003; 52: 1435-1441 [PMID: 12970136]
18 Hermann A, Rauch BH, Braun M, Schrör K, Weber AA. Platelet CD40 ligand (CD40L)--subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel. *Platelets* 2001; 12: 74-82 [PMID: 11297035]
19 Nagasawa M, Zhu Y, Isoda T, Tomizawa D, Itoh S, Kajiwara M, Morio T, Nonoyama S, Shimizu N, Mizutani S. Analysis of serum soluble CD40 ligand (sCD40L) in the patients undergoing allogeneic stem cell transplantation: platelet is a major source of serum sCD40L. *Eur J Haematol* 2005; 74: 54-60 [PMID: 15613107]
20 Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003; 348: 1104-1111 [PMID: 12646667]
21 刘隽，李晓红. CD28: CTLA4/B7及CD40/CD40L在炎症性肠病发病机制中的作用. 国际消化病杂志 2006; 26: 377-379
22 Polese L, Angriman I, Cecchetto A, Norberto L, Scarpa M, Ruffolo C, Barollo M, Sommariva A, D'Amico DF. The role of CD40 in ulcerative colitis: histochemical analysis and clinical correlation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 237-241 [PMID: 11953687]
23 Borcherding F, Nitschke M, Hundorfean G, Rupp J, von Smolinski D, Bieber K, van Kooten C, Lehnert H, Fellermann K, Büning J. The CD40-CD40L pathway contributes to the proinflammatory function of intestinal epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Am J Pathol* 2010; 176: 1816-1827 [PMID: 20133813 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090461]
24 阮佼. CD40/CD40L共刺激途径与炎症性肠病研究进展. 现代医药卫生 2005; 21: 3400-3401
25 Sun A, Liu H, Wang S, Shi D, Xu L, Cheng Y, Wang K, Chen K, Zou Y, Ge J. Salvianolic acid B suppresses maturation of human monocyte-derived dendritic cells by activating PPARγ. *Br J Pharmacol* 2011; 164: 2042-2053 [PMID: 21649636]
26 彭来. 丹参多酚酸盐对失代偿期肝硬化患者凝血功能的影响. 中医药导报 2009; 15: 22-24
27 Fan HY, Fu FH, Yang MY, Xu H, Zhang AH, Liu K. Antiplatelet and antithrombotic activities of salvianolic acid A. *Thromb Res* 2010; 126: e17-e22 [PMID: 20451955]
28 郑家驹. 依诺肝素治疗溃疡性结肠炎合并左腓肠肌静脉血栓1例. 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 260-261
29 Chande N. Prevention of venous thromboembolism in hospitalized patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 669-671 [PMID: 23385239 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31827e7a0f]

30 Chande N, McDonald JW, Macdonald JK, Wang JJ. Unfractionated or low-molecular weight heparin for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (10): CD006774 [PMID: 20927749 DOI: 10.1002/14651858.CD006774.pub3]
31 Stadnicki A. Involvement of coagulation and hemostasis in inflammatory bowel diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2012; 10: 659-669 [PMID: 22272910]

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 •

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).

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2282-2288
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

NSAIDs相关性溃疡再出血的预防

郭淦华, 宋丰前, 王 俊, 王芳芳

■背景资料
非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammtory drugs, NSAIDs)是处方中用量最大的药物之一, 但其引起胃肠不良反应的报道日益增多, 以并发消化性溃疡和出血最为严重, 具有病情重、病死率高的特点, 成为当前临床工作中一个非常棘手的问题.

郭淦华, 王芳芳, 浙江省慈溪市第三人民医院消化内科 浙江省慈溪市 315324
宋丰前, 湖南省娄底市中心医院消化内科 湖南省娄底市 417000
王俊, 湖南省长沙市中心医院消化内科 湖南省长沙市 410004
郭淦华, 主治医师, 主要从事胃肠病学的研究.
慈溪市2010年科技计划基金资助项目, No. CN2010012
作者贡献分布: 郭淦华负责研究设计, 王芳芳、宋丰前及王俊负责协调与管理, 搜集病例及论文撰写; 宋丰前负责娄底市中心医院中相关病例的搜集, 治疗及数据统计管理; 王俊负责长沙市中心医院中相关病例的搜集, 治疗及数据统计管理; 王芳芳负责慈溪市第三人民医院中病例搜集, 内镜下相关止血治疗及数据统计管理.
通讯作者: 郭淦华, 主治医师, 315324, 浙江省慈溪市周巷镇, 慈溪市第三人民医院. guoganhua1@163.com
收稿日期: 2013-05-24 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Strategies for prevention of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers

Gan-Hua Guo, Feng-Qian Song, Jun Wang, Fang-Fang Wang

Gan-Hua Guo, Fang-Fang Wang, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Cixi, Cixi 315324, Zhejiang Province, China
Feng-Qian Song, Department of Gastroenterology, the Loudi Central Hospital, Loudi 417000, Hunan Province, China
Jun Wang, Department of Gastroenterology, the Changsha Central Hospital, Changsha 410004, Hunan Province, China
Supported by: the 2010 Science and Technology Program of Cixi City, No. CN2010012
Correspondence to: Gan-Hua Guo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Cixi, Zouxiangzhen, Cixi 315324, Zhejiang Province, China. guoganhua1@163.com
Received: 2013-05-24 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract
AIM: To compare the therapeutic efficacy and safety of teprenone combined with short- versus long-term use of omeprazole in the prevention of re-bleeding after endoscopic hemostasis for NSAIDs-related ulcers.

METHODS: Patients with NSAIDs-related ulcers who underwent Monteggia liquid spraying for bleeding were randomly divided into four groups: a teprenone group (n = 28), an omeprazole group (n = 33), a short-term combination group (n = 31), and a long-term combination group (n = 35). The incidences of re-bleeding and adverse reactions occurring during the periods of 0-13, 14-26, 0-26 and 27-52 wk were compared among the four groups.

RESULTS: The rate of re-bleeding occurring between 0 and 13 wk was significantly higher in the teprenone group than in the other groups (all $P < 0.05$), and the differences were not statistically significant between the other three groups (all $P > 0.05$). During the periods between 14 and 26 weeks and between 27 and 52 wk, there were no statistically significant differences in the rates of re-bleeding between the four groups (all $P > 0.05$). The incidences of adverse reactions showed no significant differences between the four groups during the period of the first 26 weeks (all $P > 0.05$) or between the omeprazole group and long-term combination group during the period between 27 and 52 wk ($P > 0.05$), but were significantly higher in the omeprazole group and long-term combination group than in the short-term combination group (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Teprenone in combination with short-term use of omeprazole has comparable efficacy to long-term use of omeprazole but is associated with significantly less adverse reactions in preventing the occurrence of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Non-steroid anti-inflammtory drugs; Teprenone; Omeprazole; Peptic ulcer; Upper gastrointestinal hemorrhage

Guo GH, Song FQ, Wang J, Wang FF. Strategies for prevention of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2282-2288
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2282.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2282

摘要
目的: 分别比较经内镜下止血后替普瑞酮联合

■同行评议者
姜慧卿,教授, 河北医科大学第二医院消化科

短期与长期应用奥美拉唑的抑酸疗法对预防非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammtory drugs, NSAIDs)相关性溃疡再出血的疗效和安全性.

方法: 对因NSAIDs致溃疡出血的患者经内镜下止血后, 随机分为替普瑞酮组(28例)、奥美拉唑组(33例)、短期联合组(31例)、长期联合组(35例), 比较4组患者在第0-13、14-26周以及第0-26、27-52周期间再出血和不良反应的发生率.

结果: 4组患者再出血发生人数, 经比较在第0-13周替普瑞酮组高于其他3组(P<0.05), 而后3组间差异相仿(P>0.05); 第14-26周各组间无明显差异(P>0.05); 第27-52周期间各组间差异相仿(P>0.05). 4组患者发生不良反应的人数经比较第0-26周各组间差异无统计学意义(P>0.05); 第27-52周奥美拉唑组与长期联合组间差异无统计学意义(P>0.05), 但均高于短期联合组(P<0.05).

结论: 替普瑞酮联合短期应用质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)的方案与长期使用PPI或长期两药合用的治疗方案对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效相当, 但相关药物并发症的发生显著减少.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 非甾体抗炎药; 替普瑞酮; 奥美拉唑; 消化性溃疡; 上消化道出血

核心提示: 本研究对非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammtory drugs, NSAIDs)相关性溃疡出血经内镜下止血治疗后, 采用替普瑞酮单用或联用奥美拉唑的方案进行对照, 分别比较短期内与较长期时间内对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效和安全性. 结果发现: 替普瑞酮联合短期应用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)的方案与长期使用PPI或长期两药合用的治疗方案对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效相当, 但相关药物并发症的发生显著减少.

郭淦华, 宋丰前, 王俊, 王芳芳. NSAIDs相关性溃疡再出血的预防. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2282-2288 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2282.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2282

0 引言

非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammtory drugs, NSAIDs)具有抗炎、抗风湿、止痛、退热和抗凝血等作用, 临床上应用广泛, 是处方中用量最大的药物之一[1,2]. 然而, NSAIDs引起胃肠不良反应的报道日益增多, 以并发消化性溃疡和出血最为严重. 但NSAIDs药物本身具有镇痛及抗血小板聚集等药理特性, 其发病常难以预料, 发现并发出血时具有病情重、病死率高的特点[3-6]. 在当前临床工作中如何预防服用NSAIDs后的再出血, 已成为一个棘手问题.

目前临床对NSAIDs相关性溃疡再出血的预防以采用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)类药物为主[7-9], 但PPI长期使用时可抑制骨骼造血功能以及加重胃黏膜萎缩[10], 影响其在临床上的长期应用; 替普瑞酮作一胃黏膜保护剂, 具有提高黏膜的防御能力及组织修复能力[11,12], 理论上可抑制NSAIDs相关性溃疡再出血的发生. 本研究对NSAIDs相关性溃疡出血经内镜下止血治疗后, 采用替普瑞酮单用或联用奥美拉唑的方案进行对照, 分别比较短期内与较长期时间内对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效和安全性, 为临床提供一个可供选择的理想疗法, 现报告如下.

■研发前沿

目前临床对NSAIDs相关性溃疡再出血的预防以采用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)类药物为主, 但PPI长期使用时具有抑制骨骼造血功能以及加重胃黏膜萎缩等相关不良反应; 另一胃黏膜保护药米索前列醇的腹痛等不良反应明显而使服药依从性差. 而替普瑞酮具有广谱抗溃疡作用, 主要通过激活葡萄糖胺合成酶、加速胃黏膜及胃黏液层中高分子糖蛋白的合成而起作用, 理论上具有抑制NSAIDs相关性溃疡形成的预防再出血的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2012-06门诊和住院的长期服用NSAIDs药物并发出血且符合上述入选标准的患者127例(慈溪市第三人民医院55例, 娄底市中心医院32例, 长沙市中心医院40例), 其中男72例, 年龄23-78岁, 平均53岁±7岁; 女55例, 年龄29-79岁, 平均51岁±9岁. 入选标准: (1)均服用过非甾体抗炎药≥1 mo; 有呕血或黑便史; 经胃内窥镜检查有活动性出血(Forrest分级Ⅰb-Ⅱa级); (2)基础疾病的治疗需长期服用NSAIDs类药物; (3)经胃内窥镜止血成功. 排除标准: 合并有恶性肿瘤、幽门螺杆菌(*Helicobactor pylori*, *H. pylori*)感染、经胃内窥镜止血不成功或无需长期服用NSAIDs类药物. 本研究所用替普瑞酮胶囊, 商品名为施维舒, 厂家为日本卫材公司, 规格50 mg/粒; 奥美拉唑胶囊, 商品名为洛赛克, 厂家为无锡阿斯利康公司, 规格20 mg/粒; 孟氏液为本院4 wk内配制, 浓度5%.

1.2 方法

1.2.1 分组: 依照前瞻性完全随机对照研究的原则进行病例分组: 将入选患者按就诊顺序进行编号, 分别为1-127, 再从随机数字表中依次选取127个2位数的随机数与就诊顺序相对应, 再将随机数除以4, 其尾数为0编为替普瑞酮组、为1

■相关报道
目前国内的相关报道中主要以中山大学附一医院的马师洋等较为系统和全面，但其主要集中在NSAIDs药物相关性胃黏膜损伤方面(包括胃溃疡)，并指出替普瑞酮亦有不错的效果，但其对NSAIDs药物所致上消化道出血的研究中尚未有深入. 在动物的研究方面，浙江省中医院的吕宾、张璐和范一宏亦发现替普瑞酮对类固醇致胃黏膜损伤具有保护和修复作用.

表 1 4组患者一般情况对照 (*n*)

分组	*n*	年龄 (岁)			性别		基础疾病		服用药物			出血程度		生化异常	
		<45	45–60	>60	男	女	冠心病	关节炎	阿斯匹林	双氯芬酸	其他	Forrest Ⅰb	Forrest Ⅱa	血常规异常	其他(轻度)
短期联合组	31	5	12	14	17	14	12	19	12	10	9	14	17	2	2
长期联合组	35	4	11	20	16	19	13	22	10	15	10	15	20	2	3
替普瑞酮组	28	6	8	14	15	13	8	20	8	13	6	13	15	1	1
奥美拉唑组	33	6	12	15	19	14	11	22	11	12	10	12	21	2	1
χ^2值		0.88	0.43	0.42	0.34	0.37	0.4	0.17	0.50	0.67	0.41	0.32	0.21	0.25	1.14
*P*值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

编为奥美拉唑组、为2编为短期联合组，为3编为长期联合组；依次将127例患者随机分为4组：替普瑞酮组28例，奥美拉唑组33例，短期联合组31例，长期联合组35例；短期联合组和替普瑞酮组各有1例患者失访，奥美拉唑组失访3例，长期联合组失访2例. 4组患者的一般情况分布如表1. 4个观察组患者间在年龄、性别、基础疾病、服用药物、经胃内窥镜观察出血的程度及血生化指标，经比较差异无统计学意义，具有可比性.

1.2.2 治疗：将NSAIDs所致溃疡再出血的患者进行胃镜下止血治疗，方法为：经胃内窥镜检查孔插入治疗导管，将孟氏液喷洒于出血病变处(根据出血灶大小，病变程度，1次用量10-20 mL)；将止血成功的患者，静脉应用奥美拉唑针治疗3-5 d，患者大便潜隐血(occult blood, OB)转阴后，根据随机原则将患者分为4个治疗组，方法为：给予替普瑞酮组(28例)服用替普瑞酮50 mg tid；奥美拉唑组(33例)服用奥美拉唑20 mg bid；短期联合组服用替普瑞酮50 mg tid，加用初始8 wk疗程的奥美拉唑20 mg bid；长期联合组服用替普瑞酮50 mg tid和奥美拉唑20 mg bid，共52 wk. 分别观察和比较4组患者第0-13、14-26周以及第0-26、27-52周期间再出血和不良反应的发生率. 所有患者在首次出血停止后第2-4周内加上原量的NSAIDs进行基础疾病的治疗.

1.2.3 观察项目：分别观察第0-13、14-26周以及第0-26、27-52周的再出血率和不良反应的发生率：治疗期间每4 wk进行OB试验检测，若粪便隐血试验阳性或出现明显的呕血、黑便即行胃镜检查，其余则在第26周和第52周行胃内窥镜检查，观察各组患者胃十二指肠黏膜有无新的溃疡、出血和萎缩性胃炎的发生率. 第26周和第52周各进行一次骨密度定和血、尿常规及肝、肾功能检查. 另每4 wk随访观察4组患者在治疗期间可能发生的不良反应：包括贫血、难治性腹泻、自发性骨折、骨质疏松、萎缩性胃炎、肝功能损害、黄疸以及服药后所产生的长期便秘等.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行统计学分析，本研究中计数资料均采用行×例表的χ^2检验，$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 再出血的发生率 替普瑞酮组和长期联合组分别在第4、16、35周和第9、28周分别各有1例患者失访，奥美拉唑组和短期联合组分别在第7周和第23周分别有1例患者失访，均按阳性结果发生(再出血)进行统计分析.

所有经胃镜证实发生再出血的患者均不再进入后续实验，并住院进行止血治疗. 第0-13周期间替普瑞酮组、奥美拉唑组、短期联合组与长期联合组患者再出血发生人数分别为9(32.1%)、3(9.1%)、3(9.7%)、4(11.4%)例，经χ^2检验替普瑞酮组与其他3组比较差异有统计学意义(χ^2值分别为5.09、6.40和4.08，$P<0.05$)，而后3组间经比较差异无统计学意义($P>0.05$)；第14-26周期间4组患者再出血发生人数分别为2(10.5%)、4(13.3%)、2(7.1%)、3(9.7%)例，经比较各组间差异无统计学意义($P>0.05$)(表2)；第27-52周期间4组患者再出血发生人数分别为2(11.7%)、3(11.5%)、4(1.4%)、3(10.7%)例，经比较各组间差异无统计学意义($P>0.05$)(表3).

2.2 不良反应的发生 在第0-26周期间，替普瑞酮组有1例患者在第4周时不明原因无法联系而失访，有4例患者发生药物相关不良反应，分别恶心、腹痛、黄疸及皮肤瘙痒各1例，除皮肤瘙痒患者在第16周时失访，其他3例经对症处理后症状缓解；奥美拉唑组亦有4例发生药物相关不良

表 2 第0–26周再出血人数分期统计表 *n*(%)

治疗组	第0–13周		第14–26周		χ^2值	*P*值	总出血人数
	总人数	出血人数	总人数	出血人数			
替普瑞酮组	28	9(32.1)	19	2(10.5)	2.95	> 0.05	11(39.3)
奥美拉唑组	33	3(9.1)[a]	30	4(13.3)	0.13	> 0.05	7(21.2)
短期联合组	31	3(9.7)[c]	28	2(7.1)	0.12	> 0.05	5(16.1)
长期联合组	35	4(11.4)[e]	31	3(9.7)	0.05	> 0.05	7(20.0)
χ^2值		9.87		1.12			5.13
*P*值		<0.05		> 0.05			> 0.05

χ^2 = 5.09, [a]*P*<0.05; χ^2 = 6.40, [c]*P*<0.05; χ^2 = 4.08, [e]*P*<0.05 *vs* 替普瑞酮组.

表 3 第0–52周再出血人数分期统计表 *n*(%)

治疗组	第0–26周		第27–52周		χ^2值	*P*值	总出血人数
	总人数	出血人数	总人数	出血人数			
替普瑞酮组	28	11(39.3)[a]	17	2(11.7)	3.90	<0.05	13(46.4)
奥美拉唑组	33	7(21.2)	26	3(11.5)	0.97	> 0.05	10(30.3)
短期联合组	31	5(16.1)[a]	26	4(15.4)	0.25	> 0.05	9(29.0)
长期联合组	35	7(20.0)	28	3(10.7)	1.00	> 0.05	10(28.6)
χ^2值		5.13		0.31			0.43
*P*值		>0.05		>0.05			>0.05

χ^2 = 3.99, [a]*P*<0.05 *vs* 短期联合组.

表 4 各不良反应症状发生人数统计表 (*n*)

时期	治疗组	人数	腹痛	腹泻	腹胀	恶心	肝损	贫血	浅萎	其他	合计
第0–26周	替普瑞酮组	28	1	0	0	1	1	0	0	1	4
	奥美拉唑组	33	1	1	1	0	0	0	1	0	4
	短期联合组	31	0	1	0	0	0	0	0	2	3
	长期联合组	35	0	1	1	0	2	0	0	1	5
总计		127	2	3	2	1	3	0	1	4	16
第27–52周	替普瑞酮组	17	0	1	1	0	0	0	0	0	2
	奥美拉唑组	26	0	1	0	0	1	2	3	1	8
	短期联合组	26	0	0	0	0	0	0	0	2	2
	长期联合组	28	1	1	0	1	2	1	2	2	10
总计		97	1	3	1	1	3	3	5	5	22

肝损包括黄疸及ALT升高, 其他包括口干、便秘、骨质疏松.

反应, 分别为腹痛、腹泻各1例, 经治疗后症状能较快缓解; 发生慢性萎缩性胃炎1例; 1例反复腹胀患者在第7周时失访; 有3例短期联合组患者发生药物相关不良反应, 分别为腹胀、头晕各1例, 经对症处理后症状亦缓解; 1例轻微眼花、视物模糊患者在第22周时失访. 长期联合组发生5例药物不良反应, 分别为腹胀、腹泻、轻度丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)升高及轻度黄疸各1例, 经对症处理后症状缓解; 1皮肤多行性红癍患者在第9周时失访(表4).

第27-52周期间替普瑞酮组1例患者于第35周失访, 为慢性腹泻, 服用蒙脱石散能缓解, 但停药后易再发, 后失访; 发生便秘腹胀1例, 经对症处理后症状缓解. 奥美拉唑组发生不良反应8

■**创新盘点**

通过内镜下快速止血治疗联合短期应用PPI制剂(<8 wk)及长期服用胃黏膜保护药替普瑞酮, 替代PPI等抑酸剂的长期使用, 避免因长期使用强效抑酸剂带来的药物相关性疾病, 是消化内科医生日前的一个研究方向和热点, 目前国内尚未发现别人相似的研究报道.

■应用要点
对需长期服用NSAIDs类药物而不能停药、并发生上消化道出血的患者，可先在内镜下进行快速止血治疗，对止血成功的患者可先短期(<8 wk)应用PPI制剂及替普瑞酮进行抑酸止血，再长期应用替普瑞酮预防再出血的发生.

表 5 4组患者不良反应发生人数统计表 *n*(%)

治疗组	第0–26周		第27–52周		χ^2值	*P*值	总不良反应人数
	总人数	不良反应	总人数	不良反应			
替普瑞酮组	28	4(14.3)	17	2(11.8)	0.06	>0.05	6(20.0)
奥美拉唑组	33	4(12.1)	26	8(30.8)[a]	3.12	>0.05	12(37.1)[e]
短期联合组	31	3(9.7)	26	2(7.7)	0.07	>0.05	5(64.7)
长期联合组	35	5(14.3)	28	10(35.7)[c]	3.94	<0.05	15(42.9)[g]
χ^2值		0.41		8.17			7.22
*P*值		>0.05		<0.05			>0.05

[a]$P<0.05$, $\chi^2 = 4.46$; [c]$P<0.05$, $\chi^2 = 6.12$ *vs* 短期联合组; [e]$P<0.05$, $\chi^2 = 3.36$; [g]$P<0.05$, $\chi^2 = 5.56$ *vs* 短期联合组.

例，分别为轻度贫血2例，黄疸、头晕失眠和骨质疏松各1例，慢性萎缩性胃炎3例. 短期联合组发生2例药物不良反应，为皮肤瘙痒和口干乏力各1例. 长期联合组发生10例药物不良反应，分别为轻度贫血、反复腹痛、腹泻各1例，ALT升高2例，慢性萎缩性胃炎、骨质疏松各2例，另有1例反复恶心患者在第28周失访(表5).

治疗后第0-26周期间4个治疗组不良反应发生例数经χ^2检验，无明显统计学差异($P>0.05$). 第27-52周期间4组间不良反应发生数经χ^2检验，长期联合组与奥美拉唑组间差异相近($P>0.05$)，而短期联合组明显低于奥美拉唑组及长期联合组(χ^2值分别为4.46和6.12，$P<0.05$). 4个治疗组第0-26周不良反应发生例数分别与第27-52周期间比较，经χ^2检验，差异相近($P>0.05$)(表4). 而第0-52周期间4组间不良反应发生例数经χ^2检验，长期联合组与奥美拉唑组间差异相近(χ^2值为0.02，$P>0.05$)；而该两组不良反应例数明显高于短期联合组(χ^2值分别为3.36和5.56，$P<0.05$)，而经χ^2检验与替普瑞酮组无明显差异.

3 讨论

NSAIDs是临床常用的解热、镇痛、抗炎、抗风湿和抗血小板聚集药物，其通过抑制环氧合酶(cyclooxygenase, COX)减少前列腺素(prcxstaglandins, PGs)的合成起作用. 由于NSAIDs临床应用广泛，其不良反应报道日益增多，涉及多个系统和器官，在胃肠道方面以消化性溃疡出血和穿孔最为严重[13-17]. NSAIDs主要通过局部损伤和系统作用两方面的机制产生胃肠道黏膜上皮的损害：其局部损伤是通过作用于胃肠道黏膜上皮细胞使其通透性增加，从而激活中性粒细胞的炎性反应；系统作用方面[18]主要为COX-1的作用，而减少PG合成，使胃黏膜血供减少，抑制胃黏膜细胞的碳酸盐分泌，致黏膜糜烂出血、溃疡形成. 据美国FDA资料[19]显示NSAID所致不良事件约占药物不良反应的1/3；最新来自英国皇家大学医院的一项临床研究[20]亦指出在长期使用(>3 mo)NSAIDs的患者中，经内镜观察消化性溃疡的发生率比对照组高出15%-30%，其出血的发生率随着患者的年龄增长、合并*H. pylori*感染、既往有消化道出血病史以及同时服用华法林等情况下明显升高. 虽然临床上NSAIDs引起的胃肠不良反应相当普遍，但目前仍有着不可替代的作用.

对于NSAIDs药物所致消化性溃疡及上消化道大出血，目前临床上多采用PPI制剂进行预防和治疗[7]；然而对于因基础疾病不能停用NSAIDs的患者，需长期使用PPI类药物才能达到临床需要. 而长时间应用PPIs进行抑酸治疗的同时，可加重胃黏膜萎缩的发生并增加胃癌发生的危险、增加长骨骨折和社区获得性难辨梭菌腹泻的风险[10,21-24]，最近还发现其可导致严重的低镁血症[25]，从而影响了PPI的临床应用. 而替普瑞酮作为一种胃黏膜保护剂，具有广谱抗溃疡作用，主要通过激活葡萄糖胺合成酶，加速胃黏膜及胃黏液层中高分子糖蛋白的合成，增加胃黏膜疏水层中磷脂的含量，并且提高胃黏液中的重碳酸盐而增加胃黏液层的疏水性而发挥其对胃黏膜的局部保护作用[26,27]. 此外，替普瑞酮能提高溃疡中胃黏膜增生区细胞的增生能力，维持黏膜增生细胞区的平衡，提高胃体及幽门部黏膜中前列腺素E2的生物合成能力，改善胃黏膜血流，促进胃黏膜损伤的愈合，提高溃疡的愈合质量[11,28]. 理论上在治疗NSAIDs相关性溃疡具有

广阔的前影, 但是短期使用PPI后换用替普瑞酮, 还是与PPI合用一段时间后单用, 对于其在临床上的配伍策略和相关的疗效如何, 目前国内仍未见相关的报道.

为观察长期应用替普瑞酮能否达到与长期应用PPI同样的疗效, 本研究将相关的病例分为4个实验组进行对照研究, 并排除合并有*H. pylori*感染、恶性肿瘤及内镜下止血不成功等可能干扰溃疡愈合因素的患者; 所有参加试验的患者在首次出血24 h内采用内镜下喷洒孟氏液的方法进行快速止血治疗, 并在病情稳定后再服用原来种类的NSAIDs药物以治疗原发疾病. 研究结果提示奥美拉唑组与短期联合组和长期联合组与在治疗NSAIDs所致的溃疡出血的患者在第26周内和第52周内的再出血率经比较无明显差异(P>0.05); 但短期内(第0-13周)替普瑞酮组发生再出血的风险明显高于其他3组(P<0.05). 提示替普瑞酮在临床上对溃疡黏膜的修复作用起效慢, 在对NSAIDs所致的溃疡出血的患者进行再出血的预防中, 近期单独服用替普瑞酮的疗效显著低于服用奥美拉唑或两药的联合应用; 但在中长期(>13 wk)的预防作用中, 单用替普瑞酮的疗效与其他3个治疗方案相仿; 替普瑞酮短期联合奥美拉唑可作为一个理想的治疗方案对NSAIDs所致溃疡再出血进行预防. 机制可能与在急性胃黏膜损伤的修复期内, 提高胃内的pH值可加速溃疡的愈合, 减少溃疡的复发和再出血的发生; 但对于溃疡已良好愈合的患者, 长期单用替普瑞酮进行胃黏膜保护治疗亦能有效的预防再出血的发生.

基于药物不良反应的安全性观察, 本研究对药物可能导致的相关的副作用进行了观察和统计分析, 在所提供的4个治疗方案中并未发现严重的导致停药的不良反应; 传统的长期应用奥美拉唑的不良反应发生率在26 wk内与替普瑞酮相当, 但随着时间的增加(观察终点第52周)则较前一个观察周期显著增高(P<0.05); 替普瑞酮的不良反应并未发现随着时间的增加而增加的现象(P>0.05); 提示在临床预防NSAIDs相关性溃疡复发和再出血的药物治疗中, 替普瑞酮在药物不良反应的发生要显著低于奥美拉唑, 替普瑞酮可作为一个PPI类药物的理想的替代药品.

在临床进行NSAIDs所致的溃疡和出血的预防和治疗上, 本研究指出在中长期的使用中, 替普瑞酮可以达到与目前临床普遍采用的长期使用PPI类药物相同的疗效, 并可减少相关的药物并发症的发生; 但由于替普瑞酮的起效时间较PPI长, 在治疗的初期(13 wk内)联合应用PPI类药物是个理想的选择. 但是本研究亦存在时间短, 纳入病例相对较少的不足, 可扩大样本量, 延长试验观察时间进行再次研究.

■同行评价
本文设计合理、结果可信、结论客观, 具有一定的临床实用价值.

4 参考文献

1 马师洋, 陈旻湖. 非甾体抗炎药胃黏膜损害的危险因素与预防. 新医学 2008; 39: 190-192

2 Warren-Stomberg M, Brattwall M, Jakobsson JG. Non-opioid analgesics for pain management following ambulatory surgery, a review. *Minerva Anestesiol* 2013 Mar 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23511350]

3 刁萍萍, 杜奕奇, 李兆申. NSAIDs与消化性溃疡出血的研究进展. 实用临床医学 2007; 8: 135-138

4 Taha AS, Angerson WJ, Prasad R, McCloskey C, Gilmour D, Morran CG. Clinical trial: the incidence and early mortality after peptic ulcer perforation, and the use of low-dose aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 878-885 [PMID: 18644010]

5 Kaviani MJ, Pirastehfar M, Azari A, Saberifiroozi M. Etiology and outcome of patients with upper gastrointestinal bleeding: a study from South of Iran. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16: 253-259 [PMID: 20871188 DOI: 10.4103/1319-3767.70608]

6 Lukás M, Chalupná P, Adamec S, Bortlík M, Novotný A. [Adverse effects of nonsteroidal antirheumatic agents on the digestive tract]. *Sb Lek* 2002; 103: 265-272 [PMID: 12688151]

7 Yeomans ND. Overview of 50 years' progress in upper gastrointestinal diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24 Suppl 3: S2-S4 [PMID: 19799693 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06064.x]

8 Karateev AE, Uspenskiĭ IuP, Pakhomova IG, Nasonov EL. [Combined treatment of gastric ulcers induced by nonsteroid antiinflammatory drugs. Results of 4-week population-based controlled trial of efficacy of proton pump inhibitor combination with tripotassium bismuth dicitrate]. *Ter Arkh* 2009; 81: 62-67 [PMID: 19663196]

9 Zhu LL, Xu LC, Chen Y, Zhou Q, Zeng S. Poor awareness of preventing aspirin-induced gastrointestinal injury with combined protective medications. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3167-3172 [PMID: 22791953 DOI: 10.3748/wjg.v18.i24.3167]

10 Svoboda Jr AC. Increasing concerns about chronic proton pump inhibitor use. *J Clin Gastroenterol* 2001; 33: 3-7 [PMID: 11418781 DOI: 10.1097/00004836-200107000-00002]

11 吕宾, 张璐, 范一宏, 孟立娜, 张烁. 替普瑞酮对类固醇致胃黏膜损伤的保护作用. 中华医学杂志 2005; 85: 2749-2753

12 Katoh Y, Tanaka M, Kawashima H. [Protective effects of teprenone and gefarnate against taurocholate/hydrochloric acid-induced acute gastric mucosal lesions in rats]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 1998; 112: 323-331 [PMID: 10098214 DOI: 10.1254/fpj.112.323]

13 Fortun PJ, Hawkey CJ. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the small intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 134-141 [PMID: 17268241]

14 Ramakrishnan K, Salinas RC. Peptic ulcer disease.

Am Fam Physician 2007; 76: 1005-1012 [PMID: 17956071]
15 Kawai T, Fukuzawa M, Moriyasu F, Yamashina A. [Antithrombotic drug and gastrointestinal injuries]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 365-368 [PMID: 23631222]
16 Lindberg M. [Use of NSAIDs in rheumatoid arthritis should be limited]. *Ugeskr Laeger* 2013; 175: 1039-1041 [PMID: 23582126]
17 Lau JY, Barkun A, Fan DM, Kuipers EJ, Yang YS, Chan FK. Challenges in the management of acute peptic ulcer bleeding. *Lancet* 2013; 381: 2033-2043 [PMID: 23746903 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60596-6]
18 Kato M, Ono S, Nakagawa M, Shimizu Y, Asaka M, Nakagawa S. [Position of NSAIDs in causal factors of peptic ulcer]. *Nihon Rinsho* 2007; 65: 1760-1767 [PMID: 17926521]
19 Lanas A, Hunt R. Prevention of anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal damage: benefits and risks of therapeutic strategies. *Ann Med* 2006; 38: 415-428 [PMID: 17008305 DOI: 10.1080/07853890600925843]
20 Bjarnason I. Gastrointestinal safety of NSAIDs and over-the-counter analgesics. *Int J Clin Pract Suppl* 2013; (178): 37-42 [PMID: 23163547 DOI: 10.1111/ijcp.12048]
21 Yang YX, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA* 2006; 296: 2947-2953 [PMID: 17190895 DOI: 10.1001/jama.296.24.2947]
22 van Esch RW, Kool MM, van As S. NSAIDs can have adverse effects on bone healing. *Med Hypotheses* 2013; 81: 343-346 [PMID: 23680000 DOI: 10.1016/j.mehy.2013.03.042]
23 Keszthelyi D, Jansen SV, Schouten GA, de Kort S, Scholtes B, Engels LG, Masclee AA. Proton pump inhibitor use is associated with an increased risk for microscopic colitis: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1124-1128 [PMID: 21039674 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04453.x]
24 Coté GA, Howden CW. Potential adverse effects of proton pump inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 208-214 [PMID: 18625128 DOI: 10.1007/s11894-008-0045-4]
25 Luk CP, Parsons R, Lee YP, Hughes JD. Proton pump inhibitor-associated hypomagnesemia: what do FDA data tell us? *Ann Pharmacother* 2013; 47: 773-780 [PMID: 23632281 DOI: 10.1345/aph.1R556]
26 Ushijima H, Tanaka K, Takeda M, Katsu T, Mima S, Mizushima T. Geranylgeranylacetone protects membranes against nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Mol Pharmacol* 2005; 68: 1156-1161 [PMID: 16046660]
27 马师洋, 熊理守, 董吁钢, 杨岫岩, 高修仁, 何建桂, 梁柳琴, 崔毅, 陈旻湖. 非甾体类抗炎药相关性胃黏膜损伤情况及替普瑞酮保护作用的随机对照观察. 中华医学杂志 2009; 89: 1122-1125
28 Lü B, Zhang L, Fan YH, Meng LN, Zhang S. [Protection of gastric mucosa against steroids-induced damage by teprenone]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2005; 85: 2749-2753 [PMID: 16324314 DOI: 10.1124/mol.105.015784]

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》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)

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2289-2293
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

MicroRNA与胃癌相关性的研究进展

刘 皓, 范尧夫, 魏睦新

刘皓, 范尧夫, 南京医科大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029
魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科 江苏省南京市 210029
刘皓, 主要从事中西医结合消化疾病的基础与临床研究.
江苏省中医药管理局基金资助项目, No. JD11040
作者贡献分布: 本文综述由刘皓完成; 由范尧夫负责修改; 魏睦新负责审校.
通讯作者: 魏睦新, 教授, 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中医科.
weimuxin@njmu.edu.cn
电话: 025-68136267
收稿日期: 2013-04-30 修回日期: 2013-06-03
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Progress in understanding association between microRNAs and gastric cancer

Hao Liu, Yao-Fu Fan, Mu-Xin Wei

Hao Liu, Yao-Fu Fan, the First Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Mu-Xin Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: the Program of Jiangsu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, No. JD11040
Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn
Received: 2013-04-30 Revised: 2013-06-03
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are a class of highly conservative small non-coding RNA molecules, about 16-29 nt in length. Being expressed in a temporal- and tissue-specific manner, miRNAs can be involved in gene expression and regulation and are important in regulating cell proliferation, differentiation and apoptosis. Since miRNAs are significantly differentially expressed between normal tissues and tumor tissues, they play an important role in the process of tumor development. This paper reviews the progress in understanding the association between miRNAs and gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MicroRNAs; Gastric cancer; Tumor suppressor genes; Carcinogenic factors

Liu H, Fan YF, Wei MX. Progress in understanding association between microRNAs and gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2289-2293 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2289.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2289

摘要

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类高度保守的、长度约为16-29 nt的内源性非编码小RNA. 他们具有时序性和组织特异性, 对细胞的增殖、分化和凋亡具有重要的调节作用, 在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同. miRNA可以通过参与基因表达调控, 在肿瘤的发生发展过程中扮演着重要的角色. 本文就miRNA在胃癌方面的研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 微小RNA; 胃癌; 抑癌基因; 致癌因素

核心提示: 微小RNA(microRNAs, miRNAs)对细胞的增殖、分化和凋亡有重要的调节作用, 在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同. miRNA可以通过参与基因表达调控, 在胃癌(gastric cancer, GC)的发生发展过程中扮演着重要的角色, 针对其与GC相关性的进一步研究, 可能为临床对GC的早期干预提供新的策略.

刘皓, 范尧夫, 魏睦新. MicroRNA与胃癌相关性的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2289-2293 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2289.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2289

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是消化系最常见的恶性肿瘤. 目前, 在世界范围内GC占肿瘤死亡率的第2位[1], 而在我国GC发病率和死亡率均居恶性肿瘤的首位[2]. GC的发生、发展是多因素、多步骤的复杂过程. 迄今为止GC在临床上缺乏理想的早期检测方法, 从而给其早期诊断、预后监

■背景资料
胃癌(gastric cancer, GC)在我国发病率和死亡率均居恶性肿瘤之首, 但迄今临床上仍缺乏早期诊断和治疗的有效手段. 通过参阅近十年相关领域文献报道, 客观分析了微小RNA(microRNAs, miRNAs)通过参与基因表达调控, 在GC诊断、治疗等方面应用前景.

■同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

■研发前沿
miRNA可作为癌基因或抑癌基因在GC的诊断和治疗中发挥作用，近年研究发现miR-21、miR-421等通过促进细胞增殖/抑制凋亡促进肿瘤生长，miR-15a、miR-16-1等则可通过负性调控靶基因抑制GC的发生发展，这为临床上GC的早期诊治提供了新的思路，但其更深入的分子机制尚待进一步阐明.

测及GC患者的康复等造成了一定的困难[3]. 由于微小RNA(microRNAs, miRNAs)是一类具有相对特异性调控作用的小RNA, 几乎参与了肿瘤发生和发展的整个过程[4,5], 因此成为目前的研究热点, 其在肿瘤诊断、治疗等方面均有很好的应用前景. 本文主要探讨miRNA与GC方面研究的最新进展作一综述.

1 MicroRNAs的发现及其作用的分子机制

1.1 miRNA的发现 Lee等[6]于1993年在线虫(C. elegans)体内发现了第一种特异性表达的基因*lin-4*, 拉开了研究miRNA的序幕. 2000年Reinhart等[7]再次在线虫中发现了第2个异时性开关基因*let-7*, 存在于线虫幼虫的第3、4期及成虫期. 当时科学家将这类基因所编码的小分子RNA称为stRNA(small temporal RNA)[7]. 随着研究的进展, 科研人员相继在多种真核模式生物和细胞中找到了相类似的小分子RNA, 并将其称为微小RNA(microRNAs)、小核RNA(small nuclear RNA)、PIWI(P-element induced wimpy testis)或小干扰RNA等[4,8]. miRNA的发现为研究肿瘤疾病发生、发展及诊断治疗等提供了新的视角.

1.2 miRNA的生物合成过程及作用机制 miRNA的合成及其作用机制是一个十分复杂的生理过程: microRNAs初始物一般约为1000 nt大小的含有茎环结构的小片段RNA. 首先, miRNA基因在核糖核苷酸Ⅱ的作用下转录成pri-microRNA(pri-miRNA), 在细胞核内的酶RNaseⅢDrosha[9]的作用下形成miRNA前体(pre-miRNA), 核内的转运蛋白将pre-miRNA转运到细胞质中. 然后, 在细胞质中的另一种酶Dicer[10]把miRNA前体作用成双链miRNA. 成熟miRNA(mature-miRNA)与多个蛋白一起形成miRNA相关的多蛋白RNA诱导沉默复合物(miRNA-associated multiprotein RNA-induced silencing complex, miRISC), 形成非对称的RISC复合物(asymmetric RISC assembly)[11,12]. 该非对称RISC复合物能够与目标靶mRNA相结合. miRNA一般通过与目标mRNA分子的3'端非编码区域(3'-untranslated region, 3'-UTR)特异结合调节基因的表达, 主要有两种方式: 即靶mRNA的降解和翻译抑制[13].

2 miRNA的检测方法

目前miRNA检测方法包括RNA印迹分析法、miRNA基因芯片(microarray)和实时定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测等. 其中RNA印迹分析法被认为是检测miRNA的“金标准”, 此种方法相对容易且成熟; 缺点是耗时, 需样品量大, 灵敏度不高, 难以区分有很少序列差别的序列[14,15]. 基因芯片法可以实现快速、高通量检测[16], 常用于临床科研病例的初步筛查; 缺点是经济成本高, 难区分前体miRNA和成熟miRNA, 有时还需要借助PCR法验证[17,18]. 实时荧光定量PCR只需微量样品, 高灵敏度, 高特异性, 并且可以实时观察监测而被广泛应用于临床科研; 但其需要特殊设计或对样品做特殊处理, 如采用RNA加尾和引物延伸RT-PCR法[19]或茎环结构引物(stem-loop)RT-PCR法[20].

3 miRNA在GC中的研究

GC的发生是多阶段多基因参与的过程[21,22], 早期诊断、早期手术是降低GC病死率的重要因素之一, 但临床诊治的GC病例大多数均是进展期, 5年生存率难以有显著的提高. 因此对GC发生的机制、调控和应用一直是GC研究的一个热点[23,24]. 近年来研究表明, miRNA可以作为癌基因和/或抑癌基因在GC的诊断和治疗中发挥作用.

3.1 miRNA致癌作用的研究 某些miRNA具有促细胞增殖/抑制细胞凋亡, 促进肿瘤生成作用. 目前miR-21是作用机制较清楚的miRNA, 其在GC及多种肿瘤组织中显示出过表达. Jiang等[25]研究发现, miR-421在73.33%的GC标本中呈现过表达, 将miR-421作为标志物, GC检出率明显高于通过血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)的检出率(P<0.001). 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性的GC标本较*H. pylori*阴性的GC标本中miR-21、miR-106b-25及miR-221, miR-222表达显著增加, miR-218的表达水平显著下降[26,27]. Liu等[28]研究发现，抑制miR-27a可控制GC细胞的生长; 消除GC细胞中的miR-27a, 则其潜在靶点的mRNA水平及蛋白水平同时升高. Li等[29]发现miR-107作为一种癌基因在GC组织中过表达, 其表达的上调可促进GC细胞增殖. Katada等[30]经临床研究发现42例未分化GC组织及配对组织中的miR-20b、miR-150表达上调, 该上调同样可促进GC细胞的增殖能力. Volinia等[31]发现miR-21在肺癌结肠癌、GC、前列腺癌和胰管癌中均显著过表达, 提示miR-21在肿瘤形成过程中起广泛的致癌作用. Lu等[32]也发现miR-21具有癌基因的作用. 因此作者推测miR-21、miR-421、miR-218等或许

可以考虑作为临床上GC诊断的标志物.

3.2 miRNA抑癌作用的研究 研究发现大约有一半的人类miRNAs集中于基因组的脆性位点, 这些位点与癌症关系密切, 可能在癌症发展中起抑癌基因的作用[33]. miR-15a和miR-16-1能负调节同一靶基因, 使得致癌基因*Bcl-2*在人类多种癌症中过度表达, 因此miR-15a和miR-16-1的缺失或下调导致Bcl-2表达增加, 促进肿瘤的发生[34]. Wang等和Gou等[35,36]发现microRNA-29家族成员(miR-29a, -29b和-29c)可通过作用靶点Cdc42抑制GC细胞的增殖、转移和侵袭. Bandres等[37]研究显示miR-101在GC组织中表达下降, 通过靶基因(*EZH2*、*COX-2*、*Mcl-1*及*Fos*)不但能在体外抑制GC细胞增殖、迁移和侵袭, 而且能在体内抑制移植瘤的生长. Lang等[38]发现miRNA-331-3p直接作用于细胞周期相关因子-转录因子1(transcription factor1, E2F1), 导致GC细胞生长停滞, 可将其作为一个有潜力的抑癌基因应用于临床治疗. Guo等[39]的研究结果显示miR-451在人GC组织中低表达, 其表达水平与患者预后呈负相关. Du等[40]发现miR-141的过度表达可能会影响肿瘤细胞的增殖, 从而在GC的发生, 发展过程中起作用.

3.3 miRNA与GC细胞耐药性 目前化学治疗在临床上已经是癌症患者重要的治疗手段之一. 多药耐药对于癌症患者的化学治疗是一个极大的障碍. 近年来科研工作者从miRNA入手阐明GC多重耐药机制, 努力寻找能够逆转耐药性的新方法.

某些miRNA能通过多种不同途径增强肿瘤细胞对化学治疗药物的敏感性. Xia等[41]通过miRNA芯片检测GC耐长春新碱(vincristin, VCR)细胞SGC7901/VCR和其亲本细胞SGC7901的miRNA表达谱, 找出差异表达的miRNA. 实验结果显示在SGC7901中转染miR-15b及miR-16特异性拮抗剂后能够使细胞耐药. 近年研究发现, miR-200c可能通过上调E-cad、PTEN和Bax蛋白表达而逆转GC SGC7901/DDP细胞对DDP的耐药[42]. Wu等[43]通过分析6个羟基喜树碱(HCPT)耐药性GC细胞株(BGC-823、SGC7901、MGC-803、HGC-27、NCI-N87和AGS)对HCPT的敏感性, 发现上述6个不同的细胞系的药物敏感度均不同, 并且在耐药性细胞株中, 有多种异常的miRNA靶基因与GC的耐药性显著相关, 作者推测以miRNA表达差异调节GC耐药性, 可作为GC干预的新目标.

3.4 miRNA与GC的治疗 虽然miRNA在肿瘤的干预方面有广阔的前景, 但目前应用于临床治疗仍有很多问题亟待解决. 尽管miRNA尚未应用于GC的临床治疗, 然而其策略不外乎从致癌和抑癌两个方面入手.

如研究开发出的Antagomirs-拮抗miRNA的药物, 实验证明将与miR-16、miR-192、miR-194互补的Antagomirs通过尾静脉注入小鼠体内, 结果显示相应的miRNA在肝、肾、胃肠道等多种组织中均受到抑制[37]. Cho等[44]使用miR-327的反义寡核苷酸(AS-miR-327)抑制miR-327的表达, 增加其靶基因*LATS2*(large tumor suppressor homolog2)的表达, 使细胞周期停滞在G_2/M阶段. Bandres等[37]研究发现过表达miR-451能抑制GC细胞的增殖活性, 并提高放射治疗对其敏感性. Saito等[45]将组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂及GC细胞中Alu重复片段的DNA去甲基化, 其可以激活沉默表达的miR-512-5p, 从而导致GC细胞凋亡. 利用沉默的Alu相关miRNA的激活可能成为GC治疗的一个新的方法.

Takagi等[46]单独应用miR-145和联合应用miR-143在抑制人GC细胞生长方面差别不大, 但是联合应用在抑制增殖方面的效果比单独使用要强. Wan等[47]研究发现, 转染miR-9前体对人GC细胞系MGC-803和SCID小鼠异种移植物肿瘤的生长有抑制作用. Li等[48]用人工合成的microRNA(PCMV-PRL3 microRNA)使靶基因PRL-3在GC细胞株SGC7901中的表达沉默, 显著抑制SGC7901细胞的生长. Luo等[49]在SGC7901细胞系中加入has-miR-9和has-miR-433后RAB34和GRB2的表达上调要高于直接加入miR-9和miR-433之后的上调程度. miR-9和miR-433等的抑癌基因作用为GC的分子治疗提供了新的思路.

4 结论

根据目前研究推测哺乳动物有1000多个miRNAs, 在细胞分化、生物发育及疾病发生、发展的过程中发挥着巨大作用. 近年来研究人员在miRNA的生物合成、作用机制、疾病相关性等研究领域取得了较大的进展, 但是大部分基因的功能、作用机制以及在疾病发展过程中的作用尚未完全阐明. 随着对miRNA调控研究的深入, miRNA在GC的发生机制上将进一步被阐明, 从而为推动miRNAs在GC等肿瘤临床诊断与治疗领域中的广泛应用.

■相关报道

相关研究表明, 将组蛋白去乙酰化酶抑制剂及GC细胞中Alu重复片段的DNA去甲基化, 其可以激活沉默表达的miR-512-5p, 从而导致GC细胞凋亡. 利用沉默的Alu相关miRNA的激活可能成为GC治疗的一个新的方法.

■创新盘点
本文总结了近年miRNA与GC相关研究新进展，从miRNA致癌作用、抑癌作用以及逆转GC细胞耐药性等方面，对miRNA与GC发生、发展的关系作了客观分析，并展望其在GC早期临床诊断和治疗上的应用前景.

5 参考文献

1 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]

2 Alberts SR, Cervantes A, van de Velde CJ. Gastric cancer: epidemiology, pathology and treatment. *Ann Oncol* 2003; 14 Suppl 2: ii31-ii36 [PMID: 12810455 DOI: 10.1093/annonc/mdg726]

3 戴俏琼, 叶再元, 陶厚权, 王惠菊, 何徐军. MicroRNA与胃癌的关系. 国际病理科学与临床杂志2011; 31: 145-149

4 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]

5 Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs--the micro steering wheel of tumour metastases. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 293-302 [PMID: 19262572 DOI: 10.1038/nrc2619]

6 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]

7 Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans. *Nature* 2000; 403: 901-906 [PMID: 10706289 DOI: 10.1038/35002607]

8 Kutter C, Svoboda P. miRNA, siRNA, piRNA: Knowns of the unknown. *RNA Biol* 2008; 5: 181-188 [PMID: 19182524]

9 Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419 [PMID: 14508493 DOI: 10.1038/nature01957]

10 Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409: 363-366 [PMID: 11201747 DOI: 10.1038/35053110]

11 Schwarz DS, Hutvágner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell* 2003; 115: 199-208 [PMID: 14567917 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00759-1]

12 Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115: 209-216 [PMID: 14567918 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00801-8]

13 谢一帆, 毕力夫, 吴岩. miRNA与肿瘤. 内蒙古医学院学报 2008; 30: 214-218

14 宋亚锋, 陶凯雄. MicroRNA在胃癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1911-1913

15 Hamilton AJ, Baulcombe DC. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* 1999; 286: 950-952 [PMID: 10542148 DOI: 10.1126/science.286.5441.950]

16 Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744 [PMID: 15210942 DOI: 10.1073/pnas.0403293101]

17 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]

18 Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, Chen Y, Xu L, Zen K, Zhang C, Shen H. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1721-1726 [PMID: 20194856 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9342]

19 Stewart B, Lancaster G, Lawson J, Williams K, Daly J. Validation of the Alder Hey Triage Pain Score. *Arch Dis Child* 2004; 89: 625-630 [PMID: 15210492 DOI: 10.1136/adc.2003.032599]

20 Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, Barbisin M, Xu NL, Mahuvakar VR, Andersen MR, Lao KQ, Livak KJ, Guegler KJ. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: e179 [PMID: 16314309 DOI: 10.1093/nar/gni178]

21 Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 192-198 [PMID: 16482617]

22 Yasui W, Yokozaki H, Fujimoto J, Naka K, Kuniyasu H, Tahara E. Genetic and epigenetic alterations in multistep carcinogenesis of the stomach. *J Gastroenterol* 2000; 35 Suppl 12: 111-115 [PMID: 10779229]

23 夏加增. 微小RNA与肿瘤转移. 肿瘤研究与临床 2009; 21: 65-67

24 裴雷, 夏加增. miRNA与胃癌关系的研究进展. 淮海医药 2011; 29: 181-183

25 Jiang Z, Guo J, Xiao B, Miao Y, Huang R, Li D, Zhang Y. Increased expression of miR-421 in human gastric carcinoma and its clinical association. *J Gastroenterol* 2010; 45: 17-23 [PMID: 19802518 DOI: 10.1007/s00535-009-0135-6]

26 Zhang Z, Li Z, Gao C, Chen P, Chen J, Liu W, Xiao S, Lu H. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. *Lab Invest* 2008; 88: 1358-1366 [PMID: 18794849 DOI: 10.1038/labinvest.2008.94]

27 Gao C, Zhang Z, Liu W, Xiao S, Gu W, Lu H. Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer. *Cancer* 2010; 116: 41-49 [PMID: 19890957 DOI: 10.1002/cncr.24743]

28 Liu T, Tang H, Lang Y, Liu M, Li X. MicroRNA-27a functions as an oncogene in gastric adenocarcinoma by targeting prohibitin. *Cancer Lett* 2009; 273: 233-242 [PMID: 18789835 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.08.003]

29 Li X, Zhang Y, Shi Y, Dong G, Liang J, Han Y, Wang X, Zhao Q, Ding J, Wu K, Fan D. MicroRNA-107, an oncogene microRNA that regulates tumour invasion and metastasis by targeting DICER1 in gastric cancer. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 1887-1895 [PMID: 21029372 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01194.x]

30 Katada T, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitui A, Mori Y, Ogawa R, Harata K, Fujii Y. microRNA expression profile in undifferentiated gastric cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 537-542 [PMID:

19148490]
31 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460 DOI: 10.1073/pnas.0510565103]
32 Lu Z, Liu M, Stribinskis V, Klinge CM, Ramos KS, Colburn NH, Li Y. MicroRNA-21 promotes cell transformation by targeting the programmed cell death 4 gene. *Oncogene* 2008; 27: 4373-4379 [PMID: 18372920 DOI: 10.1038/onc.2008.72]
33 Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2999-3004 [PMID: 14973191 DOI: 10.1073/pnas.0307323101]
34 李新华, 张桂英. microRNAs与胃癌的研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 980-984
35 Wang HJ, Ruan HJ, He XJ, Ma YY, Jiang XT, Xia YJ, Ye ZY, Tao HQ. MicroRNA-101 is down-regulated in gastric cancer and involved in cell migration and invasion. *Eur J Cancer* 2010; 46: 2295-2303 [PMID: 20712078 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.05.012]
36 Guo X, Guo L, Ji J, Zhang J, Zhang J, Chen X, Cai Q, Li J, Gu Q, Liu B, Zhu Z, Yu Y. miRNA-331-3p directly targets E2F1 and induces growth arrest in human gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 398: 1-6 [PMID: 20510161 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.05.082]
37 Bandres E, Bitarte N, Arias F, Agorreta J, Fortes P, Agirre X, Zarate R, Diaz-Gonzalez JA, Ramirez N, Sola JJ, Jimenez P, Rodriguez J, Garcia-Foncillas J. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2281-2290 [PMID: 19318487 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1818]
38 Lang N, Liu M, Tang QL, Chen X, Liu Z, Bi F. Effects of microRNA-29 family members on proliferation and invasion of gastric cancer cell lines. *Chin J Cancer* 2010; 29: 603-610 [PMID: 20507733 DOI: 10.5732/cjc.009.10597]
39 Guo J, Miao Y, Xiao B, Huan R, Jiang Z, Meng D, Wang Y. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 652-657 [PMID: 19175831 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05666.x]
40 Du Y, Xu Y, Ding L, Yao H, Yu H, Zhou T, Si J. Down-regulation of miR-141 in gastric cancer and its involvement in cell growth. *J Gastroenterol* 2009; 44: 556-561 [PMID: 19363643 DOI: 10.1007/s00535-009-0037-7]
41 Xia L, Zhang D, Du R, Pan Y, Zhao L, Sun S, Hong L, Liu J, Fan D. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. *Int J Cancer* 2008; 123: 372-379 [PMID: 18449891 DOI: 10.1002/ijc.23501]
42 陈勇, 左静, 刘颖, 高鸿, 刘巍. miRNA-200c逆转胃癌SGC7901/DDP细胞对顺铂的耐药性及其相关机制. 肿瘤 2010; 30: 646-650
43 Wu XM, Shao XQ, Meng XX, Zhang XN, Zhu L, Liu SX, Lin J, Xiao HS. Genome-wide analysis of microRNA and mRNA expression signatures in hydroxycamptothecin-resistant gastric cancer cells. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32: 259-269 [PMID: 21293479 DOI: 10.1038/aps.2010.204]
44 Cho WJ, Shin JM, Kim JS, Lee MR, Hong KS, Lee JH, Koo KH, Park JW, Kim KS. miR-372 regulates cell cycle and apoptosis of ags human gastric cancer cell line through direct regulation of LATS2. *Mol Cells* 2009; 28: 521-527 [PMID: 19937137 DOI: 10.1007/s10059-009-0158-0]
45 Saito Y, Suzuki H, Tsugawa H, Nakagawa I, Matsuzaki J, Kanai Y, Hibi T. Chromatin remodeling at Alu repeats by epigenetic treatment activates silenced microRNA-512-5p with downregulation of Mcl-1 in human gastric cancer cells. *Oncogene* 2009; 28: 2738-2744 [PMID: 19503096 DOI: 10.1038/onc.2009.140]
46 Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, Naoe T, Tanigawa N, Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology* 2009; 77: 12-21 [PMID: 19439999 DOI: 10.1159/000218166]
47 Wan HY, Guo LM, Liu T, Liu M, Li X, Tang H. Regulation of the transcription factor NF-kappaB1 by microRNA-9 in human gastric adenocarcinoma. *Mol Cancer* 2010; 9: 16 [PMID: 20102618 DOI: 10.1186/1476-4598-9-16]
48 Li Z, Zhan W, Wang Z, Zhu B, He Y, Peng J, Cai S, Ma J. Inhibition of PRL-3 gene expression in gastric cancer cell line SGC7901 via microRNA suppressed reduces peritoneal metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348: 229-237 [PMID: 16875667 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.07.043]
49 Luo H, Zhang H, Zhang Z, Zhang X, Ning B, Guo J, Nie N, Liu B, Wu X. Down-regulated miR-9 and miR-433 in human gastric carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 82 [PMID: 19531230 DOI: 10.1186/1756-9966-28-82]

■同行评价
本文基本反映出当前miRNA研究的现状及其与GC的关系，条理清晰，表达准确，对从事该方向研究有一定参考意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2294-2299
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

累及下腔静脉肝癌治疗的进展

段昌虎, 邰 升

■背景资料
肝癌累及下腔静脉是肿瘤晚期及预后不良的重要标志, 非手术治疗患者在短期内因肺栓塞或肿瘤侵入右心房引起心衰而死亡, 手术治疗使得这部分患者的预后及生存率有了较大改善.

段昌虎, 邰升, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科 黑龙江省哈尔滨市 150086
段昌虎, 主要从事肝胆胰腺外科的研究.
作者贡献分布: 本文综述由段昌虎完成; 邰升审校.
通讯作者: 邰升, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科. taisheng73@gmail.com
电话: 0451-86605356
收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-06-20
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Progress in treatment of hepatocellular carcinoma with inferior vena cava invasion and/or thrombosis

Chang-Hu Duan, Sheng Tai

Chang-Hu Duan, Sheng Tai, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Sheng Tai, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. taisheng73@gmail.com
Received: 2013-04-28 Revised: 2013-06-20
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract
Hepatocellular carcinoma (HCC) with compressed inferior vena cava (IVC) or IVC tumor thrombosis (IVCTT) is an advanced-stage disease that has traditionally been considered a relative contraindication for surgical management and therefore has an extremely poor prognosis. Non-surgical treatment for these patients can lead to tumor invasion to the right atrium, which can cause heart failure and sudden death. In recent years, the development of innovative surgical techniques has made a curative surgical approach to tumors involving both the liver and IVC possible. The purpose of this article is to review the progress in treatment of HCC with IVC invasion and/or thrombosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Inferior vena cava; Diagnosis; Treatment

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

Duan CH, Tai S. Progress in treatment of hepatocellular carcinoma with inferior vena cava invasion and/or thrombosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2294-2299 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2294.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2294

摘要
累及下腔静脉肝癌的治疗仍是医学难题, 既往一直被视为手术禁忌, 患者主要接受非手术治疗或放弃治疗, 其生存率较低. 近年来随着医学的进步, 手术治疗使得这种晚期疾病由不可治变为部分可治. 其预后及生存率有了较大改善, 本文就累及下腔静脉肝癌的术前诊断、手术治疗及术后远期疗效做一综述. 为进一步的临床规范化治疗累及下腔静脉的肝癌提供参考.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝癌; 下腔静脉; 诊断; 治疗

核心提示: 对于合并腔静脉癌栓的肝癌患者来说, 非手术治疗患者在短期内因肺栓塞或肿瘤侵入右心房引起心衰而死亡. 随着医学的进步, 手术治疗使得这种晚期疾病由不可治变为部分可治甚至治愈. 从延长患者的生存期, 改善患者的生活质量的角度出发, 对条件满足的该类患者我们应尽可能实施肿瘤切除及腔静脉癌栓取出.

段昌虎, 邰升. 累及下腔静脉肝癌治疗的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2294-2299 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2294.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2294

0 引言
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)合并血管侵犯被认为是肿瘤晚期及预后不良的重要标志[1-3]. 肝癌累及下腔静脉(inferior vena cava, IVC)指肝癌压迫下腔静脉、与之紧密黏连甚至直接侵犯, 或有IVC内癌栓形成. 过去认为术中有大出血或空气栓塞的风险以及术后肝储备功能不足而视为手术禁忌症[4]. 非手术治疗不能使患者获得良好疗效, 患者在短期内因肺肿瘤栓

塞或肿瘤侵入右心房引起心衰而死亡[5,6]. 从肿瘤根治的角度来看, 该类患者短期内发生远处转移的可能性极大, 不适合手术治疗; 但从解除危急情况、避免猝死的发生, 手术治疗仍具有重要意义[7].

1 累及下腔静脉肝癌的概述

1.1 发病率 肝癌累及IVC的发病率虽然没有肝癌合并门静脉癌栓的发病率高(44.0%-62.2%)[8,9], 文献报道有3%-10%的肝癌伴有IVC癌栓[10-13], 但尸检发现肝癌经肝静脉扩展到IVC的发生率高达20%, 因此累及IVC的肝癌是肝癌治疗的一个不容忽视的重要问题.

1.2 病理类型 Hemming等[14]报道了60例累及IVC的肝癌, 其中胆管细胞癌26例、HCC 16例、结肠癌肝转移13例、胃肠间质瘤2例、肝胚细胞瘤2例、鳞状细胞癌1例. Delis等[15]报道了12例肝切除联合部分IVC切除患者, 其中HCC 4例, 结肠癌肝转移6例, 胆管细胞癌2例. 另有Sarmiento等[5]报道19例肝切除联合部分IVC切除, 病理诊断胆管细胞癌9例, 结肠癌肝转移3例, IVC或腹膜后肉瘤侵犯肝脏3例, HCC 2例, 其他的转移性肝癌2例. 从文献看胆管细胞癌、肝细胞癌及结肠癌肝转移较易侵及IVC.

1.3 原发灶侵入下腔静脉的方式 主要包括局部压迫和静脉内癌栓形成两种方式. 当肝癌原发灶巨大时, 可以压迫IVC, 引起IVC梗阻. IVC的癌栓形成一部分为经肝静脉或肝右后下静脉侵入, 另一部分为癌栓沿IVC管腔生长. 文献报道来源于肝右静脉的癌栓较肝中及肝左静脉的发生率高[16], 该类癌栓主要病理类型为坏死型, 易于从静脉壁上剥离, 经静脉残端或静脉切开取出简单易行, 也可行局部血管切除[17]; 如癌栓为膨胀性生长, 则IVC局部增粗, 边缘不规则[18], 此类癌栓称为增殖型癌栓, 难以剥脱.

2 手术治疗

2.1 术前诊断 当患者肝脏肿瘤巨大, 或表现出肝硬化, 肝功能不全等并发症, 诸如腹胀、腹水、下肢水肿、门静脉高压、继发布加综合征时都应想到有IVC受累的可能.

彩超主要表现为IVC狭窄和/或腔壁不规则, 但对小的腔内癌栓或仅有腔壁侵袭难以判断. CT显示IVC内癌栓多为低密度或等密度, 少数因癌栓内出血表现为高密度; 增强CT表现为IVC内低密度充盈缺损. 有时可出现IVC壁环状强化, 组织学证实其为IVC的滋养血管强化[18]. MRI示癌栓密度与主瘤相同, 增强可见肿瘤边缘及内部结构, 其在判断癌栓与肝肿瘤的连续性、与IVC之间的位置关系比CT好, 被视为检查肝癌累及IVC的首选影像学方法. MRI在矢状位判断受累IVC的上极更有效, IVC造影可显示IVC受压变形或充盈缺损, 在判断受累的IVC下极较为有效[19].

2.2 手术评估 肝癌切除术后的主要风险及死亡原因是肝功能衰竭[20], 而肝功能衰竭的重要原因在于术后残肝不足、术中大量输血及术后感染等并发症[21]. 因此必须重视肝脏切除术前肝脏储备功能的评估[22]. 对于合并IVC癌栓的肝癌患者, 手术风险加大, 更应在术准确评估肝储备功能以降低术后肝衰的风险.

2.2.1 Child-Pugh分级: 临床上最为常用的肝功能评估指标. 该分级包括总胆红素、白蛋白及凝血酶原时间、腹水、肝性脑病5个指标. 将患者的肝功能状况分为A、B、C 3级: A级患者对肝切除的手术耐受性良好, B级经过充分准备后可以耐受手术但风险大, C级患者禁行肝切除. 此分级系统是评价肝脏储备功能的最简便易行的指标, 刘合利等[23]报道临床把握手术条件的考量标准是: 只要患者白蛋白正常, 无腹水和黄疸, 肿瘤局限, 患者健侧肝脏代偿良好, 大多可以安全耐受肝切除手术, 但Child-Pugh分级的缺点在于不能评估可以安全切除肝实质的量.

2.2.2 吲哚氰绿(indocyanine green, ICG)排泄率与ICGR15: ICG排泄率反应肝细胞代谢功能, 被用来评估肝脏的动态功能[24]. Makuuchi等[21]提出通过测量腹水、总胆红素水平以及ICGR15(ICG 15 min的潴留率)3个指标来决定手术是否安全可行: 前两个指标决定手术的可行性, 第3个指标决定术中可切除的最大的肝脏体积: 当患者的ICGR15值处于<10%, 10%-20%, 20%-30%以及>30%时, 患者分别可以行三叶或两叶切除, 单叶切除, 单独肝段切除及限制性肝切除. Lam等[25]提出ICGR15<14%可作为判断肝硬化患者是否施行肝切除手术的标准之一, Child A级患者<14%手术安全可行[26].

2.2.3 3D虚拟肝脏手术重建系统: 基于断层图像数据进行3D重建而生成的肝胆系统数字三维视图, 可全景式真实再现个体病例的肝脏病变形态和解剖结构, 有助于外科医生从整体上、多方位观察评估病灶与重要脉管结构的关系[27]. 术者可对肿瘤精确定位, 直观地观察病变部位的

■研发前沿
本文探讨了肝癌累及腔静脉癌栓的临床诊断, 手术治疗及术后远期生存率, 回顾了近几年非手术治疗及手术治疗的不同疗效.

■相关报道
目前国内外关于肝癌合并腔静脉癌栓的文献报道较多. 这些报道都是通过系统的临床研究所得出的结论. 所以对我临床工作有一定的指导作用.

特点, 提供肝脏容量分析和虚拟手术操作, 彻底切除目标病灶, 最大限度减少肝组织损伤和出血、确保剩余肝脏结构的完整和功能的代偿[28].

随着精准肝切除术理念的提出[29], 外科医生越来越重视精确的术前评估, 各项检查如多排螺旋CT、动脉造影CT、经动脉门静脉造影CT、高场强MRI、超声造影等高分辨影像手段能检出肝脏病变与腔静脉之间的关系, 从而显著提高了对肝脏病变评估的精确性.

2.3 手术治疗 术前判定能完全切除肿瘤并清除癌栓, 心肝肾肺功能良好能耐受手术, 同位素扫描和肺CT证实无远处转移可行手术治疗[30]. 手术治疗的原则即原发灶完整切除、瘤栓取出, 同时有效的防止出血及空气栓塞.

2.3.1 前入路绕肝提拉法肝切除术: 前入路肝切除又称“原位肝切除”或“逆行肝切除”, 指在肝切除术中, 先行入肝和出肝血流阻断、完全横断肝实质, 最后分离肝周韧带移除肿瘤[31], 与传统肝切除方法比较, 该法优点在于: (1)肝脏切除过程中减少对肿瘤的挤压, 使医源性肿瘤脱落转移或血行转移机会大大降低; (2)在肝肿瘤切除前, 先切断病变肝脏的出入血流及胆管, 避免了术中血行转移的可能; (3)增加了肝癌切除率, 使累及横膈、腹后壁、右肾上腺或与这些组织紧密黏连的肝癌患者得到了肿瘤切除机会; (4)在肝切除过程中无需反复翻转肝脏, 减少肝实质的缺血, 最大程度保持残肝功能; 同时避免了大量出血造成的术后肝功能损害. 该法主要适用于: 右肝巨大肿瘤(>10 cm); 肝巨大肿瘤与膈肌、肾上腺、肾被膜等浸润; 合并有右肝静脉、门静脉右支癌栓. 对IVC受累的肝癌患者, 手术过程中应尽量减少对肿瘤的挤压, 结合肝后隧道的建立[32], 运用绕肝提拉技术将正中裂断面提起, 可以有效的保护IVC, 保证了断肝在最短的界面上进行, 减少了不必要的肝组织损伤.

2.3.2 累及IVC的肝癌肝切除时血流阻断技术的选择: 我国肝癌合并肝硬化者高达85%[33], 肝脏对缺血、缺氧敏感性增加, 因此选择恰当的肝血流阻断方式, 在减少术中出血量同时, 最大限度地减少肝脏缺血性损伤, 是肝脏外科的关键问题之一[34]. Pringle法全肝入肝血流阻断法阻断了门静脉及肝动脉的入肝血流, 其优点在于操作简便易行, 无需过多解剖肝门[35], 但需要严格控制阻断时间, 否则会导致时间依赖性肝脏缺血损伤. 正常肝脏常温下持续缺血可达90 min, 间歇性缺血可达到120 min, 在合并活动性肝炎或肝硬化的情况下, 肝脏热缺血持续时间超过15 min即可发生肝功能的严重损伤. 选择性入肝血流阻断: 避免健侧肝缺血, 减轻肠系膜的血流淤滞和静脉高压, 进而减少肠道菌群易位和肠道内毒素产生, 加快术后肝功能恢复[36]. 半肝血流完全阻断法: 该法结合选择性出、入肝血流阻断与绕肝提拉法, 阻断了残肝的交通支血液供应, 切肝时向上提起绕肝提拉带, 从容解剖肝静脉, 分离结扎肝短静脉, 避免损伤IVC, 基本达到无血肝切除. 姜洪池等[37]认为肝切除术中每一种肝血流阻断方法都有其应用价值, 阻断方法的合理选择由肿瘤大小、位置、术前肝功状况、心脑血管状态等因素综合决定, 其中最重要的是术者手术经验及权衡利弊的能力.

2.3.3 下腔静脉取栓: 依据癌栓所在部位不同分为以下几种情况: (1)在IVC鞘外直接分离肿瘤[38]: 部分肝癌累及IVC的标本,病理发现IVC没有受侵犯, 可以不必切除或切开IVC. 用手指直接将肿瘤从IVC表面推开或打开IVC外鞘, 在鞘下分离肿瘤即可; (2)IVC切开取栓[16]: 手指阻断或血管钳阻断IVC后, 切开血管, 以吸引器吸出癌栓, 并冲出残余的肿瘤组织; (3)IVC壁局部切除[39]: 当受累的IVC范围局限时用萨氏钳或心耳钳钳夹正常IVC壁后将受累IVC与肿瘤一并切除; (4)IVC血管段切除术[15,38,40], 当IVC受累范围较大时行IVC血管切除及置换.

2.3.4 肝脏原发灶切除与IVC处理的顺序: 肝脏原发灶切除和IVC取栓的顺序存在较大争议. Nonami等[41]认为: (1)先行肝原发灶切除后行全肝血流阻断取栓. 此时癌栓脱落引起肿瘤播散和肺栓塞的风险增加; (2)在全肝血流阻断下同时行肝原发灶切除和癌栓清除, 但此时肝脏血流阻断时间延长, 影响术后肝功的恢复; (3)先全肝血流阻断下取癌栓, 然后恢复肝血流行原发灶切除, 此时癌栓脱落机会少, 肝缺血时间短, 应提倡. 也有人认为肿瘤切除后肝后IVC可得到良好的暴露, 此时切开取栓操作方便, 在条件允许的情况下尽量先切除肝脏肿瘤后行IVC取栓[40].

2.3.5 术后并发症: 术后并发症根据不同文献报道发生率不同, 但主要包括胆漏、腹水、胸腔积液、切口感染、气胸、上消化道出血等[10,14,16,42], 一般经对症处理即可恢复. 术后死亡的原因近期为肝功能衰竭、肺并发症、胆汁淤积、败血症; 远期为肿瘤复发[38,40,43].

3 非手术治疗

文献报道国内外学者尝试通过化疗、放疗、肝动脉栓塞化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)和沙利度胺等非手术治疗来提高患者的生存率: Chern等[44]报道了26例接受TACE治疗的累及下腔静脉的肝癌患者, 中位生存期为4.2 mo; Sugiyama等[45]报道15例肝癌合并IVC侵犯患者接受放疗治疗, 中位生存期为10 mo, Zeng等[46]报道了136例肝癌合并肝静脉或IVC受侵的患者接受放疗, 中位生存期为9.7 mo. 郝明志等[47]报道TACE联合沙利度胺治疗中晚期肝癌能够显著延长患者疾病进展时间与生存期, 且TACE次数与预后相关. 还有包括免疫治疗, 基因治疗, 靶向治疗等生物疗法仍处于临床摸索阶段[48].

4 累及IVC肝癌的远期疗效

自1988年Iwatsuki等[49]首次报道手术治疗肝癌合并下腔静脉癌栓以来, 该种术式逐步走向成熟, 取得了良好效果: Sarmiento等[5]在2003年报道了19例肝癌合并腔静脉癌栓患者行肝脏肿瘤切除, 腔静脉癌栓取出术, 其中位生存期为38 mo, 5年生存率达到21%, 无复发生存期为11.5 mo. 2013年Hemming等[14]报道了60例患者行原发病灶切除及腔静脉癌栓取出, 中位随访期31 mo, 14名患者在22-44 mo之间死于原发灶的复发, 平均1年和5年生存率为89%和35%; Wang等[10]对56例肝癌合并腔静脉癌栓的患者进行了回顾性分析, 将患者分为手术组(25例)、TACE组(20例)及对症治疗组(11例), 结果手术组1年, 3年和5年生存率分别为68.0%, 22.5%和13.5%,中位生存期19 mo; TACE组1年和3年生存率分别为15.0%和5.0%, 中位生存期4.5 mo; 对症治疗组生存期均未超过1年, 平均生存期5 mo.

5 结论

肝切除目前仍是治疗肝脏肿瘤的首选和最有效的方法[50]. 对于侵犯下腔静脉的肝癌, 尽管手术治疗的风险大, 难度大, 但是手术治疗可明显提高生存率, 因此对条件满足的该类患者实施肿瘤切除及IVC切开取栓是安全可行的.

6 参考文献

1 Le Treut YP, Hardwigsen J, Ananian P, Saïsse J, Grégoire E, Richa H, Campan P. Resection of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the major vasculature. A European case-control series. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 855-862 [PMID: 16769542 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.12.011]

2 Truty MJ, Vauthey JN. Surgical resection of high-risk hepatocellular carcinoma: patient selection, preoperative considerations, and operative technique. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1219-1225 [PMID: 20405326 DOI: 10.1245/s10434-010-0976-5]

3 Pawlik TM, Poon RT, Abdalla EK, Ikai I, Nagorney DM, Belghiti J, Kianmanesh R, Ng IO, Curley SA, Yamaoka Y, Lauwers GY, Vauthey JN. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma with major portal or hepatic vein invasion: results of a multicenter study. *Surgery* 2005; 137: 403-410 [PMID: 15800485 DOI: 10.1016/j.surg.2004.12.012]

4 Chu MW, Aboguddah A, Kraus PA, Dewar LR. Urgent heart surgery for an atrial mass: metastatic hepatocellular carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2001; 72: 931-933 [PMID: 11565692 DOI: S0003-4975(00)02409-7]

5 Sarmiento JM, Bower TC, Cherry KJ, Farnell MB, Nagorney DM. Is combined partial hepatectomy with segmental resection of inferior vena cava justified for malignancy? *Arch Surg* 2003; 138: 624-630; discussion 630-631 [PMID: 12799333 DOI: 10.1001/archsurg.138.6.624]

6 Okada Y, Nagino M, Kamiya J, Yamamoto H, Hayakawa N, Nimura Y. Diagnosis and treatment of inferior vena caval invasion by hepatic cancer. *World J Surg* 2003; 27: 689-694 [PMID: 12732990 DOI: 10.1007/s00268-003-6908-9]

7 Ohwada S, Tanahashi Y, Kawashima Y, Satoh Y, Nakamura S, Kobayashi I, Ohya T, Ishikawa S, Ohtaki A, Iino Y. Surgery for tumor thrombi in the right atrium and inferior vena cava of patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 154-157 [PMID: 8056404]

8 白爱国, 郑传胜. 肝癌门静脉癌栓的介入治疗. 世界华人消化杂志 2007; 15: 489-492

9 Seno H, Ito K, Kojima K, Nakajima N, Chiba T. Efficacy of an implanted drug delivery system for advanced hepatocellular carcinoma using 5-fluorouracil, epirubicin and mitomycin C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 811-816 [PMID: 10482435 DOI: 10.1046/j.1440-1746.1999.01956.x]

10 Wang Y, Yuan L, Ge RL, Sun Y, Wei G. Survival benefit of surgical treatment for hepatocellular carcinoma with inferior vena cava/right atrium tumor thrombus: results of a retrospective cohort study. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 914-922 [PMID: 22956071 DOI: 10.1245/s10434-012-2646-2]

11 Lee IJ, Chung JW, Kim HC, Yin YH, So YH, Jeon UB, Jae HJ, Cho BH, Park JH. Extrahepatic collateral artery supply to the tumor thrombi of hepatocellular carcinoma invading inferior vena cava: the prevalence and determinant factors. *J Vasc Interv Radiol* 2009; 20: 22-29 [PMID: 19026566 DOI: 10.1016/j.jvir.2008.09.030]

12 Florman S, Weaver M, Primeaux P, Killackey M, Sierra R, Gomez S, Haque S, Regenstein F, Balart L. Aggressive resection of hepatocellular carcinoma with right atrial involvement. *Am Surg* 2009; 75: 1104-1108 [PMID: 19927515]

13 Chang JY, Ka WS, Chao TY, Liu TW, Chuang TR, Chen LT. Hepatocellular carcinoma with intra-atrial tumor thrombi. A report of three cases responsive to thalidomide treatment and literature review.

■创新盘点

本文综合阐述了肝癌合并腔静脉癌栓的术前诊断, 手术评估, 不同手术方式选择, 术后生存率, 对比分析了手术及非手术治疗的远期疗效, 可以指导临床医生对治疗方案的选择, 有助于拓宽临床医生的诊疗思路.

■应用要点
本文通过对比介绍不同治疗方案在肝癌合并腔静脉癌栓治疗方面的不同疗效，重点阐述了手术治疗相关的术前准备，术中不同术式抉择及术后并发症，使临床医生对合并腔静脉癌栓的肝癌的治疗有了有初步的认知.

Oncology 2004; 67: 320-326 [PMID: 15557794 DOI: 10.1159/000081333]
14 Hemming AW, Mekeel KL, Zendejas I, Kim RD, Sicklick JK, Reed AI. Resection of the liver and inferior vena cava for hepatic malignancy. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 115-124 [PMID: 23376028 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.12.003]
15 Delis SG, Madariaga J, Ciancio G. Combined liver and inferior vena cava resection for hepatic malignancy. *J Surg Oncol* 2007; 96: 258-264 [PMID: 17443739 DOI: 10.1002/jso.20794]
16 王义, 陈汉, 孙延富, 尉公田, 林川, 姜小清, 吴孟超. 肝癌合并下腔静脉癌栓11例的外科治疗体会. 中华普通外科杂志 2003; 18: 394-396
17 李汉贤, 赵晓春. 原发性肝癌合并门静脉、下腔静脉癌栓的肝叶切除术. 中国肿瘤临床 1998; 25: 511-513
18 许树林. 肝癌下腔静脉癌栓14例CT诊断体会. 医学理论与实践 1998; 11: 405-406
19 Miyazaki M, Ito H, Nakagawa K, Shimizu H, Yoshidome H, Shimizu Y, Ohtsuka M, Togawa A, Kimura F. An approach to intrapericardial inferior vena cava through the abdominal cavity, without median sternotomy, for total hepatic vascular exclusion. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 1443-1446 [PMID: 11677982]
20 Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. *Arch Surg* 2000; 135: 1353-1358 [PMID: 11074895 DOI: 10.1001/archsurg.135.11.1353]
21 Makuuchi M, Sano K. The surgical approach to HCC: our progress and results in Japan. *Liver Transpl* 2004; 10: S46-S52 [PMID: 14762839 DOI: 10.1002/lt.20044]
22 郭武华, 张吉翔. 肝癌综合治疗的现状. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2199-2203
23 刘合利, 杨连粤. 根据术前肝脏储备功能选择肝切除术式. 肝胆外科杂志 2007; 15: 87-88
24 Moody FG, Rikkers LF, Aldrete JS. Estimation of the functional reserve of human liver. *Ann Surg* 1974; 180: 592-598 [PMID: 4413286 DOI: 10.1097/00000658-197410000-00024]
25 Lam CM, Fan ST, Lo CM, Wong J. Major hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with an unsatisfactory indocyanine green clearance test. *Br J Surg* 1999; 86: 1012-1017 [PMID: 10460635 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1999.01204.x]
26 Lau H, Man K, Fan ST, Yu WC, Lo CM, Wong J. Evaluation of preoperative hepatic function in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. *Br J Surg* 1997; 84: 1255-1259 [PMID: 9313707 DOI: 10.1002/bjs.1800840917]
27 Saito S, Yamanaka J, Miura K, Nakao N, Nagao T, Sugimoto T, Hirano T, Kuroda N, Iimuro Y, Fujimoto J. A novel 3D hepatectomy simulation based on liver circulation: application to liver resection and transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1297-1304 [PMID: 15846773 DOI: 10.1002/hep.20684]
28 廖雯俊. 3D虚拟肝脏技术在精准肝脏切除中的应用价值. 中国肿瘤临床 2010; 37: 1077-1080
29 董家鸿, 杨世忠. 精准肝切除的技术特征与临床应用. 中国实用外科杂志 2010; 30: 638-640
30 Arii S, Teramoto K, Kawamura T, Takamatsu S, Sato E, Nakamura N, Iwai T, Mori A, Tanaka J, Imamura M. Significance of hepatic resection combined with inferior vena cava resection and its reconstruction with expanded polytetrafluoroethylene for treatment of liver tumors. *J Am Coll Surg* 2003; 196: 243-249 [PMID: 12595053 DOI: 10.1016/S1072-7515(02)01616-2]
31 Lai EC, Fan ST, Lo CM, Chu KM, Liu CL. Anterior approach for difficult major right hepatectomy. *World J Surg* 1996; 20: 314-317; discussion 318 [PMID: 8661837 DOI: 10.1007/s002689900050]
32 Kokudo N, Imamura H, Sano K, Zhang K, Hasegawa K, Sugawara Y, Makuuchi M. Ultrasonically assisted retrohepatic dissection for a liver hanging maneuver. *Ann Surg* 2005; 242: 651-654 [PMID: 16244537 DOI: 10.1097/01.sla.0000186129.46123.81]
33 吴孟超, 陈汉, 沈锋. 原发性肝癌的外科治疗–附5524例报告. 中华外科杂志 2001; 39: 25-28
34 Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, Takahashi M, Inoue Y, Sano K, Imamura H, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Neither multiple tumors nor portal hypertension are surgical contraindications for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2008; 134: 1908-1916 [PMID: 18549877 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.091]
35 邱应和, 易滨, 刘辰, 罗祥基, 谭蔚锋, 于勇, 姜小清, 张柏和, 吴孟超. 三种入肝血流阻断方式肝切除的临床应用比较. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 728-730
36 乔治, 李荣, 黎沾良, 姚咏明, 李基业, 陆连荣. 半肝与全肝入肝血流阻断下肝切除术后肠道细菌易位影响对比研究. 中国实用外科杂志 2008; 28: 878-879
37 姜洪池, 孙备, 张奇, 刘杰, 武林枫, 刘连新, 陆朝阳, 孟庆辉, 吴祥松, 李军. 肝癌切除术中肝血流阻断方法的临床研究. 中华外科杂志 2008; 46: 1225-1228
38 Hemming AW, Reed AI, Langham MR, Fujita S, Howard RJ. Combined resection of the liver and inferior vena cava for hepatic malignancy. *Ann Surg* 2004; 239: 712-719; discussion 712-719 [PMID: 15082976 DOI: 10.1097/01.sla.0000124387.87757.eb]
39 王义, 陈汉, 吴孟超, 姜小清, 尉公田, 孙延富. 包括腔静脉旁部的肝尾叶切除术. 中华外科杂志 2002; 40: 268-270
40 Hemming AW, Langham MR, Reed AI, van der Werf WJ, Howard RJ. Resection of the inferior vena cava for hepatic malignancy. *Am Surg* 2001; 67: 1081-1087; discussion 1081-1087 [PMID: 11730225]
41 Nonami T, Nakao A, Harada A, Kaneko T, Kurokawa T, Takagi H. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma with a tumor thrombus extending to inferior vena cava. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 798-802 [PMID: 9222693]
42 彭淑牖, 蔡秀军, 牟一平, 洪德飞, 许斌, 钱浩然, 刘颖斌, 方河清, 李江涛, 王建伟. 肝癌合并下腔静脉癌栓的外科治疗. 中华外科杂志 2006; 44: 878-881
43 Lodge JP, Ammori BJ, Prasad KR, Bellamy MC. Ex vivo and in situ resection of inferior vena cava with hepatectomy for colorectal metastases. *Ann Surg* 2000; 231: 471-479 [PMID: 10749606 DOI: 10.1097/00000658-200004000-00004]
44 Chern MC, Chuang VP, Cheng T, Lin ZH, Lin YM. Transcatheter arterial chemoembolization for advanced hepatocellular carcinoma with inferior vena cava and right atrial tumors. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008; 31: 735-744 [PMID: 18427894 DOI: 10.1007/s00270-008-9342-4]
45 Sugiyama S, Beppu T, Ishiko T, Takahashi M, Masuda T, Hirata T, Imai K, Hayashi H, Takamori H, Kanemitsu K, Hirota M, Murakami R, Baba Y, Oya N, Yamashita Y, Baba H. Efficacy of radiotherapy for PV and IVC tumor thrombosis in unresectable HCC. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1779-1782 [PMID: 18019717]
46 Zeng ZC, Fan J, Tang ZY, Zhou J, Wang JH, Wang BL, Guo W. Prognostic factors for patients with

hepatocellular carcinoma with macroscopic portal vein or inferior vena cava tumor thrombi receiving external-beam radiation therapy. *Cancer Sci* 2008; 99: 2510-2517 [PMID: 19032365 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00981.x]
47 郝明志, 林海澜, 陈强, 吴晖, 余文昌, 陈唐庚. 沙利度胺联合肝动脉栓塞化疗治疗原发性肝癌随机对照研究. 癌症 2007; 26: 861-865
48 刘蒙, 董卫国. 原发性肝癌非手术治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1224-1228
49 Iwatsuki S, Todo S, Starzl TE. Right trisegmentectomy with a synthetic vena cava graft. *Arch Surg* 1988; 123: 1021-1022 [PMID: 2969230 DOI: 10.1001/archsurg.1988.01400320107023]
50 沈世强, 陈祖兵. 原发性肝癌的治疗决策. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3477-3479

■同行评价
本文内容客观全面, 逻辑性较强, 较好地反映了国内外该领域的研究进展, 具有较重要的临床指导意义和科学价值.

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》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索量、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).

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2300-2307
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

炎症性肠病的脑肠互动及针灸干预

包春辉, 窦传字, 徐 斌, 刘慧荣, 吴焕淦

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因不明的慢性非特异性肠道炎症性疾病. 近年来, IBD在我国发病率显著上升, 已成为消化系统常见病. 但该病的病因和发病机制尚不十分清楚.

包春辉, 窦传字, 上海中医药大学 上海市 201203
徐斌, 南京中医药大学针药结合省部共建重点实验室 江苏省南京市 210029
刘慧荣, 吴焕淦, 上海市针灸经络研究所 上海市 200030
包春辉, 博士生, 主要从事针灸治疗胃肠疾病的临床与基础的研究.
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2009CB522900
国家自然科学基金项目资助 No. 81173331
上海市卫生局项目基金资助项目, No. 20124028
作者贡献分布: 本文综述由包春辉完成; 窦传字参与修改; 徐斌与刘慧荣提出了修改意见; 吴焕淦负责审校.
通讯作者: 吴焕淦, 教授, 200030, 上海市宛平南路650号, 上海市针灸经络研究所. wuhuangan@126.com
电话: 021-64644238
收稿日期: 2013-04-26 修回日期: 2013-06-24
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Brain-gut interactions and inflammatory bowel disease: Implications for acupuncture and moxibustion treatment

Chun-Hui Bao, Chuan-Zi Dou, Bin Xu, Hui-Rong Liu, Huan-Gan Wu

Chun-Hui Bao, Chuan-Zi Dou, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China
Bin Xu, Key Laboratory of Integrated Acupuncture and Drugs Constructed by Chinese Ministry of Education and Jiangsu Province, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Hui-Rong Liu, Huan-Gan Wu, Shanghai Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China
Supported by: the National Key Basic Research Program of China (973 Program), No. 2009CB522900; the National Natural Sciences Foundation of China, No.81173331; and the Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 20124028
Correspondence to: Huan-Gan Wu, Professor, Shanghai Institute of Acupuncture and Meridian, 650 Wanping South Road, Shanghai 200030, China. wuhuangan@126.com
Received: 2013-04-26 Revised: 2013-06-24
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract
Inflammatory bowel disease is a chronic recurrent intestinal inflammatory disorder. The role of dysfunction of brain-gut interactions in the pathogenesis of IBD has recently been intensively investigated. Numerous studies have shown that the central nervous system, the hypothalamus - pituitary - adrenal axis (HPA axis), the hypothalamus - the autonomic nervous system axis (HANS axis), and intestinal response functions develop varying degrees of dysfunction in IBD patients and are closely related to disease activity. It has been proven that acupuncture and moxibustion therapy is an effective means for the treatment of IBD, and the holistic regulation of the function of brain-gut interactions may be the key effect mechanism of acupuncture and moxibustion treatment in IBD. In this paper, we aim to explain the mechanism of brain-gut interactions in IBD as well as traditional Chinese medicine theory on brain-gut interactions, and on this basis, we explore the possible mechanism of acupuncture and moxibution treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Brain-gut interactions; Moxibustion

Bao CH, Dou CZ, Xu B, Liu HR, Wu HG. Brain-gut interactions and inflammatory bowel disease: Implications for acupuncture and moxibustion treatment. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2300-2307
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2300.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2300

摘要
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚不十分清楚的慢性、复发性肠道炎症性疾病. 近年来脑肠互动在IBD发病中的作用越来越受到重视. 大量研究表明, IBD患者中枢神经系统、下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)、下丘脑-自主神经系统轴(HANS轴)与肠道应答功能均存在不同程度的失调, 并且与疾病活动度密切相关. 业已证实, 针灸是治疗IBD的有效手段, 通过对脑肠互动功能的整体调节可能是针灸治疗IBD的关键效应机制. 因此, 本文旨在阐释IBD脑肠互动机制以及中医理论对脑肠互动的认识, 并在此基础上对针灸的干预机制作初步探讨.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 炎症性肠病; 脑肠互动; 针灸

■同行评议者
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科; 白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

核心提示: 脑肠互动功能失调是炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发病的重要机制, 对脑肠互动功能的整体调节可能是针灸治疗IBD的关键效应机制.

包春辉, 窦传宇, 徐斌, 刘慧荣, 吴焕淦. 炎症性肠病的脑肠互动及针灸干预. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2300-2307
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2300.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2300

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两种疾病, 是一组病因不明的慢性非特异性肠道IBD. 过去IBD以欧美国家多见, 我国发病率较低, 但近年来, IBD在我国发病率显著上升, 已成为消化系统的常见病[1,2]. 目前IBD的病因和发病机制尚不明确, 越来越多的研究表明脑肠互动功能失调在IBD的发生和发展中占有重要地位[3-5]. 而已有证据证明针灸是治疗IBD的有效手段[6-9], 对脑肠互动功能的整体调节可能是针灸治疗IBD的关键效应机制. 因此, 本文拟从脑肠互动的角度着手, 阐释IBD的发病机制并初步探讨针灸干预机制.

1 脑肠互动与IBD

神经系统与胃肠道的交互调控主要通过3个层次来实现: (1)中枢神经系统(central nervous system, CNS): 接受内外环境变化时传入的各种信息, 经过整合, 由迷走神经、交感神经、盆腔神经和神经-内分泌系统将其调控信息传送到肠神经系统和胃肠效应组织. 同时, 胃肠感觉信号亦可通过外在初级传入神经元经由脊髓和迷走神经通路传入CNS; (2)自主神经系统: 包括交感神经和副交感神经, 接收CNS和胃肠信号的双重输入, 但也可直接对胃肠道进行调节; (3)肠神经系统(enteric nervous system, ENS): 是自主神经系统的第3个分支, 对CNS具有相对独立性, 接受内在初级传入神经元传入的胃肠感觉信号, 直接调节胃肠道功能. 相反, ENS也可通过投射神经元向外传递胃肠感觉到中枢神经系统和交感神经节[10]. 这种在不同层次将胃肠道与CNS联系起来的神经-内分泌网络称为脑-肠轴(brain-gut axis). 机体通过脑-肠轴之间的神经内分泌网络的双向环路进行胃肠功能的调节称为脑肠互动[11].

过去, 脑肠互动多用来阐释功能性胃肠病CNS与自主神经系统/ENS的内在联系. 近来大量研究表明IBD的发生和发展与脑肠互动功能的失调亦密切相关[3-5]. IBD脑肠互动主要指CNS通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)和下丘脑-自主神经系统轴(HANS轴)与肠道应答(肠道免疫、肠道屏障、肠道菌群和ENS等)之间的双向环路对胃肠功能进行整体调节[3].

■研发前沿
越来越多的研究表明脑肠互动功能失调在IBD的发生和发展中占有重要地位. 因此, 深入阐明IBD脑肠互动机制, 探索行之有效的治疗方法是亟需研究的课题.

1.1 CNS与IBD

情绪、心理、社会等因素引起机体出现应激反应, 通过CNS使中枢和内脏的敏感性失常, 从而引起胃肠道相应的功能失调. 大量研究显示, 精神心理因素直接影响IBD患者肠道炎症活动度和健康相关生活质量[12-14]. 近年来, 脑影像学技术的出现为揭示IBD中枢发病机制提供了直观的研究手段. 采用功能性磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)、正电子发射计算机断层扫描(positron emission tomography, PET)、脑电图、脑磁图等脑功能成像技术观察患者脑结构和功能的改变, 其中fMRI以无创性、空间分辨率高等优点被广泛应用于脑-肠轴的研究. 国外学者[15]观察了CD患者与正常被试大脑灰质密度的差异, 结果表明CD患者部分额叶皮质和中扣带回前部灰质密度下降, 病程与大脑新皮层和边缘系统中的脑区成负相关. CD患者脑结构的改变与内脏伤害感受传入、情绪和认知加工有关. 同时, 该学者[16]还观察了CD患者面对心理应激唤起任务时相较于正常人大脑功能活动的差异, 结果显示CD患者杏仁核、海马、脑岛、壳核、小脑等脑区血氧水平显著异常, 提示CD患者应激时自身调节能力下降, 这可能是产生和加重肠道炎症的一个重要因素. 此外, 该团队[17]还开展了UC患者情绪视觉刺激任务的fMRI研究, 结果表明UC患者相较于正常人对积极事件敏感度降低, 杏仁核、海马、丘脑、豆状核、小脑等脑区和核团血氧信号显著降低, 提示UC患者伴有情感功能障碍, CNS的改变可能与肠道炎症表现存在交互影响. 另一项研究[18]采用PET观察了UC、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者和正常人直肠球囊扩张刺激下脑血流量的差异, 结果显示IBS患者在边缘/旁边缘环路有更为广泛的激活, 而在UC和正常人中这些区域的激活则被右侧额叶皮层抑制, 提示慢性肠道炎症与直肠扩张刺激下内脏伤害性信息上传的增多没有必然联系.

■相关报道
IBD患者中枢神经系统、HPA轴、HANS轴与肠道应答功能均存在不同程度的失调, 而针灸调节脑肠互动功能对胃肠疾病具有良好的治疗效果.

总之, IBD患者CNS相较于正常人存在结构和功能的改变, CNS功能失调与肠道异常信号之间通过脑-肠轴的相互作用在IBD的发病中至关重要.

1.2 HPA轴和HANS轴与IBD HPA轴和HANS轴作为连接CNS与胃肠道之间的桥梁, 在机体应激时维持内环境稳态发挥重要作用. 在IBD过程中, 炎症部位细胞因子的释放可以刺激并影响下丘脑、垂体和肾上腺的细胞因子水平[19]. HPA轴中大量的类固醇激素和交感神经递质可作为抗炎介质调节免疫/炎症反应. 皮质醇是肾上腺分泌的糖皮质激素的主要组成部分, 是维持机体正常代谢所必须的, 是HPA轴中类固醇激素的代表, HPA轴活化时, 通过释放皮质醇控制炎症的程度和持续时间. 同时, 皮质醇还能透过血脑屏障, 到达CNS的广泛部位, 尤其是神经内分泌网络的关键调节位点, 如杏仁核、海马和下丘脑[4]. HPA轴通过调节皮质醇的分泌沟通神经内分泌和免疫网络. 临床体内皮质醇水平的改变与多种疾病的发生密切相关, 实验研究也显示, 肾上腺切除大鼠出现异常免疫应答, 易于导致自身免疫性疾病的发生[20]. 业已证实, IBD患者面对外界应激时, HPA轴应答反应减退, 皮质醇分泌不足[21].

促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)是由CNS、免疫系统和多种外周组织包括肠嗜铬细胞分泌的一种神经肽, 是HPA和HANS轴重要的调节剂, 同时介导机体应激和炎症反应[22]. CRH可通过多种不同的途径促进和维持肠道炎性反应, 如在肠道中作为一种促炎症因子, 诱导巨噬细胞和淋巴细胞产生和释放白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-2和IL-6等多种致炎因子, 加重肠道炎症[23]; 刺激肥大细胞脱颗粒, 引起多种介质的释放, 导致肠黏膜屏障的通透性增加, 使多种生物大分子和抗原进入肠腔, 引起免疫级联反应[24]; 通过烟碱和肾上腺素能受体介导肠道水和电解质转运障碍, 导致肠功能紊乱[25].

多项研究表明, HANS轴中自主神经功能紊乱与IBD患者的病情密切相关[26-30]. 自主神经系统可通过分泌神经递质, 调节肠道炎症反应, 而肠道炎症信号也能通过脑肠轴上传, 反馈调节自主神经功能. IBD患者自主神经系统功能平衡破坏, 交感神经活性明显增高而副交感神经活性相对低下[31]. 近年来, 心率变异性(heart rate variability, HRV)作为衡量自主神经功能状态的指标被广泛应用于IBD中. HRV是通过刺激受试者自主神经系统来检测其心率变化, 从而来反应受试者自主神经功能状态的一种无创性技术, 其中标准化低频功率(LF/TP-VLF)反应交感神经功能情况的指标, 而标准化高频功率(HF/TP-VLF)反应迷走神经功能情况的指标[31]. 研究显示, 与正常人相比, UC患者HF/TP-VLF显著降低[32], LF/TP-VLF显著增高[33], 提示交感神经活动增强, 迷走神经功能活动减弱, 但与疾病活动度不相关, 而CD患者自主神经活性与正常人比较无明显差异[34]. 此外, 也有报道指出, HRV参数的改变与IBD患者积极的或消极的情绪有关. 研究显示, 与正常人比较, 伴有积极情绪的CD患者LF/TP-VLF显著增高且HF/TP-VLF显著降低而伴有消极情绪的UC患者HF/TP-VLF显著降低. 提示CD患者的积极情绪引起其交感神经活动增强; UC患者的消极情绪引起其副交感神经活动减弱, 而保持积极情绪的UC患者自主神经功能活动维持平衡[35].

在IBD初期, HPA轴和HANS轴能以平行的方式通过神经和体液调节减轻炎症. 随着炎症的发展, 外周血皮质醇水平降低而神经肽Y(交感神经活性指标)含量升高, 皮质醇和神经肽Y含量呈负相关, 提示HPA轴活性被抑制, 自主神经系统处于兴奋状态, 两轴失去协同作用, 出现HPA轴和HANS轴解耦联现象[36]. 因此, 重建HPA轴和HANS轴的协调作用, 并通过两轴的双向环路调节CNS和胃肠道的功能, 在IBD的治疗中尤为重要.

1.3 肠道应答与IBD 大量研究表明, IBD是肠道异常应答(肠道免疫调节异常、肠黏膜屏障损伤、肠内菌群失衡、ENS功能失调等)、遗传、精神和环境等多种因素共同作用的结果, 其中免疫功能紊乱是IBD发病的中心环节[37].

既往一直认为, Th1/Th2细胞之间相互作用失衡引起IBD机体自身免疫紊乱, 肠黏膜发生炎症反应是IBD发病的核心机制. CD主要表现为Th1细胞介导的细胞免疫应答, 以表达IL-12、干扰素-γ(interferon, IFN-γ)为主; UC主要表现为Th2细胞介导的体液免疫应答, 以表达IL-4、IL-5、IL-10为主, 多项研究从不同水平证实了这一观点[38-39]. 但近年来, Th17细胞和IL-23/IL17轴的发现拓宽了对IBD免疫机制的认识, 解释了传统Th1/Th2轴中异常现象发生的原因. 研究证实, 在转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)和IL-6同时大量存在的情况下,

原始T细胞分化成Th17细胞后, IL-23可诱导其增殖, 从而使Th17细胞的主要效应因子IL-17大量产生, 发挥免疫调节作用. 当炎症存在时, IL-6或TGF-β和IL-6同时存在可上调Th17细胞表达IL-23R, 进而促进IL-23维持并加强Th17细胞的表达[40]. 据报道, 在IBD患者肠道黏膜组织炎症部位中IL-17和IL-23p19(IL-23的特异性亚基)mRNA的表达均显著增高, 且活动期的CD患者IL-17细胞数是正常人的20倍, 是缓解期CD患者的4倍, 另外, 通过外源性IL-23刺激, 可以促进IL-17的表达[41,42]. 以上均证实, IL-23/IL17轴直接参与IBD的肠道炎症反应. 进一步研究发现, CD患者肠黏膜组织活检标本培养上清液及体外培养的固有层淋巴细胞均高表达IFN-γ和IL-17, 且共表达IFN-γ及IL-17的Th1/Th17细胞在CD患者中升高, 提示Th1和Th17细胞共同参与了CD的发病, 且两者之间可能存在协同作用[43]. 此外, 原始T细胞除了分化为Th1、Th2和Th17细胞外, 还可分化为一类调节性T细胞(Treg细胞), 其主要作用是抑制自身反应性T细胞以维持自身免疫平衡. 其中$CD4^+CD25^+$ Treg细胞是一种功能成熟的T细胞亚群, 其数量的减少、表面分子表达的缺陷、抑制功能的受损等均可能与IBD的发生有关. 有研究表明, Th17/Treg细胞之间的分化失衡是导致肠道免疫稳态破坏的重要因素, 可能是IBD发生的原因之一[44].

IBD患者肠道免疫紊乱, 大量的炎性因子和介质被释放, 刺激肠黏膜神经末梢, 引起ENS结构和功能表现异常, 同时, ENS也能通过神经递质和神经肽的分泌调节肠黏膜免疫反应, 两者相互影响. 研究证实, IBD患者肠黏膜中肠神经元的数目明显减少, 其中CD患者较UC患者减少的更为明显. 在TNBS实验性结肠炎模型中也证实了这一点, 在炎症期间每个神经丛中神经元的数目都减少并一直持续到炎症消退, 但神经节的数目基本没有改变. 由于严重的炎症损害出现在黏膜下层, 导致黏膜下神经元减少更为明显, 从而引起肠道收缩和黏膜转运功能发生改变, 并影响神经递质的释放. ENS中神经元数目减少是肠道炎性损伤的结果[45]. 反之, ENS分泌的神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)、降钙素基因相关蛋白(calcitonin gene related peptide, CGRP)、胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、生长抑素(somatostatin, SS)等胃肠激素通过旁分泌和神经分泌调节IBD炎症的发展, 主要途径有: 影响血液供应、血管壁通透性和炎症细胞、免疫活性细胞的功能和细胞因子的分泌等, 部分神经递质对肠道发挥保护性作用, 而有的则使肠道炎症加剧[21,46,47].

此外, 肠道菌群失衡和肠黏膜屏障损伤也是IBD发病的重要因素. 肠黏膜免疫功能紊乱, 肠道常驻菌群驱动异常免疫应答, 肠黏膜屏障损伤, 大量的抗原等生物大分子进入肠壁, 引起肠道持续性炎症反应. 因此, IBD肠道异常应答中, 肠道免疫紊乱贯穿整个IBD进程的自始至终, 而肠道菌群失衡、肠黏膜屏障破坏以及ENS分泌的神经递质失调均与肠道免疫功能交互影响, 共同参与IBD肠道应答的调控.

■**创新盘点**
IBD脑肠互动主要指中枢神经系统通过HPA轴和HANS轴与肠道应答之间的双向环路对胃肠功能进行调节. 对脑肠功能的整体调节是针灸治疗IBD的关键.

2 从脑肠互动的整体调节探讨针灸干预IBD机制

2.1 脑肠互动的中医理论认识及治疗 传统中医理论认为, “大肠小肠皆属于胃”, 故脑肠互动应视为脑神与脾胃之间的交互联系, 两者在生理上相互促进, 病理上相互影响. 人的精神、意识、思维等脑神的改变可影响脾胃功能, 而脾胃为后天之本且脾主升胃主降, 只有气机通畅, 气血津液生化有源, 神乃正常. 正如《灵枢·天年》中载: “胃满则肠虚, 肠满则胃虚, 更虚更满, 故气得上下, 五脏安定, 血脉和利, 精神乃居”, 《素问·六节藏象论》亦云: “五味入口, 藏于肠胃, 味有所藏, 以养五气, 气和而生, 津液相成, 神乃自生”. 同时, 脑神与脾胃之间的沟通与联系有赖于肝主疏泄功能的调节, 一方面, 通过协调脾胃气机升降, 使清阳之气得升以助脾的运化, 浊阴之气得降以助胃的受纳腐熟. 另一方面, 肝胆调达一身之气, 脑神的活动有赖于气机升降出入的正常. 《读医随笔》曰: “人之意, 神识能用者, 皆曰升降出入之通利也, 有所闭塞, 则不能用也”. 刘完素《素何玄机原病式》中道: “人之眼耳鼻舌身意, 神识能为用者, 皆由升降出入之通利也”. 由此可见, 肝主疏泄功能在脑神与脾胃的相互维系中发挥重要作用. 此外, 脑神与脾胃的联系不仅仅是通过脏腑在功能上相互为用, 经络更是两者沟通的重要途径. 其中, 阳明胃经和太阴脾经与两者关系最为密切. 《重订通俗伤寒论·白虎承气汤何秀山按》云: “胃之支脉, 上络心脑, 一有邪火奎闭, 即堵其神明出入之窍, 故昏不识人”; 《灵枢·动

■应用要点
本文为针灸治疗IBD的可行性提供了实验依据以及理论基础.

输》亦云: “胃气上注于肺, 其悍气上冲头者, 循咽, 上走空窍, 循眼系, 入络脑”; 《东垣试效方》更明确指出: “足阳明之别络于脑”. 在《灵枢·经脉》中有: 足太阴“其支者, 复从胃别膈注心中”. 太阴脾经从足走胸, 阳明胃经从头走足, 与中焦脾升胃降相一致. 脾气上升, 脾经亦上行, 故经气上升太过与不及均可致心神紊乱; 胃气下降, 胃经亦下行, 导心气下达, 使浊气外出, 从而维持心神的安宁。

因此, 基于中医理论对脑肠互动的认识, 从整体上对脑肠互动进行调节是治疗的关键, 针灸疗法具有整体调节作用的特征, 临床治疗讲究调理脾胃和调畅情志并重, 在选用健脾和胃的穴位同时, 配用养心安神、疏肝理气的穴位以加强针灸的临床疗效。

2.2 从现代医学角度探讨针灸调节IBD脑肠互动机制 现代研究已证实, 针灸治疗IBD疗效肯定[6-9]. 针灸通过对脑肠互动的整体调节来达到改善IBD肠道炎症的目的, 主要表现在对CNS、HPA轴和HANS轴、肠道应答3方面的调节, 但目前研究多集中在对肠道应答的调节.

2.2.1 针灸对IBD肠道应答的调节: 大量研究显示, 针灸对IBD肠道炎症因子、肠黏膜屏障、肠道菌群、肠神经递质等均有显著调节作用. 如针灸可明显下调CD患者肠黏膜异常增高的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)及其受体TNFR1和TNFR2的含量, 抑制结肠上皮细胞凋亡[8]; 减少UC患者结肠黏膜慢性炎细胞浸润, 增加杯状细胞数量, 恢复粘蛋白比例, 减少隐窝脓肿和溃疡, 改善结肠黏膜形态[48]; 下调结肠黏膜IL-8、细胞间粘附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)及其mRNA的表达[9]; 抑制结肠上皮细胞人类白细胞抗原DR等位基因(human leukocyte antigen-DR, HLA-DR)的表达[49]. 实验研究也发现针灸可显著下调CD大鼠结肠组织异常增高的TNF-α及受体TNFR1、IL-8、ICAM-1、E-选择素的含量[50-52]; 降低P物质、神经激肽1受体的异常表达[53]; 抑制结肠上皮细胞凋亡, 增加结肠上皮细胞间紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1表达[54]; 下调UC大鼠促炎性细胞因子IL-1β、IL-6、TNF-α及其mRNA的含量, 促进中性粒细胞凋亡[55]; 抑制结肠上皮细胞过度凋亡[56]; 调节肠道菌群失衡[57], 从而减轻肠道炎症反应, 改善组织损伤, 修复肠黏膜屏障, 发挥治疗作用.

2.2.2 针灸对CNS、HPA轴和HANS轴的调节: 近年来, 采用脑功能成像技术, 已经证实针灸对胃肠疾病CNS具有明显的调节作用, 研究显示针灸对与内脏调节密切相关的边缘系统功能活动的调节可能是针灸效应的重要机制[58-60]. 此外, 针灸还可调节自主神经功能, 恢复交感/副交感神经的平衡, 从而调整胃肠道功能[61,62]. 实验研究也显示, 针灸能显著降低UC大鼠下丘脑、垂体和血浆β-内啡肽的水平[63]; 同时抑制下丘脑和结肠辣椒素受体1(vanilloid receptor subtype 1, VR1)的表达[64]; 以及增加脊髓和结肠热休克蛋白70及其mRNA的表达[65], 这些均证实针灸对中枢和外周均有调节作用, 正是通过针灸的这种整体调节作用来发挥对IBD脑肠互动的调节.

3 结论

IBD中脑肠互动是CNS和肠道应答之间通过HPA轴和HANS轴进行双向调节, 肠道应答的异常势必影响CNS功能活动, 而CNS功能活动的失调亦会反作用于肠道, 从而导致肠道炎症反应的加剧. 从脑肠互动角度探讨IBD发病机制为今后临床治疗和科学研究提供新的思路. 针灸具有整体调节的作用特征, 通过对IBD脑肠互动的整体调节, 真正从身心上治疗该病. 今后的研究应注重从不同水平研究IBD脑肠互动机制及针灸干预机理, 一方面, 从多层次深入研究IBD脑肠互动中CNS、HPA轴和HANS轴、肠道应答3方面的交互调控机制, 阐明CNS异常的功能活动是IBD的病因亦或是该病的继发性表现; 另一方面, 从不同角度研究针灸对IBD脑肠互动的整体调节作用, 如采用脑功能成像、代谢组学等先进的技术和手段, 从大脑中枢异常脑区、HANS轴(心率变异性)及HPA轴功能失衡(血清/唾液皮质醇含量)等与IBD的相关性着手, 深入探讨针灸治疗IBD的效应机制和作用原理, 这也将成为未来针灸研究的方向.

4 参考文献

1 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年•广州). 中华内科杂志 2012; 51: 818-831
2 Zheng JJ, Zhu XS, Huangfu Z, Shi XH, Guo ZR. Prevalence and incidence rates of Crohn's disease in mainland China: a meta-analysis of 55 years of research. *J Dig Dis* 2010; 11: 161-166 [PMID: 20579219 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00431.x]
3 Bonaz BL, Bernstein CN. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2013; 144: 36-49 [PMID: 23063970 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.003]
4 Stasi C, Orlandelli E. Role of the brain-gut axis in the

pathophysiology of Crohn's disease. *Dig Dis* 2008; 26: 156-166 [PMID: 18431066 DOI: 10.1159/000116774]
5 Hollander D. Inflammatory bowel diseases and brain-gut axis. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54 Suppl 4: 183-190 [PMID: 15075459]
6 Joos S, Brinkhaus B, Maluche C, Maupai N, Kohnen R, Kraehmer N, Hahn EG, Schuppan D. Acupuncture and moxibustion in the treatment of active Crohn's disease: a randomized controlled study. *Digestion* 2004; 69: 131-139 [PMID: 15114043 DOI: 10.1159/000078151]
7 Joos S, Wildau N, Kohnen R, Szecsenyi J, Schuppan D, Willich SN, Hahn EG, Brinkhaus B. Acupuncture and moxibustion in the treatment of ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 1056-1063 [PMID: 16938719 DOI: 10.1080/00365520600580688]
8 施茵, 包春辉, 吴焕淦, 陈巍峰, 秦秀娣, 张榕, 吴璐一. 隔药灸结合针刺对克罗恩病患者肠粘膜TNF-α、TNFR1、TNFR2表达及肠上皮细胞凋亡的影响. 上海中医药杂志 2011; 45: 46-50
9 Zhou EH, Liu HR, Wu HG, Shi Z, Zhang W, Zhu Y, Shi DR, Zhou S. Down-regulation of protein and mRNA expression of IL-8 and ICAM-1 in colon tissue of ulcerative colitis patients by partition-herb moxibustion. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2198-2206 [PMID: 19083096 DOI: 10.1007/s10620-008-0620-4]
10 Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 286-294 [PMID: 22392290 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.32]
11 Mertz HR. Overview of functional gastrointestinal disorders: dysfunction of the brain-gut axis. *Gastroenterol Clin North Am* 2003; 32: 463-476, v [PMID: 12858602]
12 Ananthakrishnan AN, Khalili H, Pan A, Higuchi LM, de Silva P, Richter JM, Fuchs CS, Chan AT. Association between depressive symptoms and incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis: results from the Nurses' Health Study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 57-62 [PMID: 22944733 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.08.032]
13 Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: new insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut* 2005; 54: 1481-1491 [PMID: 16162953 DOI: 10.1136/gut.2005.064261]
14 Cámara RJ, Schoepfer AM, Pittet V, Begré S, von Känel R. Mood and nonmood components of perceived stress and exacerbation of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2358-2365 [PMID: 21287671 DOI: 10.1002/ibd.21623]
15 Agostini A, Benuzzi F, Filippini N, Bertani A, Scarcelli A, Farinelli V, Marchetta C, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Campieri M, Nichelli P. New insights into the brain involvement in patients with Crohn's disease: a voxel-based morphometry study. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 147-e82 [PMID: 22998431 DOI: 10.1111/nmo.12017]
16 Agostini A, Filippini N, Benuzzi F, Bertani A, Scarcelli A, Leoni C, Farinelli V, Riso D, Tambasco R, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Nichelli P, Campieri M. Functional magnetic resonance imaging study reveals differences in the habituation to psychological stress in patients with Crohn's disease versus healthy controls. *J Behav Med* 2012 Jul 3. *[Epub ahead of print]* [PMID: 22752251 DOI: 10.1007/s10865-012-9441-1]
17 Agostini A, Filippini N, Cevolani D, Agati R, Leoni C, Tambasco R, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Leonardi M, Campieri M. Brain functional changes in patients with ulcerative colitis: a functional magnetic resonance imaging study on emotional processing. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1769-1777 [PMID: 21744432 DOI: 10.1002/ibd.21549]
18 Mayer EA, Berman S, Suyenobu B, Labus J, Mandelkern MA, Naliboff BD, Chang L. Differences in brain responses to visceral pain between patients with irritable bowel syndrome and ulcerative colitis. *Pain* 2005; 115: 398-409 [PMID: 15911167 DOI: 10.1016/j.pain.2005.03.023]
19 袁川评, 王玮, 柳巨雄. 神经-内分泌-免疫网络与炎症性肠病. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2024-2028
20 del Rey A, Klusman I, Besedovsky HO. Cytokines mediate protective stimulation of glucocorticoid output during autoimmunity: involvement of IL-1. *Am J Physiol* 1998; 275: R1146-R1151 [PMID: 9756545]
21 Mackner LM, Clough-Paabo E, Pajer K, Lourie A, Crandall WV. Psychoneuroimmunologic factors in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 849-857 [PMID: 20722061 DOI: 10.1002/ibd.21430]
22 Mulak A, Bonaz B. Irritable bowel syndrome: a model of the brain-gut interactions. *Med Sci Monit* 2004; 10: RA55-RA62 [PMID: 15260348]
23 Kawahito Y, Sano H, Mukai S, Asai K, Kimura S, Yamamura Y, Kato H, Chrousos GP, Wilder RL, Kondo M. Corticotropin releasing hormone in colonic mucosa in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1995; 37: 544-551 [PMID: 7489943]
24 Söderholm JD, Perdue MH. Stress and gastrointestinal tract. II. Stress and intestinal barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G7-G13 [PMID: 11123192]
25 Santos J, Saunders PR, Hanssen NP, Yang PC, Yates D, Groot JA, Perdue MH. Corticotropin-releasing hormone mimics stress-induced colonic epithelial pathophysiology in the rat. *Am J Physiol* 1999; 277: G391-G399 [PMID: 10444454]
26 Mouzas IA, Pallis AG, Kochiadakis GE, Marketou M, Chlouverakis GI, Mellisas J, Vardas PE, Kouroumalis EA. Autonomic imbalance during the day in patients with inflammatory bowel disease in remission. Evidence from spectral analysis of heart rate variability over 24 hours. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 775-780 [PMID: 12546512 DOI: 10.1016/S1590-8658(02)80070-6]
27 Lindgren S, Stewenius J, Sjölund K, Lilja B, Sundkvist G. Autonomic vagal nerve dysfunction in patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 638-642 [PMID: 8362220 DOI: 10.3109/00365529309096103]
28 Straub RH, Antoniou E, Zeuner M, Gross V, Schölmerich J, Andus T. Association of autonomic nervous hyperreflexia and systemic inflammation in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Neuroimmunol* 1997; 80: 149-157 [PMID: 9413271 DOI: 10.1016/S0165-5728(97)00150-1]
29 Lindgren S, Lilja B, Rosén I, Sundkvist G. Disturbed autonomic nerve function in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26: 361-366 [PMID: 2034989 DOI: 10.3109/00365529108996495]
30 Maule S, Pierangeli G, Cevoli S, Grimaldi D, Gionchetti P, Barbara G, Rizzello F, Stanghellini V,

■同行评价
本文对于了解IBD的脑肠互动功能失调, 以及针灸治疗的可行性具有重要意义.

Corinaldesi R, Campieri M, Cortelli P. Sympathetic hyperactivity in patients with ulcerative colitis. *Clin Auton Res* 2007; 17: 217-220 [PMID: 17574503 DOI: 10.1007/s10286-007-0425-0]
31 王霁, 白爱平. 植物神经功能紊乱与炎症性肠病. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3010-3014
32 Sharma P, Makharia GK, Ahuja V, Dwivedi SN, Deepak KK. Autonomic dysfunctions in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 853-861 [PMID: 18712478 DOI: 10.1007/s10620-008-0424-6]
33 Coruzzi P, Castiglioni P, Parati G, Brambilla V, Brambilla L, Gualerzi M, Cademartiri F, Franzè A, De Angelis G, Di Rienzo M, Di Mario F. Autonomic cardiovascular regulation in quiescent ulcerative colitis and Crohn's disease. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 964-970 [PMID: 18036030 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2007.01887.x]
34 Ganguli SC, Kamath MV, Redmond K, Chen Y, Irvine EJ, Collins SM, Tougas G. A comparison of autonomic function in patients with inflammatory bowel disease and in healthy controls. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 961-967 [PMID: 17931336 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00987.x]
35 Pellissier S, Dantzer C, Canini F, Mathieu N, Bonaz B. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2010; 35: 653-662 [PMID: 19910123 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.10.004]
36 Straub RH, Herfarth H, Falk W, Andus T, Schölmerich J. Uncoupling of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in inflammatory bowel disease? *J Neuroimmunol* 2002; 126: 116-125 [PMID: 12020963 DOI: 10.1016/S0165-5728(02)00047-4]
37 刘丽娜, 梁丽娜. 炎症性肠病与肠黏膜免疫调节细胞. 世界华人消化杂 2008; 16: 3181-3186
38 Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, Mankertz J, Gitter AH, Bürgel N, Fromm M, Zeitz M, Fuss I, Strober W, Schulzke JD. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005; 129: 550-564 [PMID: 16083712 DOI: 10.1016/j.gastro.2005.05.002]
39 Matsuoka K, Inoue N, Sato T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kishi Y, Sakuraba A, Hitotsumatsu O, Ogata H, Koganei K, Fukushima T, Kanai T, Watanabe M, Ishii H, Hibi T. T-bet upregulation and subsequent interleukin 12 stimulation are essential for induction of Th1 mediated immunopathology in Crohn's disease. *Gut* 2004; 53: 1303-1308 [PMID: 15306590 DOI: 10.1136/gut.2003.024190]
40 杨丽, 刘占举. Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的免疫病理作用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 389-394
41 Abraham C, Cho J. Interleukin-23/Th17 pathways and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1090-1100 [PMID: 19253307 DOI: 10.1002/ibd.20894]
42 Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kamada N, Chinen H, Saito R, Kitazume MT, Nakazawa A, Sugita A, Koganei K, Isobe K, Hibi T. IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 2008; 57: 1682-1689 [PMID: 18653729 DOI: 10.1136/gut.2007.135053]
43 Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, Sarra M, Knowles CH, Rampton DS, Corazza GR, Monteleone G, Di Sabatino A, Macdonald TT. Differential regulation of interleukin 17 and interferon gamma production in inflammatory bowel disease. *Gut* 2009; 58: 1629-1636 [PMID: 19740775 DOI: 10.1136/gut.2009.182170]
44 葛婷, 唐志鹏, 王亮, 张亚利. Th17/Treg失衡与炎症性肠病的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 689-694
45 Sanovic S, Lamb DP, Blennerhassett MG. Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. *Am J Pathol* 1999; 155: 1051-1057 [PMID: 10514387 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65207-8]
46 Delgado M, Pozo D, Ganea D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 249-290 [PMID: 15169929 DOI: 10.1124/pr.56.2.7]
47 张德奎, 甘华田. 重视研究肠道神经系统在炎症性肠病发病中作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3200-3203
48 Wu HG, Zhou LB, Shi DR, Liu SM, Liu HR, Zhang BM, Chen HP, Zhang LS. Morphological study on colonic pathology in ulcerative colitis treated by moxibustion. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 861-865 [PMID: 11819709]
49 吴焕淦, 谭卫林, 陈汉平, 施征, 华雪桂. 艾灸治疗溃疡性结肠炎疗效及对肠上皮细胞HLA-DR抗原的影响. 针刺研究 1999; 1: 12-16
50 Bao CH, Wu LY, Wu HG, Shi Y, Liu HR, Zhang R, Yu LQ, Wang JH. Moxibustion inhibits apoptosis and tumor necrosis factor-alpha/tumor necrosis factor receptor 1 in the colonic epithelium of Crohn's disease model rats. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2286-2295 [PMID: 22531889 DOI: 10.1007/s10620-012-2161-0]
51 施茵, 吴焕淦, 秦秀娣, 谭琳蓥, 张卫, 华雪桂, 张英英. 针灸对大鼠克罗恩病结肠组织E-选择素、ICAM-1表达影响的实验研究. 江西中医学院学报 2005; 17: 37-39
52 施征, 张慧, 王晓梅, 吴焕淦. 艾灸对克罗恩病大鼠结肠黏膜MCP-1和IL-8蛋白表达的影响. 上海针灸杂志 2009; 28: 497-501
53 刘慧荣, 华雪桂, 施茵, 谭琳蓥, 张琳珊. 针灸对克罗恩病大鼠P物质、神经激肽1受体表达影响的研究. 上海中医药大学学报 2005; 19: 57-60
54 Bao CH, Wu LY, Shi Y, Wu HG, Liu HR, Zhang R, Yu LQ, Wang JH. Moxibustion down-regulates colonic epithelial cell apoptosis and repairs tight junctions in rats with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4960-4970 [PMID: 22174545 DOI: 10.3748/wjg.v17.i45.4960]
55 Wu HG, Liu HR, Tan LY, Gong YJ, Shi Y, Zhao TP, Yi Y, Yang Y. Electroacupuncture and moxibustion promote neutrophil apoptosis and improve ulcerative colitis in rats. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 379-384 [PMID: 17211698 DOI: 10.1007/s10620-006-9561-y]
56 Wu HG, Gong X, Yao LQ, Zhang W, Shi Y, Liu HR, Gong YJ, Zhou LB, Zhu Y. Mechanisms of acupuncture and moxibustion in regulation of epithelial cell apoptosis in rat ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 682-688 [PMID: 14991938]
57 Wang XM, Lu Y, Wu LY, Yu SG, Zhao BX, Hu HY, Wu HG, Bao CH, Liu HR, Wang JH, Yao Y, Hua XG, Guo HY, Shen LR. Moxibustion inhibits interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha and modulates intestinal flora in rat with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6819-6828 [PMID: 23239920 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6819]
58 Zeng F, Qin W, Ma T, Sun J, Tang Y, Yuan K, Li Y, Liu J, Liu X, Song W, Lan L, Liu M, Yu S, Gao X,

Tian J, Liang F. Influence of acupuncture treatment on cerebral activity in functional dyspepsia patients and its relationship with efficacy. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1236-1247 [PMID: 22641307 DOI: 10.1038/ajg.2012.53]
59 Liu HR, Qi L, Wang XL, Guan YH, Zuo CT, Tan LY, Yuan LS, Ma XP, Wang XM, Zhou EH, Wu HG. Electroacupuncture at Tianshu (ST 25) for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome using positron emission tomography. *Neural Regen Res* 2010; 5: 1220-1225
60 Noguchi E. Acupuncture regulates gut motility and secretion via nerve reflexes. *Auton Neurosci* 2010; 156: 15-18 [PMID: 20663717 DOI: 10.1016/j.autneu.2010.06.010]
61 彭随风, 杨家耀, 时昭红. 电针改善功能性消化不良胃动力、自主神经功能及心理状态. 世界华人消化杂志 2008; 16: 4105-4109
62 朱江, 马惠芳, 付平, 梁军, 金春兰. 通过植物神经功能状态的变化看针灸效应. 中国针灸 2002; 22: 843-844
63 吴焕淦, 陈汉平, 廖柏松, 施征, 张琳珊. 隔药灸对大鼠实验性溃疡性结肠炎免疫功能及β-内啡肽的影响. 中国针灸 1997; 3: 163-165
64 口锁堂, 吴焕淦. 艾灸对溃疡性结肠炎大鼠结肠及下丘脑辣椒素受体1表达的影响. 上海针灸杂志 2009; 28: 435-438
65 Qi L, Shi Y, Wu LY, Mu JP, Tan LY, Ma XP, Liu HR, Xu SF, Wu HG. Effects of moxibustion on heat-shock protein 70 expression in the spinal cord and colonic mucosa in a rat model of ulcerative colitis. *Neural Regen Res* 2010; 5: 1717-1722

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》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6 448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%.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2308-2314
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展

张 毅, 黄光明

■背景资料
近年来研究发现微生物因素在炎症性肠病起病中起到了不可忽视的作用, 同时难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者中的发生率不断上升. 因此需要正确的认识两者之间的关系.

张毅, 黄光明, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011
张毅, 主要从事炎症性肠病的相关研究.
作者贡献分布: 本文综述由张毅完成; 黄光明负责审校.
通讯作者: 黄光明, 副教授, 210011, 江苏省南京市下关区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心.
hgming@njmu.edu.cn
电话: 025-58509880
收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-05-31
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Clostridium difficile infection in patients with inflammatory bowel disease: An update

Yi Zhang, Guang-Ming Huang

Yi Zhang, Guang-Ming Huang, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Guang-Ming Huang, Associate Professor, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Xiaguan District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. hgming@njmu.edu.cn
Received: 2013-04-23 Revised: 2013-05-31
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract
Inflammatory bowel disease (IBD) has many etiological factors, among which microbial factors have attracted more and more attention recently. Studies have demonstrated that the incidence of *Clostridium difficile* infection (CDI) in both adult and children IBD patients has been rising in recent years. Many drugs such as antibiotics, immunosuppressive agents, and acid-suppressing agents may increase the incidence of CDI. Identifying CDI and selecting effective antibiotics are keys to successful treatment, and immunological and ecological treatments are also useful choices. In this article, we will review the progress in research of CDI in IBD patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; *Clostridium difficile*; Risk factors; Laboratory testing; Treatment

Zhang Y, Huang GM. *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: An update. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2308-2314 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2308.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2308

摘要
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因有很多, 其中微生物因素近来越来越受到关注. 研究发现难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童IBD患者中的发生率不断上升. 抗生素、免疫抑制剂、抑酸剂等药物可增加IBD患者发生CDI的风险, 及时检测CDI并选择有效的抗生素是治疗重点, 同时可辅以免疫及生态治疗. 本文对难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 炎症性肠病; 难辨梭状芽孢杆菌; 危险因素; 实验室检测; 治疗

核心提示: 难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者中的发生率不断上升. 抗生素、免疫抑制剂、抑酸剂等药物可增加IBD患者发生CDI的风险, 及时检测CDI并选择有效抗生素是治疗的重点.

张毅, 黄光明. 难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2308-2314 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2308.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2308

0 引言
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是以反复发作的肠道慢性炎症为特征的一组疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). 随着对IBD发病机制研究的不断深入, 目前发现微生物因素在其起病中起到了不可忽视的作用. 近年来研究发现, 难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童IBD患者中的

■同行评议者
季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

发生率不断上升[1,2], 推测其可能与IBD存在一定关系. 本文就难辨梭状芽孢杆菌在IBD中的研究进展做一综述.

1 难辨梭状芽孢杆菌及其流行病学

难辨梭状芽孢杆菌为革兰阳性厌氧菌, 广泛存在于自然环境中, 1935年首次从一名婴儿的大便中分离出来, 因其培养与分离的困难而得名[3]. 他是婴儿肠道内的正常菌群, 可在婴儿粪便中检测到, 但成人检出率较低.

美国疾病控制和预防中心的数据显示, CDI的发生率从1996年的31/10万增加到2003年的61/10万[4]. 加拿大、欧洲等流行病学调查报道了相同趋势[5,6]. Clayton等[7]研究报道IBD患者CDI的发生率为8.2%, 较正常成人(1.0%)明显升高, 同时还发现UC患者的感染率高于CD患者, 分别为9.4%和6.9%. 同时CDI患者的死亡率也在上升, 每年估计有15000-20000例患者死于CDI[8], Navaneethan等[9]研究报道IBD合并CDI患者的死亡率是单纯的IBD或CDI患者死亡率的4倍.

2 发病机制

正常人体胃肠道中存在一个十分复杂的菌群, 细菌大约有1000多种[10], 数量达10^{14}个左右, 他们按一定的比例和顺序定植在人体肠壁上, 形成稳定的微生态平衡. 由于抗生素等因素破坏肠道原有的生物屏障, 从而导致一些内源性细菌的过度生长或对外源性病原菌易感性的增加. 其中最常见的致病菌是难辨梭状芽孢杆菌.

难辨梭状芽孢杆菌主要分泌毒素A和毒素B, 但究竟哪种毒素起主要致病作用在学术界一直存在争议. Kuehne等[11]通过等位基因敲除模型研究发现毒素A、毒素B可在单独或同时作用下导致感染. 但Steele等[12]发现抗毒素B单克隆抗体联合或不联合应用抗病毒A单克隆抗体对CDI患者的治疗效果均较单纯抗毒素A单克隆抗体好, 同时单纯使用抗毒素A单克隆抗体患者死亡率较正常对照组高, 进而认为毒素B在CDI发病过程中起到更加重要的作用.

毒素A和B具有63%的同源氨基酸, 均具有葡糖转移酶, 毒素黏附在肠黏膜上皮细胞后, 通过受体介导的内吞作用进入细胞并催化葡萄糖残基结合到rho蛋白上, 触发细胞内信号分子调节细胞骨架结构和基因表达[13]. rho蛋白糖基化导致蛋白质合成受阻, 引起细胞坏死, 从而引发一系列炎症反应, 并最终导致临床症状的出现.

3 临床表现

IBD患者感染难辨梭状芽孢杆菌后症状各异, 有些可能仅为无症状携带者. 但一般表现为腹泻、腹痛, 粪便多带有恶臭气味, 可见黏液或脓血, 常伴发热、呕吐、脱水等中毒症状[9], 极少数患者还可排出斑块状的伪膜. 严重者还可出现肠梗阻、中毒性巨结肠、穿孔及多器官功能衰竭等并发症, 即使进行积极抗感染乃至手术治疗, 其平均死亡率仍高达67%[14].

结肠镜下, 早期患者肠黏膜可仅有轻度充血和水肿, 严重时可见黏膜脆性增加伴溃疡形成, 表面覆有黄白或黄绿色伪膜. 但伪膜形成在IBD患者中极为少见, 因此有学者推荐内镜检查作为评估疾病活动度及排除腹泻继发因素的方法而不作为常规检查[15].

4 危险因素

青霉素类、头孢菌素类、克林霉素、先锋霉素类及喹诺酮类[16]等抗生素均可导致CDI. 其主要通过改变肠道正常菌群分布使难辨梭状芽孢杆菌处于优势增殖地位而致病. 但其在IBD患者中的作用目前为止仍存在争议, Schneeweiss等[17]研究报道57.2%的IBD合并CDI患者在发病前6 mo曾接受过抗生素治疗, 另一项对照研究[18]显示UC患者30 d前使用抗生素可使CDI风险增加12倍. 但也有相关学者[19]反对此观点.

长期住院或近期手术是另一危险因素, Kariv等[18]研究报道在长期住院及近期手术同时存在的情况下, IBD患者CDI风险是正常对照组的3.67倍.

IBD本身可能就是CDI的危险因素, Rodemann等[20]研究报道IBD患者CDI的风险是非IBD患者的3倍, 另一研究[7]发现IBD患者CDI的发生率较正常成人明显升高并且在UC患者中更为常见. 但IBD患者应用免疫抑制剂或激素等药物治疗可能导致感染风险增加, Issa等[21]研究发现2004、2005年分别有64%、78%存在CDI的IBD患者行免疫抑制剂维持治疗. Schneeweiss等[17]报道IBD患者最初开始应用糖皮质激素和/或免疫抑制剂, 其CDI的风险是单纯应用免疫抑制剂的3倍, 同时发现应用生物制剂对IBD患者无感染风险. 另一项研究[22]建议限制IBD患者使用糖皮质激素, 从而减少CDI及由此而造成的死亡.

最新研究发现, 抑酸剂, 主要包括质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)及H2受体阻滞剂, 也可诱发CDI. Deshpande等[23]发现PPI可增

■**研发前沿**

近一年来越来越多的文章报道粪菌移植可以用来治疗难辨CDI, 有多项研究报道其有效性, 但尚未得到大规模前瞻性研究的证实.

■相关报道
Hamilton等用标准冻存粪菌治疗CDI患者, 总成功率为95%, 且进一步证实了其可以重建肠道菌群及清除难辨梭状芽孢杆菌. 另有研究报道其总体治愈率高达98%.

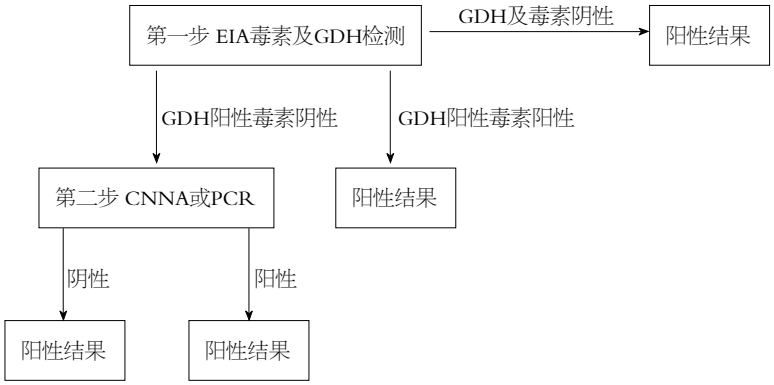


图 1 两步法检测难辨梭状芽孢杆菌感染. GDH: 谷氨酸脱氢酶; EIA: 酶联免疫测定; CCNA: 细胞毒素中和试验.

加IBD患者CDI的风险, 但同年发表在PLoS One的meta分析[24]却反对此观点, 认为PPI与CDI之间无明显的因果关系. Tleyjeh等[25]研究报道应用H2受体阻滞剂2 wk即可增加发生CDI的风险, 尤其是同时使用抗生素的患者. 其机制可能与难辨梭状芽孢杆菌繁殖体(正常情况可被胃酸杀死)因使用了抑酸剂而存活, 进而导致感染. 因此, 减少抑酸剂的不适当使用可能会显著降低CDI发生率.

5 实验室检测

由于症状的重叠性, IBD合并CDI与单纯的IBD急性发作往往难以分清[26]. 在血液化验方面, 两者均可表现为血白细胞增多、低蛋白血症及粪便的白细胞增多等[27]. 为配合治疗, 临床上需要快速而准确地检测. 目前检测方法主要包括粪便培养、细胞毒素中和试验(cell cytotoxicity neutralization assay, CCNA)、酶联免疫测定(enzyme immunoassays, EIA)、核苷酸扩增试验(nucleic acid amplification tests, NAATs)技术等. 粪便培养是既往诊断CDI的金标准, 可辨别细菌的分子型, 虽然敏感性高, 但耗时长且特异性低, 不能区分产毒株和非产毒株, 且需进一步行毒素检测, 可用于分子流行病学和药敏试验, 但不推荐作为临床常规应用[28].

CCNA敏感性较高但特异性低, 对技术要求高, 仅能检测毒素B, 其阴性并不能排除感染, 且要48-72 h才能得到结果, 故其临床应用受到了一定限制.

EIA可检测毒素A和毒素B, 价格相对便宜, 且2-6 h即可出结果, 敏感性高而特异性较低. Deshpande等[29]报道使用EIA分析粪便样本其首次检出率为81%, 重复两次可继续检出14%及5%的样本. 同时EIA还可以检测谷氨酸脱氢酶(glutamine dehydrogenase, GDH), 其阴性预测值较高, 是较为理想的筛选方法[30], 但因其不能区分产毒株和非产毒株仍需进一步行EIA毒素检测或PCR检测. 联合应用EIA毒素及GDH检测可提高特异性[31].

NAATs中应用较多的是聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术, 是目前检测CDI最灵敏的方法, 其敏感性高达90%以上, 且特异性高, 具有快速高效的优点[28]. 但其价格昂贵, 且能发现隐性感染者, 需结合临床症状决定是否对感染者进行治疗. 即便如此, 因该方法的优越性, 近年来已有逐渐取代粪便培养、CNNA及EIA法的趋势[31-33], 可能成为检测CDI的新金标准.

目前部分实验室多采用两步法检测CDI[34], 检测方法囊括了EIA、CCNA以及PCR. 联合检测可以获得75%-100%的敏感性及极高的特异性[35], 具体步骤如图1所示.

6 治疗

6.1 *一般治疗* 立即停止有可能造成CDI的抗生素是治疗最重要的一步, 若无法停止抗生素使用, 可选择其他不易造成CDI的药物. 同时予以必要的对症支持治疗, 如止泻、纠正水、电解质紊乱及低蛋白血症等. 但对于是否应该停止IBD患者免疫抑制剂或激素的应用目前仍然存在争议, 一项回顾性研究[36]报道继续使用免疫抑制剂的患者较对照组并发症多、死亡率高.

6.2 *抗生素治疗* 甲硝唑及万古霉素是目前治疗的首选用药. 甲硝唑可以采用口服或静脉注射, 一般情况下首选口服给药, 而使用万古霉素时需采取口服或灌肠[37]. Nelson等[38]研究显示对于轻中度患者, 万古霉素与甲硝唑疗效相当, 因此推荐轻中度患者口服甲硝唑治疗(250 mg/6 h或500 mg/8 h, 10-14 d). 但随着近年来甲硝唑耐药率的增加, 对于病情危重的患者[39], 建议口服

万古霉素治疗(125 mg/6 h, 14 d). 而对于存在肠梗阻或中毒性巨结肠等并发症的患者, 建议予以万古霉素经鼻胃管[40](500 mg/6 h)或灌肠给药[41](500 mg/6 h)以提高患处的血药浓度或静脉应用甲硝唑治疗[42](500 mg/8 h), 对于初次复发的患者[43], 亦可采用以上方法.

但对多次复发的患者[39], 需采用万古霉素冲击给药(125 mg/6 h, 10-14 d; 125 mg/12 h, 1 wk; 125 mg/d, 1 wk; 125 mg/2 d, 2-8 wk).

其他抗生素[44-48]如杆菌肽、替考拉宁、夫西地酸、硝唑沙奈、利福平、利福昔明及非达米星等也开始应用于CDI的治疗, 但效果尚未得到大规模研究的证实.

6.3 *免疫治疗* Lowy等[49]报道人类单克隆抗体和万古霉素或甲硝唑联合使用, 可以减少毒素A、B, 降低CDI的复发率. 最新研究[12]发现含有抗毒素B单克隆抗体较单纯抗毒素A单克隆抗体疗效好, 并且可明显降低死亡率. 另有研究[50]使用静脉免疫球蛋白治疗严重的CDI, 发现仅对部分患者有效, 故还需要进一步的研究确定其疗效及安全性.

6.4 *生态治疗* 生态治疗包括益生菌及粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)治疗.

益生菌有助于恢复肠道菌群, 利于CDI的治疗. Na等[51]报道鲍氏酵母菌及乳酸杆菌可减少高危患者发生CDI, 另一研究[52]发现鲍氏酵母菌联合万古霉素或甲硝唑治疗, 对预防复发有一定作用, 而乳酸杆菌则无效, 但目前暂无单独使用益生菌治疗CDI有效的报道.

FMT是指将健康人粪便中的功能菌群, 移植到患者胃肠道内, 重建具有正常功能的肠道菌群, 实现肠道及肠道外疾病的诊疗. 近年来已有相当多的学者将其应用于CDI患者且都获得较好的疗效. Hamilton等[53]用标准冻存粪菌治疗43例CDI患者, 总成功率为95%, 且进一步通过16rRNA基因测序方法[54]证实了其可以重建肠道菌群及清除难辨梭状芽孢杆菌. 随后, 一个多中心研究[55]报道FMT治疗CDI总治愈率高达98%, 其中, 91%的患者通过一次移植即治愈. 同时, Brandt等[56]认为FMT治疗严重CDI可尽量避免手术及死亡发生. 尽管FMT可能导致疾病的传播、标准操作流程尚未统一, 且其长期疗效尚未得到相关对照研究的证实, 但目前国内外学者已将其作为经药物治疗无效及反复发作的IBD患者的挽救治疗[57].

7 结论

CDI在IBD患者中的地位逐渐被认识, 但其发病机制仍未完全明确. 长期使用抗生素、免疫抑制剂、抑酸剂的患者发生CDI的可能性明显增加. 目前推荐结合多种方法检测以提高敏感性及特异性. 选择有效抗生素治疗是一重点, 同时可辅以免疫及生态治疗. FMT目前已临床应用于IBD及CDI患者, 但其长期疗效仍待考证. IBD危害性大, 可出现多种并发症, 应注意预防CDI的发生, 从而改善患者预后.

■创新盘点

本文概述了难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的进展, 包括最近报道的危险因素、新型的检测方法, 以及免疫及生态治疗在炎症性肠病合并CDI中的应用.

8 参考文献

1 Bossuyt P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S. Increasing incidence of Clostridium difficile-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2009; 3: 4-7 [PMID: 21172241 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.09.003]

2 Pant C, Anderson MP, Deshpande A, Altaf MA, Grunow JE, Atreja A, Sferra TJ. Health care burden of Clostridium difficile infection in hospitalized children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1080-1085 [PMID: 23478808 DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182807563]

3 Kelly CP, LaMont JT. Clostridium difficile--more difficult than ever. *N Engl J Med* 2008; 359: 1932-1940 [PMID: 18971494 DOI: 10.1056/NEJMra0707500]

4 McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 409-415 [PMID: 16704777]

5 Pépin J, Valiquette L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forget K, Pépin K, Chouinard D. Clostridium difficile-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ* 2004; 171: 466-472 [PMID: 15337727]

6 Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, Kuijper EJ, Wilcox MH. The changing epidemiology of Clostridium difficile infections. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 529-549 [PMID: 20610822 DOI: 10.1128/CMR.00082-09]

7 Clayton EM, Rea MC, Shanahan F, Quigley EM, Kiely B, Hill C, Ross RP. The vexed relationship between Clostridium difficile and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1162-1169 [PMID: 19319128 DOI: 10.1038/ajg.2009.4]

8 Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 526-536 [PMID: 19528959 DOI: 10.1038/nrmicro2164]

9 Navaneethan U, Venkatesh PG, Shen B. Clostridium difficile infection and inflammatory bowel disease: understanding the evolving relationship. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4892-4904 [PMID: 20954275]

10 Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan

■应用要点
本文对于临床上炎症性肠病合并难辨梭CDI的患者的诊治具有一定的指导意义，可以帮助识别难辨CDI、及时治疗，改善患者预后.

M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65 [PMID: 20203603 DOI: 10.1038/nature08821]

11 Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, Kelly ML, Cockayne A, Minton NP. The role of toxin A and toxin B in Clostridium difficile infection. *Nature* 2010; 467: 711-713 [PMID: 20844489 DOI: 10.1038/nature09397]

12 Steele J, Mukherjee J, Parry N, Tzipori S. Antibody against TcdB, but not TcdA, prevents development of gastrointestinal and systemic Clostridium difficile disease. *J Infect Dis* 2013; 207: 323-330 [PMID: 23125448 DOI: 10.1093/infdis/jis669]

13 Voth DE, Ballard JD. Clostridium difficile toxins: mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 247-263 [PMID: 15831824]

14 Chan S, Kelly M, Helme S, Gossage J, Modarai B, Forshaw M. Outcomes following colectomy for Clostridium difficile colitis. *Int J Surg* 2009; 7: 78-81 [PMID: 19070558 DOI: 10.1016/j.ijsu.2008.11.002]

15 Ananthakrishnan AN, Issa M, Binion DG. Clostridium difficile and inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am* 2010; 94: 135-153 [PMID: 19944802 DOI: 10.1016/j.mcna.2009.08.013]

16 Kelly CP. A 76-year-old man with recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea: review of C. difficile infection. *JAMA* 2009; 301: 954-962 [PMID: 19190304 DOI: 10.1001/jama.2009.171]

17 Schneeweiss S, Korzenik J, Solomon DH, Canning C, Lee J, Bressler B. Infliximab and other immunomodulating drugs in patients with inflammatory bowel disease and the risk of serious bacterial infections. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 253-264 [PMID: 19438424 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04037.x]

18 Kariv R, Navaneethan U, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Impact of Clostridium difficile infection in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 34-40 [PMID: 21272802 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.09.007]

19 Kelsen JR, Kim J, Latta D, Smathers S, McGowan KL, Zaoutis T, Mamula P, Baldassano RN. Recurrence rate of clostridium difficile infection in hospitalized pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 50-55 [PMID: 20722068 DOI: 10.1002/ibd.21421]

20 Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo da H, Stone CD. Incidence of Clostridium difficile infection in inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 339-344 [PMID: 17368233]

21 Issa M, Vijayapal A, Graham MB, Beaulieu DB, Otterson MF, Lundeen S, Skaros S, Weber LR, Komorowski RA, Knox JF, Emmons J, Bajaj JS, Binion DG. Impact of Clostridium difficile on inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 345-351 [PMID: 17368234]

22 Das R, Feuerstadt P, Brandt LJ. Glucocorticoids are associated with increased risk of short-term mortality in hospitalized patients with clostridium difficile-associated disease. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2040-2049 [PMID: 20389295 DOI: 10.1038/ajg.2010.142]

23 Deshpande A, Pant C, Pasupuleti V, Rolston DD, Jain A, Deshpande N, Thota P, Sferra TJ, Hernandez AV. Association between proton pump inhibitor therapy and Clostridium difficile infection in a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 225-233 [PMID: 22019794 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.09.030]

24 Tleyjeh IM, Bin Abdulhak AA, Riaz M, Alasmari FA, Garbati MA, AlGhamdi M, Khan AR, Al Tannir M, Erwin PJ, Ibrahim T, Allehibi A, Baddour LM, Sutton AJ. Association between proton pump inhibitor therapy and clostridium difficile infection: a contemporary systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e50836 [PMID: 23236397 DOI: 10.1371/journal.pone.0050836]

25 Tleyjeh IM, Abdulhak AA, Riaz M, Garbati MA, Al-Tannir M, Alasmari FA, Alghamdi M, Khan AR, Erwin PJ, Sutton AJ, Baddour LM. The association between histamine 2 receptor antagonist use and Clostridium difficile infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e56498 [PMID: 23469173 DOI: 10.1371/journal.pone.0056498]

26 Ben-Horin S, Margalit M, Bossuyt P, Maul J, Shapira Y, Bojic D, Chermesh I, Al-Rifai A, Schoepfer A, Bosani M, Allez M, Lakatos PL, Bossa F, Eser A, Stefanelli T, Carbonnel F, Katsanos K, Checchin D, de Miera IS, Reinisch W, Chowers Y, Moran GW. Prevalence and clinical impact of endoscopic pseudomembranes in patients with inflammatory bowel disease and Clostridium difficile infection. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 194-198 [PMID: 21122505 DOI: 10.1016/j.crohns.2009.11.001]

27 Issa M, Ananthakrishnan AN, Binion DG. Clostridium difficile and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1432-1442 [PMID: 18484669 DOI: 10.1002/ibd.20500]

28 Kufelnicka AM, Kirn TJ. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 1451-1457 [PMID: 21628487 DOI: 10.1093/cid/cir201]

29 Deshpande A, Pasupuleti V, Patel P, Pant C, Pagadala M, Hall G, Hu B, Jain A, Rolston DD, Sferra TJ, Atreja A. Repeat stool testing for Clostridium difficile using enzyme immunoassay in patients with inflammatory bowel disease increases diagnostic yield. *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 1553-1560 [PMID: 22852871]

30 Snell H, Ramos M, Longo S, John M, Hussain Z. Performance of the TechLab C. DIFF CHEK-60 enzyme immunoassay (EIA) in combination with the C. difficile Tox A/B II EIA kit, the Triage C. difficile panel immunoassay, and a cytotoxin assay for diagnosis of Clostridium difficile-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4863-4865 [PMID: 15472364]

31 Sharp SE, Ruden LO, Pohl JC, Hatcher PA, Jayne LM, Ivie WM. Evaluation of the C.Diff Quik Chek Complete Assay, a new glutamate dehydrogenase and A/B toxin combination lateral flow assay for use in rapid, simple diagnosis of clostridium difficile disease. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2082-2086 [PMID: 20375230 DOI: 10.1128/JCM.00129-10]

32 Stamper PD, Alcabasa R, Aird D, Babiker W, Wehrlin J, Ikpeama I, Carroll KC. Comparison of a commercial real-time PCR assay for tcdB detection to a cell culture cytotoxicity assay and toxigenic

culture for direct detection of toxin-producing Clostridium difficile in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 373-378 [PMID: 19073875 DOI: 10.1128/JCM.01613-08]
33 Eastwood K, Else P, Charlett A, Wilcox M. Comparison of nine commercially available Clostridium difficile toxin detection assays, a real-time PCR assay for C. difficile tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3211-3217 [PMID: 19710274 DOI: 10.1128/JCM.01082-09]
34 Kvach EJ, Ferguson D, Riska PF, Landry ML. Comparison of BD GeneOhm Cdiff real-time PCR assay with a two-step algorithm and a toxin A/B enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of toxigenic Clostridium difficile infection. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 109-114 [PMID: 19864479 DOI: 10.1128/JCM.01630-09]
35 Novak-Weekley SM, Marlowe EM, Miller JM, Cumpio J, Nomura JH, Vance PH, Weissfeld A. Clostridium difficile testing in the clinical laboratory by use of multiple testing algorithms. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 889-893 [PMID: 20071552 DOI: 10.1128/JCM.01801-09]
36 Ben-Horin S, Margalit M, Bossuyt P, Maul J, Shapira Y, Bojic D, Chermesh I, Al-Rifai A, Schoepfer A, Bosani M, Allez M, Lakatos PL, Bossa F, Eser A, Stefanelli T, Carbonnel F, Katsanos K, Checchin D, Miera IS, Chowers Y, Moran GW. Combination immunomodulator and antibiotic treatment in patients with inflammatory bowel disease and clostridium difficile infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 981-987 [PMID: 19523534 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.05.031]
37 Leffler DA, Lamont JT. Treatment of Clostridium difficile-associated disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 1899-1912 [PMID: 19457418 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.070]
38 Nelson RL, Kelsey P, Leeman H, Meardon N, Patel H, Paul K, Rees R, Taylor B, Wood E, Malakun R. Antibiotic treatment for Clostridium difficile-associated diarrhea in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (9): CD004610 [PMID: 21901692 DOI: 10.1002/14651858]
39 Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31: 431-455 [PMID: 20307191 DOI: 10.1086/651706]
40 Fekety R, Silva J, Kauffman C, Buggy B, Deery HG. Treatment of antibiotic-associated Clostridium difficile colitis with oral vancomycin: comparison of two dosage regimens. *Am J Med* 1989; 86: 15-19 [PMID: 2910090]
41 Apisarnthanarak A, Razavi B, Mundy LM. Adjunctive intracolonic vancomycin for severe Clostridium difficile colitis: case series and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 690-696 [PMID: 12203166]
42 Friedenberg F, Fernandez A, Kaul V, Niami P, Levine GM. Intravenous metronidazole for the treatment of Clostridium difficile colitis. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1176-1180 [PMID: 11535859]
43 Pépin J, Routhier S, Gagnon S, Brazeau I. Management and outcomes of a first recurrence of Clostridium difficile-associated disease in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 758-764 [PMID: 16477549]
44 Garey KW, Ghantoji SS, Shah DN, Habib M, Arora V, Jiang ZD, DuPont HL. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study to assess the ability of rifaximin to prevent recurrent diarrhoea in patients with Clostridium difficile infection. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2850-2855 [PMID: 21948965 DOI: 10.1093/jac/dkr377]
45 Mullane KM, Miller MA, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, Sears PS, Shue YK, Louie TJ, Gorbach SL. Efficacy of fidaxomicin versus vancomycin as therapy for Clostridium difficile infection in individuals taking concomitant antibiotics for other concurrent infections. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 440-447 [PMID: 21844027 DOI: 10.1093/cid/cir404]
46 Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, Gorbach S, Sears P, Shue YK. Fidaxomicin versus vancomycin for Clostridium difficile infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 422-431 [PMID: 21288078 DOI: 10.1056/NEJMoa0910812]
47 Musher DM, Logan N, Bressler AM, Johnson DP, Rossignol JF. Nitazoxanide versus vancomycin in Clostridium difficile infection: a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis* 2009; 48: e41-e46 [PMID: 19133801 DOI: 10.1086/596552]
48 Lagrotteria D, Holmes S, Smieja M, Smaill F, Lee C. Prospective, randomized inpatient study of oral metronidazole versus oral metronidazole and rifampin for treatment of primary episode of Clostridium difficile-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 547-552 [PMID: 16886144]
49 Lowy I, Molrine DC, Leav BA, Blair BM, Baxter R, Gerding DN, Nichol G, Thomas WD, Leney M, Sloan S, Hay CA, Ambrosino DM. Treatment with monoclonal antibodies against Clostridium difficile toxins. *N Engl J Med* 2010; 362: 197-205 [PMID: 20089970 DOI: 10.1056/NEJMoa0907635]
50 Abougergi MS, Broor A, Cui W, Jaar BG. Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe Clostridium difficile colitis: an observational study and review of the literature. *J Hosp Med* 2010; 5: E1-E9 [PMID: 20063275 DOI: 10.1002/jhm.542]
51 Na X, Kelly C. Probiotics in clostridium difficile Infection. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 Suppl: S154-S158 [PMID: 21992956 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31822ec787]
52 Pillai A, Nelson R. Probiotics for treatment of Clostridium difficile-associated colitis in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (1): CD004611 [PMID: 18254055]
53 Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent Clostridium difficile infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 761-767 [PMID: 22290405 DOI: 10.1038/ajg.2011.482]
54 Hamilton MJ, Weingarden AR, Unno T, Khoruts A, Sadowsky MJ. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. *Gut Microbes* 2013; 4: 125-135 [PMID: 23333862 DOI: 10.4161/gmic.23571]
55 Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, Kanatzar A, Kelly C, Park T, Stollman N, Rohlke F, Surawicz C. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent Clostridium difficile

■同行评价

本文综述了难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展, 选题新颖, 内容详实全面, 归纳炎症性肠病合并难辨梭状芽孢杆菌感染的诊治进展, 有一定的临床指导价值.

infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1079-1087 [PMID: 22450732 DOI: 10.1038/ajg.2012.60]
56 Brandt LJ, Borody TJ, Campbell J. Endoscopic fecal microbiota transplantation: "first-line" treatment for severe clostridium difficile infection? *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 655-657 [PMID: 21716124 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182257d4f]
57 Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 503-516 [PMID: 22827693 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05220.x]

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 •

2012年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇, 退稿887篇, 退稿率57.63%, 发表文章652篇, 所有文章均经过编委专家同行评议. 其中, 发表述评34篇(5.21%), 基础研究94篇(14.42%), 临床研究61篇(9.36%), 焦点论坛20篇(3.07%), 文献综述114篇(17.48%), 研究快报86篇(13.19%), 临床经验222篇(34.05%), 病例报告21篇(3.22%); 文章作者分布遍及全国各地, 绝大多数来自高等院校及附属医院. 在此, 特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家, 你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献; 也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章, 为科学知识的传播做出贡献! (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2315-2319
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

水通道蛋白3、8、9在结肠大部切除大鼠剩余结肠黏膜中的表达

张国平, 袁维堂

张国平, 袁维堂, 郑州大学第一附属医院肛肠外科 河南省郑州市 450052
张国平, 主要从事结直肠肿瘤的研究.
河南省杰出青年基金资助项目, No. 084100510017
作者贡献分布: 此课题在袁维堂的指导下由张国平设计; 动物的饲养、结肠大部切除大鼠模型的制作及手术后的管理、术后大鼠粪便含水量测定及PCR等由袁维堂全程指导, 并协助张国平完成关键环节; 实验数据的整理分析由张国平完成; 本论文写作由张国平完成; 袁维堂负责审校.
通讯作者: 袁维堂, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院肛肠外科.
ywt555@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-11
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Expression of AQPs 3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection

Guo-Ping Zhang, Wei-Tang Yuan

Guo-Ping Zhang, Wei-Tang Yuan, Department of Colorectal Surgery of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Supported by: the Outstanding Youth Foundation of Henan Province, No. 084100510017
Correspondence to: Wei-Tang Yuan, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. ywt555@yahoo.com.cn
Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-11
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To examine the expression of Aquaporins (AQPs) 3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection.

METHODS: Thirty-two healthy adult SD rats were randomly and equally divided into either a control group or an experimental group. Under general anesthesia, resection of about two-thirds of the colon was performed 5.0 cm from the ileocecal junction, followed by an end-to-end anastomosis with a single-layer 6/0 polypropylene suture. The animals were allowed to eat 24 h after the surgery, and the water content of feces was determined. Rats of the experimental group were killed on days 14 and 28 after surgery, and those of the control group were killed on day 28 to take colonic mucosal samples. RT-PCR was used to determine the expression of AQPs 3, 8 and 9.

RESULTS: After surgery, the water content of feces increased. The relative expression levels of AQPs 3, 8 and 9 were significantly lower in the control group (day 28) than in the experimental group (days 14 and 28) (AQP3: 0.352, 0.425 *vs* 0.614, both $P < 0.01$; AQP8: 0.425, 0.518 *vs* 0.733, both $P < 0.01$; AQP9: 0.422, 0.516 *vs* 0.632, both $P < 0.01$).

CONCLUSION: After extensive colon resection, expression of AQPs 3, 8 and 9 in the remaining colon increases, which may accelerate the absorption of water and increase the moisture of feces.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Extensive colon resection; Aquaporin; Colonic mucosa; Rats

Zhang GP, Yuan WT. Expression of AQPs 3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2315-2319 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2315.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2315

摘要

目的: 探索大鼠结肠部分切除术后, 水通道蛋白(aquaporin, AQP)3、8、9在剩余结肠黏膜中的表达变化.

方法: 健康成年SD大鼠32只, 随机分为对照组、实验组, 各16只; 对照组为假手术组; 实验组全麻下距回盲部5.0 cm处切除约2/3结肠, 6/0无创伤缝线间断单层端端吻合肠管, 术后禁食、水24 h, 然后正常喂养; 检测粪便含水量情况; 实验组术后14和28 d随机处死各6只,

■背景资料
近年结直肠肿瘤的发病率逐年上升, 涉及结肠切除的患者较多, 术后腹泻是常见的并发症, 患者痛苦不堪. 水通道蛋白(aquaporin, AQP)作为结肠内转运水分的重要跨膜蛋白, 在水分的主动转运中作用巨大. 结肠缩短, 载体蛋白的数量下降, 与结肠水代谢能力降低关系密切, 国内外有关AQP在消化系的研究较多, 但有关结肠切除术后, 剩余结肠内AQP的表达与粪便含水量情况, 报道较少.

■同行评议者
刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■研发前沿
AQP在人体不同组织的定位及表达，一直是国内外研究的热点. 本文通过大鼠结肠大部切除模型，试图研究AQP3、8、9在术前及术后不同时段表达与粪便含水量的关系，以期从分子生物学角度寻找术后腹泻的可能原因. 若能人为干预术后AQP3、8、9的表达，进一步研究粪便的含水量情况，可能更加具有临床研究价值.

■相关报道
国内外有关“慢传输型便秘”患者结肠内AQP的变化情况，观察到了AQP3表达量的下调，以减少对水分的主动转运；还有关于通过Hgcl2和CuSO4抑制大鼠结肠AQP3的表达，从而导致了大鼠持续的腹泻，也证明了AQP在结肠水分主动转运中的重要作用.

提取结肠黏膜，冻存待检；对照组假手术后28 d全部处死，提取结肠黏膜，冻存待检；按RT-PCR方法检测结肠黏膜AQP3、8、9 mRNA的表达情况.

结果：(1)实验组大鼠术后粪便含水量增加；(2)对照组、实验组术后第14天和术后第28天目的基因条带与内参条带灰度值之比平均值分别为：AQP3为0.352、0.425、0.614(P<0.01)；AQP8为0.425、0.518、0.733(P<0.01)；AQP9为0.422、0.516、0.632(P<0.01).

结论：(1)结肠大部切除术后粪便含水量增加，术后时间延长，粪便含水量开始减少；(2)剩余结肠AQP3、8、9表达量增加，在一定程度上加速了结肠对水分的吸收.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词：结肠大部切除；水通道蛋白；结肠黏膜；大鼠

核心提示：建立大鼠结肠大部切除模型，对照组与术后不同时段组比较，发现术后粪便含水量增加，术后时间延长，粪便含水量开始减少，水通道蛋白(aquaporin)3、8、9表达量增加可能加速了结肠水分的代谢.

张国平，袁维堂. 水通道蛋白3、8、9在结肠大部切除大鼠剩余结肠黏膜中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2315-2319
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2315.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2315

0 引言

水通道蛋白(Aquaporin, AQP)又名水孔蛋白，是一种位于细胞膜上的蛋白质，在细胞膜上组成孔道，可控制水在细胞的进出. 自1988年Agre等发现了这种特殊的蛋白质后，人们通过免疫组织化学、RT-PCR等研究发现在哺乳动物中有13钟AQP亚型(AQP0-AQP12)[1,2]. 国内外文献报道AQP3、8、9等存在结肠[3-6]，与结肠水分吸收和分泌有密切关系. 因结肠病变切除结肠后腹泻的发生率达5%-30%[7]，患者需要经历一段艰难的代偿期[8]，在此期间AQPs表达发生了如何变化，其表达变化是否与代偿有关，目前罕有文献报道.

1 材料和方法

1.1 材料 健康12周龄Sprague-Dawley(SD)大鼠32只，体质量250-300 g，雌雄各半，由郑州大学动物中心提供，实验动物合格证编号：SCXK(豫)2010-0002，大鼠随机分为对照组和实验组，各16只；3组大鼠性别、年龄及体质量的差异无统计学意义(P>0.05)，有可比性(表1)；全部大鼠均单笼饲养. 盐酸氯胺酮注射液，为本次实验的麻醉剂，由陕西正康医药化工有限公司提供；RNA提取液TRIzol(美国Invitrogen公司)提供；Thermo RT Kit cDNA、2×Taq PCR MasterMix试剂盒(北京TianGen公司)；Marker、50×TAB电泳液(中国Solarbio公司)；SD大鼠AQP3、8、9及β-actin的基因序列由NCBI中的Genbank获得，由华大基因研究中心设计完成，并通过NCBI BLAST核对其特异性(如表2所示)；其他的相关材料由当地购买.

1.2 方法

1.2.1 模型的建立：(1)两组大鼠术前禁食24 h，不禁水；对照组腹腔注射氯胺酮全麻，开腹后不切除肠管，常规关腹，禁食水24 h后，自由进食；(2)氯胺酮按10 mg/kg剂量，对实验组大鼠行腹腔注射全麻；麻醉完成后，将其固定在恒温手术台上，给予气管插管和股动脉插管，以保证大鼠呼吸通畅和监测动脉血压；术区备皮消毒，取正中切口，先找到大鼠结肠，距回盲部5.0 cm处切除约2/3结肠，用6/0无创伤缝线间断单层端端吻合肠管，缝合结肠系膜，用普通丝线逐层关腹，关腹前腹腔内注射青霉素钠20万单位，术毕将大鼠放入代谢笼；(3)实验组大鼠术后24 h，自由进食水[9]，大鼠结肠大部切除模型建立；(4)实验组术后死于吻合口漏4只，其余在结肠切除术后的第14天和28天随机处死各6只，提取结肠黏膜冻存；对照组假手术后第28天全部处死，提取结肠黏膜冻存.

1.2.2 RNA的提取及RT-PCR：(1)大鼠禁食不禁水24 h，氯胺酮腹腔注射麻醉，由腹正中切1∶3入腹，截取结肠黏膜，置入液氮中冻存；按照TRIzol提取RNA试剂盒说明提取组织中的总RNA，用普通凝胶电泳成像系统检测其完整性；按照cDNA试剂盒的说明对其反转录；按照PCR扩增试剂盒的要求，对目的DNA扩增；(2)PCR扩增反应：取以上逆转录产物1 μL，依次加入Forward Primer 1 μL(10 mmol/L)、Reverse Primer 1 μL(10 μmmol/L)，2×Master Mix 12.5 μL，ddH_2O补至总体积为25 μL；扩增条件：94 ℃，3 min；94 ℃ 30 s；TM(AQP3：56 ℃；AQP8：55 ℃；AQP9：58 ℃；β-actin：61 ℃)，72 ℃ 1 min，一个循环，共35个循环，72 ℃延伸5 min；4 ℃保存. 置于1.5%琼脂糖凝胶中电泳36 min，条带在凝胶成像

表 1 对照组及实验组大鼠性别、年龄及体质量统计学比较 (mean ± SD)

分组	性别		周龄(wk)	体质量(g)
	♀	♂		
对照组	8	8	12	252.68 ± 7.07
实验组	8	8	12	251.44 ± 4.47
统计量	χ^2 = 0.00		t = 0.00	t = 0.568
P值	>0.05		>0.05	>0.05

表 2 目的基因及内参引物核苷酸序列

基因	上游引物	下游引物	扩增长度(bp)
AQP3	TCTCGGGCTAAAAACGCTCC	GAGCTACGCCCCTCTTATGC	455
AQP8	TGGCATGTCCTGGTATGAGC	TTCTCATTGACGGCACCCAT	422
AQP9	TCACCTCCAGAGATCCGTGT	ACTCCATCCTTCCAAAGGCG	421
β-actin	TCAGGTCATCACTATCGGCAAT	AAAGAAAGGGTGTAAAACGCA	332

AQP: 水通道蛋白.

表 3 对照组与实验组结肠黏膜AQP3、8、9灰度值比平均值 (mean ± SD)

分组	n	AQP3	AQP8	AQP9
对照组	16	0.352 ± 0.232	0.425 ± 0.102	0.422 ± 0.099
术后14 d组	6	0.425 ± 0.071	0.518 ± 0.100	0.516 ± 0.112
术后28 d组	6	0.614 ± 0.066	0.733 ± 0.035	0.632 ± 0.114
统计量				
F值		3868.0	372.0	658.1
$t1$		−22.48	−17.28	−16.35
$t2$		−78.42	−25.24	−36.78
P值		<0.01	<0.01	<0.01

AQP: 水通道蛋白.

系统上扫描; 观察扩增后的条带是否符合目的条带; 利用软件对电泳条带进行灰度值的测定, 目的条带与对应的内参β-actin条带的灰度值比值作为统计数据; (3)粪便含水量测定: 收集对照组每一只大鼠的1粒粪便; 术后14 d组和术后28 d组收集处死前48 h的粪便, 方法同对照组; 称量粪便湿重量, 干质量(湿便65 ℃恒温, 干燥12 h), 最后计算粪便的含水量, 行统计学处理.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学分析, 对大鼠的性别、年龄、体质量, 行χ^2检验和t检验; 实验数据正态性检验服从正态分布, 行单因素方差分析(one-way ANOVA), 若有显著性差异, 则用LSD进行组间比较.

2 结果

2.1 电泳成像 对照组(N)、术后14 d组(2W)、术后28 d组(4W), 其AQP3、8、9凝胶电泳成像系统上扫描结果, 如图1.

2.2 实验组与对照组结肠黏膜AQP3、8、9 mRNA比较 实验组较对照组结肠黏膜AQP3、8、9 mRNA表达量增加, 目的基因条带与内参条带灰度值之比均值也相应增大; 术后14 d组、对照组比较, 差异有显著统计学意义($t1$); 术后28 d组、对照组比较, 差异有显著统计学意义($t2$), 如表3.

2.3 粪便含水量比较 对照组即假手术组粪便含水量均值高于术后14 d组和术后28 d组, 术后14

■**创新盘点**
国外有文献报道老鼠行小肠大部切除术后, 观察到AQP在短期内表达量增加, 同时粪便变稀, 3-6 mo后, AQP表达量进一步增加, 粪便由稀变稠. 本文对大鼠结肠大部切除, 观察到剩余结肠AQP表达量增加, 在一定程度上加速了脱水粪便的形成.

■**应用要点**
大鼠结肠大部切除模型, 模拟了临床上结肠部分切除患者的术后情况, 探索了术后腹泻发生的可能原因, 若能从分子生物学水平调节结肠黏膜AQP的表达, 人为调节结肠水代谢的功能, 缩短结肠切除术后痛苦的代偿时间, 从而大大提高患者术后生活质量.

■名词解释
AQP：又名水孔蛋白是一种位于细胞膜上的蛋白质，在细胞膜上组成孔道，可控制水在细胞的进出．作为水通道蛋白家族的一种，广泛存在于原核和真核生物细胞膜，能高效、选择性的转运水分．

表 4 对照组与术后14天组、术后28天组1粒粪便含水量平均值比较 (mean ± SD)

分组	*n*	粪便湿质量(mg)	粪便干质量(mg)	粪便含水量(%)
对照组	12	59.5 ± 40.1	32.8 ± 25.9	47.2 ± 6.4[a]
术后14天组	10	263.1 ± 30.4	85.3 ± 25.1	68.4 ± 4.7[c]
术后28天组	10	281.2 ± 38.4	93.4 ± 20.3	63.7 ± 5.2[e]

[a]*P*<0.05 *vs* 术后14天组; [c]*P*<0.05 *vs* 术后28天组; [e]*P*<0.05 *vs* 术后14天组.

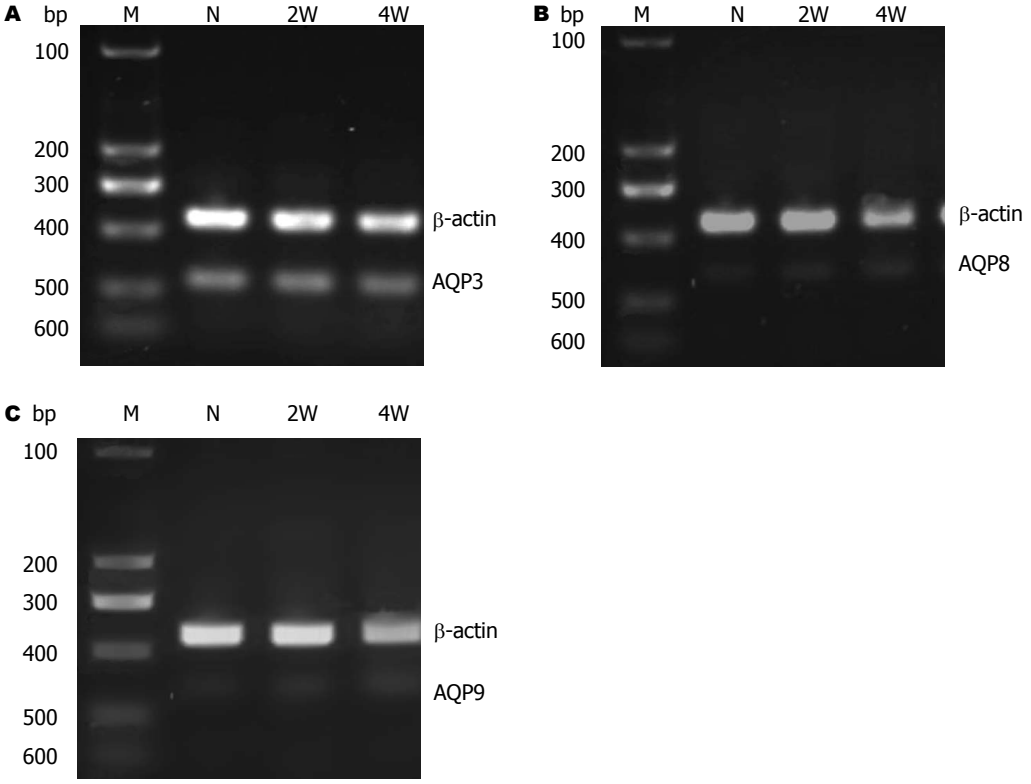


图 1 对照组、术后14天组和术后28天组AQP3、8、9凝胶电泳成像图. A: AQP3; B: AQP8; C: AQP9; M: marker; N: 对照组; 2W: 术后14 d组; 4W: 术后28 d组; β-actin: 内参蛋白; AQP: 水通道蛋白.

d组粪便含水量均值高于术后28 d组；对照组、术后14 d组比较差异有显著统计学意义(*P*<0.01)，对照组、术后28 d组比较差异有显著统计学意义(*P*<0.01)，术后28 d组、术后14 d组比较差异有显著统计学意义(*P*<0.01，表4).

3 讨论

健康成年人，每天进入胃肠道的液体达9 L左右，约有7 L的液体在小肠被吸收，结肠每天逆浓度梯度吸收大约1.5-2.0 L的水，仅有100 mL左右的水分经由粪便丢失，因此结肠在脱水粪便形成中的作用不容忽视，然而结肠黏膜的电阻明显高于小肠[10]，在这种条件下结肠对水分的吸收更需要借助于载体系统才能得以实现，而AQPs又是结肠内水代谢重要的载体蛋白，国内外研究已经证实：AQP3、AQP8、AQP9表达于结肠黏膜的上皮细胞，而且其表达强度与吸收转运的活跃程度有一定关系[4,11,12].

临床上结直肠肿瘤患者因手术切除了部分结肠，术后排便频次和质量有所改变，腹泻较为常见．结肠黏膜的丧失，导致AQP总量下降无法满足正常的水代谢需要，可能是术后腹泻发生的原因之一．Ikarashi等[13]通过$Hgcl_2$和$CuSO_4$抑制大鼠结肠AQP3的表达，从而导致了大鼠持续的腹泻，排便质量下降，证明了AQP在结肠水代谢中的重要作用．Tsujikama等[14]切除了大鼠80%的小肠后，术后第1天就观察到AQP3在结肠的表达量增加，术后第7天，AQP8在结肠的表达量也增加；小肠大部切除后，粪便变稀，3-6 mo后，由稀变稠，同时也观察到结肠AQP的表达量相

应增加, 认为AQP在结肠表达量代偿性的增加, 增加了结肠跨膜转运水分的载体蛋白数量, 水代谢能力代偿性增强, 从而加速了脱水粪便的形成, 这同样也证明了AQP在正常粪便形成中的重要作用. 本实验中切除了大鼠约2/3的结肠, 正常进食后, 粪便含水量增加, 术后第14天, 检测结果显示大鼠结肠黏膜中AQP3、8、9的表达量增加, 第28天表达量明显增加, 但随着术后时间的延长, 粪便含水量开始减少, 与上述学者实验结果一致, 更进一步说明了AQP的表达量在增加, 在一定程度上加速了结肠水分的吸收.

临床上多种疾病特别是结肠肿瘤患者需行结肠部分切除术, 术后患者排便频次增加, 腹泻的发生率较高[15]. 若能从分子生物学水平调节结肠黏膜AQPs的表达和功能, 则可人为调节结肠吸收和分泌水分的功能, 从而缩短结肠切除术后痛苦的代偿时间, 这将是我们今后的研究方向.

4 参考文献

1 Nielsen CH. Major intrinsic proteins in biomimetic membranes. *Adv Exp Med Biol* 2010; 679: 127-142 [PMID: 20666229 DOI: 10.1007/978-1-4419-6315-4_10]

2 Johansson B, Eriksson A, Virtanen I, Thornell LE. Intermediate filament proteins in adult human arteries. *Anat Rec* 1997; 247: 439-448 [PMID: 9096782 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0185(199704)247:4<439::AID-AR1>3.0.CO;2-M]

3 Li A, Lu D, Zhang Y, Li J, Fang Y, Li F, Sun J. Critical role of aquaporin-3 in epidermal growth factor-induced migration of colorectal carcinoma cells and its clinical significance. *Oncol Rep* 2013; 29: 535-540 [PMID: 23165320 DOI: 10.3892/or.2012.2144]

4 Ikarashi N, Ushiki T, Mochizuki T, Toda T, Kudo T, Baba K, Ishii M, Ito K, Ochiai W, Sugiyama K. Effects of magnesium sulphate administration on aquaporin 3 in rat gastrointestinal tract. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 238-242 [PMID: 21415534 DOI: 10.1248/bpb.34.238]

5 Liu J, Tian DA, Wang JP, Zhang SZ, Feng J, Zhao ZZ, Hao YX, Liu P. Expression of aquaporin 8 and its relationship with melanosis coli. *Chin Med J* (Engl) 2011; 124: 3061-3065 [PMID: 22040556]

6 Yuan WT, Yang HF, Zhang ZY, Liu JB. [Expression and significance of aquaporin 3 and aquaporin 9 in colonic mucosa of patients with functional constipation]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2008; 11: 57-60 [PMID: 18197497]

7 He D, Wang HY, Feng JY, Zhang MM, Zhou Y, Wu XT. Use of pro-/synbiotics as prophylaxis in patients undergoing colorectal resection for cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012 Nov 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23182673 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.10.007]

8 Theodoropoulos GE, Papanikolaou IG, Karantanos T, Zografos G. Post-colectomy assessment of gastrointestinal function: a prospective study on colorectal cancer patients. *Tech Coloproctol* 2013 Apr 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23605189 DOI: 10.1007/s10151-013-1008-9]

9 Karatepe O, Kurtulus I, Yalcin O, Battal M, Kamali G, Aydin T. Adrenomedulline improves ischemic left colonic anastomotic healing in an experimental rodent model. *Clinics* (Sao Paulo) 2011; 66: 1805-1810 [PMID: 22012055 DOI: 10.1590/S1807-59322011001000021]

10 Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract. *Mol Aspects Med* 2012; 33: 642-650 [PMID: 22465691 DOI: 10.1016/j.mam.2012.03.001]

11 Yamamoto T, Kuramoto H, Kadowaki M. Down-regulation in aquaporin 4 and aquaporin 8 expression of the colon associated with the induction of allergic diarrhea in a mouse model of food allergy. *Life Sci* 2007; 81: 115-120 [PMID: 17574630 DOI: 10.1016/j.lfs.2007.04.036]

12 Okada S, Misaka T, Matsumoto I, Watanabe H, Abe K. Aquaporin-9 is expressed in a mucus-secreting goblet cell subset in the small intestine. *FEBS Lett* 2003; 540: 157-162 [PMID: 12681500 DOI: 10.1016/S0014-5793(03)00256-4]

13 Ikarashi N, Kon R, Iizasa T, Suzuki N, Hiruma R, Suenaga K, Toda T, Ishii M, Hoshino M, Ochiai W, Sugiyama K. Inhibition of aquaporin-3 water channel in the colon induces diarrhea. *Biol Pharm Bull* 2012; 35: 957-962 [PMID: 22687538 DOI: 10.1248/bpb.35.957]

14 Tsujikawa T, Itoh A, Fukunaga T, Satoh J, Yasuoka T, Fujiyama Y. Alteration of aquaporin mRNA expression after small bowel resection in the rat residual ileum and colon. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 803-808 [PMID: 12795752 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.03033.x]

15 Manceau G, d'Annunzio E, Karoui M, Breton S, Rousseau G, Blanchet AS, Vaillant JC, Hannoun L. Elective subtotal colectomy with ileosigmoid anastomosis for colon cancer preserves bowel function and quality of life. *Colorectal Dis* 2013 Apr 9. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23570604 DOI: 10.1111/codi.12237]

■同行评价

本文研究方法科学, 结论可信, 有一定学术价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2320-2324
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

尖端电喷雾萃取电离质谱技术诊断食管癌22例

赵宗盛, 徐建军, 陈焕文, 陈立如, 温 华, 朱腾高, 魏益平

■背景资料
食管癌(esophageal cancer, EC)在我国属高发病率、高死亡率的恶性肿瘤之一, 早期诊断早期治疗可以明显延长患者的生存时间, 尖端电喷雾萃取电离质谱技术(tip-spray ionization mass spectrometry, Tip-spray-MS)可能为EC的早期诊断、快速诊断提供一定技术参考.

赵宗盛, 徐建军, 陈立如, 温华, 魏益平, 南昌大学第二附属医院 江西省南昌市 330006
陈焕文, 朱腾高, 东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室 江西省南昌市 330013
赵宗盛, 在读硕士, 主要从事胸部肿瘤诊治的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81160293
国家重大科学仪器设备开发专项基金资助项目, No. 2011YQ170067-09
作者贡献分布: 本课题由徐建军、魏益平及赵宗盛设计, 研究过程主要由赵宗盛完成; 温华与陈立如参与操作; 陈焕文与朱腾高参与实验指导; 论文的数据处理与写作由赵宗盛完成.
通讯作者: 魏益平, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院心胸外科. weiyip2000@hotmail.com
收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-08
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Tip-spray ionization mass spectrometry for diagnosis of esophageal cancer: An analysis of 22 cases

Zong-Sheng Zhao, Jian-Jun Xu, Huan-Wen Chen, Li-Ru Chen, Hua Wen, Teng-Gao Zhu, Yi-Ping Wei

Zong-Sheng Zhao, Jian-Jun Xu, Li-Ru Chen, Hua Wen, Yi-Ping Wei, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Huan-Wen Chen, Teng-Gao Zhu, Jiangxi Province Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, Jiangxi Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160293; the National Special Fund for Key Scientific Instrument and Equipment Development, No. 2011YQ170067-09
Correspondence to: Yi-Ping Wei, Associate Chief Physician, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. weiyip2000@hotmail.com
Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-08
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract
AIM: To discuss the application of tip-spray ionization mass spectrometry (MS) in the diagnosis of esophageal cancer.

METHODS: Tip-spray MS was used to analyze esophageal cancer tissue samples and matched tumor-adjacent esophageal tissue samples from 22 patients with esophageal cancer. Principal component analysis (PCA) was performed to process data from the MS fingerprint spectra.

RESULTS: Peptide peaks at m/z values of 104, 154, 175, 611, 655, 699, 743, 787 and 831 showed significantly different relative abundance. Peaks at m/z values of 611, 655 and 699, which corresponded to porphyrin, had the most obvious difference. PCA could effectively distinguish esophageal cancer and tumor-adjacent normal tissue.

CONCLUSION: Tip-spray MS combined with PCA can effectively distinguish esophageal cancer and tumor-adjacent normal tissue and therefore may contribute to the rapid diagnosis of esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Rapid diagnosis; Tip-spray ionization mass spectrometry; Principal component analysis

Zhao ZS, Xu JJ, Chen HW, Chen LR, Wen H, Zhu TG, Wei YP. Tip-spray ionization mass spectrometry for diagnosis of esophageal cancer: An analysis of 22 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2320-2324 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2320.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2320

摘要
目的: 探讨尖端电喷雾萃取电离质谱技术(tip-spray ionization mass spectrometry, Tip-spray-MS)对食管癌(esophageal cancer, EC)诊断的应用.

方法: 收集22例EC及配对的癌旁组织, 应用Tip-spray-MS技术对组织样品进行快速分析, 调节Tip-spray离子源为正离子模式, 质量范围50-1000 Da, 喷雾电压为3.5 kV, 喷雾距离为2 cm, 透镜电压为65.0 V, 离子传输管温度为150 ℃. 运用Matlab软件主成分分析(principal component analysis, PCA)方法对所获质谱指纹谱进行统计学分析.

结果: EC与癌旁组织的质谱指纹谱图中相对

■同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

丰度有明显差异的质荷比(m/z)为104、154、175、611、 655、699、743、787、831等处, 其中m/z为611、655、699处丰度差异最显著, 其所对应的物质为卟啉, 运用PCA方法能够良好地区分EC及癌旁组织.

结论: Tip-spray-MS联合PCA能有效鉴别EC及癌旁正常组织, 有助于EC的早期、快速诊断.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管癌; 快速诊断; 尖端电喷雾萃取电离质谱; 主成分分析

核心提示: 尖端电喷雾萃取电离质谱技术(tip-spray ionization mass spectrometry)技术可以良好地区分食管癌(esophageal cancer, EC)及癌旁组织, 并发现带不同羧基的卟啉分子是其区分的重要物质基础, 这不仅为EC的早期诊断提供了技术参考, 也为EC的发病机制提供了一定的分子生物学佐证.

赵宗盛, 徐建军, 陈焕文, 陈立如, 温华, 朱腾高, 魏益平. 尖端电喷雾萃取电离质谱技术诊断食管癌22例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2320-2324 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2320.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2320

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是我国常见的恶性肿瘤之一, 其发病率逐年上升, 死亡率一直在高位徘徊[1], 早期EC患者手术治疗后其5年生存率在90%以上, 而中晚期患者通过以手术为主的综合治疗, 其5年生存率仍在10%以下[2,3]. 目前, 尽管针对EC的诊疗技术有很大提高, 但首次就诊的EC患者仍有半数以上属中晚期, 故为提高患者的生存率, 早期明确诊断是关键, 现有的相关检查对EC的早期诊断或多或少都有一定不足. 尖端电喷雾萃取电离质谱(tip-spray ionization mass spectrometry, Tip-spray-MS)技术是衍生于电喷雾电离(electro-spray ionization, ESI)技术的一个前沿质谱技术[4], 其突出特征就是灵敏度高、特异性强、普适性广、速度快. 在无需样品预处理的情况下, 应用此技术已经快速分析了动物或人体内脏、血液, 牛奶以及尿液等复杂样品的化学成分[5-8]. 本研究运用Tip-spray-MS对EC患者组织样品进行分析, 以期发现用于EC早期诊断的快速新方法.

1 材料和方法

1.1 材料 本项目研究得到南昌大学第二附属医院伦理委员会认证, 所有纳入病例均知情同意标本采集及相关检查. 本组22例EC及各配对的癌旁正常组织取自南昌大学第二附属医院心胸外科的EC手术切除标本, 其中男14例, 女8例, 年龄40-72岁, 中位年龄55岁, 术后病理检查全部确诊为食管鳞状细胞癌, 标本在离体后短时间(5 min)内-80 ℃冰箱冻存备用, 样品的运输载体为干冰. LTQ-XL增强型线性离子阱质谱仪(美国Finnigan公司, 配Xcalibur数据软件); 甲醇(色谱纯, 美国 Fisher Scientific 公司); 实验用水为自制二次去离子水; 针灸针(天津华鸿医材有限公司, 直径为 0.08 mm); KQ3200号超声清洗器(昆山超声仪器有限公司).

1.2 方法

1.2.1 Tip-spray离子源的参数设置: 设置Tip-spray离子源为正离子模式, 喷雾电压 3.5 kV; 离子传输管温度150 ℃; 透镜电压65.0 V; 萃取剂滴加速度5 μL/min; 质量扫描范围50-1000 Da; 样品与质谱入口距离为2 cm, 针灸针延长线与质谱入口延长线在同一直线, 其他条件质谱系统自动优化.

1.2.2 组织样品的Tip-spray-MS分析: 将冷冻的食管组织常温下解冻后, 无需任何预处理, 直接将体积约为1 mm^3的样品置于针灸针尖进行检测, 设置离子源为正离子模式, 扫描范围为50-1000 Da.

1.2.3 Tip-spray-MS指纹谱图的主成分分析: 导出Tip-spray-MS记录的食管组织样品质谱指纹谱的相对丰度数据, 整理数据, 每行代表一个样品, 每列代表一个质荷比(m/z)的矩阵X. 运用Matlab Toolbox软件的Princomp函数对该矩阵进行分析处理, 并得到主成分分析(principal component analysis, PCA)分析结果. 以上相关数据均在Matlab 2010b(7.11)编程中处理实现.

2 结果

2.1 EC及癌旁组织指纹图谱分析 通过Tip-spray-MS技术, 在正离子模式下, 调节好各相关参数, 扫描范围为50-1000 Da, 得到了EC以及癌旁组织的质谱指纹谱图(图1), 谱图提示Tip-spray-MS技术能够检测出组织样品中丰富的化学成分. 比较EC及癌旁组织指纹图谱发现, EC组织与癌

■研发前沿
EC早期诊断以及质谱技术在恶性肿瘤诊断中的应用时目前研究的热点, 但Tip-spray-MS在EC早期诊断、快速诊断中的应用国内外文献报道罕见.

■相关报道
据国内外文献报道, 质谱技术在肿瘤诊断中的应用广泛, 质谱技术与蛋白组学结合对各类恶性肿瘤的诊断都有一定的实用价值, 尤其是近年直接电离质谱技术的应用, 对肿瘤的快速分析有了长足的发展.

■创新盘点
本研究小组首次采用Tip-spray-MS技术对EC及癌旁正常组织样品进行研究，通过分析发现EC及正常食管组织的化学成分有一定的差异，并且应用主成分分析(principal component analysis)可以良好区分两组组织.

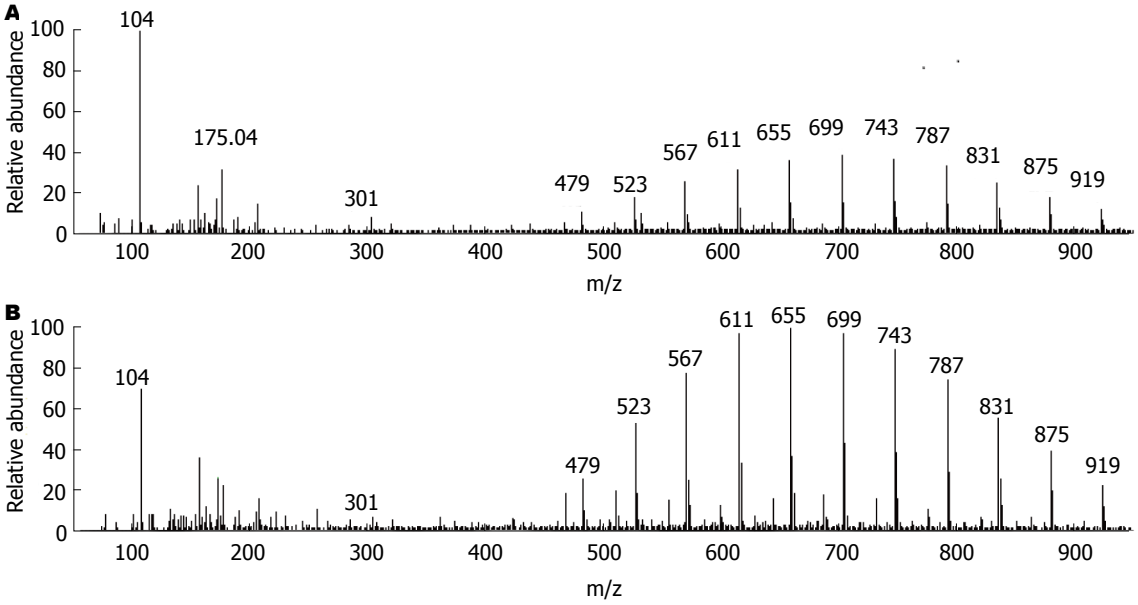


图 1 正离子模式下Tip-spray-MS获得食管组织质谱指纹谱图. A: 食管癌旁组织; B: 食管癌组织. Tip-spray-MS: 尖端电喷雾萃取电离质谱技术.

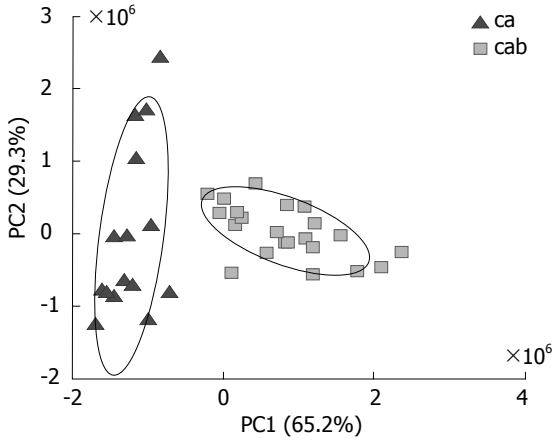


图 2 22例食管癌PCA分析二维结果图. ca: 食管癌组织, cab: 食管癌旁组织; PCA: 主成分分析; Tip-spray-MS: 尖端电喷雾萃取电离质谱技术.

旁组织在质荷比(m/z)为104、154、175、611、655、699、743、787、831等处具有明显的相对丰度差异，其中m/z 611、655、699相对丰度差异最为显著. 通过分析其二级质谱及碎片离子发现m/z 611、655、699全部为卟啉，其中m/z 611为3-羧酸卟啉，m/z 655为粪卟啉，m/z 699为5-羧酸卟啉.

2.2 PCA 将上述通过Tip-spray-MS得到的EC及癌旁组织的质谱指纹谱图数据行PCA分析，EC组织及其癌旁组织各22例，从图2可知，EC与食管癌旁组织落在不同区域，由PC1(65.2%)，PC2(29.3%) 约数据的94%的变量可以区分EC及癌旁组织，两组样品主要在PC1上得到较明显区分，这是各组组织的内部差异所决定的，说明EC与癌旁组织中的中小分子含量的差异还是比较显著的.

■应用要点
通过探讨Tip-spray-MS技术在EC诊断中的应用，有助于EC早期快速诊断的研究进展，并为进一步阐明EC发生发展的分子机制提供一定的参考价值.

3 讨论

我国是世界上EC发病率及死亡率最高的国家[1]，其病理分型主要为鳞状细胞癌，约占EC总数的90%[9]，EC的发病有明显地域差异，华北太行山区为高发区之一，各省的发病率也有一定的地区差异[10]. 尽管以外科手术为主的综合治疗措施挽救了大批EC患者的生命，但是由于早期EC症状并不明显，大部分EC患者确诊时已属中晚期，而中晚期与早期EC患者相比，手术后的5年生存率差异显著[3]，早期明确诊断能明显提高EC患者的生存率. 现阶段EC的诊断方法较多，比如传统的X线及普通内镜检查，还有增强CT扫描，正电子发射体层扫描[11]以及新内镜技术的应用如：荧光内镜、超声内镜、色素内镜等，对EC的诊断都有一定的现实价值，在临床上是不可或缺的技术手段，但是以上方法对早期EC的诊断都有一定的局限性，不能兼有快速、在线诊断EC同时又具备高灵敏度、高特异性等特征.

质谱(mass spectrometry, MS)技术是现代检测技术中兼有了高特异性、高灵敏度、高响应速度的普适技术，其对物质分子式的测定有高度准确性，质谱技术在医疗卫生领域的应用普遍，尤其在肿瘤诊断中的应用突出. Tip-spray-MS是随着近年来直接电离质谱技术的发展而被

发明的一种新技术, 其方法的主要特征是无需样品预处理的情况下快速、在线、准确分析其中的化学成分, 降低了成本, 并大大提高了检测速度, 故其在分析化学领域应用广泛[12,13]. 普渡大学Liu等[14]通过穿刺活检针取得的内脏组织, 应用Tip-spray-MS技术直接对其实时在线分析, 检测各组织对不同药物敏感性差异并分析了不同药物代谢情况, 组织被活检针取出后, 检测及分析过程在一分钟内可以完成, 其快速在线的特征可见一斑. 本研究就是在前人的技术基础上, 应用Tip-spray-MS技术对食管组织样品进行检测, 企图寻找到一种适用于EC早期诊断的快速方法, 以期提高EC的早诊率并缩短EC诊断的耗时. 通过应用Tip-spray-MS技术, 在正离子模式下, 我们得到了EC及癌旁组织的质谱指纹谱图, 两组谱图的构成基本相似, 其原因是EC与正常食管组织的代谢过程基本相同, 代谢产物的含量及浓度并没有太大的差异, 但是, 恶性肿瘤组织生长迅速, 具有异型性, 并能诱导血管新生, 故EC组织与癌旁正常组织的代谢过程并不完全相同, 两者之间的代谢产物存在一定的差异. 本研究结果显示, EC组织与癌旁组织的指纹谱图在m/z为104、154、175、611、655、699、743、787、831等处有明显差异, 其中m/z 611、655、699最为显著, 这说明Tip-spray-MS技术可检测出组织样品中的各中小分子物质, 对生物碱、氨基酸、糖类、磷脂、多肽及其衍生物等人体常见的代谢物进行分析, 并能反映EC及非癌组织之间的代谢差异. 卟啉作为人体血红素合成的重要中间产物, 广泛参与机体的血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及过氧化物酶等物质的合成代谢, 而恶性肿瘤组织特殊的生长方式, 对以上各物质都有特别强的亲和力, 并比正常组织的合成所需要的量显著增多[15], 本研究结果提示EC组织中卟啉的含量较正常食管组织明显增多.

PCA就是将所有变量重新组合成新几个综合变量来代替原始变量, 同时根据实际需要从中取几个较少的综合变量尽可能多地反映原来变量信息的一种统计学方法, 其旨在利用降维的思想, 把多指标转化为少数几个综合指标, 将原有的复杂数据降维, 揭示隐藏在复杂数据背后的简单结构, 简化复杂问题. 本研究从Tip-spray-MS获得的EC及癌旁组织两组指纹谱图中提取的相关生物信息, 通过PCA方法的处理, 建立了EC与癌旁组织的识别模式. 结果说明, PCA方法可以良好区分两组指纹谱提供的数据差异.

总之, Tip-spray-MS技术在无需样品预处理的情况下, 能直接、快速、准确地分析食管组织样品, 并具有高度灵敏性, 可为EC的早期筛查、快速诊断提供技术参考, 卟啉作为机体生物代谢的重要分子, 可能参与EC的发生发展过程, 但其具体机制有待进一步研究.

■同行评价

本文采用Tip-spray-MS技术对EC及癌旁组织的谱图进行分析, 得出两者间的显著差异质荷比(m/z)区间, 为EC诊断提供一种新的手段, 并发现卟啉含量可能为区分两组组织的物质技术, 具有一定临床价值及学术价值.

4 参考文献

1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2011; 20: 162-169

2 Law S, Wong J. The current management of esophageal cancer. *Adv Surg* 2007; 41: 93-119 [PMID: 17972559 DOI: 10.1016/j.gassur.2004.06.007]

3 王国清. 食管癌高发现场早诊早治30年临床研究经验. 中国医学科学院学报 2001; 23: 69-72

4 魏益平, 鄢飞燕, 贾滨, 丁健桦, 彭金华, 陈焕文, 徐建军. 痰液直接电喷雾萃取电离质谱分析在非小细胞癌诊断中的应用. 中华实验外科杂志 2011; 3: 422-424

5 Wong MY, Tang HW, Man SH, Lam CW, Che CM, Ng KM. Electrospray ionization on porous spraying tips for direct sample analysis by mass spectrometry: enhanced detection sensitivity and selectivity using hydrophobic/hydrophilic materials as spraying tips. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2013; 27: 713-721 [PMID: 23418151 DOI: 10.1002/rcm.6497]

6 Yang Q, Wang H, Maas JD, Chappell WJ, Manicke NE, Cooks RG, Ouyang Z. Paper spray ionization devices for direct, biomedical analysis using mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 2012; 312: 201-207 [PMID: 22350566 DOI: 10.1002/ange.200906314]

7 Hu B, So PK, Chen H, Yao ZP. Electrospray ionization using wooden tips. *Anal Chem* 2011; 83: 8201-8207 [PMID: 21923155 DOI: 10.1021/ac2017713]

8 Hu B,Lai YH,So PK,Chen HW,Yao ZP.Direct ionization of biological tissue for mass spectrometric analysis. *Analytical Chemistry* 2012: 137: 3613-3619 [DOI: 10.1039/c2an16223g]

9 Li LW, Li YY, Li XY, Zhang CP, Zhou Y, Lu SH. A novel tumor suppressor gene ECRG4 interacts directly with TMPRSS11A (ECRG1) to inhibit cancer cell growth in esophageal carcinoma. *BMC Cancer* 2011; 11: 52 [PMID: 21288367 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.38.014]

10 邹小农, 陈万青, 张思维, 李连弟, 鲁凤珠, 陈永红, 赵平. 中国部分市县1998-2002年食管癌发病与死亡. 中国肿瘤 2007; 16: 142-146

11 Toyoda Y, Nakayama T, Kusunoki Y, Iso H, Suzuki T. Sensitivity and specificity of lung cancer screening using chest low-dose computed tomography. *Br J Cancer* 2008; 98: 1602-1607 [PMID: 18475292 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604351]

12 Huang MZ, Yuan CH, Cheng SC, Cho YT, Shiea J. Ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Anal Chem* (Palo Alto Calif) 2010; 3: 43-65 [PMID: 20636033 DOI: 10.1146/annurev.anchem.111808.073702]

13 Alberici RM, Simas RC, Sanvido GB, Romão W, Lalli PM, Benassi M, Cunha IB, Eberlin MN. Ambient mass spectrometry: bringing MS into the "real

world". *Anal Bioanal Chem* 2010; 398: 265-294 [PMID: 20521143 DOI: 0.1007/s00216-010-3808-3]
14 Liu J, Cooks RG, Ouyang Z. Biological tissue diagnostics using needle biopsy and spray ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 2011; 83: 9221-9225 [PMID: 22103750 DOI: 10.1021/ac202626f]
15 Danton M, Lim CK. Porphyrin profiles in blood, urine and faeces by HPLC/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2006; 20: 612-621 [PMID: 16779779 DOI: 10.1002/bmc]

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》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. P值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, t = 4.56 *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用t/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小7.5 cm×4.5 cm, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2325-2330
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征

李鑫静, 曲利娟, 郑雄伟, 陈丽红, 董 菁, 李东良, 潘 晨, 吕旭江, 郑智勇

李鑫静, 曲利娟, 郑智勇, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025
郑雄伟, 福建省肿瘤医院病理科 福建省福州市 350014
陈丽红, 福建医科大学病理系 福建省福州市 350004
董菁, 福建医科大学附属第一医院肝病中心肝内科 福建省福州市 350005
李东良, 福建医科大学福总临床医学院(南京军区福州总医院)肝胆内科 福建省福州市 350025
潘晨, 吕旭江, 福州市传染病医院 福建省福州市 350025
李鑫静, 福建医科大学本科实习生, 现为福建医科大学病理学硕士研究生, 主要从事病理学的相关研究.
作者贡献分布: 本课题由郑智勇设计; 研究过程有李鑫静、郑智勇、曲利娟、郑雄伟、陈丽红、李东良、潘晨及吕旭江操作完成; 本论文写作由李鑫静完成; 郑智勇负责审校.
通讯作者: 郑智勇, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科. 768203566@qq.com
收稿日期: 2013-04-01 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis

Xin-Jing Li, Li-Juan Qu, Xiong-Wei Zheng, Li-Hong Chen, Jing Dong, Dong-Liang Li, Chen Pan, Xu-Jiang Lv, Zhi-Yong Zheng

Xin-Jing Li, Li-Juan Qu, Zhi-Yong Zheng, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Xiong-Wei Zheng, Department of Pathology, Fujian Provincial Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian Province, China
Li-Hong Chen, Department of Pathology, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China
Jing Dong, Liver Center, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China
Dong-Liang Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Chen Pan, Xu-Jiang Lv, Fuzhou Hospital for Infectious Diseases, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Correspondence to: Zhi-Yong Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 North Xi'erhuan Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. 768203566@qq.com
Received: 2013-04-01 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To investigate the clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis (CAEBVH) as well as its diagnosis, differential diagnosis, treatment and prognosis.

METHODS: We presented the clinical manifestations, histopathological characteristics, diagnosis, treatment and prognosis of two cases of CAEBVH. A literature review was also performed to summarize the characteristics of this clinical entity.

RESULTS: Of two young male patients, one presented with intermittent fever, jaundice, hepatosplenomegaly and abnormal liver function, the other had abnormal liver biochemical tests and symptoms including edema of lower limbs, yellowish urine, fatigue, splenomegaly, and central nervous system symptoms. Histopathologic examination of liver biopsies revealed varying degrees of macrovesicular steatosis and fibrosis, scattered lobular necrosis, beaded sinusoidal lymphocytic infiltration, portal inflammation and interface activity. Electron microscopic investigation showed chronic hepatitis along with steatosis of liver cells and fibrosis. No mylinoid body, special lysosome, glycogen storage or hepatitis B surface antigens were found. *In situ* hybridization (ISH) for EBV early RNA (EBER) showed EBER-positive nuclei of lymphocytes. Both patients ended in death. The course was 2 years and 4 months for case 1 and 13 years and 5 mo for case 2.

CONCLUSION: CAEBVH has no specific clinical features, which makes it easy to reach a misdiagnosis. Pathologic features include macrovesicular steatosis, fibrosis, beaded sinusoidal lymphocytes infiltration, scattered lobular necrosis, interface activity and portal inflammation. EBER-positive nuclei of lymphocytes can be detected by ISH. This disease has a poor prognosis and early diagnosis is pivotal for appropriate clinical management.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epstein-Barr virus; Chronic infection; Viral hepatitis; Central nervous system symptoms

■背景资料
慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis, CAEBVH)并不多见, 伴有中枢神经系统症状者更为罕见, 该病临床表现和病理特征均缺乏特异性, 容易引起临床医生和病理医生的误诊.

■同行评议者
张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

■研发前沿
应用同种异基因外周血干细胞移植、骨髓移植或脐带血干细胞移植进行免疫重建以消除EB病毒(Epstein-Barr virus)感染细胞有望成为今后治疗CAEBV主要方法.

Li XJ, Qu LJ, Zheng XW, Chen LH, Dong J, Li DL, Pan C, Lv XJ, Zheng ZY. Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2325-2330 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2325.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2325

摘要

目的: 探讨慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis, CAEBVH)的临床病理特征、诊断、鉴别诊断、治疗方法和预后.

方法: 报道2例CAEBVH, 总结其临床表现、病理特征、诊断及鉴别诊断、治疗及预后, 并结合文献进行分析讨论.

结果: 两例患者为青少年男性, 例1主要表现为发热、黄疸、肝脾肿大、肝功能异常, 例2首先以血生化检查肝功能异常为特征, 后期出现双下肢水肿、尿黄、乏力、脾大, 伴中枢神经系统症状. 活检肝组织于光镜下观察: 两例均出现不同程度的肝细胞大泡性脂肪变性和纤维组织增生, 肝小叶内可见点灶状坏死, 肝窦内成串淋巴细胞浸润, 界板炎和汇管区炎症. 电镜观察: 慢性肝炎, 肝细胞脂肪变性及纤维增生, 未见髓鞘样小体、特征性溶酶体、乙肝表面抗原等特征性病变结构. EBER原位杂交均检出细胞核阳性的淋巴细胞. 例1病程为2年零4 mo, 例2病程为13年零5 mo, 最终均死亡.

结论: 慢性活动性EB病毒感染肝炎的临床表现不具有特异性, 易于误诊或漏诊. 病理学特点为大泡性脂肪变, 肝窦内成串淋巴细胞浸润, 肝小叶点灶状坏死, 界板炎和汇管区炎症, 以及EBER原位杂交均检出细胞核阳性的淋巴细胞. 该病预后差, 早期诊断是治疗的关键.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: EB病毒; 慢性感染; 病毒性肝炎; 中枢神经系统症状

核心提示: 对于无法用其他原因解释的反复发热、肝功能异常等症状, 伴或不伴神经系统损害症状时都应考虑到慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis)的可能, 以实现早期诊断, 为临床治疗提供合适的时机.

李鑫静, 曲利娟, 郑雄伟, 陈丽红, 董菁, 李东良, 潘晨, 吕旭江, 郑智勇. 慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2325-2330 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2325.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2325

0 引言

慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis, CAEBVH)少见, 伴有明显中枢神经系统症状者更鲜有报道[1], 因此临床上容易误诊或漏诊. 现报道我科诊断的两例CAEBVH, 其中1例后期伴有明显的中枢神经系统症状, 结合文献进行分析讨论, 以提高对该疾病的认识.

1 材料和方法

1.1 材料 选取南京军区福州总医院病理科2011-2012年诊治的2例慢性活动性EB病毒性肝炎

1.2 方法 2例肝穿组织石蜡切片行HE、网纤-Masson染色, EliVision法免疫组织化学HBsAg、HBcAg染色, 罗丹宁铜染色, 普鲁士蓝铁染色, EBER原位杂交检测; 透射电镜检查. 免疫组织化学染色所用HBsAg、HBcAg和EliVision试剂盒均购自福州迈新公司, EBER原位杂交试剂盒购自福州泰普生物科学有限公司.

2 结果

2.1 临床资料 病例1, 男, 24岁, 以“反复眼黄、尿黄2年, 加剧并疲乏、腹胀2 wk.”为主诉入院. 两年前无明显诱因出现眼黄、尿黄、皮肤黄就诊当地医院, 血培养检出液化沙雷菌, 考虑败血症, 予抗感染治疗, 症状缓解后出院. 此后反复出现上述症状并伴有发热, 其中一次最高体温达40 ℃, 持续20 d, 多次住院予抗感染及保肝等治疗, 病情好转后出院, 但定期复查肝功能仍有波动. 期间3次肝穿, 病理诊断为: 中度慢性肝炎伴肝细胞大泡性脂肪变(第1次穿刺G3、S0、F3, 第2次G3、S1、F3, 第3次G3、S1、F4); 免疫组织化学HBsAg、HBcAg染色均阴性, 病因结合临床. 本次入院查体: 全身皮肤无黄染, 巩膜轻度黄染; 肝右肋下4 cm、剑突下4 cm可触及, 质地偏实; 实验室检查: 淋巴细胞59.34%, 粒细胞33.64%, 粒细胞计数1.36/L, 尿胆红素强阳性, 尿胆原16 μmol/L, 总胆红素(total bilirubin, TBIL)98 μmol/L, 结合胆红素(conjugative bilirubin, DBIL)71.3 μmol/L, 白蛋白(albumin, ALB)34.4 g/L, 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)416 U/L, 谷草转氨酶(aspartate amino-transferase, AST)436 U/L, 谷酰转

肽酶(glutamyltransferase, GGT)466 U/L, 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)1284 U/L, 铜蓝蛋白428 mg/L, 内毒素鲎定量测定、肺炎支原体抗体、肝病自身抗体、ds-DNA、ANA谱、甲型肝炎抗体、丙型肝炎抗体、戊型肝炎抗体及乙型肝炎两对半均阴性, 巨细胞病毒IgG阳性、IgM阴性, EB病毒抗体IgA 3.30 S/CO(参考值S/CO<1), 血铜 24.89 μmol/L; 彩超显示肝脾肿大, 脂肪肝, 少量腹水. 行第4次肝穿, 送光镜病理检查.

病例2, 男, 23岁, 以“反复肝功异常13年余, 乏力、纳差、腹胀、肢肿、尿黄及发作性意识不清伴行走困难3 mo余”为主诉, 坐轮椅送入院. 13年前体检发现肝功异常, HBsAg阳性, B超提示肝肿脾大; 第1次肝穿病理诊断“轻度慢性肝炎(G1, S0), 结合血清学检查结果符合乙型肝炎”, 临床诊断“肝硬化活动期”; 之后多次复查肝功能指标反复轻度异常, 期间服用保肝、抗纤维化等药物治疗. 5年前复查肝功ALT 45 U/L, AST 78 U/L, 铜蓝蛋白0.65/L, CMV IgM、IgG均阴性, 血清HCV-RNA、HBsAg和HBcAg均阴性; 行第2次肝穿刺术, 病理诊断“病因不明中度慢性肝炎(G3, S2-3), HBsAg和HBcAg均阴性”; 继续服用保肝、抗纤维化等药物治疗, 期间肝功能ALT 43-96 U/L, AST 39-93 U/L. 3 mo前出现乏力不适, 食欲减退, 伴眼黄、尿黄, 并无明显诱因出现发作性意识不清伴行走困难; 就诊上海某大医院, 拟诊“异常代谢性脑脊髓疾病: 遗传代谢性脑病(尼曼匹克C型可能)”, 行头颅MRI、串联质谱检测、尼曼匹克病及戈谢氏病酶学检查但无阳性发现, 予“美能、多烯磷脂酰胆碱及保肝治疗”, 症状无明显改善. 本次入院查体: 神志清楚, 对答尚可, 智力下降, 言语不清, 定向力、计算力、记忆力均减退, 皮肤巩膜中度黄染, 见肝掌, 右肋下未触及肝脏, 左肋缘下5.0 cm触及脾脏, 腹部移动性浊音阳性, 双下肢中度凹陷性水肿, 双上肢肌力4级, 双下肢2级, 全身肌张力升高, 四肢腱反射亢进, 踝震挛阳性, 四肢感觉无异常, 巴彬斯基征阳性; 实验室检查: ALB 14 g/L、GLB 20 g/L, ALT 182 U/L, AST 266 U/L, GGT 93 U/L, AKP 362 U/L, CHE 1178 U/L, 血尿素氮2.5 mmol/L, Cr 34 μmol/L, PT 16.5 s, APTT 45.2 s, 肝纤维化PIIIP 171.3 ng/mL, 肝炎病毒相关抗体均阴性, 乙肝病毒DNA<420 IU/mL, HIV-Ag/Ab阴性. 上腹部CT示肝硬化, 脾脏增大, 胃底静脉曲张, 肝脏脂肪浸润. 行第3次肝穿, 送光镜及电镜检查.

2.2 光镜 两例肝穿组织形态学大体一致, 肝小叶结构存在, 肝细胞水肿, 显著大泡性脂肪变性, 中度肝细胞内淤胆, 中度点灶状坏死; 肝小叶及汇管区较多淋巴单核细胞、少量中性粒细胞、浆细胞及嗜酸粒细胞浸润, 肝窦内Kupffer细胞增多并见“串样”排列的淋巴细胞; 汇管区轻度纤维组织增生(图1). 例2还可见轻度界板炎和轻度桥接坏死; 门-门型纤维间隔形成.

2.3 免疫组织化学 HBsAg、HBcAg染色均阴性.

2.4 特染 铜、铁染色均阴性.

2.5 电镜 例1肝小叶结构存在, 肝细胞显著大泡性脂滴, 明显水肿、空泡变性, 肝细胞较多核空泡变性, 肝细胞糖原增多, 线粒体形态大小正常; 窦间隙少量炎症细胞浸润, 局灶纤维组织增多; 未见汇管区. 例2肝细胞水肿变性, 线粒体增多, 糖原稍多, 中量大小泡性脂滴, 明显淤胆, 点灶性坏死; 窦间隙Kupffer细胞增多, 肝细胞间纤维组织明显增多; 汇管区扩大, 纤维组织增生, 少许炎症细胞浸润.

2.6 原位杂交EBER检测 肝组织中浸润淋巴细胞核EBER阳性(占5%-10%), 阳性细胞分布散在或聚集(图2). 再取两例患者此前的所有肝穿标本行原位杂交EBER检测, 均可见到少量淋巴细胞核阳性.

2.7 病理诊断 病例1(第4次肝穿)慢性活动性EB病毒性肝炎(G3、S1、F4). 请临床查血清EB病毒DNA含量, 为462000 IU/mL(正常值<1000 IU/mL). 临床给予保肝、提高免疫力、抗EB病毒等治疗, 病情平稳后出院. 此后4 mo内患者又多次发病, 先后就诊于多家医院. 后期因出现反复消化系出血, 病情危重, 患者及家属放弃治疗. 病例2(第3次肝穿)慢性活动性EB病毒性肝炎(G3, S2, F2). 请临床查血清EB病毒DNA含量, 为57700 IU/mL. 临床给予保肝、抗病毒及对症等治疗, 但治疗效果不佳, 中枢神经系统损害进行性加重, 2 mo后因循环衰竭病逝.

3 讨论

3.1 临床特点 EB病毒感染通常引起急性感染, 发病年龄常在5岁以前, 无明显症状或表现为传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis disease, IM), 病程具有自限性; 少部分病人可发展为慢性活动性EB病毒感染(chronic active EB virus infection, CAEBV), 以持续或反复的IM样症状为主要特征, 并可累及全身多系统、器

■相关报道
2007年Suh等对EB病毒性肝炎的肝组织病理特征进行了详细描述.

■创新盘点
本文主要对2例CAEBVH的临床诊疗经过、病理形态学特征及病毒学检查结果进行总结分析，并复习相关文献，探讨CAEBVH的临床病理特征及病毒学检查特点.

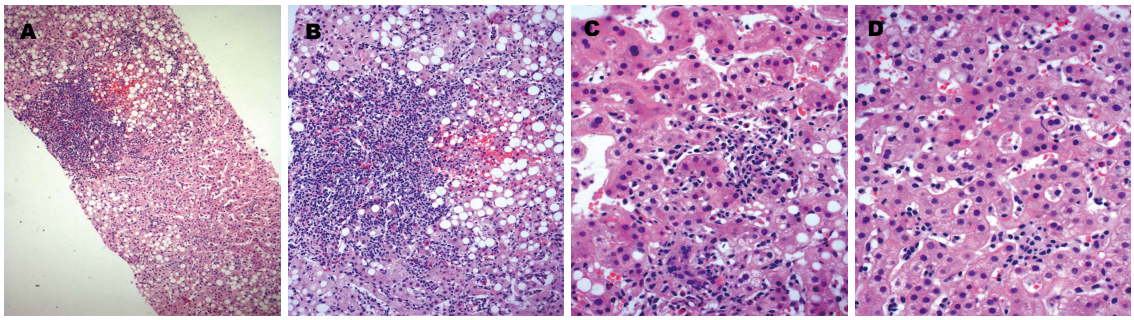


图 1 肝细胞显著大泡性脂肪变性，点灶状坏死，肝细胞内淤胆，肝窦内见“串样”排列的淋巴细胞，汇管区淋巴单核细胞集结(HE染色). A: ×40; B: ×200; C, D: ×400.

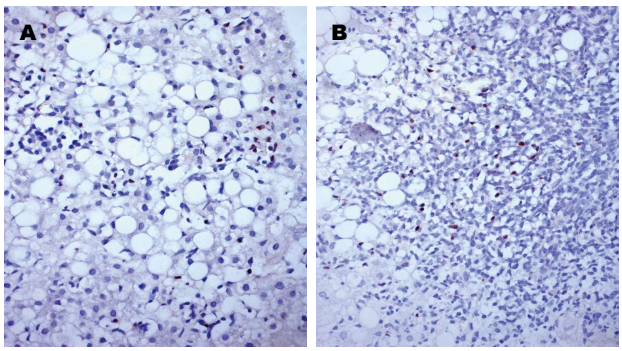


图 2 炎症细胞中散在EBER阳性淋巴细胞. A, B: ×400.

官[1,2]. CAEBV临床表现多样，突出表现主要有反复发热、淋巴结病变、肝功能异常、肝脾肿大、间质性肺炎等，其他少见症状有中枢神经系统病变、心肌炎、肠穿孔等；实验室检查出现EBV-DNA水平升高和EBV相关抗体滴度异常升高[2-4]. CAEBV引起的肝炎临床表现常无特异性，易误诊、漏诊. 本组两例均为青壮年，病例1表现为反复发热、黄疸、肝功能异常、肝脾肿大，而无其他特异表现，每次住院抗感染、保肝等治疗症状可暂时缓解，但病情反复，最终因肝衰竭、消化道大出血死亡. 病例2病程长达13年，晚期时除了乏力、纳差、腹胀、肢肿、尿黄等肝硬化相关症状、体征外，同时伴无明显诱因的发作性意识不清，伴有行走困难等中枢神经系统损害表现，可能由于EB病毒脑炎所致. 该患者出现中枢神经系统损害症状后，病情进展迅速，发病到死亡仅5 mo左右. 中枢神经系统受累是CAEBV较为少见的合并症之一，常给诊断增加困难，同时可能提示疾病预后不佳.

3.2 病理特征 2007年Suh等[5]对8例EB病毒性肝炎的肝活检组织形态进行了详细描述，每例都有汇管区炎症，炎症细胞以淋巴细胞主，特征性肝窦内淋巴细胞浸润；其他还可有肝细胞脂肪变性、气球样变、肝小叶内小肉芽肿和胆管等改变. EBER原位杂交可见阳性细胞或PCR检测EBV-DNA阳性. 本组两例也出现类似病理特征：汇管区以淋巴细胞为主要浸润细胞，肝窦内串珠样淋巴细胞浸润，肝细胞点灶状坏死，肝轻度界板炎；另外在疾病不同阶段还出现不同程度的肝细胞大泡性脂肪变性和纤维组织增生；肝组织内EBER原位杂交检出阳性细胞. 透射电镜检查均表现为慢性肝炎，脂肪变性，而无髓鞘样小体、特征性溶酶体、乙型肝炎表面抗原等特征性病变结构.

通过对比两例患者的多次肝活检组织学发现，肝小叶及汇管区炎症在保肝、抗感染等治疗后有所减轻，而肝细胞脂肪变及纤维组织增生随病程逐步进展，提示肝损害呈慢性不可逆发展. 两例患者前后数次肝活检组织行EBER原位杂交都检测出阳性细胞，即在病变早期肝组织内就可检测EB病毒感染阳性细胞，且肝损害逐步进展，这可能提示患者长期处于慢性活动性EB病毒感染状态，使肝脏病变慢性进行性发展，到后期肝脏严重硬化. CAEBVH虽然形态学无特异表现，但肝窦内出现“串珠样”排列的单个核细胞可提示需对疾病进一步行病毒学检查[5].

3.3 诊断与鉴别诊断 目前CAEBV的诊断多采用2005年Okano等[6]提出的诊断标准(必须同时满足以下3个标准)：(1)持续或反复IM样临床表现：

主要为长期或反复发热、淋巴结肿大、肝脾肿大; 一些患者也出现血液系统、消化系统、神经系统、肺部、心血管系统、眼、耳和皮肤等并发症; (2)特定EBV抗体谱(anti-EBV antibody patterns): VCA-IgG抗体和EA-IgG抗体滴度显著升高; 和或受累组织(包括血浆和外周血细胞)EBV拷贝数升高; (3)临床表现不能用其他慢性疾病解释. 对于诊断EB病毒性肝炎, 而Kimura H等[7]对30例CAEBV患者的分析中, 有部分患者EB病毒相关抗体滴度并不高, 认为抗体滴度改变并非诊断必需并指出外周血EBV DNA>102.5 copies/μg可作为CAEBV的诊断依据. Drebber等[8]则提出, 血生化检查肝功能异常、EB病毒血清学检查阳性、典型的组织学形态及EBV-DNA或EBER检查阳性是诊断必不可少的4个指标.

本组2例临床表现多样, 临床上曾长期未能对病因做出正确诊断, 最后根据肝窦内串珠样淋巴细胞排列方式的提示, 通过原位杂交方法检测出EBER阳性淋巴细胞, 最终确诊为CAEBVH; 此后再查血清EBV-DNA含量均显著升高. 诊断CAEBVH需排除其他疾病所致肝炎, 比如自身免疫性肝炎, 是以肝细胞损害为主的慢性进行性肝炎[9], 其临床表现和病毒学检查都可能与CAEBVH相似, Chiba等[10]即报道过CAEBV引起的肝炎被误诊为自身免疫性肝炎. 而本组通过自身免疫抗体及其他病毒相关抗体检测等检验指标、免疫组织化学染色和透射电镜检查排除了自身免疫性肝炎、Wilson病、糖原累积症及甲乙丙戊型肝炎等疾病. 此外例2患者晚期伴有明显中枢神经系统症状, 需要与一些先天性代谢性疾病如尼曼-匹克病、戈谢氏病等鉴别, 这些疾病常有肝损害、肝脾肿大等表现, 并可出现不同程度的神经系统症状; 鉴别要点为尼曼-匹克病和戈谢氏病患者的外周单核吞噬细胞、骨髓及肝组织中可见特征性因脂类蓄积于吞噬细胞内而形成的尼曼-匹克细胞或戈谢氏细胞, 肝活检EBER原位杂交无阳性细胞. 本组病例提示对于无法用其他原因解释的反复发热、肝功能异常等症状, 伴或不伴神经系统损害症状时都应考虑到CAEBV的可能.

3.4 *治疗及预后* CAEBV预后差, 病死率较高, 而目前针对慢性活动性EB病毒感染相关疾病的规范治疗方案尚待建立, 抗病毒药物、免疫制剂、等治疗无明显效果或只有短暂缓解作用[3,11]. 本报道例1患者在诊断结果明确后临床给予保肝、提高免疫力、抗EB病毒等治疗, 但病情反复, 后期因反复消化道出血, 病情危重, 患者及家属放弃治疗. 病例2患者在诊断明确后经抗EB病毒、抗肝纤维化、提高免疫力等治疗, 病情无明显改善, 明确诊断到死亡的时间仅2 mo. 关于其他治疗措施, 有输注自体EBV特异性细胞毒细胞(EBV-CTL)治疗成功的报道[12,13]. 而近年更多的研究热点在于通过同种异基因外周血干细胞移植、骨髓移植或脐带血干细胞移植达到免疫重建, 消除EBV感染细胞[3,14-16]. 通过以上方法重建机体对EB病毒的有效免疫或成为今后治疗的主要选择, 但这些方法治疗CAEBVH的效果受到治疗时机、移植后并发症等因素的影响. 早期诊断是免疫重建治疗取得合适时机的关键. 实现早期诊断、早期治疗则有赖于更全面的认识该疾病, 提高对该疾病的敏感性.

■**应用要点**
CAEBVH的临床表现和组织形态学表现无特异性, 容易误诊、漏诊. 在原因不明的肝炎的诊断中应想到此病的可能, 组织病理特征结合病毒学检查有助于鉴别诊断.

志谢: 例1的病理诊断承蒙上海东方肝胆医院病理科丛文铭教授的指导, 例2的病理诊断承蒙北京中日友好医院病理科王泰龄教授的指导, 特此志谢!

4 参考文献

1 彭向欣, 王泰龄. EB病毒性肝炎. 肝脏疾病临床病理学. 北京: 化学工业出版社, 2010: 118-126
2 Kimura H, Morishima T, Kanegane H, Ohga S, Hoshino Y, Maeda A, Imai S, Okano M, Morio T, Yokota S, Tsuchiya S, Yachie A, Imashuku S, Kawa K, Wakiguchi H. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 2003; 187: 527-533 [PMID: 12599068 DOI: 10.1086/367988]
3 Cohen JI, Jaffe ES, Dale JK, Pittaluga S, Heslop HE, Rooney CM, Gottschalk S, Bollard CM, Rao VK, Marques A, Burbelo PD, Turk SP, Fulton R, Wayne AS, Little RF, Cairo MS, El-Mallawany NK, Fowler D, Sportes C, Bishop MR, Wilson W, Straus SE. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: a 28-year experience in the United States. *Blood* 2011; 117: 5835-5849 [PMID: 21454450 DOI: 10.1182/blood-2010-11-316745]
4 Kimura H, Hoshino Y, Hara S, Sugaya N, Kawada J, Shibata Y, Kojima S, Nagasaka T, Kuzushima K, Morishima T. Differences between T cell-type and natural killer cell-type chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 2005; 191: 531-539 [PMID: 15655776]
5 Suh N, Liapis H, Misdraji J, Brunt EM, Wang HL. Epstein-Barr virus hepatitis: diagnostic value of in situ hybridization, polymerase chain reaction, and immunohistochemistry on liver biopsy from immunocompetent patients. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 1403-1409 [PMID: 17721196 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31802ffdd5]
6 Okano M, Kawa K, Kimura H, Yachie A, Wakiguchi H, Maeda A, Imai S, Ohga S, Kanegane H, Tsuchiya S, Morio T, Mori M, Yokota S, Imashuku S. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol* 2005; 80:

■同行评价
本文准确反映了研究工作的科学问题和特定内容，简明而有特色. 文章条理分明，有系统的理论分析和有价值的科学结论. 尤其对检验手段相对匮乏的基层医院医生帮助较大.

64-69 [PMID: 16138335 DOI: 10.1002/ajh.20398]

7 Kimura H, Hoshino Y, Kanegane H, Tsuge I, Okamura T, Kawa K, Morishima T. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection. *Blood* 2001; 98: 280-286 [PMID:11435294]

8 Drebber U, Kasper HU, Krupacz J, Haferkamp K, Kern MA, Steffen HM, Quasdorff M, Zur Hausen A, Odenthal M, Dienes HP. The role of Epstein-Barr virus in acute and chronic hepatitis. *J Hepatol* 2006; 44: 879-885 [PMID: 16554102 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.02.006]

9 崔俊, 吴承荣, 刘运祥, 黄留业. 自身免疫性肝病的临床及影像学分析43例. 世界华人消化杂志 2009; 22: 2320-2325

10 Chiba T, Goto S, Yokosuka O, Imazeki F, Tanaka M, Fukai K, Takahashi Y, Tsujimura H, Saisho H. Fatal chronic active Epstein-Barr virus infection mimicking autoimmune hepatitis. *Eur J Gastroenterol* Hepatol 2004; 16: 225-228 [PMID: 15075999 DOI: 10.1097/00042737-200402000-00017]

11 Okano M. Therapeutic approaches for severe Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Hematol Oncol* 1997; 14: 109-119 [PMID: 9089739 DOI: 10.3109/08880019709030897]

12 Savoldo B, Huls MH, Liu Z, Okamura T, Volk HD, Reinke P, Sabat R, Babel N, Jones JF, Webster-Cyriaque J, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM. Autologous Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T cells for the treatment of persistent active EBV infection. *Blood* 2002; 100: 4059-4066 [PMID: 12393655 DOI: 10.1182/blood-2002-01-0039]

13 Hagihara M, Tsuchiya T, Hyodo O, Ueda Y, Tazume K, Masui A, Kanemura A, Yoshiba F, Takashimizu S, Matzusaki S, Kato S, Hotta T. Clinical effects of infusing anti-Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T-lymphocytes into patients with severe chronic active EBV infection. *Int J Hematol* 2003; 78: 62-68 [PMID: 12894853 DOI: 10.1007/BF02983242]

14 Taketani T, Kikuchi A, Inatomi J, Hanada R, Kawaguchi H, Ida K, Oh-Ishi T, Arai T, Kishimoto H, Yamamoto K. Chronic active Epstein-Barr virus infection (CAEBV) successfully treated with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 531-533 [PMID: 11960276 DOI: 10.1038/sj.bmt.1703392]

15 Ishimura M, Ohga S, Nomura A, Toubo T, Morihana E, Saito Y, Nishio H, Ide M, Takada H, Hara T. Successful umbilical cord blood transplantation for severe chronic active Epstein-Barr virus infection after the double failure of hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2005; 80: 207-212 [PMID: 16247742 DOI: 10.1002/ajh.20430]

16 Sato E, Ohga S, Kuroda H, Yoshiba F, Nishimura M, Nagasawa M, Inoue M, Kawa K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Epstein-Barr virus-associated T/natural killer-cell lymphoproliferative disease in Japan. *Am J Hematol* 2008; 83: 721-727 [PMID: 18626884 DOI: 10.1002/ajh.21247]

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》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T\frac{1}{2}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2331-2334
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗胃食管反流病60例

姜齐宏, 陈 艳, 王爱祥, 骆中华

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科 湖北省武汉市 430034
姜齐宏, 副主任医师, 主要从事消化内科及内镜的相关研究.
作者贡献分布: 此课题由姜齐宏设计; 研究过程由姜齐宏与陈艳实施完成; 数据分析由陈艳、王爱祥及骆中华完成; 本论文写作由姜齐宏、陈艳、王爱祥及骆中华共同完成.
通讯作者: 陈艳, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路50号, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科. cy0226@163.com
收稿日期: 2013-07-10 修回日期: 2013-07-23
接受日期: 2013-07-26 在线出版日期: 2013-08-18

Efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with anxiety: An analysis of 60 cases

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang, Zhong-Hua Luo

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang, Zhong-Hua Luo, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to TongJi Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China
Correspondence to: Yan Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 50 Gutian Sanlu, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. cy0226@163.com
Received: 2013-07-10 Revised: 2013-07-23
Accepted: 2013-07-26 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in the treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with clinical anxiety.

METHODS: One hundred and eighty young or middle-aged patients were randomly and equally divided into three groups: A, B and C. Group A was treated with aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit, group B was treated with esomeprazole and Deanxit, and group C was treated with aluminum magnesium carbonate and Deanxi. Clinical remission, extent of repair of the esophageal and gastric mucosa and adverse reactions were compared between the three groups.

RESULTS: After treatment, the number of responders was 58 (96.67%) in group A, 49 (81.67%) in group B, 37 (61.67%) in group C, and the number of patients developing recurrence in the three groups was 1, 8 and 23, respectively. The total response rate, recurrence rate, the extent of repair of the esophageal and gastric mucosa, and the incidence of adverse reactions were better in group A than in groups B and C (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit are effective in the treatment of gastroesophageal reflux disease with anxiety in terms of symptom relief and repair of the esophageal and gastric mucosa.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Triple therapy; Efficacy

Jiang QH, Chen Y, Wang AX, Luo ZH. Efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with anxiety: An analysis of 60 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2331-2334 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2331.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2331

摘要

目的: 研究分析铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪的临床疗效.

方法: 将180例中青年患者随机分为3组. A组60例, 采用埃索美拉唑+黛力新+铝碳酸镁治

■背景资料
近年来, 胃食管反流病在中青年患者中发病呈上升趋势, 且患者常伴有焦虑、失眠等精神症状. 传统的质子泵抑制剂和抗反流药物联合治疗效果差强人意, 因此, 本文期望能探索出快速控制症状的临床药物治疗方法.

■同行评议者
沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科; 马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

■相关报道
有研究报道，抗焦虑联合兰索拉唑、依托必利治疗难治性胃食管反流病的取得较好临床疗效观察.

疗; B组60例, 采用埃索美拉唑+黛力新治疗; C组60例, 采用铝碳酸镁+黛力新治疗. 观察3组患者的临床症状缓解情况、食管黏膜和胃黏膜的修复程度及其不良反应.

结果: 经治疗后, A组有效58例, 总有效率为96.67%, 复发1例; B组有效49例, 总有效率为81.67%, 复发8例; C组有效37例, 总有效率为61.67%, 复发23例, 经过比较分析, A组的有效率、复发率及食管黏膜和胃黏膜的修复程度均好于B、C组(P<0.05), 且不良反应较少.

结论: 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪, 效果明显, 可明显缓解症状, 修复食管黏膜和胃黏膜.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃食管反流病; 三联疗法; 疗效分析

核心提示: 胃食管黏膜损伤与接触酸性和/或碱性反流物相关, 且中青年胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)患者多伴有焦虑情绪, 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪, 效果明显, 可明显缓解症状, 修复食管黏膜和胃黏膜.

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华. 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗胃食管反流病60例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2331-2334 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2331.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2331

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃、十二指肠内容物反流入食管引起的以烧心、反酸为主要特征的临床综合征, 分生理性和病理性两种. 其典型症状为烧心、反酸、反胃、胸痛、上腹部疼痛和恶心等, 患者常伴有焦虑、抑郁、失眠等精神症状. 亚洲地区以每周至少发生一次烧心或反酸为标准, 亚洲大部分地区GERD患病率在2.5%-7.1%, 近年来呈上升趋势[1]. 该病已成为严重影响中青年患者生活、工作、学习等质量的消化道疾病之一. 本文对铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病的临床疗效观察, 现报告如下.

■创新盘点
本文的不同及创新之处在于针对食管的炎症程度与酸性和/或碱性反流物的接触时间相关, 在抑酸的同时加用铝碳酸镁抗胆汁酸, 再联合黛力新的抗焦虑作用, 多方面的达到快速控制胃食管反流病的症状.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-06/2012-12于我院消化内科就诊的胃食管反流病中青年患者共180例.

入选原则: (1)年龄18-59岁, 具有明显烧心和(或)反酸、吞咽困难和胸痛等症状, 伴有焦虑、失眠; (2)内镜检查证实为GERD, 食管炎分级[2]标准为: A级, 黏膜皱襞表面黏膜破损, 直径<5 mm; B级, 黏膜皱襞表面黏膜破损, 直径>5 mm; C级, 黏膜破损互相融合, 范围不超过食管周径的75%; D级, 黏膜破损互相融合, 范围并累及食管周径的75%以上; (3)病程3-24 mo. 排除标准: (1)患有上消化道出血、十二指肠溃疡、胃溃疡、Barrett食管、胃底和食管肿瘤、严重肝肾功能损害者及有胃部手术史的患者; (2)心电图或腹部彩色多普勒超声检查发现存在其他疾病的患者; (3)最近10 d内服用过质子泵抑制剂或抑酸、制酸、促进胃动力药以及对本试验药物或同类药物有过敏史的患者. 将患者随机分为A、B、C 3组. 具体资料(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者均实行健康的饮食习惯和生活方式, 避免应用引起胃动力不足、引起胃排空延迟或降低食管下括约肌压的药物. A组: 埃索美拉唑(阿斯利康制药有限公司)20 mg, bid, 每日早晚餐前30 min温开水送服, 1 mo后改为20 mg, qd, 每日早餐前30 min温开水送服+铝碳酸镁片(北京拜耳医药保健有限公司)1000 mg, tid, 餐后2 h嚼服+黛力新(丹麦灵北制药有限公司)1粒/次, bid, 早、中餐后口服; B组: 埃索美拉唑20 mg, bid, 每日早晚餐前30 min温开水送服, 1 mo后改为20 mg, qd, 每日早餐前30 min温开水送服+黛力新1粒/次, bid, 早、中餐后口服; C组: 铝碳酸镁片1000 mg, tid, 餐后2 h嚼服+黛力新1粒/次, bid, 早、中餐后口服. 疗程均为8 wk.

1.2.2 疗效观察: 观察两组患者症状缓解情况, 食管黏膜和胃黏膜的修复程度及其不良反应.

1.2.3 疗效评定标准: 治愈: 临床症状、体征消失, 内镜检查食管及胃部黏膜糜烂、溃疡消失; 好转: 临床症状、体征减轻, 内镜检查原食管炎分级下降; 无效: 临床症状、体征无变化, 内镜检查原食管炎分级无变化. 复发: 治愈或好转后症状再次出现. 治愈和好转之和为有效.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理, 采用t检验. P<0.05差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗效果 由表2可知, A组有效58例, 无效2例, 总有效率为96.67%, 有1例复发; B组有效49例, 无效11例, 总有效率为81.67%, 有8例复发; C

表 1 全部患者临床资料 (n)

分组	A组	B组	C组
人数	60	60	60
性别			
男	33	37	42
女	27	23	18
食管炎分级			
A级	23	25	28
B级	15	13	11
C级	12	11	10
D级	10	11	11
症状			
反酸	55	53	51
烧心	54	55	53
嗳气	50	52	51
腹胀	51	53	49
吞咽困难	24	30	27
胸痛	18	19	20

A组: 采用埃索美拉唑+黛力新+铝碳酸镁治疗; B组: 采用埃索美拉唑+黛力新治疗; C组: 采用铝碳酸镁+黛力新治疗.

组有效37例, 无效23例, 总有效率为61.67%, 有23例复发. A组的临床有效率和复发率明显高于B组和C组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 不良反应 A组出现2例头晕, 3例腹泻, 2例腹胀、腹痛; B组出现1例腹泻, 1例腹胀、腹痛; C组出现1例头晕, 1例腹胀、腹痛. A、B、C 3组的不良反应发生率分别为11.67%、3.33%、3.33%, 经分析比较差异无统计学意义(P>0.05), 且上述不良反应患者均能耐受, 后自行缓解, 未停药处理.

3 讨论

GERD的主要病因是由于中下段食管括约肌功能障碍, 防御机制削弱, 胃内容物反流及食管酸清除能力下降, 导致的一系列慢性症状和食管黏膜损害. 主要的变化为食管下段括约肌压力降低, 一过性食管下括约肌松弛过度等[3-6]. 治疗目标是消除临床症状、使患者的生活质量提高. 基本的治疗方法即为抗酸疗法.

Vaezi等[7]研究发现, 食管同时暴露于胃酸及十二指肠内容物, 是GERD最常见的反流模式, 则需要应用清除胆汁的药物进行治疗. 埃索美拉唑作为质子泵抑制剂的新型代表药物, 是奥美拉唑的S型异构体, 具有比奥美拉唑更低的首过消除效应及更高的生物利用度, 具有较强的抑酸作用, 降低反流物酸度及胃蛋白酶活性, 可以达到抑制反流症状以及治愈糜烂性食管炎的目的[8].

表 2 3组患者疗效比较 (n = 60)

分组	治愈	好转	无效	总有效率(%)	复发
A组	45	13	2	96.67	1
B组	36	13	11	81.67	8[a]
C组	17	20	23	61.67	23[a]

[a]P<0.05 *vs* A组. A组: 采用埃索美拉唑+黛力新+铝碳酸镁治疗; B组: 采用埃索美拉唑+黛力新治疗; C组: 采用铝碳酸镁+黛力新治疗.

胆汁在GERD的发生、发展中的作用已逐步被认识. 胆汁包括结合型胆汁酸、未结合性胆汁酸和磷脂, 浓度超过生理水平并延长作用时间时, 则能引起胃食管黏膜糜烂溃疡; 在酸性环境中, 结合型胆汁酸及溶血卵磷脂的损伤作用显著增强[9]. 铝碳酸镁片, 其表层具有网状晶格结构, 能吸附胃中的胆汁酸, 吸附率可以高达100%, 从而能避免游离出的胆汁酸损伤患者的胃黏膜. 当患者的胃液pH<3时, 铝碳酸镁片表层的网状晶格结构即可溶出OH^-以中和胃酸, 使得胃液中pH值升高; 当患者的胃液pH>5时, 铝碳酸镁片不会溶出OH^-, 以将胃液的pH值维持在3-5的范围内[10]. 有研究发现食管的炎症程度与酸性和/或碱性反流物的接触时间相关, 当食管黏膜防御屏障受损时, 即使在正常反流情况下, 亦可发生食管炎[11]. 铝碳酸镁片在酸性环境下结合胆汁酸, 抑制卵磷脂的激活, 吸附于黏膜表面快速缓解症状.

近年来, 随着医学模式的转变, 有研究指出精神、心理状态对胃肠、食管的发病起到一定的作用[12]. 尤其中青年是社会的中坚力量, 生活、工作压力尤其突出, 黛力新为新型的三环类抗焦虑抑郁合剂, 含小剂量三氟噻吨和四甲蒽丙胺, 提高突触间多巴胺、5-羟色胺等抑制神经递质, 从而改善焦虑情绪, 调节植物神经功能, 降低躯体症状感受阈值, 有助改善精神感知异常[13-15]. 三者联用, 增强了中和胃酸的作用, 快速清除胆盐作用, 从而使对抗胃反流作用增强, 而且改善食管下段括约肌功能障碍, 疗效强且缓解症状快速.

因此, 我们选择了质子泵抑制剂埃索美拉唑和胃黏膜保护剂铝碳酸镁片以及抗焦虑制剂黛力新联合治疗GERD伴焦虑情绪的治疗方案. 本实验证明, 经三者联用治疗后, 有效58例, 无效2例, 总有效率为96.67%, 仅1例复发, 较两者联用

■相关报道
埃索美拉唑、达喜、联合黛力新治疗中青年胃食管反流病控制症状疗效确切, 不良反应少, 且患者能耐受, 患者容易接受, 值得临床推广.

■同行评价
本文设计合理可靠, 统计学处理方法的使用恰当, 科学结论明确, 实验证据充足, 较好地反映了我国胃肠病学临床研究的先进水平.

有显著性差异(P<0.05). 且不良反应少, 患者易耐受. 可见, 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪的疗效明显, 不良反应小, 值得临床推广应用.

4 参考文献

1 Wu JC. Gastroesophageal reflux disease: an Asian perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1785-1793 [PMID: 19120871 DOI: 10.1111/j/1440-1746.2008.05684.x]

2 Nozu T, Komiyama H. Clinical characteristics of asymptomatic esophagitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 27-31 [PMID: 18297432 DOI: 10.1007/s00535-007-2120-2]

3 周吕, 柯美云. 胃肠动力学. 北京: 科学出版社, 1999: 634

4 Bollschweiler E, Knoppe K, Wolfgarten E, Hölscher AH. [Prevalence of reflux symptoms in the general population of Cologne]. *Z Gastroenterol* 2007; 45: 177-181 [PMID: 17304403 DOI: 10.1055/s-2006-927402]

5 Diaz-Rubio M, Moreno-Elola-Olaso C, Rey E, Locke GR, Rodriguez-Artalejo F. Symptoms of gastro-oesophageal reflux: prevalence, severity, duration and associated factors in a Spanish population. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 95-105 [PMID: 14687171 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01769.x]

6 Wong BC, Kinoshita Y. Systematic review on epidemiology of gastroesophageal reflux disease in Asia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 398-407 [PMID: 16616342 DOI: 10.1016/j.cgh.2005.10.011]

7 Vaezi MF, Richter JE. Role of acid and duodeno-gastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996; 111: 1192-1199 [PMID: 8898632 DOI: 10.1053/gast.1996.v111.pm8898632]

8 王河, 汪安江, 朱萱. 胃食管反流病药物治疗进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1711-1719

9 刘芳, 姚萍. 原发性胆汁反流性胃炎与胃食管反流病的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20: 685-689

10 Wu JC, Cheung CM, Wong VW, Sung JJ. Distinct clinical characteristics between patients with nonerosive reflux disease and those with reflux esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 690-695 [PMID: 17481961 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.02.023]

11 祝喜萍, 朱春兰, 任旭, 李强, 姜子晔. 轻度反流性食管炎与非糜烂性反流病远端食管酸暴露和食管动力学变化. 世界华人消化杂志 2012; 20: 319-322

12 彭丽华, 梁浩. 抑郁症与消化道功能性疾病. 世界华人消化杂志 1999; 7: 601

13 章顺国, 牛小平, 刘少锋. 黛力新辅助治疗老年性非糜烂性反流病合并心理障碍的临床研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 1014-1015

14 刘艳, 黄素娴, 黄妙娟, 陈晓红, 俞红华. 黛力新治疗胆汁反流性残胃炎并焦虑抑郁的疗效观察. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 1107-1109

15 陈浩, 林李淼, 郑君杰. 黛力新治疗无明显精神症状的腹泻型感染后肠易激综合征30例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 733-736

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》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.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2335-2343
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病的系统评价

李 韦, 王 枫, 吕宗舜, 张爱青

李韦, 吕宗舜, 张爱青, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052
王枫, 天津市人民医院消化科 天津市 300121
李韦, 主要从事肝脏疾病方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由李韦设计; 研究过程由李韦、王枫、吕宗舜及张爱青完成; 本论文写作由李韦与王枫完成.
通讯作者: 吕宗舜, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科. zyyxhk@126.com
电话: 022-60362977
收稿日期: 2013-04-18 修回日期: 2013-05-25
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Efficacy of ursodesoxycholic acid in treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis

Wei Li, Feng Wang, Zong-Shun Lv, Ai-Qing Zhang

Wei Li, Zong-Shun Lv, Ai-Qing Zhang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China
Feng Wang, Department of Gastroenterology, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China
Correspondence to: Zong-Shun Lv, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. zyyxhk@126.com
Received: 2013-04-18 Revised: 2013-05-25
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of ursodesoxycholic acid in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Randomized controlled clinical trials comparing the efficacy of ursodesoxycholic acid alone or in combination with other drugs versus other drugs or placebo alone in the treatment of NAFLD were retrieved by searching PubMed, Embase, OVID, Cochrane Library , CNKI, and Wanfang database. Review Manager 5.0 was used for meta-analysis.

RESULTS: Compared to the ursodesoxycholic acid monotherapy group, the drug combination group had significantly improved total effective rate (RR = 1.23, 95%CI: 1.07-1.41, P = 0.004) and decreased serum levels of TC (WMD = -1.69, 95%CI: -2.77--0.62, P = 0.002), TG (WMD = -1.01, 95%CI: -1.59--0.43, P = 0.0006), ALT (WMD = -22.65, 95%CI: -35.27--10.04, P = 0.0004), and AST (WMD =- 21.93, 95%CI: -23.74--20.12, P < 0.00001). The decrease in GGT was significant in both the ursodesoxycholic acid monotherapy group and drug combination group (WMD = -21.96, 95%CI: -35.73--8.18, P = 0.002; WMD = -28.80, 95%CI: -51.85--5.76, P = 0.01). There was no statistically significant difference in the incidence of adverse reactions (RR = 2.26, 95%CI: 0.88-5.83, P = 0.09).

CONCLUSION: Ursodesoxycholic acid is effective and safe in the management of NAFLD, and better efficacy can be achieved when it is combined with other positive agents.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ursodesoxycholic acid; Nonalcoholic fatty liver disease; Meta-analysis

Li W, Wang F, Lv ZS, Zhang AQ. Efficacy of ursodesoxycholic acid in treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2335-2343 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2335.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2335

摘要

目的: 对熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的有效性及安全性进行评价.

方法: 在Pubmed、Embase、OVID、Cochrane Library和中国期刊全文数据库, 万方数据库系统中检索已发表的关于单独应用熊去氧胆酸及联合其他药物治疗NAFLD的随机对照临床试验. 根据纳入标准筛选后对纳入的研究利用Review Manager 5.0软件进行系统评价.

结果: 与熊去氧胆酸单用组相比, 联合用药组可明显提高治疗总有效率(RR = 1.23, 95%CI: 1.07-1.41, P = 0.004), 可明显降低血清总胆固醇(serum total cholesterol, TC)(WMD =

■背景资料
脂肪肝是由多种病因引起的肝内脂肪蓄积过多的病理学状态, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化, 可以发展至终末期肝病, 随着饮食结构和生活方式的转变, 脂肪肝在一般人群中的发病率呈现逐年上升趋势. 非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为全球关注的公共健康问题.

■同行评议者
郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科; 南极星, 教授, 延边大学药学院

■研发前沿
NAFLD的治疗主要为减轻体重、改变不良生活习惯以及药物治疗，但各种药物种类繁多，效果存在争议. 近年来有很多关于熊去氧胆酸治疗NAFLD的实验研究，但结果并不一致.

-1.69, 95%CI: -2.77--0.62, P = 0.002)、甘油三酯(triglyceride, TG)(WMD = -1.01, 95%CI: -1.59--0.43, P = 0.0006)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)(WMD = -22.65, 95%CI: -35.27--10.04, P = 0.0004)和天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)(WMD = -21.93,95%CI: -23.74--20.12, P<0.00001). 单用组及联合用药组均可明显降低血清谷酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT), WMD值分别为(WMD = -21.96, 95%CI: -35.73--8.18, P = 0.002); (WMD = -28.80, 95%CI: -51.85--5.76, P = 0.01). 两组不良反应发生率的差异无统计学意义(RR = 2.26, 95%CI: 0.88-5.83, P = 0.09).

结论: 熊去氧胆酸治疗NAFLD安全有效，但需联合其他药物才能更好地发挥作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 熊去氧胆酸; 非酒精性脂肪性肝病; 系统评价

核心提示: 虽然目前用于治疗非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的药物种类繁多，但效果存在争议. 也有很多把熊去氧胆酸应用于NAFLD的研究报道，但是结果差异很大. 本次系统评价结合多个小样本临床对照试验，结果表明熊去氧胆酸不良反应少，安全性好，可以作为治疗NAFLD的药物，但需要与其他药物合用.

李韦, 王枫, 吕宗舜, 张爱青. 熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2335-2343
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2335.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2335

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种无过量饮酒史，以肝细胞内脂质过度沉积为特征的代谢性肝损伤[1]，胰岛素抵抗是发病的关键[2]. 目前NAFLD已成为全球范围内常见的肝疾病，并且有患病年龄低龄化的趋势[3]. 随着我国人民物质生活的不断改善，我国脂肪肝的发病率已占到平均人口的15%[4]. 脂肪性肝病并不是一种良性及静止的病变，约1.5%-8.0%患者可进展为肝纤维化，若得不到控制，甚至会发展为肝癌[5]. 目前对NAFLD的治疗主要为减轻体质量和改变不良生活习惯，祛除病因，治疗原发病[6]以及药物治疗. 现对治疗NAFLD的药物种类繁多，但没有特效的治疗药物，目前常用的药物包括针对胰岛素抵抗、高血脂、肝功能异常的对症治疗，如双胍类、他汀类、保肝类药物等[7]. 熊去氧胆酸是一种可用于多种肝病的保肝药物，目前有很多关于熊去氧胆酸治疗NAFLD的研究，但结果不尽相同. 为进一步明确熊去氧胆酸对NAFLD的治疗作用，本文通过全面检索相关文献，对符合标准的临床试验进行了系统评价，以了解熊去氧胆酸治疗NAFLD的疗效和安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 在Pubmed、Embase、OVID、Cochrane Library和CNKI以及万方数据库系统中检索已发表的随机对照临床试验研究. 英文检索词为: fatty liver、non alcoholic fatty liver disease、steatosis、steatohepatitis、ursodeoxycholic acid、bile acids. 中文检索词为: 脂肪肝、非酒精性脂肪性肝病、脂肪性肝炎、熊去氧胆酸、优思弗. 检索年限均为建库至2013-03-20. 并通过阅读综述查找相关文献. 由两名评价员根据统一规范的筛选、评价方法来筛选评价文献. 由两位研究者交叉核对纳入试验的结果，当有分歧而难以确定时通过讨论或由第3位研究者决定.

1.2 方法

1.2.1 研究类型: 所有关于熊去氧胆酸治疗NAFLD的临床随机对照试验文献均考虑入选本系统评价，语种、病例数不限. 入选文献至少分两组，即治疗组和对照组. 入选文献应提供治疗的总有效率，治疗后总胆固醇、甘油三酯、丙氨酸氨基转移酶、天门冬酸氨基转移酶、谷酰转肽酶的降低量等数据.

1.2.2 研究对象标准: 研究对象为依据中华医学会肝脏病学会脂肪肝和酒精肝病学组制订的“非酒精性脂肪肝诊疗指南”[8].

1.2.3 干预措施的类型: 干预措施为任何剂量的熊去氧胆酸，单用或联合其他药物，对照措施为安慰剂或其他药物，剂量和给药途径不限.

1.2.4 排除标准: 熊去氧胆酸用于肝脏疾病，但主要目的不是治疗NAFLD的方案; 熊去氧胆酸联合其他药物，但对照组没有用此药物作对照的用药方案. 除外一项研究的重复发表，对一项研究不同阶段发表的文章选取最近发表的研究结果进行分析.

1.2.5 质量评价: 由研究者进行文献质量评价，应用Cochrane协作网推荐的方法进行评价，主要内

表 1 纳入研究的特征

研究	试验组	对照组	干预措施	对照措施	疗程	结局指标
Ersöz等[9]	29	27	熊去氧胆酸 10 mg/(kg•d)	VitE 600 IU/d+VitC 500 mg/d	6 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶, 碱性磷酸酶
Lindor等[10]	80	86	熊去氧胆酸 13–15 mg/(kg•d)	安慰剂 13–15 mg/(kg•d)	2年	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 碱性磷酶, 谷酰转肽酶, 总胆红素, 直接胆红素, 体指数
Méndez–Sánchez等[11]	14	13	熊去氧胆酸 1200 mg/d	安慰剂 1200 mg/d	6 wk	体指数, 丙氨酸转氨酶,天 冬氨酸转氨酶, 甘油三酯
Santos等[12]	15	15	熊去氧胆酸 10 mg/(kg•d)	安慰剂 10 mg/(kg•d)	3 mo	丙氨酸转氨酶, 体指数, 肝脏脂质含量
Ratziu等[13]	55	61	熊去氧胆酸 28–35 mg/(kg•d)	安慰剂 28–35 mg/(kg•d)	12 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶
杨亦德等[14]	30	30	熊去氧胆酸 250 mg tid	易善复 456 mg tid	6 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶, B超, 甘油三酯, 总胆固醇
杨勇[1][15]	48	42	熊去氧胆酸 100 mg tid	控制饮食,适度运动	6 mo	甘油三酯, 总胆固醇, 丙氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶
杨勇[2][15][	48	48	熊去氧胆酸 100 mg tid	二甲双胍 250 mg tid	6 mo	甘油三酯, 总胆固醇, 丙氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶
杨勇[3][15]	48	48	熊去氧胆酸 100 mg tid+二甲双胍 250 mg tid	二甲双胍 250 mg tid	6 mo	甘油三酯, 总胆固醇, 丙氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶
李璞[16]	30	30	熊去氧胆酸 250 mg bid+双环醇25 mg tid	双环醇 25 mg tid	6 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 甘油三酯, 总胆固醇
何劲松等[17]	43	42	熊去氧胆酸 250 mg tid +易善复456 mg tid	易善复 456 mg tid	6 mo	丙氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶, 甘油三酯, 高密度脂蛋白
王英[18]	28	28	熊去氧胆酸 0.5 g tid+美能 tid	美能 tid	2 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 甘油三酯, 总胆固醇, 高密度脂蛋白
李日德等[19]	30	30	熊去氧胆酸 250 mg bid+益肝灵 4# tid	益肝灵4# tid	3 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶, 甘油三酯, 总胆固醇
刘纯钢[20]	38	40	熊去氧胆酸+辛伐他汀(剂量不详)	辛伐他汀(剂量不详)	2 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷酰转肽酶, 甘油三酯, 总胆固醇

■创新盘点
近年来有很多研究熊去氧胆酸治疗NAFLD效果的实验, 但结果并不一致. 系统评价可以通过整合小样本研究而得出可靠的结论. 本次评价研究熊去氧胆酸对NAFLD的治疗的效果和安全性, 为合理选用治疗NAFLD的药物提供依据.

容为: (1)随机分配方法是否合理充分; (2)分配隐藏是否合理充分; (3)盲法是否采用; (4)是否合理描述了失访和退出情况, 是否进行了意向性分析. 同时应用Jadad评分对入选文献进行评分, 1-2分为低质量文章, 3-5分为高质量文章.

统计学处理 选取各研究的结果进行意向性治疗分析, 因为意向性治疗分析可以最大程度地保持各研究的随机对照性. 利用Review Manager 5.0软件对结果进行分析. 应用统计量I^2对各研究间的异质性进行检验, 如果I^2<40%, 则应用固定效应模型进行分析; 如果I^2>40%, 则采用随机效应模型进行分析. 对于连续型变量采用权重均数差(WMD)及其95%可信区间(CI)表示; 对于分类变量采用比值比(RR)及其95%CI表示; 检验水准$\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 纳入研究的基本特点 初检251篇文献, 通过阅读文题、摘要和全文, 纳入12篇随机对照试验文献[9-20]. 其中杨勇[15]的研究试验组为4组, 相互独立且样本量足够, 根据入选要求, 把此研究分为3个独立的临床试验. 最终共纳入14个临床试验, 英文文章5篇, 中文文章7篇. 共包含1153例NAFLD患者. 其中试验组582例, 对照组571例. 纳入研究的特征如表1, 质量评价结果如表2.

2.2 Meta分析结果 纳入的14项研究中, 8项采用

■应用要点

本次系统评价表明熊去氧胆酸相比其他药物对治疗NAFLD并无明显优势，但当其与其他药物合用时可明显改善肝组织炎症，且熊去氧胆酸不良反应少，安全性好，可以作为治疗NAFLD的药物，但需与其他药物合用方能有良好的疗效.

表 2 纳入研究的质量评价

研究	随机方法	方案隐藏	盲法	失访报道	Jadad评分
Ersöz等[9]	不清楚	不清楚	非盲法	有	3
Lindor等[10]	计算机随机	恰当	双盲	有	7
Méndez-Sánchez等[11]	随机数字	不清楚	双盲	有	6
Santos等[12]	不清楚	不清楚	双盲	有	5
Ratziu等[13]	随机数字	不清楚	双盲	有	6
杨亦德等[14]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
杨勇[15]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
李璞[16]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
何劲松等[17]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
王英[18]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
李日德等[19]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
刘纯钢[20]	计算机随机	不清楚	不清楚	不清楚	3

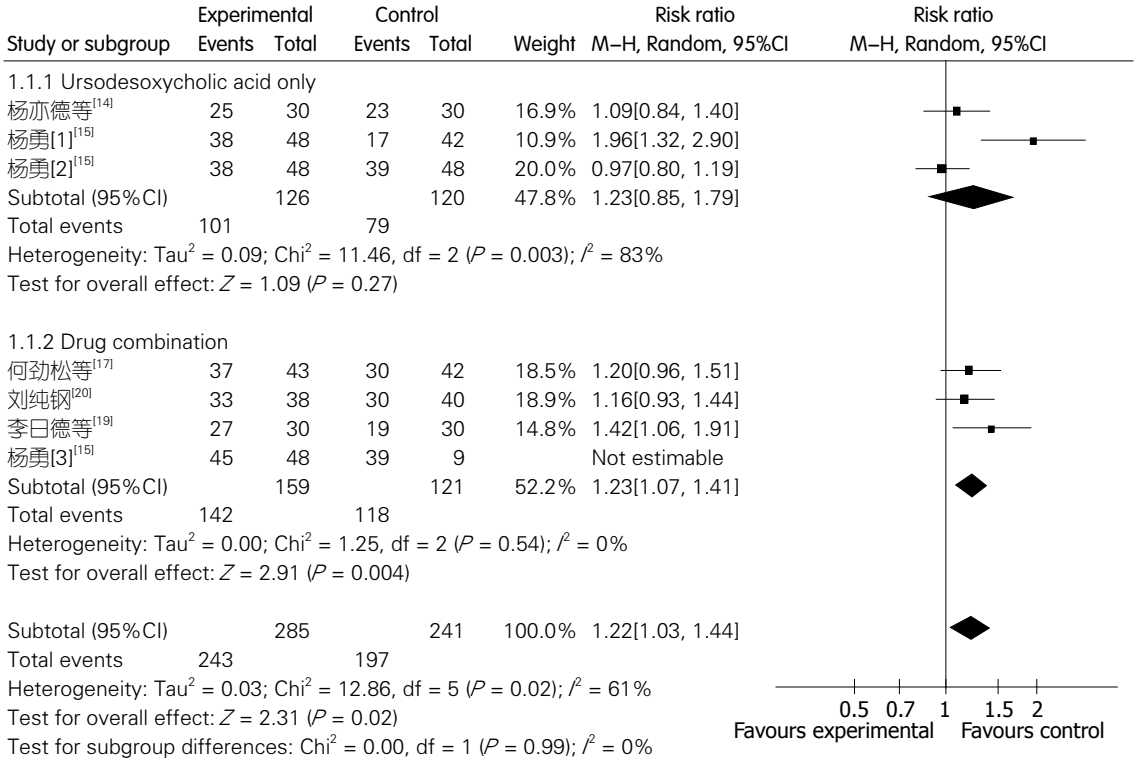


图 1 总有效率的Meta分析.

熊去氧胆酸单用方案，6项采用熊去氧胆酸与其他药物联合用药方案；在进行合并分析时，用药联合与否，会引起异质性. 当异质性较大时，即按单用和联合给药进行亚组分析，以减少异质性.

2.2.1 总有效率：7项研究进行了统计，各研究间存在异质性(I^2 = 61%)，按给药方案不同，采用随机效应模型进行分析. 结果显示，熊去氧胆酸单用组差异无统计学意义(RR = 1.23, 95%CI: 0.85-1.79, P = 0.27)，联合用药组差异具有统计学意义(RR = 1.23, 95%CI: 1.07-1.41, P = 0.004). 合并分析结果显示，差异有统计学意义(RR = 1.22, 95%CI: 1.03-1.44, P = 0.02)(图1).

2.2.2 不良反应发生率：3项研究统计了因不良反应退出试验的病例，同质性检验(I^2 = 0%)，采用固定效应模型分析. 结果显示，两组的差异无统计学意义(RR = 2.26, 95%CI: 0.88-5.83, P = 0.09)(图2).

2.2.3 ALT降低量：14项研究进行了统计，各研究间存在异质性(I^2 = 97%)，采用随机效应模

Study or subgroup	Experimental Events	Experimental Total	Control Events	Control Total	Weight	Risk ratio M–H, Fixed, 95%CI
Ersöz等[9]	3	29	0	27	8.9%	6.53[0.35, 120.90]
Lindor等[10]	7	80	5	86	82.7%	1.50[0.50, 4.55]
Ratziu等[13]	2	62	0	64	8.4%	5.16[0.25, 105.34]
Subtotal (95%CI)		171		177	100.0%	2.26[0.88, 5.83]
Total events	12		5			

Heterogeneity: Chi^2 = 1.31, df = 2 (P = 0.52); I^2 = 0%
Test for overall effect: Z = 1.68 (P = 0.09)

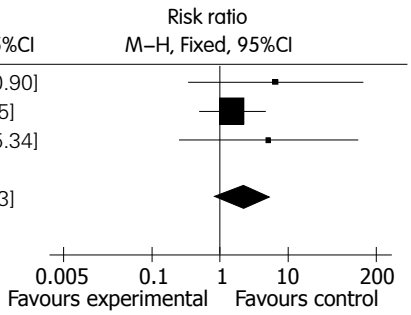


图 2 不良反应发生率的Meta分析.

Study or subgroup	Experimental Mean	Experimental SD	Experimental Total	Control Mean	Control SD	Control Total	Weight	Mean difference IV, Random, 95%CI
3.1.1 Ursodesoxycholic acid only								
Ersöz等[9]	−44.6	46.45	29	−52.8	32.1	27	5.0%	8.20[−12.59, 28.99]
Lindor等[10]	−32.7	69.8	80	−31.6	67.3	86	5.0%	−1.10[−21.99, 19.79]
Ratziu等[13]	−28.3	55	55	−1.6	35.4	61	5.8%	−26.70[−43.74, −9.66]
Méndez-Sánchez等[11]	−18.9	5.63	14	−19.5	4.09	13	8.3%	0.60[−3.09, 4.29]
Santos等[12]	−29	8.52	15	−22.7	8.49	15	8.0%	−6.30[−12.39, −0.21]
杨亦德等[14]	−56.74	14.98	30	−53.65	17.085	30	7.6%	−3.09[−11.22, 5.04]
杨勇[1][15]	−30.2	6.65	48	−1.1	6.65	42	8.4%	−29.10[−31.85, −26.35]
杨勇[2][15]	−30.2	6.65	48	−25.4	11.35	48	8.3%	−4.80[−8.52, −1.08]
Subtotal (95%CI)			319			322	56.3%	−8.24[−19.55, 3.07]
Heterogeneity: Tau^2 = 231.60; Chi^2 = 219.77, df = 7 (P < 0.00001); I^2 = 97%								
Test for overall effect: Z = 1.43 (P = 0.15)								
3.1.2 Drug combination								
何劲松等[17]	−64.1	30.95	43	−41.7	32.95	42	6.5%	−22.40[−36.00, −8.80]
刘纯钢[20]	−63.28	25.29	38	−35.49	27.315	40	6.9%	−27.79[−39.47, −16.11]
李日德等[19]	−65.1	19.8	30	−30.5	25.45	30	7.0%	−34.60[−46.14, −23.06]
李璞[16]	−35	3.7	30	−13	1.7	30	8.4%	−22.00[−23.46, −20.54]
杨勇[3]等[15]	−22.7	10.35	48	−25.4	11.35	48	8.2%	2.70[−1.65, 7.05]
王英[18]	−75.3	25.5	28	−39.6	23.95	28	6.7%	−35.70[−48.66, −22.74]
Subtotal (95%CI)			217			218	43.7%	−22.65[−35.27, −10.04]
Heterogeneity: Tau^2 = 221.97; Chi^2 = 125.69, df = 5 (P < 0.00001); I^2 = 96%								
Test for overall effect: Z = 3.52 (P = 0.0004)								
Subtotal (95%CI)			536			540	100.0%	−14.52[−21.77, −7.26]
Heterogeneity: Tau^2 = 161.74; Chi^2 = 378.70, df = 13 (P < 0.00001); I^2 = 97%								
Test for overall effect: Z = 3.92 (P < 0.0001)								
Test for subgroup differences: Chi^2 = 2.78, df = 1 (P = 0.10); I^2 = 64.0%								

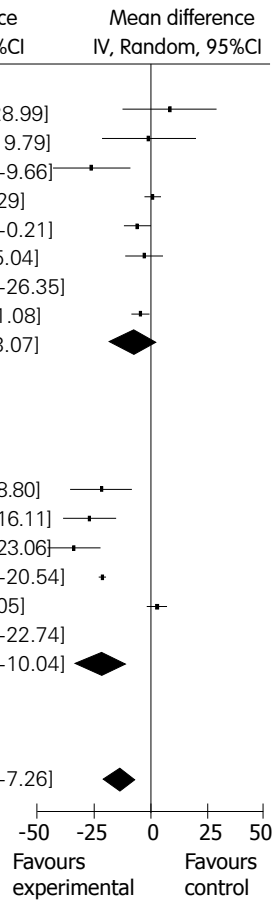


图 3 丙氨酸转氨酶降低量的Meta分析.

型进行分析. 结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无统计学意义(WMD = -8.24, 95%CI: -19.55-3.07, P = 0.15), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -22.65, 95%CI: -35.27--10.04, P = 0.0004). 合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -14.52, 95%CI: -21.77--7.26, P<0.0001)(图3).

2.2.4 AST降低量: 9项研究进行了统计,各研究间存在异质性(I^2 = 96%), 采用随机效应模型进行分析. 结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无统计学意义(WMD = -11.04, 95%CI: -27.66-5.57, P = 0.19), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -21.93, 95%CI: -23.74--20.12, P<0.00001). 合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -16.26, 95%CI: -26.42--6.10, P = 0.002)(图4).

2.2.5 GGT降低量: 10项研究进行了统计, 各研究间存在异质性(I^2 = 97%), 采用随机效应模型进行分析. 结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异有统计学意义(WMD = -21.96, 95%CI: -35.73--8.18, P = 0.002), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -28.80, 95%CI: -51.85--5.76,

■同行评价
本文研究方法得当, 研究结果较可信, 具有一定的创新性, 能较好的反映熊去氧胆酸治疗NAFLD的疗效和安全性.

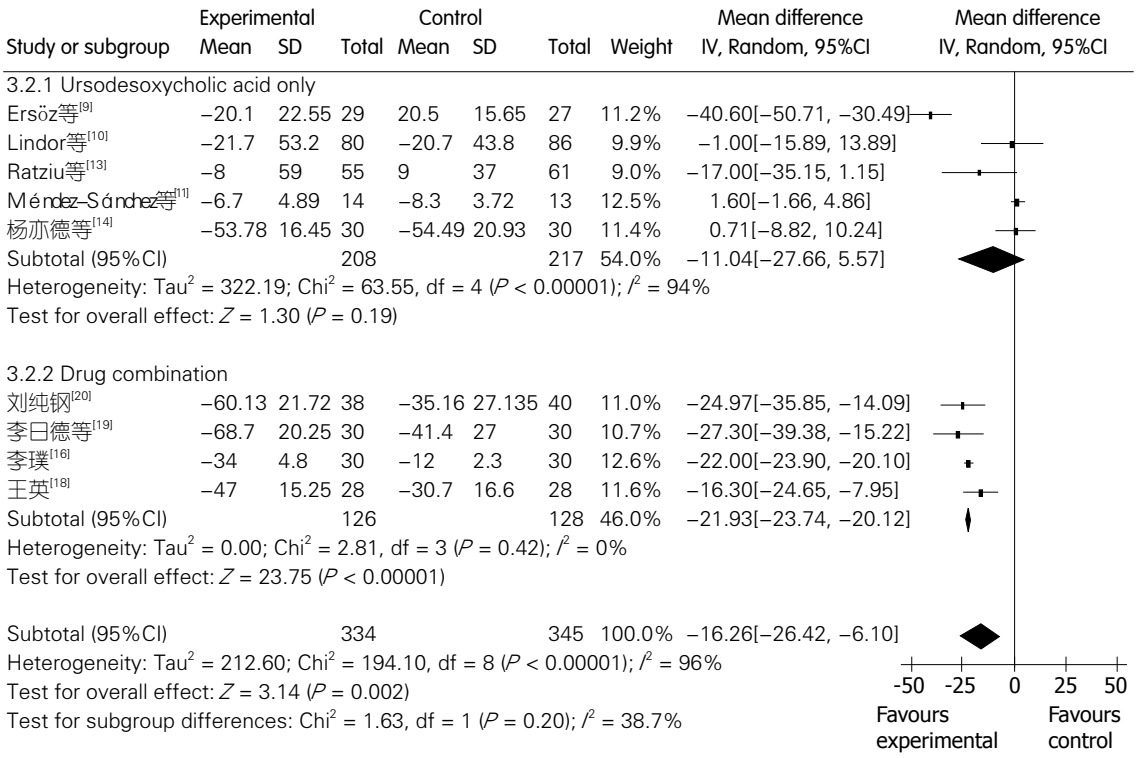


图 4 谷草转氨酶降低量的Meta分析.

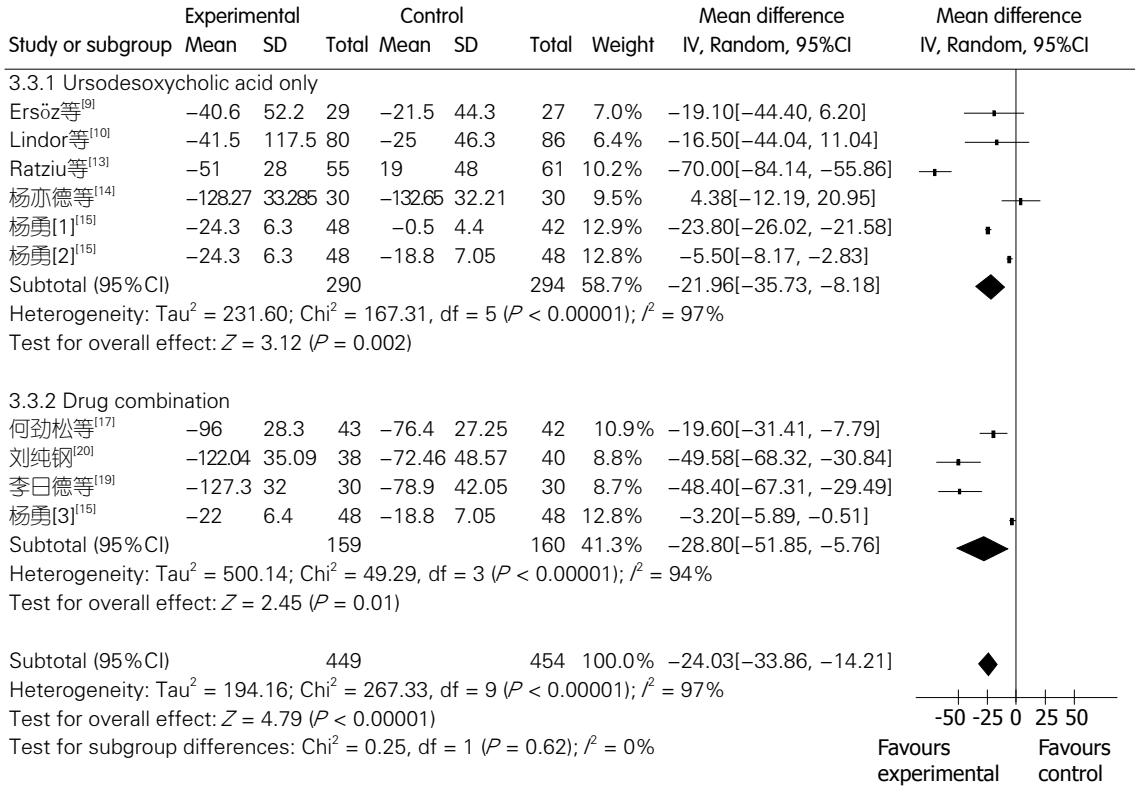


图 5 谷酰转肽酶降低量的Meta分析.

P = 0.01). 合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -24.03, 95%CI: -33.86--14.21, P<0.00001)(图5).

2.2.6 TC降低量: 8项研究进行了统计, 各研究间存在异质性(I^2 = 98%), 采用随机效应模型进行分析. 结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无

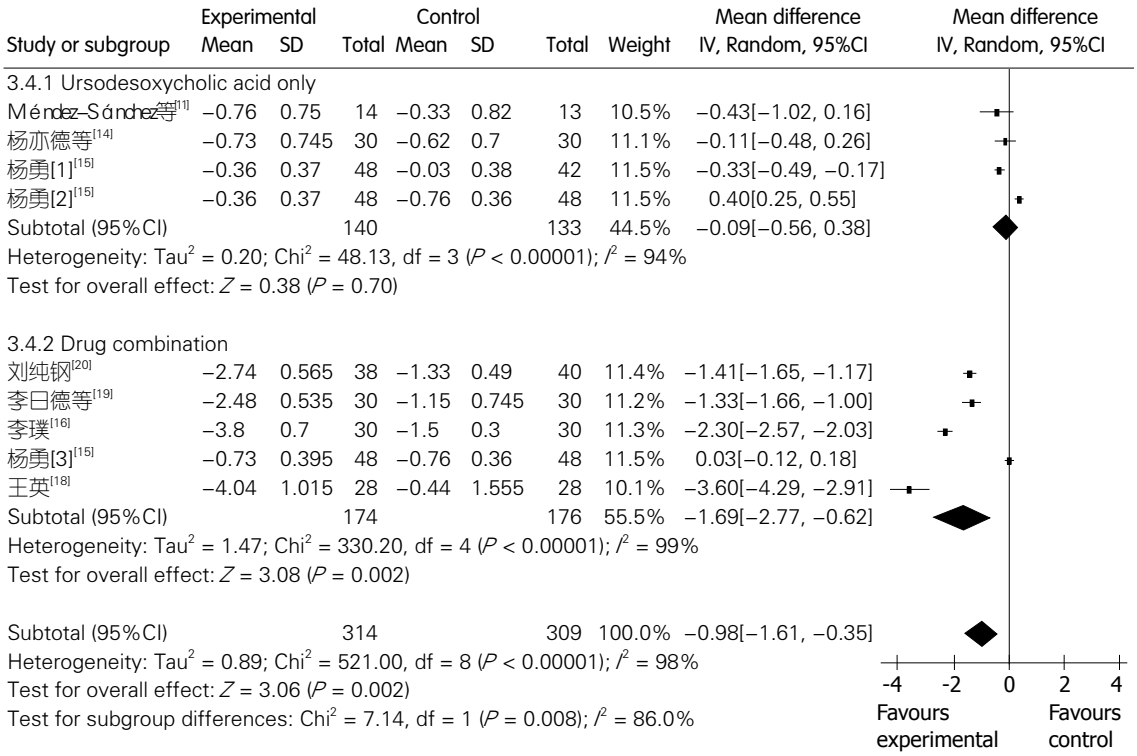


图 6 总胆固醇降低量的Meta分析.

统计学意义(WMD = -0.09, 95%CI: -0.56-0.38, P = 0.70), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -1.69, 95%CI: -2.77--0.62, P = 0.002). 合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -0.98, 95%CI: -1.61--0.35, P = 0.002)(图6).

2.2.7 TG降低量: 9项研究进行了统计, 各研究间存在异质性(I^2 = 97%), 采用随机效应模型进行分析. 结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无统计学意义(WMD = -0.21, 95%CI: -0.72-0.29, P = 0.41), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -1.01, 95%CI: -1.59--0.43, P = 0.0006). 合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -0.72, 95%CI: -1.08--0.37, P <0.0001)(图7).

3 讨论

本次系统评价表明，单独应用熊去氧胆酸时能降低NAFLD患者的ALT、AST、TC和TG值, 但与其他药物或安慰剂相比时差异无统计学意义. 当熊去氧胆酸联合其他药物时, 各项指标的下降程度明显优于对照组, 差异有统计学意义. 熊去氧胆酸无论是单药方案或是联合用药治疗NAFLD, GGT的降低量与对照组相比, 差异均具有统计学意义. 说明熊去氧胆酸对NAFLD有一定的治疗作用, 但需联合其他药物才能更好地发挥效果. 纳入的各研究中出现的不良反应主要包括恶心、腹泻, 有3个研究报道了此不良反应并退出试验的病例, 熊去氧胆酸在治疗NAFLD的过程中并未发生严重不良反应及危及患者生命的不良事件, 这表明熊去氧胆酸应用于治疗NAFLD是安全的.

熊去氧胆酸是正常胆汁酸的组成成分, 具有改善胆汁流、增加胆汁中的脂质分泌、膜稳定、抗凋亡、保护细胞和免疫调节等多种功能[21], 还能够抑制肝脏胆固醇的合成, 有利于结石中胆固醇逐渐溶解, 促进胆固醇从胆囊向肠道排泄, 减少肝脏脂肪, 并可降低肝脏和血中三酰甘油的浓度[22]. 其正是通过这些作用可以用来治疗NAFLD. 结合本次系统评价的结果我们可以看出, 熊去氧胆酸可以用于治疗NAFLD, 但与其他药物相比并不具有优势. 目前NAFLD的发病机制认为胰岛素抵抗和脂代谢紊乱是NAFLD发生过程中的第一次打击. 在此基础上发生的氧化应激等成为第二次打击. 二次打击启动了肝组织炎症反应, 造成脂肪性肝炎[23]. 二甲双胍可以改善胰岛素抵抗; 辛伐他汀可通过降血脂来治疗脂肪肝; 易善复能影响体内的脂类代谢过程, 抑制脂肪在体内发生积聚; 双环醇可保护肝细胞, 加速脂肪转运; 美能具有抗炎、调节免疫作用, 可明显降低转氨酶; 水飞蓟素能清除活性氧, 减弱脂质过氧化反应发生的程度. 这些药物通

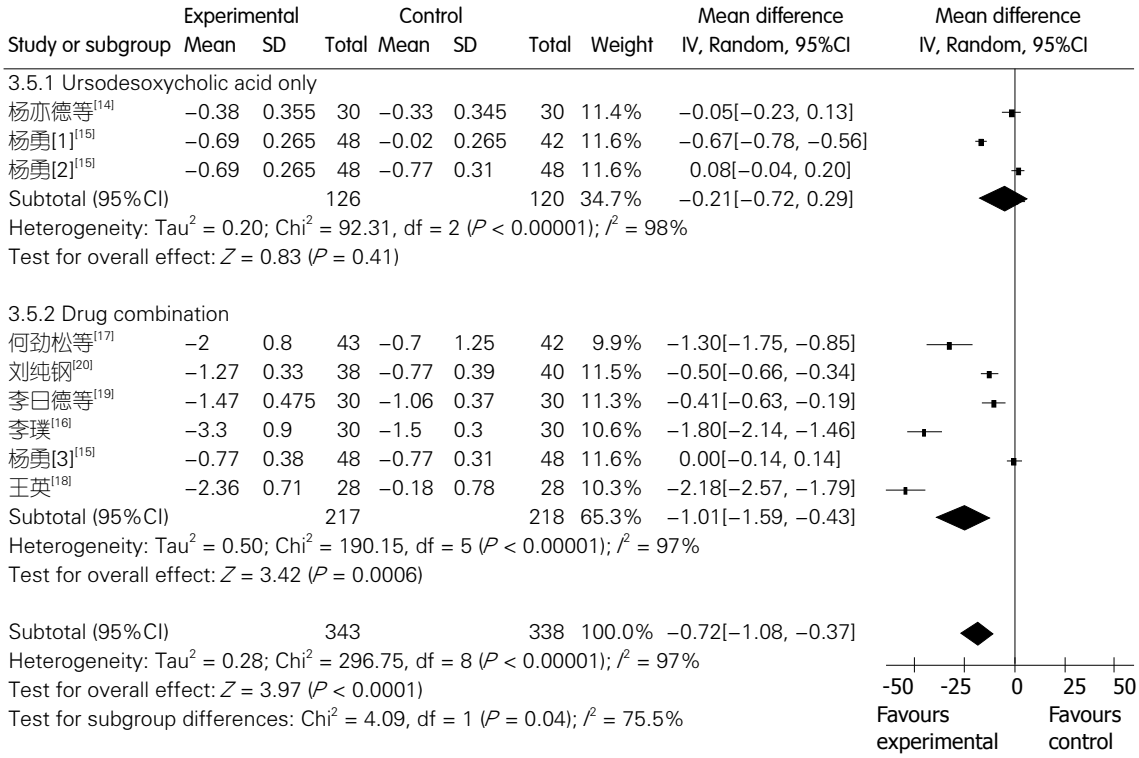


图 7 甘油三酯降低量的Meta分析.

过影响二次打击的不同阶段起到治疗NAFLD的作用. 通过本次评价结果可以看出, 当我们把上述药物与熊去氧胆酸联用时, 各项指标好转程度均优于单独应用这些药物. 说明当两种药物联用时, 通过上述不同的机制治疗NAFLD能够得到事半功倍的效果.

熊去氧胆酸作为一种细胞保护剂, 具有其安全性好. 药物相互作用少, 细胞和亚细胞水平的潜在治疗效应等优势. 通过本次系统评价提示, 熊去氧胆酸具有改善肝功能、保护肝脏的作用, 可用于治疗NAFLD, 但应与其他药物联用,方能达到理想的疗效.

4 参考文献

1 Agrawal S, Bonkovsky HL. Management of non-alcoholic steatohepatitis: an analytic review. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 253-261 [PMID: 12192203 DOI: 10.1016/j.Amc.2009.07.007]

2 范建高, 曾民德. 脂肪性肝病. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 200-229

3 范建高.非酒精性脂肪肝的临床流行病学研究. 中华消化杂志 2002; 22: 106-107

4 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1002/jnr.21425]

5 Moore JB. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and the metabolic syndrome. *Proc Nutr Soc* 2010; 69: 211-220 [PMID: 20158939 DOI: 10.1017/S0029665110000030]

6 Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB, Ash S, Purdie DM, Clouston AD, Powell EE. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut* 2004; 53: 413-419 [PMID: 14960526 DOI: 10.1136/gut.2003.027581]

7 Zeng MD, Fan JG, Lu LG, Li YM, Chen CW, Wang BY, Mao YM. Guidelines for the diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver diseases. *J Dig Dis* 2008; 9: 108-112 [PMID: 18419645 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2008.00331.x]

8 中华肝脏病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊断标准. 中华肝脏病杂志 2003; 11: 72

9 Ersöz G, Günşar F, Karasu Z, Akay S, Batur Y, Akarca US. Management of fatty liver disease with vitamin E and C compared to ursodeoxycholic acid treatment. *Turk J Gastroenterol* 2005; 16: 124-128 [PMID: 16245220]

10 Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, Lymp JF, Burgart L, Colin P. Ursodeoxycholic acid for treatment of non-alcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology* 2004; 39: 770-778 [PMID: 14999696 DOI: 10.1002/hep.20092]

11 Méndez-Sánchez N, González V, Chávez-Tapia N, Ramos MH, Uribe M. Weight reduction and ursodeoxycholic acid in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Hepatol* 2004; 3: 108-112 [PMID: 15505596]

12 Santos VN, Lanzoni VP, Szejnfeld J, Shigueoka D, Parise ER. A randomized double-blind study of the short-time treatment of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease with ursodeoxycholic acid. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36: 723-729 [PMID: 12792701 DOI: 10.1590/S0100-879X2003000600007]

13 Ratziu V, de Ledinghen V, Oberti F, Mathurin P, Wartelle-Bladou C, Renou C, Sogni P, Maynard M, Larrey D, Serfaty L, Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Rivière M, Spénard J. A randomized controlled trial of high-dose ursodesoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2011; 54: 1011-1019 [PMID: 21145828 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.08.030]
14 杨亦德, 侯伟. 熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪肝30例临床观察. 中国现代医生 2011; 49: 1673-9701
15 杨勇. 熊去氧胆酸及二甲双胍治疗非酒精性脂肪肝病的临床研究. 中国血液流变学杂志 2012; 22: 61-63,78
16 李璞. 双环醇联合熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病临床疗效分析. 山西医药杂志 2012; 41: 1153-1154
17 何劲松, 刘国霞. 熊去氧胆酸联合多烯磷脂酰胆碱治疗非酒精性脂肪肝的疗效观察. 中国现代药物应用 2010; 4: 105-106
18 王英. 优思弗联合美能治疗脂肪肝并高脂血症56例临床观察. 浙江临床医学 2008; 10: 1060
19 李日德, 柯俊. 熊去氧胆酸联合水飞蓟素治疗脂肪肝的疗效观察. 临床合理用药 2012; 5: 1674-3296
20 刘纯钢. 熊去氧胆酸联合辛伐他汀治疗脂肪肝合并高脂血症的疗效观察. 胃肠病学和肝病杂志 2011; 20: 1006-5709
21 Trauner M, Graziadei IW. Review article: mechanisms of action and therapeutic applications of ursodeoxycholic acid in chronic liver diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 979-996 [PMID: 10468672 DOI: 10.1046/j.1365-2036.1999.00596.x]
22 Rodrigues CM, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 1998; 101: 2790-2799 [PMID: 9637713 DOI: 10.1172/JCI1325]
23 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102]

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》2011年开始不再收取审稿费

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

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2344-2348
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

人免疫球蛋白治疗肝硬化合并感染105例

余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周 芳, 吕其军

■背景资料
终末期肝病是肝病持续进展, 发展而至的严重病理阶段. 本病的发生多从肝硬化发展而来, 在肝脏长期损伤后引发的纤维化基础上发病. 研究表明, 由于肝硬化患者往往伴随着免疫力低下, 临床上极易并发感染, 加重患者病情. 因此, 如何有效控制肝硬化患者感染成为预防不良事件发生的重点.

余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周芳, 吕其军, 东营市胜利油田中心医院 山东省东营市 257034
余永勤, 副主任医师, 主要从事肝病及感染性疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由余永勤设计; 研究过程由余永勤、刘汉勤及陈谭昇共同实施完成; 数据分析由余永勤、周芳及吕其军完成; 本论文写作由余永勤、刘汉勤、陈谭昇、周芳及吕其军共同完成.
通讯作者: 余永勤, 副主任医师, 257034, 山东省东营市东营区济南路38号, 胜利油田中心医院. yyq2010829@163.com
收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Human immunoglobulin for treatment of infection in patients with cirrhosis

Yong-Qin Yu, Han-Qin Liu, Tan-Sheng Chen, Fang Zhou, Qi-Jun Lv

Yong-Qin Yu, Han-Qin Liu, Tan-Sheng Chen, Fang Zhou, Qi-Jun Lv, Shengli Oil Field Central Hospital, Dong Ying 257034, Shandong Province, China
Correspondence to: Yong-Qin Yu, Associate Chief Physician, Shengli Oil Field Central Hospital, Dong Ying 257034, Shandong Province, China. yyq2010829@163.com
Received: 2013-05-13 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To observe the clinical efficacy of immunoglobulin (IG) in the treatment of infection in patients with cirrhosis.

METHODS: One hundred and five cirrhotic patients with an infection were randomized into either a control group or an observation group. The control group received routine antibiotic treatment, while the observation group was given IG on the basis of routine antibiotic treatment and underwent efficacy evaluation using Child-Pugh scores. Serum total bilirubin (TB), albumin, alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC) and blood coagulation parameters were monitored. The rate of early infection control and incidence of complications were compared between the two groups.

RESULTS: For patients with a Child-Pugh score < 10, the rate of early infection control was not statistically significant between the two groups ($P > 0.05$). For patients with a Child-Pugh score between 10 and 15, the rate of infection control was significantly higher in the observation group than in the control group (84.00% *vs* 46.15%, $P < 0.05$). Severe infection occurred during therapy in two cases in the observation group and in eight cases in the control group, and there was no significant difference in the number of cases of severe infection occurring during therapy between the two groups ($P > 0.05$). In addition, 11 cases in the observation group and 13 cases in the control group were actively discharged from the hospital or died, and there was no statistically significant difference in the number of patients who were actively discharged from the hospital or died between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: IG can effectively improve the rate of infection control and reduce the incidence of complications during hospitalization and mortality in cirrhotic patients with a Child-Pugh score between 10 and 15.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Human immunoglobulin; Cirrhosis; Infection

Yu YQ, Liu HQ, Chen TS, Zhou F, Lv QJ. Human immunoglobulin for treatment of infection in patients with cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2344-2348
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2344.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2344

摘要

目的: 观察人体免疫球蛋白(immunoglobulin, IG)在肝硬化合并感染患者临床治疗中的应用疗效.

方法: 对东营市胜利油田中心医院收治肝硬化合并感染患者105例进行随机分组, 对照组给予常规抗生素抗感染, 观察组在对照组基础上加用IG, 并采用Child-Pugh评分进行疗效观察. 对各组患者血清总胆红素、血清白蛋白、谷丙转氨酶、总胆固醇以及凝血功能等指标进行检查. 同时, 观察治疗后两组患者的早期

■同行评议者
胡国信, 主任医师, 副教授, 南昌大学第一附属医院传染科; 朱传武, 主任医师, 第五人民医院传染科

感染控制率以及治疗浅见的并发症情况.

结果: 患者Child-Pugh<10分时, 两组患者感染控制率差异无统计学意义(P>0.05). Child-Pugh评分10-15分时, 观察组感染控制率为84.00%, 高于对照组的46.15%(P<0.05). 此外, 观察组在治疗期间发生2例二重感染, 对照组则为8例. 两组差异无统计学意义(P>0.05). 此外, 观察组与对照组分别有11例、13例患者主动出院或死亡, 两组差异无统计学意义(P>0.05).

结论: Child-Pugh评分10-15分的肝硬化患者应用IG, 能够有效提高感染控制率, 减少并发症.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 人免疫球蛋白; 肝硬化; 感染

核心提示: 对Child-Pugh 10-15分的患者早期临床应用人免疫球蛋白(immunoglobulin, IG), 不但可以起到良好的抗感染效果, 还能够预防二重感染的发生. 其作用机制可能与IG可以针对性地调控对侵入病原体的吞噬效果. 因此, 对于肝细胞损伤严重, 吞噬细胞功能下降的终末期肝病患者而言, 早期补充IG显得格外重要.

余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周芳, 吕其军. 人免疫球蛋白治疗肝硬化合并感染105例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2344-2348
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2344.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2344

0 引言

终末期肝病是肝病持续进展, 发展而至的严重病理阶段[1]. 本病的发生多从肝硬化发展而来, 在肝脏长期损伤后引发的纤维化基础上发病. 研究表明[2,3], 由于肝硬化患者往往伴随着免疫力低下, 临床上极易并发感染, 加重患者病情. 因此, 如何有效控制肝硬化患者感染成为预防不良事件发生的重点. 国外有学者研究发现[4], 人免疫球蛋白(immunoglobulin, IG)有较好的辅助控制感染作用, 能够有效降低患者的病死率. 本研究对东营市胜利油田中心医院肝硬化合并感染患者进行静脉注射IG治疗, 取得了良好的临床疗效, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入研究病例105例, 均为2008-01/2012-12东营市胜利油田中心医院收治的住院患者, 肝硬化临床诊断标准参考1993年"中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会"在洛阳会议上制定的诊断标准[5]. 根据数字随机分组原则进行临床治疗分组, 其中观察组53例, 男33例, 女20例, 年龄32-71岁, 平均年龄51.2岁±15.2岁; 对照组52例, 男34例, 女18例, 年龄31-73岁, 平均年龄51.3岁±15.1岁. 对两组患者性别、年龄等资料进行统计学分析, 差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 诊断标准[6,7]: (1)肝硬化Child-Pugh评分标准: Child-Pugh评分标准共分5个部分, 分别是: 血清总胆红素(total bilirubin, TB)水平、有无腹水、血清白蛋白(albumin, ALB)水平、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)以及有无肝性脑病. 每项根据严重程度分别记录1-3分, 轻度1分、中度2分、重度3分. 5项最低得分5分, 最高得分15分. 本研究将10分做为分组界限, 分为Child-Pugh<10分与10-15分两组. 根据标准, 观察组Child-Pugh<10分者28例, 10-15分者25例; 对照组Child-Pugh<10分者26例, 10-15分者26例; (2)腹腔感染诊断依据: 发热, 并伴有腹痛、腹胀、腹水等, 血常规可见中性粒细胞增高. 腹水检测亦可中性粒细胞增高(>250/mm^3), 腹水培养可见细菌(+).

1.2.2 治疗: 两组患者入院后均给予综合治疗方案, 尽早控制感染、减少肝细胞坏死, 预防各种疾病并发症的出现. (1)对照组: 入院后在综合治疗基础上每日先给予头孢曲松钠(罗氏芬, 上海罗氏制药有限公司, 批号SH1634)1 g加入100 mL生理盐水中, 静脉滴注, 2-3次/d. 同时尽快进行血培养, 并根据致病菌的药敏实验结果及时调整抗生素; (2)观察组: 在综合治疗及对照组基础上给予IG(同路生物制药股份有限公司, 批号: 20120202)静脉注射, 剂量如下: 前3 d 300 mg/(kg·d), 第4天给予10 g IG静注, 1次/wk, 1 wk后改为10 g IG/2 d, 后根据患者具体情况给予1-2次/wk,

1.2.3 观察指标: 入院第2天清晨空腹抽取患者肘静脉血5 mL, 经离心后抽取上层血清送检验科检测血清TB、ALB、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆固醇(total cholesterol, TC)以及凝血功能等指标. 入院后每2-4 d进行1次复检.

1.2.4 疗效评定: (1)感染好转: 无发热, 相关症

■研发前沿
在临床治疗中, 如何有效、快速控制终末期肝病患者感染, 就成为防止并发症发生, 降低患者病死率的重要措施.

■相关报道
张健等研究表明，感染是肝硬化患者临床上最为多见的一类并发症，特别是腹腔、腹膜感染更占据了极大的比例. 宋秦伟等研究表明，肝硬化患者发生腹膜炎的风险高达67.6%. 黄云等研究表明，感染是导致肝硬化患者患者死亡的重要促进性因素.

表 1 两组患者治疗1 wk后血清总胆红素、凝血酶原时间指标变化分析 (mean ± SD)

分组	Child–Pugh < 10			Child–Pugh 10–15		
	n	血清总胆红素(μmol/L)	凝血酶原时间(s)	*n*	血清总胆红素(μmol/L)	凝血酶原时间(s)
治疗前						
观察组	28	52.81 ± 38.13	16.22 ± 4.78	25	158.29 ± 52.64	21.32 ± 6.55
对照组	26	49.93 ± 40.52	18.13 ± 6.12	26	157.98 ± 52.63	23.81 ± 9.77
*t*值	–	0.17	0.19	–	0.06	0.17
*P*值	–	>0.05	>0.05	–	>0.05	>0.05
治疗1 wk后						
观察组	28	23.39 ± 16.43	2.32 ± 1.63	25	30.33 ± 28.42	2.41 ± 1.87
对照组	26	28.89 ± 17.62	2.10 ± 1.89	26	52.25 ± 29.54	4.62 ± 3.23
*t*值	–	1.27	0.42	–	2.71	0.67
*P*值	–	<0.05	<0.05	–	<0.05	<0.05

表 2 两组患者治疗期间并发症分析 (*n*)

组别	*n*	上消化道出血	肝性脑病	肝肾综合征	电解质紊乱
观察组	53	4	6	4	29
对照组	52	8	15	12	35
χ^2		1.59	5.04	4.90	1.75
*P*值		>0.05	<0.05	<0.05	>0.05

表 3 两组患者早期感染控制情况分析 (*n*)

分组	Child–Pugh < 10			Child–Pugh 10–15		
	n	有效(*n*)	有效率(%)	*n*	有效(*n*)	有效率(%)
观察组	28	26	92.86	25	21	84.00
对照组	26	25	96.15	26	12	46.15
χ^2		0.28			7.99	
*P*值		>0.05			<0.05	

状、体征消失或较前明显好转，血常规示中性粒细胞计数恢复正常范围；(2)无效：仍有发热，相关症状、体征消失或较前无好转或进行性加重，血常规示中性粒细胞计数持续高于正常值.

统计学处理 应用SPSS14.0软件，计量资料以mean±SD表示，均数比较采用*t*检验、方差因素分析，计数资料采用χ^2检验，以*P*<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗1 wk后TB、PT指标变化分析 治疗前，两组患者Child-Pugh<10与10-15分者在TB、PT水平方面无统计学意义(*P*>0.05). 治疗后，Child-Pugh<10与10-15分组，TB、PT水平均明显低于对照组(*P*<0.05，表1).

2.2 两组患者治疗期间并发症 治疗后，患者并发肝性脑病和肝肾综合征方面，观察组明显低于对照组，两组比较差异有统计学意义(*P*<0.05，表2).

2.3 两组患者早期感染控制情况 Child-Pugh<10分患者中，观察组与对照组患者早期感染控制率比较差异无统计学意义(*P*>0.05). Child-Pugh 10-15分患者中，观察组早期感染控制率为84.00%，高于对照组的46.15%. 两组比较差异有统计学意义(*P*<0.05，表3).

2.4 两组患者住院期间二重感染 治疗期间，两组患者均发生二重感染病例，其中观察组2例、对照组8例，二重感染发生率为3.77%、15.38%. 两组患者进行统计学分析，差异无统计学意义(χ^2 = 2.87，*P*>0.05).

2.5 两组患者临床转归 两组患者均有临床未愈自动出院以及病死病例, 其中观察组共有11例, 对照组共有13例, 两组比较差异无统计学意义 (P>0.05).

3 讨论

感染能够引发包括肝脏在内的多器官出现衰竭, 从而导致患者死亡. 张健等[8]研究表明, 感染是肝硬化患者临床上最为多见的一类并发症, 特别是腹腔、腹膜感染更占据了极大的比例. 宋秦伟等[9]研究表明, 肝硬化患者发生腹膜炎的风险高达67.6%. 黄云等[10]研究表明, 感染是导致肝硬化患者患者死亡的重要促进性因素.

肝脏属于机体重要的免疫及防御器官, 能够维持正常人体的免疫, 当长期肝病发展, 导致患者最终出现肝硬化、肝纤维化时, 可以引发机体内部的细胞免疫调节功能发生紊乱, 造成非特异性免疫功能下降. 研究表明[11], 肝硬化、肝纤维化发展, 最终导致肝功能衰竭的最重要因素在于体内内毒素的增加. 内毒素可以与库普弗细胞结合, 并释放诸如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1(interleukin, IL-1)、IL-6、IL-2、IL-8、血小板激活因子以及白三烯等. 均能够导致机体炎症发生, 并加重病情, 长期可以引发炎症级联反应以及恶性循环. 此外, 由于肝硬化患者大量的肝细胞坏死, 导致肝脏内的库普弗细胞被破坏、吞噬能力下降, 导致肠道内的菌体不能及时被清除[12]. 因此, 内毒素还未经肝脏解毒就直接进入血液, 临床上极易发生内源性感染以及内毒素血症. 对内毒素的研究证明[13], 其能够较大程度上改变全身代谢以及血液动力学, 在终末期肝病患者中, 能够诱导多种并发症的出现, 如上消化道出血、肝性脑病、肝肾综合征以及电解质紊乱等, 而这些并发症的出现均能够加重肝脏衰竭程度. 因此, 在临床治疗中, 如何有效、快速控制终末期肝病患者感染, 就成为防止并发症发生, 降低患者病死率的重要措施.

IG是临床上较常使用到的一种可以治疗自身免疫性疾病以及全身感染性疾病的药物. IG主要含有IgG分子以及IgG亚群分子, 还包含一些微量IgA、IgM、IgG的F(ab')2片段以及可溶性的CD4、CD8及HLA分子. 现代药理学研究证实[14], IG拥有调节免疫、抗炎抗感染的作用, 并揭示其作用机制主要通过IgG的Fc片段与吞噬细胞或淋巴细胞的Fc受体的作用来完成的. 此外, IG还可以减轻补体介导的组织损伤, 诱生抗炎症细胞因子以及中和细菌毒素的作用. 研究还表明[15], IG可以对前炎症细胞因子进行直接调控, 因此在早期炎症过程中起到重要的作用.

本研究发现在Child-Pugh<10分的患者中, 无论观察组还是对照组, 有无使用IG, 治疗上均相对容易, 且疗效较高. 本研究观察组治疗有效率为92.86%, 与对照组的96.15%相比, 差异并无显著的差异. 此外, 我们也发现, 在肝硬化患者发生感染后, TB以及PT即开始出现明显的升高, 特别在Child-Pugh 10-15分患者当中, 这种上升更为明显. 说明随着肝硬化程度的上升, 患者发生感染后, 导致的功能性影响亦越大. 经过治疗, 可以发现观察组有着84.00%的治疗有效率, 较对照组的46.15%有着显著的差异. 说明即使合理使用抗生素, 对于病情较重的肝硬化合并感染患者, 往往治疗效果有限. 而IG的使用则增加了治疗的疗效, 能够起到辅助抗生素一共进行抗感染. 此外, 治疗期间, 两组患者共有10例出现霉菌二重感染, 其中2例来源于观察组, 8例来源于对照组. 虽然两组差异无统计学意义, 但这可能和本研究样本较小有关. 但我们仍可以认为, 对Child-Pugh 10-15分的患者早期临床应用IG, 不但可以起到良好的抗感染效果, 还能够预防二重感染的发生. 其作用机制可能与IG可以针对性地调控对侵入病原体的吞噬效果. 因此, 对于肝细胞损伤严重, 吞噬细胞功能下降的终末期肝病患者而言, 早期补充IG显得格外重要.

总之, 在常规抗感染以及综合治疗的基础上, 对于Child-Pugh评分位于10-15分的肝硬化合并感染患者早期应用IG, 不但能够早期控制感染, 提高治疗有效率, 还能一定程度上预防二重感染的发生. 这些疗效均能够在临床上提高患者的生存率, 降低死亡率. 本研究中, 由于样本数量较少, 虽不能直接证实IG具有减少二重感染的效果, 但从当前的研究结果而言, 还是有一定的临床指导价值的. 下一阶段, 可以考虑进行大样本的临床研究, 以进一步揭示IG的抗感染、抗二重感染作用.

■**同行评价**
本研究设计合理, 结构合理, 语言流畅, 对临床医师尤其是基层医师有一定的参考价值.

4 参考文献

1 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2761-2770

2 罗建华, 李隆祥, 徐婷婷, 陈亦华, 张培峰. 矽肺患者反复呼吸道感染与免疫功能关系的临床研究. 中国全科医学 2012; 15: 400-401

3 杜兰霞, 褚燕君, 贾百灵, 陈香宇. IL-10、IL-18和内毒素在肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎中的作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 850-854

4 Kempińska-Podhorecka A, Wunsch E, Jarowicz T, Raszeja-Wyszomirska J, Loniewska B, Kaczmarczyk M, Milkiewicz M, Milkiewicz P. Vitamin d receptor polymorphisms predispose to primary biliary cirrhosis and severity of the disease in polish population. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 408723 [PMID: 22690210 DOI: 10.1155/2012/408723]
5 中国中西医结合学会消化疾病专业委员会. 肝硬化腹水的中西医结合诊疗共识意见. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 1171-1174
6 郑盛, 杨晋辉, 尤丽英, 唐映梅, 刘海. 208例自身免疫性肝病临床分析. 临床内科杂志 2012; 29: 101-104
7 马欢, 张洁, 王邦茂. 原发性胆汁性肝硬化–自身免疫性肝炎重叠综合征44例临床特点及疗效分析. 中华消化杂志 2012; 32: 236-240
8 张健, 李莉, 王文龙, 于江, 申爱. 肺炎支原体抗体分型检测和被动颗粒凝集检测结果比较. 中华检验医学杂志 2012; 35: 639-642
9 宋秦伟, 朱汝南, 邓洁, 王芳, 赵林清, 孙宇, 丁雅馨, 钱渊. 血清特异性抗体检测在儿童呼吸道病毒感染病原诊断中应用的探讨. 中华儿科杂志 2012; 50: 440-444
10 黄云, 詹锋, 林书典, 陈道军, 李文宁. 免疫球蛋白防治肾移植后T淋巴细胞降低肺部感染. 中国组织工程研究与临床康复 2011; 5: 3267-3270
11 王雷, 段建华. 68例小儿难治性肺炎支原体肺炎临床分析. 中华实验和临床病毒学杂志 2011; 25: 224-226
12 邓莉平, 桂希恩, 熊勇, 高世成, 荣玉萍, 杨蓉蓉, 胡锦枝. 抗反转录病毒治疗人类免疫缺陷病毒/丙型肝炎病毒合并感染者终末期肝病的发生率及危险因素. 中华传染病杂志 2012; 30: 484-489
13 施光峰, 黄翀. 肝病患者抗生素的合理使用. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 182-184
14 尹蔚华, 周锡进. 应用终末期肝病模型评分与Child-Turcotte-Pugh分级预测肝衰竭预后的临床价值. 中国医师进修杂志 2012; 35: 55-57
15 Tunccan OG, Tufan A, Telli G, Akyürek N, Pamukçuoğlu M, Yılmaz G, Hızel K. Visceral leishmaniasis mimicking autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, and systemic lupus erythematosus overlap. *Korean J Parasitol* 2012; 50: 133-136 [PMID: 22711924 DOI: 10.3347/kjp.2012.50.2.133]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2349-2354
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肝动脉灌注化疗栓塞术对混合型肝癌的疗效分析50例

蒋天鹏, 王黎洲, 李 兴, 宋 杰, 吴晓萍, 周 石

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石, 贵阳医学院附属医院放射科 贵州省贵阳市 550004
蒋天鹏, 副主任医师, 临床医学专业硕士, 主要从事外周介入的治疗与临床研究.
作者贡献分布: 蒋天鹏与王黎洲对此文所作贡献均等; 此课题由蒋天鹏、王黎洲及周石设计; 研究过程由蒋天鹏、王黎洲、李兴、宋杰及吴晓萍操作完成; 数据分析由王黎洲完成; 本论文写作由蒋天鹏与王黎洲完成.
通讯作者: 周石, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路, 贵阳医学院附属医院. jjttpp@sina.com
收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-07-24
接受日期: 2013-07-26 在线出版日期: 2013-08-18

Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after transcatheter arterial chemoembolization: Therapeutic response and prognostic factors

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xing Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xing Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Correspondence to: Shi Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. jjttpp@sina.com
Received: 2013-07-15 Revised: 2013-07-24
Accepted: 2013-07-26 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effectiveness of transcatheter arterial chemoembolization (TACE) in patients with nonresectable combined hepatocellular carcinoma (HCC) and cholangiocarcinoma and to analyze the prognostic factors affecting survival of patients after TACE.

METHODS: Clinical data for 50 patients who underwent TACE for nonresectable combined HCC-cholangiocarcinoma were retrospectively analyzed. The survival rate and the prognostic factors affecting patient survival were evaluated.

RESULTS: After TACE, 35 (70%) of the 50 patients were classified as responders having either a partial response or stable disease and 15 (30%) were classified as non-responders. Tumor response was significantly related to tumor vascularity. One (10%) of the 10 patients with hypovascular tumors and 34 (85%) of the 40 patients with hypervascular tumors were responders ($P < 0.001$). The median survival period was 12.3 months. Multivariable Cox regression analysis proved that tumor size (HR = 2.49, $P = 0.028$), tumor vascularity (HR = 4.19, $P = 0.001$), Child-Pugh class (HR = 4.3, $P = 0.001$), and portal vein invasion (HR = 6.45, $P < 0.001$) were independent factors associated with patient survival after TACE.

CONCLUSION: TACE is safe and effective in improving the survival of patients with nonresectable combined HCC-cholangiocarcinoma. Tumor vascularity is highly associated with tumor response.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Transcatheter arterial chemoembolization; Hepatocellular carcinoma; Cholangiocarcinoma; Treatment effect

Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S. Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after transcatheter arterial chemoembolization: Therapeutic response and prognostic factors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2349-2354 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2349.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2349

摘要

目的: 评价不可切除的混合型肝癌患者进行肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)临床的有效性和分析TACE治疗后患者生存及预后的因素.

方法: 回顾性分析50例接受TACE治疗不可切除混合型肝癌患者的临床资料, 分析并提炼出对患者临床疗效预及后有影响的重要因素.

结果: 经TACE治疗, 35(70%)例患者发生肿瘤

■背景资料
回顾性分析50例接受肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗不可切除混合型肝癌患者的临床资料, 分析并提炼出对患者临床疗效预及后有影响的重要因素.

■同行评议者
王悦华, 副主任医师, 首都医科大学附属宣武医院外科

■研发前沿
由于肝细胞肝癌又合并胆管癌的发生率低, 其人口统计学和临床特征、预后因素等仍然知之甚少. 目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点. 混合型肝癌即使通过手术切除, 因其复发率较高, 5年生存率不到30%. 不适合手术切除的混合型肝癌患者预后更差.

坏死(坏死面积>50%), 15(30%)例患者无反应. 在10例乏血供肿瘤患者中有1例(10%), 在40例富血供肿瘤患者中有34例(85%)产生肿瘤坏死反应(P<0.001). 患者平均中位生存期为12.3 mo. 多变量Cox回归分析结果: 肿瘤大小(HR = 2.49, P = 0.028), 肿瘤的血供(HR = 4.19, P = 0.001), Child-Pugh分级(HR = 4.3, P = 0.001), 门静脉癌栓(HR = 6.45, P<0.001)是与TACE术后患者生存期相关的独立因素.

结论: TACE治疗对混合型肝癌是安全的, 与相同患者历史报道的生存率相比, 能有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存时间. 肿瘤的血供情况与肿瘤反应高度相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝动脉灌注化疗栓塞术; 肝癌; 胆管癌; 疗效

核心提示: 肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization)治疗对混合型肝癌是安全的, 与相同患者历史报道的生存率相比, 能有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存时间. 肿瘤的血供情况与肿瘤反应高度相关.

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石. 肝动脉灌注化疗栓塞术对混合型肝癌的疗效分析50例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2349-2354 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2349.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2349

0 引言

大多数肝脏原发性恶性肿瘤可分为两类: 肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)和胆管癌[1]. 胆管癌合并肝细胞肝癌非常罕见, 因为其同时具有肝细胞和胆管上皮细胞异常分化的组织学特点, 所占比例不到原发性肝癌的5%[2,3]. Allen等[4]在1949年首次对肝癌合并胆管癌的病例进行了报道, 但是由于肝细胞肝癌又合并胆管癌的发生率低, 其人口统计学和临床特征、预后因素等仍然知之甚少. 目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点[5]. 混合型肝癌即使通过手术切除, 因其复发率较高, 5年生存率不到30%[6]. 不适合手术切除的混合型肝癌患者预后更差, 还没有生存期超过18 mo患者的报道(中位生存期为6.5 mo)[7].

目前肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已被证明是可以延长混合型肝癌患者生存期的有效治疗手段[8-10]. 为了评估混合型肝癌患者接受TACE治疗的临床疗效并分析术后影响患者生存预后的因素, 就我科近年来收治的混合型肝癌患者的临床资料进行一个回顾性的总结, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2002-01/2012-01接受TACE治疗的50例混合型肝癌患者的临床资料, 所有病例均在CT引导下行经皮肝穿刺活检后病理学以及免疫组织化学结果证实, TACE术前均进行头部、胸部及全腹部CT增强扫描来评估肿瘤的特点及是否存在肝外转移. 其中男41名, 女9名, 年龄31-79岁, 平均年龄56.3岁±9.7岁.

1.2 方法

1.2.1 TACE手术: 手术采用Seldinger技术经股动脉插管, 常规行肝动脉及肠系膜上动脉造影确定病灶大小及血供状况, 同时间接门静脉造影观察有无门静脉侵犯及其程度. 尽可能超选择至肿瘤供血动脉并确认后, 在行肿瘤血管栓塞先前经导管注入奥沙利铂, 注射时间>15 min. 接下来将碘化油及吡柔比星混合乳剂缓慢经导管注入. 奥沙利铂剂量为130 mg/m^2, 吡柔比星根据肿瘤肿瘤的血供情况剂量为25-40 mg/m^2. 对于碘油用量超过20 mL仍未完全栓塞的肿瘤供血动脉则使用明胶海绵颗粒(规格直径1000-1200 μm)栓塞, 一直到肿瘤供血动脉发生血流淤滞时停止.

1.2.2 数据的定义和分析: 肿瘤反应的定义为在术后CT随访中发现肿瘤的最大直径至少减少30%(部分缓解)或不仅肿瘤的大小大幅下降而且出现超过50%坏死区域(肿瘤坏死面积>50%且患者病情稳定)[11,12]. 无反应的定义为患者病情稳定且肿瘤坏死区域低于50%或病情逐渐加重. 根据CT增强扫描获得肿瘤动脉期的强化程度将肿瘤的供血情况分为富血供肿瘤和乏血管肿瘤. 混合型肝癌病灶的分类与上面相似, 和邻近肝实质相比大面积强化或超过50%区域强化被归类为富血管性肿瘤. 混合型肝癌增强扫描动脉期病灶区域强化不到50%或强化程度小于或等于相邻肝实质定义为乏血供肿瘤[13,14]. 并发症的定义为TACE术后6 wk内发生有临床体征的亚急性肝功能衰竭(例如肝性脑病、新产生或增加的腹水肝脓肿, 急性肾功能衰竭和/或肝梗死)[15]. 栓塞后综合征包括短暂的发烧、恶心、呕吐、和/或腹部疼痛, 不视为TACE术后并发症, 并且死亡率的定义为TACE术后30 d内发生

的死亡.

1.2.3 随访: 随访常规在术后1 mo进行, 内容包括体格检查和实验室检查(包括血细胞计数, 肝功能和甲胎蛋白(alpha-fetal protein, AFP), 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA), 或CA19-9水平的测定). 因为单独的实体瘤疗效评价标准并不能全面反映TACE术后肿瘤的相关变化. 我们对肿瘤反应的评估是通过术后18-67 d复查腹部增强CT扫描来进行, 平均30.7 d±8.7 d. 由两名放射科医师使用CT机电子游标卡尺测量术前肿瘤的大小及术后肿瘤坏死区域(碘化油沉积或是缺少强化)的最大直径[16,17]. 其中肿瘤的坏死区域由两名具有副高级职称的放射科医师在TACE术后以术前CT扫描为基础进行评估[18]. 再次行TACE手术的指针为在CT随访中发现新的或残余肿瘤病灶, 且血清AFP、CEA、CA19-9浓度升高, 如果患者由于健康状况下降而不能耐受治疗, 立即停止TACE治疗.

统计学处理 数据运用SPSS19.0统计分析软件包进行分析. 所有变量均以(mean±SD)表示. 整体患者的生存期是在首次TACE治疗后以月为单位进行计算. 累积生存率曲线根据Kaplan-Meier法和Log-rank检验的结果进行比较. 为评估患者的生存期及预后我们对以下因素进行分析: 包括患者的年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤数目、增强CT上观察到的肿瘤血管、辅助治疗(全身化疗或放疗)、门静脉癌栓、肝外转移、血清AFP; CEA和CA 19-9水平以及肝功能Child-Pugh分级. 根据肿瘤大小将患者分为两组, 直径为9 cm或更大的为一组, <9 cm的为另一组. 以中位生存率为基础将肿瘤的数量和血清AFP、CEA、CA 19-9水平分为2组. 进行单变量和多变量Cox回归分析以评估患者的生存时间. 包括在单变量模型中显著因素或显示一个趋势走向意义(P<0.2)进行相关因素分析. 在逐步向前的选择方式中设置变量, 也就是说, 设置并保留一个P值为0.05的变量来表明差异有统计学意义. 可变风险通过相应95%可信区间的危险比来表示. 使用Fisher精确检验来评估肿瘤血管和肿瘤反应之间的关系. P<0.05认为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 临床情况 40例患者(80%)病因为感染乙型肝炎病毒, 2例患者(4%)丙型肝炎病毒抗体阳性, 8例患者(16%)同时发现两种病毒感染. 27例患者(54%)有慢性肝炎, 19例患者(38%)有肝硬化, 4例患者(8%)既没有肝硬化也无慢性肝炎. 在31例患者(62%)中AFP水平升高(>20 ng/mL), 在8例患者(16%)中CEA水平升高(>6 ng/mL), 14例患者中(28%)CA 19-9水平升高(>37 U/mL). AFP, CEA和CA19-9水平的中位数和范围分别为37 ng/mL(1.2-43100 ng/mL), 2.7 ng/mL(0.4-50.6 ng/mL)和23.8 U/mL(范围1.5-641 U/mL). 11例患者(22%)发生了远处转移(淋巴结转移7例, 淋巴结和骨转移2例, 肺转移2例). 恶性肿瘤患者淋巴结短轴直径>1 cm认为是有肿瘤活性的[19]. 13例(26%)患者发生了门静脉癌栓, (门静脉主干癌栓7例, 门静脉分支癌栓1例, 节段性门静脉癌栓5例), 4例(8%)患者发生了胆管扩张. 6例患者进行了局部放疗, 2例患者接受了全身化疗, 2例患者既接受了局部放疗又进行了全身化疗. 2例患者和6例合并肝外转移(淋巴结或骨)的患者进行了全身放疗.

2.2 肿瘤反应 TACE治疗后, 7名患者表现为部分缓解(最大肿瘤直径减少>30%)(图1), 28例产生有效的肿瘤坏死(坏死面积>50%). 尽管经过TACE治疗, 10例患者术后病情无明显变化且肿块坏死面积低于50%, 其中5例患者肿瘤进一步增大(肿瘤最大直径增加>20%)(图2). 因此35例患者(70%)被列为有反应, 15患者(30%)被归为无反应. 肿瘤反应与肿瘤的血供显著相关: 在10例乏血供肿瘤患者中有1例(10%), 在40例富血供肿瘤患者中有34例(85%)产生肿瘤坏死反应(P<0.001).

2.3 并发症和死亡率 21例(42%)患者发生了栓塞后综合征并在7 d内自动消失. 2例患者(4%)发生了TACE治疗相关的并发症. 1例患者发生了肝脓肿, 1例患者发生了急性肾功能衰竭, 发生肝脓肿的患者通过经皮肝脓肿穿刺引流和抗生素治疗后好转. 发生急性肾功能衰竭的患者最终在治疗后也肾功能也得到了恢复. 没有患者在TACE术后30 d之内死亡.

2.4 随访和患者生存期的相关因素 37例患者在随访期间死亡(平均10.8 mo; 范围1.4-57 mo). 中位生存期为12.3 mo(95%CI: 6.7-17.9). 1年生存率分别为52%, 2年为38%, 3年为16%, 4年为12%. 多变量Cox回归模型中单变量分析P<0.2: 肿瘤大小, 肿瘤的血供, Child-Pugh分级, 门静脉癌栓, 辅助治疗, 肝外转移, 血清CEA水平, 血清CA19-9水平. 多变量Cox回归分析证实肿瘤大

■相关报道
Allen和Lisa在1949年首次对肝癌合并胆管癌的病例进行了报道, 但是由于肝细胞肝癌又合并胆管癌的发生率低, 其人口统计学和临床特征、预后因素等仍然知之甚少. 目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点.

■创新盘点
目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点. 混合型肝癌即使通过手术切除, 因其复发率较高, 5年生存率不到30%. 目前TACE已被证明是可以延长混合型肝癌患者生存期的有效治疗手段. 本文评估混合型肝癌患者接受TACE治疗的临床疗效并分析术后影响患者生存预后的因素.

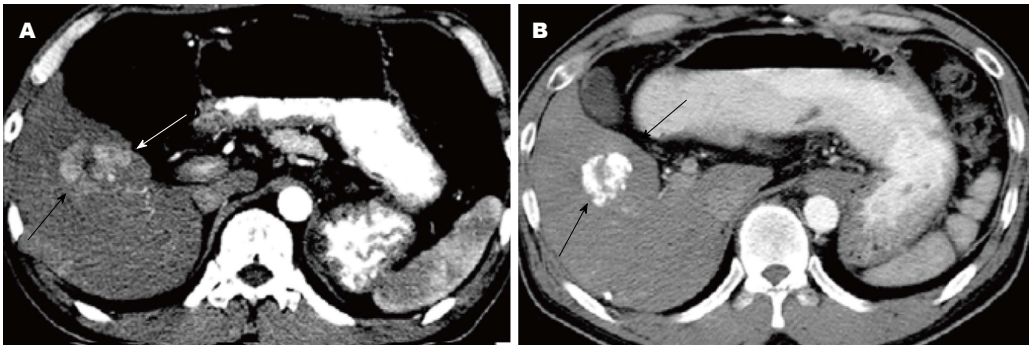


图 1 57岁男性混合型肝癌不能耐受手术切除患者的轴位CT扫描. A: CT增强扫描后动脉期显示第五肝段的富血供肿块(箭头表示); B: 首次TACE术后1 mo行CT增强扫描后动脉期显示瘤体有大量碘化油沉积(箭头表示)和肿瘤体积缩小(坏死面积>30%, 肿瘤直径由术前的45 mm降至术后的31 mm).

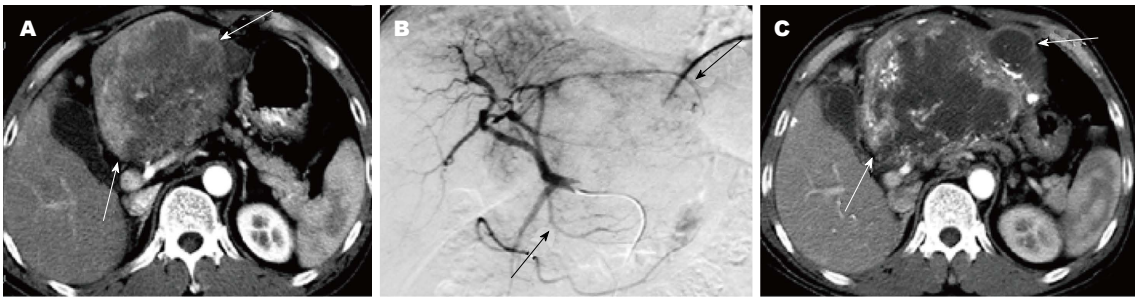


图 2 79岁男性混合型肝癌患者的图像. A: 首次TACE 术前3天前腹部CT增强扫描动脉期显示肝左叶的一个巨大肿块(箭头表示); B: 肝动脉造影显示为边缘染色浅淡的乏血供肿块(箭头表示); C: 首次TACE术后1 mo行腹部CT增强扫描动脉期显示乏血供肿块碘化油沉积很少且继续进展(坏死面积>20%, 肿瘤直径由术前的124 mm增加至术后的160 mm)(箭头表示).

小、肿瘤的血供, Child-Pugh分级和门静脉癌栓是与TACE治疗后患者生存期相关的独立因素. 肿瘤最大直径超过9 cm, 乏血供肿瘤, Child-Pugh分级B级或以上, 存在门静脉癌栓是患者的生存预后的不良因素.

3 讨论

3.1 关于TACE治疗混合型肝癌 从组织学的角度来说, 胆管癌可以发展成肝癌或肝脏肿瘤的原因可能是起源于可以分化成肝细胞和胆管上皮细胞的同一个干细胞[1]. 胆管癌是混合型肝癌其中的一部分可能是由部分肝癌组织的变异所产生, 混合型肝癌和肝细胞肝癌患者的临床病理诊断相似, 例如平均年龄(均为60岁), 都以男性患者居多, 在病毒性肝炎, AFP水平升高, 肝硬化等方面均为阳性[20]. 我们同样发现了类似的临床病理特点: 84%的患者乙型或丙型肝炎病毒抗体为阳性, 82%为男性, 62%的患者有AFP升高, 54%的患者已基本确诊为肝硬化. 然而混合型肝癌的显著特点是他既像肝细胞肝癌一样易形成门静脉癌栓, 又像胆管癌一样易发生淋巴结转移或包绕胆管[1]. 在目前的研究中26%的患者发生了门静脉癌栓, 18%的患者发生了淋巴结转移, 8%的患者发生了胆管扩张. 因此, 虽然混合型肝癌的临床特征与肝细胞肝癌相似, 但混合型肝癌患者的预后较差, 可能与淋巴结转移或侵犯胆管有关[6]. 目前TACE已成为治疗不可手术切除肝癌的首选[8-10]. TACE治疗相对于全身化疗的重要优势在于他增加了化疗药物在病灶的区域集中, 并通血管栓塞剥夺了癌组织的血液供应, 最大限度地杀死癌细胞, 同时保留健康的肝组织, 减少全身不良反应[21]. 富血供的肝肿瘤在TACE治疗后能产生稳定反应是因为化疗药物和栓塞材料的交叉使用在TACE治疗后能够产生更好地选择性和有效性. 然而, 在我们目前的研究中40(80%)名患者增强CT扫描动脉期显示为富血供肿块, 从而使化疗药物和栓塞材料能够选择性、交互地导致其中的34(85%)例患者在术后产生肿瘤反应. 因此, TACE能够减少不可切除混合型肝癌患者肿瘤显著病变区域的血供, 从而延迟患者病情的恶化和进展. 在所有患者中, TACE治疗的耐受性良好, 没有死亡率和低并发症发生率(4%; 1例发生肝脓肿, 1例发生急性肾功能衰竭). 在我们的研究中, 样本的数量太

少应被视为一种局限性. 首先, 我们的研究有一个回顾性的设计但却没有对照组. 然而, 由于混合型肝癌的低发生率和医学伦理的原因, 进行前瞻性的随机对照试验也是很困难的; 其次, 由于研究时间过长(>10年), 在评估肿瘤血管的CT技术发生了许多改进. 然而, 我们相信我们的研究样本均充分地评估过病变血管. 由于我们研究是回顾性的, CT随访和TACE治疗之间的时间间隔并不均匀且变化很大; 最后, 我们并没有严格遵守适用于所有>1 cm病灶的实体瘤反应评价标准, 但是我们是在最大的靶病变的基础上评估肿瘤反应.

3.2 对TACE术后患者生存期的影响因素 患者在TACE术后的中位生存期为12.3 mo, 比报道接受保守治疗的混合型肝癌患者6.5 mo的中位生存期[8,12]大大地延长. 在我们的多变量Cox回归分析模型显示: 肿瘤大小、肿瘤的血供、Child-Pugh分级、门静脉癌栓是与TACE治疗后患者生存期长短显著相关的预后因素. 在本研究中, 影响患者生存期的不良预后因素为肿瘤最大直径超过9 cm、乏血供的肿瘤、Child-Pugh分级为B级和合并门静脉癌栓. 我们相信TACE治疗后的混合型肝癌患者的存活率与肝细胞肝癌患者相似[22], 可能取决于肿瘤的负荷和潜在的肝脏功能. 此外, 由于肿瘤浸润门静脉造成门静脉阻塞后可能会减少正常肝组织的血液供应[23], 从而增加了肿瘤全肝广泛扩散的风险[24], 也可能是混合型肝癌患者TACE治疗后的一个减少生存时间的重要危险因素. 因为乏血供混合型肝癌患者与富血供混合型肝癌患者相比反应更差[10% *vs* 85%, P<0.001(Fisher精确检验)]和预后更差(中位生存期, 4 mo *vs* 16 mo, P<0.001)(Kaplan-Meier法, 使用Log-rank检验). 我们假定混合型肝癌的肿瘤供血情况取决于肿瘤的成分. 换句话说, 如果混合型肝癌的大部份组织为胆管癌, 他可能是乏血供的. 乏血供的混合型肝癌比富血混合型肝癌的不同可能是侵犯性更强. TACE可能无法有效地用于治疗乏血供的混合型肝癌, 因为与富血供病灶相比化疗药物或栓塞材料不能有效地并选择性地灌注并保留在病灶中. 最近使用钇90(90Y)对乏血供肝脏恶性肿瘤, 如肝内胆管细胞癌或大肠癌肝转移[25]患者进行放射栓塞的姑息治疗已显示出可喜的成果. 使用钇90放射栓塞治疗不可切除的乏血供混合型肝癌可能是一种有效的治疗选择.

总之, TACE治疗是安全, 与历史文献报告相比可有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存期. 肿瘤的血供与肿瘤反应高度相关. TACE治疗混合型肝癌患者的生存益处在很大程度上取决于肿瘤大小, 肿瘤的血供, Child-Pugh分级, 是否合并门脉癌栓. 鉴于本研究的结果, 我们目前已经放弃使用TACE治疗乏血供混合型肝癌.

■应用要点
TACE治疗是安全, 与历史文献报告相比可有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存期. 肿瘤的血供与肿瘤反应高度相关. TACE治疗混合型肝癌患者的生存益处在很大程度上取决于肿瘤大小, 肿瘤的血供, Child-Pugh分级, 是否合并门脉癌栓.

4 参考文献

1 Kim KH, Lee SG, Park EH, Hwang S, Ahn CS, Moon DB, Ha TY, Song GW, Jung DH, Kim KM, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Surgical treatments and prognoses of patients with combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 623-629 [PMID: 19130133 DOI: 10.1245/s10434-008-0278-3]

2 Aoki K, Takayasu K, Kawano T, Muramatsu Y, Moriyama N, Wakao F, Yamamoto J, Shimada K, Takayama T, Kosuge T. Combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: clinical features and computed tomographic findings. *Hepatology* 1993; 18: 1090-1095 [PMID: 7693572 DOI: 10.1002/hep.1840180512]

3 周建雄, 戴洪修, 杨静. 肿块型肝内胆管细胞癌: 多排CT的动脉期强化与临床病理的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 8: 694-698

4 Allen RA, Lisa JR. Combined liver cell and bile duct carcinoma. *Am J Pathol* 1949; 25: 647-655 [PMID: 18152860]

5 Lin G, Toh CH, Wu RC, Ko SF, Ng SH, Chou WC, Tseng JH. Combined hepatocellular cholangiocarcinoma: prognostic factors investigated by computed tomography/magnetic resonance imaging. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 1199-1205 [PMID: 17537192 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2007.01291.x]

6 Jarnagin WR, Weber S, Tickoo SK, Koea JB, Obiekwe S, Fong Y, DeMatteo RP, Blumgart LH, Klimstra D. Combined hepatocellular and cholangiocarcinoma: demographic, clinical, and prognostic factors. *Cancer* 2002; 94: 2040-2046 [PMID: 11932907 DOI: 10.1002/cncr.10392]

7 Tickoo SK, Zee SY, Obiekwe S, Xiao H, Koea J, Robiou C, Blumgart LH, Jarnagin W, Ladanyi M, Klimstra DS. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: a histopathologic, immunohistochemical, and in situ hybridization study. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 989-997 [PMID: 12170085 DOI: 10.1097/00000478-200208000-00003]

8 Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodés J, Bruix J. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-1739 [PMID: 12049862 DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08649-X]

9 王胜强, 梁茂全, 毛景松, 邢榕, 苏洪英. TACE治疗不同年龄组原发性肝癌367例. 世界华人消化杂志 2012; 24: 2288-2292

10 Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-442 [PMID: 12540794 DOI: 10.1053/jhep.2003.50047]

■同行评价
本文设计合理，准确地评估分析了混合型肝癌患者接受TACE治疗的临床疗效并分析术后影响患者生存预后的因素.

11 Kim JH, Yoon HK, Sung KB, Ko GY, Gwon DI, Shin JH, Song HY. Transcatheter arterial chemoembolization or chemoinfusion for unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma: clinical efficacy and factors influencing outcomes. *Cancer* 2008; 113: 1614-1622 [PMID: 18704990 DOI: 10.1002/cncr.23787]

12 Covey AM, Maluccio MA, Schubert J, BenPorat L, Brody LA, Sofocleous CT, Getrajdman GI, Fong Y, Brown KT. Particle embolization of recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Cancer* 2006; 106: 2181-2189 [PMID: 16596622 DOI: 10.1002/cncr.21883]

13 Katyal S, Oliver JH, Peterson MS, Chang PJ, Baron RL, Carr BI. Prognostic significance of arterial phase CT for prediction of response to transcatheter arterial chemoembolization in unresectable hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 1665-1672 [PMID: 11090401 DOI: 10.2214/ajr.175.6.1751665]

14 Ebied OM, Federle MP, Carr BI, Pealer KM, Li W, Amesur N, Zajko A. Evaluation of responses to chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 1042-1050 [PMID: 12569604 DOI: 10.1002/cncr.11111]

15 Kothary N, Weintraub JL, Susman J, Rundback JH. Transarterial chemoembolization for primary hepatocellular carcinoma in patients at high risk. *J Vasc Interv Radiol* 2007; 18: 1517-126; quiz 1527 [PMID: 18057286 DOI: 10.1016/j.jvir.2007.07.035]

16 Park JO, Lee SI, Song SY, Kim K, Kim WS, Jung CW, Park YS, Im YH, Kang WK, Lee MH, Lee KS, Park K. Measuring response in solid tumors: comparison of RECIST and WHO response criteria. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 533-537 [PMID: 14623923 DOI: 10.1093/jjco/hyg093]

17 Georgiades CS, Hong K, D'Angelo M, Geschwind JF. Safety and efficacy of transarterial chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma and portal vein thrombosis. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16: 1653-1659 [PMID: 16371532 DOI: 10.1097/01.RVI.0000182185.47500.7A]

18 Forner A, Ayuso C, Varela M, Rimola J, Hessheimer AJ, de Lope CR, Reig M, Bianchi L, Llovet JM, Bruix J. Evaluation of tumor response after locoregional therapies in hepatocellular carcinoma: are response evaluation criteria in solid tumors reliable? *Cancer* 2009; 115: 616-623 [PMID: 19117042 DOI: 10.1002/cncr.24050]

19 Yoon YC, Lee KS, Shim YM, Kim BT, Kim K, Kim TS. Metastasis to regional lymph nodes in patients with esophageal squamous cell carcinoma: CT versus FDG PET for presurgical detection prospective study. *Radiology* 2003; 227: 764-770 [PMID: 12773680 DOI: 10.1148/radiol.2281020423]

20 Maeda T, Adachi E, Kajiyama K, Sugimachi K, Tsuneyoshi M. Combined hepatocellular and cholangiocarcinoma: proposed criteria according to cytokeratin expression and analysis of clinicopathologic features. *Hum Pathol* 1995; 26: 956-964 [PMID: 7545644 DOI: 10.1016/0046-8177(95)90084-5]

21 Liapi E, Geschwind JF. Transcatheter and ablative therapeutic approaches for solid malignancies. *J Clin Oncol* 2007; 25: 978-986 [PMID: 17350947 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.8657]

22 Brown DB, Chapman WC, Cook RD, Kerr JR, Gould JE, Pilgram TK, Darcy MD. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma: patient status at presentation and outcome over 15 years at a single center. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190: 608-615 [PMID: 18287429 DOI: 10.2214/AJR.07.2879]

23 Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Kojiro M, Makuuchi M, Yamaoka Y. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology* 2006; 131: 461-469 [PMID: 16890600 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.05.021]

24 Zhang XB, Wang JH, Yan ZP, Qian S, Du SS, Zeng ZC. Hepatocellular carcinoma with main portal vein tumor thrombus: treatment with 3-dimensional conformal radiotherapy after portal vein stenting and transarterial chemoembolization. *Cancer* 2009; 115: 1245-1252 [PMID: 19156918 DOI: 10.1002/cncr.24139]

25 Jakobs TF, Hoffmann RT, Dehm K, Trumm C, Stemmler HJ, Tatsch K, La Fougere C, Murthy R, Helmberger TK, Reiser MF. Hepatic yttrium-90 radioembolization of chemotherapy-refractory colorectal cancer liver metastases. *J Vasc Interv Radiol* 2008; 19: 1187-1195 [PMID: 18656012 DOI: 10.1016/j.jvir.2008.05.013]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2355-2358
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

老年高血脂性急性胰腺炎患者行血浆置换法术后的临床效果分析74例

赵爱荣, 张 慧, 田晓华, 刘 阳, 刘卫荣

赵爱荣, 唐山工人医院护理部 河北省唐山市 063000
张慧, 田晓华, 刘阳, 刘卫荣, 唐山工人医院重症医学科 河北省唐山市 063000
赵爱荣, 副主任护师, 主要从事消化疾病的护理工作.
作者贡献分布: 此课题由赵爱荣设计; 研究过程由赵爱荣、张慧、田晓华及刘阳实施完成; 数据分析由刘阳、刘卫荣及田晓华完成; 本论文写作由赵爱荣、张慧、田晓华、刘阳及刘卫荣共同完成.
通讯作者: 赵爱荣, 副主任护师, 063000, 河北省唐山市路北区文化路27号, 唐山工人医院护理部. 2006818kz@sina.com
收稿日期: 2013-07-16 修回日期: 2013-07-24
接受日期: 2013-07-29 在线出版日期: 2013-08-18

Therapeutic effect of plasma exchange in treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis in elderly patients: An analysis of 74 cases

Ai-Rong Zhao, Hui Zhang, Xiao-Hua Tian, Yang Liu, Wei-Rong Liu

Ai-Rong Zhao, Department of Nursing, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Hui Zhang, Xiao-Hua Tian, Yang Liu, Wei-Rong Liu, Department of ICU, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Correspondence to: Ai-Rong Zhao, Associate Chief Nurse, Department of Nursing, Tangshan Gongren Hospital, 27 Wenhua Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. 2006818kz@sina.com
Received: 2013-07-16 Revised: 2013-07-24
Accepted: 2013-07-29 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effects of plasma exchange (PE) in the treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis (HLP) in elderly patients.

METHODS: Seventy-four elderly patients with HLP who were treated at our hospital from April 2011 to April 2013 were randomly divided into either a control group or a treatment group. The control group was given routine drug treatment, and the treatment group underwent PE on the basis of routine drug treatment. Clinical efficacy of PE was assessed.

RESULTS: Clinical symptoms of patients in the treatment group improved significantly 72 h after treatment. For example, heart rate decreased to the normal level, APACHE Ⅱ score and serum levels of triacylglycerol, interleukin-6 and tumor necrosis factor-α decreased significantly (all $P < 0.05$). The total effective rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (94.59% *vs* 78.38%, $\chi^2 = 4.1625$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: PE is effective in the treatment of HLP in elderly patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hyperlipidemia; Acute pancreatitis; Plasma exchange; Nursing

Zhao AR, Zhang H, Tian XH, Liu Y, Liu WR. Therapeutic effect of plasma exchange in treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis in elderly patients: An analysis of 74 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2355-2358
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2355.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2355

摘要

目的: 探讨血浆置换法(plasma exchange, PE)治疗老年高血脂性急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的疗效及护理体会.

方法: 随机选取我院在2011-04/2013-04收治的老年高血脂性AP患者74例, 随机分为对照组和治疗组, 对照组进行常规药物治疗, 治疗组在常规药物的基础上使用PE治疗, 检测患者的临床疗效, 并总结护理体会.

结果: 经治疗后72 h, 患者临床症状改善明显, 心率(heart rhythm, HR)降低至正常, APACHE Ⅱ评分下降明显($P<0.05$); 血清三酰甘油(triacylglycerol, TG)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)亦明显下降($P<0.05$). 对照组总有效率为78.38%, 治疗组总有效率为94.59%, 两组间差异显著($\chi^2 = 4.1625$, $P<0.05$).

■背景资料
随着人民生活水平的逐步提高, 约有15%以上的胰腺炎为高血脂性胰腺炎, 高血脂性胰腺炎主要的发病原因为血清三酰甘油水平升高, 因此治疗主要针对高血脂症, 以降低血清三酰甘油水平为目的. 目前使用血浆置换法降低三酰甘油水平是治疗高血脂性胰腺炎的有效方法.

■同行评议者
黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

■研发前沿
近年来，由高脂血症所引发的急性胰腺炎越来越多，已成为急性胰腺炎的病因之一，持续性的高血脂症，可能会导致急性胰腺炎的病情加重、并发症增多，治愈率差等.

结论: 老年高血脂性AP患者经PE治疗，并精心观察与护理，就可以得到很好的治愈.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 高脂血症; 急性胰腺炎; 血浆置换; 护理体会

核心提示: 本研究采用血浆置换法治疗高血脂性胰腺炎，并经针对性护理，治疗组总有效率达到94.59%，能有效的缓解患者的病情，效果显著. 因此，对患者进行针对性的护理已经成为血浆置换法治疗高血脂性胰腺炎的关键性因素之一.

赵爱荣，张慧，田晓华，刘阳，刘卫荣. 老年高血脂性急性胰腺炎患者行血浆置换法术后的临床效果分析74例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2355-2358 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2355.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2355

0 引言

近年来，由高脂血症所引发的急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)越来越多，已成为急性胰腺炎的病因之一，持续性的高血脂症，可能会导致急性胰腺炎的病情加重、并发症增多，治愈率差等[1,2]. 因此，高血脂性AP的治疗除了禁食和药物外，积极快速、早期的降低血脂浓度同样具有重要的意义. 目前对高血脂性AP的治疗主要集中于降低血清三酰甘油(triacylglycerol, TG)，并减轻机体的炎症反应[3]. 血浆置换法(plasma exchange, PE)可以显著降低患者的TG水平，已越来越多的应用于临床治疗[4]. 本研究随机选取我院在2011-04/2013-04收治的74例老年高血脂性AP患者，使用PE方法治疗，并进行精心针对性护理，疗效显著，现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2011-04/2013-04我院收治的老年高脂血症性急性胰腺炎患者74例，其中男39例，女35例；年龄32-74岁，平均年龄41.3岁±6.9岁；病程1-3年. 病例纳入标准[5]: (1)符合中国急性胰腺炎诊治指南(草案)的临床诊断及分级标准; (2)TG浓度≥11.30 mmol/L; (3)排除其他病因，确诊为老年高脂血症性急性胰腺炎; (4)均知情同意，并签署同意书. 74例老年高脂血症性急性胰腺炎患者随机分为对照组和治疗组，经统计学分析，两组患者在性别、年龄和病情方面均无统计学意义(P<0.05). 对照组和观察组患者合并并发症：急性呼吸窘迫综合征分别5例和6例，急性肾功能障碍分别为4例和7例，急性心力衰竭分别为3例和4例，上消化道出血分别为2例和3例，胰性脑病分别为3例和2例，休克分别为8例和9例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者入院后进行常规治疗: 进行液体补充、电解质紊乱的纠正以及平衡失调的酸碱值，同时禁食、解痉、对胃肠减压、控制胰酶的分泌、补充静脉或肠的营养，对症治疗，同时及时地进行手术干预. 观察组患者在常规治疗的基础上进行PE治疗: 联合使用Plasmaflux P2S型血浆分离器和ADM08/ABM型床旁血滤系统，均由德国Fresenius公司生产. 其中参数主要为血流量: 150 mL/min，时间: 1.5-2.0 h，置换血浆总量: 2000-3000 mL/d，次数: 1-4次(根据治疗情况决定)，在治疗过程中使用4000-6000 U的低分子肝素抗凝. 治疗目标为TG浓度≤5.65 mmol/L.

1.2.2 护理: (1)严密观察患者病情: 观察患者的体温、呼吸、血压、皮肤状况以及意识情况，以30 min一次的频率进行记录，同时检测患者尿量，注意机体的酸碱平衡，遵医嘱及时进行药物治疗; (2)持续性心理护理: 安抚患者的情绪，消除顾虑. 以温和的口吻和态度介绍医院环境、主治医师、护理人员以及治疗的设备设施，从而降低患者对医院的陌生感; (3)观察及预防不良反应. 治疗过程中与患者保持良好的互动，认真聆听患者的诉说，如出现发热、惧寒、皮肤瘙痒以及支气管哮喘等过敏症状，立即报告主治医师，并及时注射地塞米松进行抗敏治疗. 在取回血浆后要进行良好的保温工作; (4)PE治疗后的护理. 完成PE治疗后，使用肝素盐水进行封管保留，防止出现血栓，形成堵管现象. 注意安排患者卧床休息，避免下床及端坐，避免用力，防止导管掉落.

1.2.3 观察指标: 分别测定治疗前、治疗后72 h患者心率、氧合指数、血氧饱和度、APACHE Ⅱ评分、血清TG浓度; 并采用ELISA法检测(试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司)血清白介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)水平.

1.2.4 疗效判定标准: 治疗后根据患者的治疗状况分为3个级别[6]，其中治愈: 患者临床表现消失，没有并发症，血尿淀粉酶恢复正常; 好转: 患者临床表现基本消失，并发症减少，血尿淀粉酶含量略高; 无效: 患者临床表现无缓解，血尿淀粉

表 1 治疗前后患者检测指标及APACHE Ⅱ积分变化 (mean ± SD)

分组	指标	治疗前	治疗72 h
观察组	心率	110 ± 15	85 ± 10[ac]
	氧合指数	333 ± 48	176 ± 38[ac]
	血氧饱和度	0.94 ± 0.01	0.92 ± 0.05[ac]
	APACHE II积分	14.5 ± 7.9	11.8 ± 4.1[ac]
	TG(mmol/L)	17.5 ± 7.3	6.9 ± 3.5[ac]
	IL-6(ng/L)	72.4 ± 24.1	38.8 ± 17.7[ac]
	TNF-α(ng/L)	61.3 ± 16.3	37.5 ± 14.2[ac]
对照组	心率	107 ± 18	101 ± 15
	氧合指数	322 ± 58	287 ± 48[a]
	血氧饱和度	0.93 ± 0.14	0.93 ± 0.04
	APACHE II积分	15.2 ± 7.1	14.6 ± 5.9
	TG(mmol/L)	18.2 ± 6.2	16.3 ± 5.3
	IL-6(ng/L)	71.9 ± 25.3	78.8 ± 24.7
	TNF-α(ng/L)	62.9 ± 16.5	56.5 ± 14.1

[a]P<0.05 *vs* 治疗前; [c]P<0.05 *vs* B组. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; TG: 甘油三脂.

酶含量高, 以及在治疗过程中死亡. 总有效率 = 治愈率+好转率

统计学方法 采用SPSS18.0计量软件进行数据处理, 组间差异采用χ^2检验, P<0.05时差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 *观察指标* 经治疗后72 h, 患者临床症状改善明显, 心率降至正常, APACHEⅡ评分下降明显(P<0.05); 血清TG、IL-6及TNF-α亦明显下降(P<0.05)(表1).

2.2 *并发症发生情况* 治疗后, 观察组组中, 发生急性呼吸窘迫综合征、上消化道出血、胰性脑病各1例, 急性肾功能障碍3例, 其他急性并发症均得到控制. 对照组合并并发症: 急性呼吸窘迫综合征6例, 急性肾功能障碍5例, 急性心力衰竭3例, 上消化道出血3例, 胰性脑病3例, 休克3例, 其他急性并发症均得到控制.

2.3 *有效率* 治疗后对照组总有效率为78.38%, 治疗组总有效率为94.59%, 两组间差异显著(χ^2 = 4.1625, P<0.05); 其中两组间治愈率差异显著(χ^2 = 4.4966, P<0.05), 无效率差异显著(χ^2 = 4.1625, P<0.05, 表2), 均具有统计学意义. 两组间好转率间差异不显著, 不具有统计学意义.

3 结论

随着人民生活水平的逐步提高, 约有15%以上的胰腺炎为高血脂性AP[7], 高血脂性AP主要的发病原因为TG水平升高, 因此治疗主要针对高血脂症, 以降低TG水平为目的[8,9]. 目前使用PE降低TG水平是治疗高血脂性AP的有效方法.

表 2 治疗后两组患者临床疗效对比 [n = 37, n(%)]

分组	治愈	好转	无效	总有效率
对照组	17(45.95)	12(32.43)	8(21.62)	29(78.38)
治疗组	26(70.27)[a]	9(24.32)	2(5.61)[a]	35(94.59)[a]

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

■**应用要点**
护理人员在胰腺炎患者的住院期间, 应密切注意患者的临床表现及病情变化, 注意患者机体的水电平衡和酸碱平衡; 注意防止过敏现象出现并及时治疗.

护士在患者入院后需要对其进行精心的护理, 以确保患者在治疗阶段保持最好的状态, 提高患者的治愈率. 对患者的护理主要集中于以下几个方面: (1)严密观察患者病情. 高血脂性AP患者一般病情比较重, 因此在进行治疗时, 要以严谨的态度观察患者的体表特征的变化[10], 如体温、呼吸、血压、皮肤状况以及意识情况, 以30 min一次的频率进行记录, 同时检测患者尿量, 注意机体的酸碱平衡, 遵医嘱及时进行药物治疗, 在治疗过程中, 密切观察患者的情况, 聆听患者的诉说, 做到及时发现问题并解决问题; (2)持续性心理护理. 患者入院后可能会因为发病突然、疾病痛苦、环境压抑等各种因素, 出现情绪不稳、烦躁不安、抑郁等状况, 不能积极地配合治疗. 此时护理人员的工作就是安抚患者的情绪, 消除顾虑. 以温和的口吻和态度介绍医院环境、主治医师、护理人员以及治疗的设备设施, 从而降低患者对医院的陌生感. 积极主动的对患者讲述PE治疗的具体方法, 以及必要性[11,12], 降低患者对治疗的恐惧, 并由经验丰富的护士为其穿刺, 同时联合患者家属, 对患者生活上给予鼓励和照顾; (3)观察及预防不良反应. 为避免在治疗过程中出现凝血现象以及治疗结束后出现出血现象, 故在置换血浆中需要使用合理的方案进行抗凝[13]. 在治疗过程中使用低分子肝素进行抗凝, 或者使用加有50-100 mg肝素钠的1500 mL的生理盐水进行冲洗. 治疗过程中因为输入大量的外源血浆, 极易导致变态现象和低血钙现象[14]. 在治疗过程中与患者保持良好的互动, 认真聆听患者的诉说, 如出现发热、惧寒、皮肤瘙痒以及支气管哮喘等过敏症状, 立即报告主治医师, 并及时注射地塞米松进行抗敏治疗. 在取回血浆后要进行良好的保温工作, 以避免低温血浆进入人体引起寒战; (4)PE

■同行评价
本文层次分明, 讨论条理, 对从事消化疾病的护理工作者有一定参考价值.

治疗后的护理. 完成PE治疗后, 使用肝素盐水进行封管保留, 防止出现血栓, 形成堵管现象. 治疗结束后, 由护士送回病房并做好交接工作, 并交代继续观测患者的生命体征、尿量以及腹部体征, 水电解质的变化状况, 观察出血现象以及过敏现象的出现, 及时进行抽血化验. 留管期间, 注意安排患者卧床休息, 避免下床及端坐, 避免用力, 防止导管掉落[15]. 为了防止导管的感染, 一定要保持穿刺部位的干燥清洁, 及时更换敷料. 更换封管的肝素盐水时, 要先抽出管内的封管液, 再注入新的封管液, 同时用无菌纱布包扎并固定. 导管拔出后无菌纱布覆盖, 绝对卧床休息24 h, 并严格观察是否继续出血以及动脉博动情况. 连续3 d, 每天更换一次无菌纱布.

本研究采用PE治疗高血脂性AP, 治疗组总有效率达到94.59%, 能有效的缓解患者的病情, 效果显著. 护理人员在患者的住院期间, 应密切注意患者的临床表现及病情变化, 注意患者机体的水电平衡和酸碱平衡; 注意防止过敏现象的出现并及时治疗.

总之, 对患者进行针对性的护理已经成为PE治疗高血脂性AP的关键性因素之一.

4 参考文献

1 张瑜红, 唐国都. 高脂血症性胰腺炎的临床研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 2272-2274

2 Cugnet-Anceau C, Moret M, Moulin P. [Hypertriglyceridemia: therapeutic strategy]. *Rev Prat* 2011; 61: 1110-1116 [PMID: 22135979]

3 郁国强, 曾军红, 禤江华, 李红军. 血浆置换联合血液透析滤过治疗重症急性胰腺炎临床疗效分析. 临床荟萃 2011; 26: 760-765

4 Rozhkova TA, Ameliushkina VA, Iarovaia EB, Malyshev PP, Titov VN. [Clinical and laboratory detection of phenotypic characteristics in patients with high hypertriglyceridemia]. *Klin Lab Diagn* 2011; (5): 10-16 [PMID: 21786608]

5 周俊杰, 罗琼湘, 章雄军, 徐小强. 早期连续性血液净化治疗重症急性胰腺炎14例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 800-803

6 潘松球, 黎琦, 蒙陆丹, 曾巧. 血浆置换治疗高脂血症性急性胰腺炎的临床观察. 广西医学 2010; 32: 1185-1187

7 Kadikoylu G, Yukselen V, Yavasoglu I, Coşkun A, Karaoglu AO, Bolaman Z. Emergent therapy with therapeutic plasma exchange in acute recurrent pancreatitis due to severe hypertriglyceridemia. *Transfus Apher Sci* 2010; 43: 285-289 [PMID: 20926345 DOI: 10.1016/j.bbr.2011.03.031]

8 Syed H, Bilusic M, Rhondla C, Tavaria A. Plasmapheresis in the treatment of hypertriglyceridemia-induced pancreatitis: A community hospital's experience. *J Clin Apher* 2010; 25: 229-234 [PMID: 20818718 DOI: 10.1002/jca.20232]

9 顾冬玲. 28例急性重症胰腺炎的护理体会. 中国医药指南 2012; 10: 673-674

10 薛伟红. 高脂血症性急性胰腺炎临床分析. 中国实用医药 2010; 5: 90-91

11 Hauenschild A, Bretzel RG, Schnell-Kretschmer H, Kloer HU, Hardt PD, Ewald N. Successful treatment of severe hypertriglyceridemia with a formula diet rich in omega-3 fatty acids and medium-chain triglycerides. *Ann Nutr Metab* 2010; 56: 170-175 [PMID: 20150726 DOI: 10.1159/000283561]

12 王玉柱, 秦涛, 张宏伟. 高脂血症性胰腺炎的治疗现状与进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2661-2664

13 冯红霞, 赵琦, 刘莉, 马勇. 从胰腺的受累部位探讨急性胰腺炎的发病机制. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 571-572

14 黄鹏, 王春友, 吴河水, 吴国俊, 黎建军. 持续血液滤过治疗高脂血症性急性胰腺炎24例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 964-968

15 张学军, 尹长江, 刘凤芹. 高脂血症相关性急性胰腺炎28例临床分析. 中华实用诊断与治疗杂志 2010; 24: 92-94

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2359-2363
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

麦粒灸结合针刺与单纯针刺治疗慢性功能性便秘的疗效比较

李春日, 荆 秦, 刘 林, 谷忠悦

李春日, 荆秦, 辽宁中医药大学针灸推拿学院实验针灸教研室 辽宁省沈阳市 110847
刘林, 辽宁中医药大学附属医院脾胃科 辽宁省沈阳市 110032
谷忠悦, 辽宁中医药大学针灸推拿学院针灸基础教研室 辽宁省沈阳市 110847
李春日, 主要从事心身疾病针刺干预方法及效应的研究.
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2012CB518503
作者贡献分布: 李春日与谷忠悦对此文所作贡献均等; 此课题由李春日、刘林及谷忠悦设计; 研究过程由李春日、荆秦、刘林及谷忠悦操作完成; 数据分析由荆秦与刘林完成; 本论文写作由李春日、荆秦及刘林完成.
通讯作者: 谷忠悦, 教授, 110847, 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路79号, 辽宁中医药大学针灸推拿学院针灸基础教研室. 470199@163.com
收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-07-25
接受日期: 2013-07-29 在线出版日期: 2013-08-18

Clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in management of chronic functional constipation

Chun-Ri Li, Qin Jing, Lin Liu, Zhong-Yue Gu

Chun-Ri Li, Qin Jing, Department of Experimental Acupuncture, College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning Province, China
Lin Liu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, Liaoning Province, China
Zhong-Yue Gu, Department of Based Acupuncture, College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning Province, China
Supported by: the National Key Basic Research and Development Program, No. 2012CB518503
Correspondence to: Zhong-Yue Gu, Professor, Department of Based Acupuncture, College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning Province, China. 470199@163.com.
Received: 2013-07-15 Revised: 2013-07-25
Accepted: 2013-07-29 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in the management of chronic functional constipation.

METHODS: Seventy cases of chronic functional constipation were randomly and equally divided into two groups to receive either acupuncture combined with grain-shaped moxibustion or acupuncture group alone. Defecation styles, changes in clinical score of constipation and clinical efficacy were compared between the two groups.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the combination group than in the acupuncture group (80.0% *vs* 51.43%, $P < 0.05$). Moreover, the number of cases having autonomous defecation was significantly more in the combination group than in the acupuncture group. The improvement in difficulty of defecation, defecation time, abdominal pain, exsufflation difficulty, persistent sensation of defecation, sense of anal obstruction and purgative prescription dependence was more significant in the combination group than in the acupuncture group.

CONCLUSION: Acupuncture combined with grain-shaped moxibustion is more effective than acupuncture alone in improving symptoms in patients with chronic functional constipation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Grain-shaped moxibustion; Acupuncture; Chronic functional constipation

Li CR, Jin Q, Liu L, Gu ZY. Clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in management of chronic functional constipation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2359-2363 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2359.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2359

摘要

目的: 比较分析麦粒灸合针刺与单纯针刺治疗

■**背景资料**
目前, 西医药治疗慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC), 往往给予泻药, 保证患者的正常排便. 针灸治疗是目前临床用于治疗功能性便秘的另一种方法, 在CFC的治疗中已经取得了一定的效果. 麦粒灸是使用麦粒大小的艾炷放置于特点穴位上, 用灼烧局部穴位进行治疗的一种方法, 临床广泛应用于各系统的治疗中.

■**同行评议者**
扈晓宇, 教授, 主任医师, 成都中医药大学附属医院感染性疾病科

■研发前沿
临床研究还发现，长期使用泻剂，容易引发泻剂性肠病. 因此，找到一种安全、可靠、疗效好的治疗方法，就成为CFC研究的热点.

慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC)的疗效.

方法: 将70例CFC患者分为2组，每组各35例. 其中观察组给予麦粒灸与针刺联合治疗，对照组单用针刺治疗. 观察治疗前后2组患者的排便方式、便秘临床评分以及总疗效等指标.

结果: 观察组治疗总有效率为80.0%，高于对照组的51.43%(χ^2 = 6.34, P<0.05). 治疗后观察组能自主排便患者比例多于对照组(74.29% *vs* 45.71%, P<0.05)，依赖泻药患者比例低于对照组(20.0% *vs* 45.71%, P<0.05). 便秘临床评分方面，观察组排便费力程度、排便时间、腹痛、排气不畅、排便不尽感、肛门梗阻感、依赖泻剂等得分均低于对照组(P<0.05).

结论: 麦粒灸结合针刺治疗CFC，疗效优于单纯针刺，能显著改善CFC患者各项临床症状.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 麦粒灸; 针刺; 慢性功能性便秘

核心提示: 本研究将麦粒灸联合针刺作为慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC)的治疗方案，同单纯针刺治疗CFC进行了疗效学与相关症状的观察. 首先，通过2个疗程的治疗，可以发现观察组治疗总有效率达到80.0%，高于对照组的51.43%. 提示麦粒灸与针刺合用，可以提高单纯针刺的疗效.

李春日，荆秦，刘林，谷忠悦. 麦粒灸结合针刺与单纯针刺治疗慢性功能性便秘的疗效比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2359-2363 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2359.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2359

0 引言

慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC)是消化科较为常见的一类病症，临床研究表明[1]，本病近年来的发病率呈现明显的上升趋向，严重影响了患者的日常生活. 目前，西医药治疗CFC，往往给予泻药，保证患者的正常排便[2]. 针灸治疗是目前临床用于治疗CFC的另一种方法，在CFC的治疗中已经取得了一定的效果. 麦粒灸是使用麦粒大小的艾炷放置于特点穴位上，用灼烧局部穴位进行治疗的一种方法，临床广泛应用于各系统的治疗中[3]. 我院在临床治疗CFC，采用麦粒灸联合针刺的治疗方案，取得了较好的临床疗效，现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入CFC患者70例，均为我院2012-06/2013-01门诊及住院患者. 根据临床治疗方案的不同，将70例患者分为2组. 观察组35例，治疗上给予麦粒灸联合针刺；对照组35例，治疗上给予单纯针刺. 观察组中，男19例，女16例，年龄42-80岁，平均年龄57.6岁±12.5岁，CFC病史3-15年，平均病史9.2年±1.7年. 其中慢传输型便秘3例，出口梗阻型便秘17例，混合型便秘10例；对照组中，男20例，女15例，年龄39-80岁，平均年龄57.3岁±12.2岁，CFC病史2-13年，平均病史9.1年±1.6年. 其中慢传输型便秘5例，出口梗阻型便秘16例，混合型便秘19例. 对2组患者性别、年龄、病史等资料进行统计学分析，差异无统计学意义(P>0.05)，有可比性. 诊断标准[4]：参考2005年颁布的《我国慢性便秘的诊治指南》中相关诊断标准：(1)发病半年以上且最近3 mo内有过发作. 在符合该条件的基础上包含以下2个或2个以上的症状：25%排便有过努挣，25%排便为硬粪块，25%排便有不完全排空感，25%的排便有肛门直肠阻塞感，25%排便需手助排便，每周排便<3次；(2)不服用泻药，软粪便较少；(3)排除肠易激综合征. 纳入标准[3]：(1)CFC病史≥6 mo，近3 mo有过发作；(2)年龄≥18岁，≤80岁；(3)能配合治疗，完整疗程者. 排除标准[5]：(1)经检测有肠道器质性病变者；(2)有严重高血压、糖尿病、冠心病及其他心脑血管并发症者；(3)孕妇及哺乳期妇女；(4)不配合治疗或有精神疾患者.

1.2 方法

1.2.1 治疗：(1)单纯针刺组：CFC治疗穴位选择大横、天枢、关元、上巨虚、三阴交等. 治疗时患者取仰卧位，针灸部位用酒精消毒. 选择合适长度的针具进行针刺，所有穴位均采用平补平泻，将D6805电针仪的两组电极各连接于双侧天枢、上巨虚，设置为疏密波，强度以患者能耐受为宜. 针刺治疗每日1次，每次30 min；(2)麦粒灸结合针刺组：针刺方案同单纯针刺组. 针刺治疗完成后，将适量精艾绒，制成麦粒大小的艾炷. 将艾炷置于患者的气海、足三里，点燃艾顶，缓慢燃烧. 麦粒灸过程中密切观察患者的感觉与皮肤，当患者感觉穴位局部皮肤有灼烧感，即可将残余艾炷取出，放上新的艾炷. 治疗每日1次，每穴每次7壮艾炷. 2组患者均为1疗程10 d，2个疗程后观察疗效.

1.2.2 疗效评定：(1)痊愈：排便正常，主要症状消

表 1 2组疗效比较 (n = 35)

分组	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	4	11	13	7	80.0[a]
对照组	2	8	8	17	51.43

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 2 2组患者治疗前后排便方式比较 n(%)

分组	时间	自主排便	无法自主排便		
			依赖泻药	手法帮助	灌肠
观察组	治疗前	8(22.86)	28(80.0)	3(8.57)	1(2.86)
	治疗后	26(74.29)[a]	7(20.0)[c]	1(2.86)	1(2.86)
对照组	治疗前	7(20.0)	29(82.86)	2(5.71)	2(5.71)
	治疗后	16(45.71)	16(45.71)	2(5.71)	1(2.86)

χ^2 = 5.95, [a]P = 0.015 *vs* 对照组; χ^2 = 5.25, [a]P = 0.022 *vs* 对照组.

失, 便秘临床症状评分为0; (2)显效: 排便及主要症状较前改善, 便秘临床症状评分较前降低2/3; (3)有效: 排便及主要症状较前改善, 便秘临床症状评分较前降低1/2-2/3; (4)无效: 排便及主要症状无改善, 便秘临床症状评分无降低[6].

1.2.3 观察指标: (1)观察治疗前后2组患者自主排便、依赖药物排便例数; (2)秘临床症状评分: 主要包含自主排便、自行排便频率、排便费力程度、每次排便时间、便质、便意感、腹胀、腹痛、排便不尽感、肛门梗阻感、肛门坠胀感、排气不畅感等, 所有观察项目评分0-3分, 总分36分[7].

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本t检验, 组间计数资料的比较采用χ^2检验, 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 2组疗效比较 经过2个疗程治疗, 观察组治疗总有效率为80.0%, 高于对照组51.43%(χ^2 = 6.34, P = 0.011, 表1).

2.2 2组患者治疗前后排便方式比较 治疗前, 2组患者自主排便比例分别为22.86%、20.0%, 无法自主排便患者中, 以依赖泻药者最多, 2组分别为80.0%、82.86%. 上述资料治疗前差异比较无统计学意义(P>0.05). 治疗后, 观察组自主排便、依赖泻药者比例分别为74.29%、20.0%, 对照组则为45.71%、45.71%, 两组资料差异有统计学意义(P<0.05, 表2).

2.3 2组患者治疗前后便秘症状积分比较 治疗前, 2组便秘症状积分差异无统计学意义. 治疗后, 观察组排便费力程度、排便时间、腹痛、排气不畅、排便不尽感、肛门梗阻感等得分均低于对照组(P<0.05)(表3).

3 讨论

CFC属于临床常见疾病, 目前的临床研究认为其可能与以下几个方面因素有关: (1)肠道器质性疾病: 临床研究发现[8], 造成CFC常见的肠道器质性病变有肠道肿瘤、肠粘连以及胃肠道炎症等, 均作为病理性CFC发生的危险因素. 此外, 在一些痔疮、肛裂患者中, CFC的发病率亦较高. 但该类患者, 往往由于排便过程中发生疼痛, 长期忍便不排引发, 是心理性CFC发生的危险因素; (2)肠道外器质性疾病: 临床常见腹腔肿瘤压迫肠道, 造成CFC. 此外, 门静脉高压以及心衰, 均能够引发CFC; (3)药物性因素: 一些药物是引发CFC较为常见的原因. 有研究显示[9], 胆碱性药物、阿片类药物及含钙和铝的制剂、铋剂、抗抑郁药以及神经节阻滞剂等都能够造成CFC的发生; (4)肠蠕动减慢: 常见于长期卧床者以及活动较少的老年人中. 由于肠蠕动减慢, 造成粪块干硬难排, 最终引发CFC. 目前, 西医治疗CFC主要分为药物治疗、生物反馈治疗以及手术治疗3类. 由于条件的限制, 目前我国生物反馈治

■相关报道

现代研究表明, 麦粒灸是以短暂的灼热、灼痛感觉与持续的穴位炎性反应为其特殊的刺激形式. 有实验研究发现, 通过灼热局部皮肤, 可以造成局部区域的小血管出现扩张, 并引起小血管通透性增加, 细胞吞噬的能力得到加强.

■应用要点
目前，麦粒灸已在临床广泛应用，皮肤科、消化科、呼吸科、心脑血管科等均可见较多的应用报道.

表 3 2组患者治疗前后便秘症状积分比较 (n, mean ± SD)

分组	自主排便	自行排便频率	排便费力程度	每次排便时间	便质	便意感	腹胀	腹痛	排便不尽感	肛门梗阻感	肛门坠胀感	排气不畅感	总分
观察组													
治疗前	2.33 ± 1.24	3.29 ± 1.27	1.63 ± 0.70	1.68 ± 1.18	1.75 ± 1.22	0.43 ± 0.38	1.31 ± 0.97	0.58 ± 0.47	1.81 ± 1.00	1.49 ± 0.95	0.88 ± 0.66	0.61 ± 0.53	17.89 ± 4.30
治疗后	1.15 ± 1.03	1.68 ± 1.53	0.75 ± 0.72	0.42 ± 0.29	0.60 ± 0.37	0.07 ± 0.06	0.61 ± 0.42	0.15 ± 0.11	0.77 ± 0.50	0.77 ± 0.69	0.50 ± 0.44	0.19 ± 0.18	7.81 ± 6.66
对照组													
治疗前	2.31 ± 1.22	3.31 ± 1.41	1.62 ± 0.53	1.72 ± 1.34	1.42 ± 1.23	0.42 ± 0.49	1.39 ± 1.01	0.63 ± 0.51	1.77 ± 1.01	1.43 ± 1.02	1.02 ± 0.93	0.69 ± 0.53	18.02 ± 5.31
治疗后	1.61 ± 1.48	2.31 ± 1.82	1.19 ± 0.54	0.97 ± 0.83	0.57 ± 0.45	0.09 ± 0.14	0.88 ± 0.73	0.42 ± 0.39	1.14 ± 0.79	1.13 ± 0.88	0.61 ± 0.59	0.60 ± 0.41	12.22 ± 6.03
t值	1.46	1.57	2.89	3.70	0.30	0.78	1.90	3.94	2.34	1.90	0.88	5.42	2.90
P值	0.074	0.061	0.002	0.000	0.381	0.220	0.031	0.000	0.011	0.031	0.190	0.000	0.002

t值与P值均为2组治疗后数据比较.

疗尚无法广泛应用. 而CFC患者，往往不会接受手术治疗. 因此，药物治疗就成为治疗的首选. 当前临床上用于治疗CFC采用的药物可分为促胃肠道促动力剂、泻剂2类，虽然上述治疗CFC的效果较好，能够短时间内让患者排便，但是一旦停药，患者往往再次出现长时间的无排便状态[10]. 此外，临床研究还发现，长期使用泻剂，容易引发泻剂性肠病[11]. 因此，找到一种安全、可靠、疗效好的治疗方法，就成为目前CFC研究的热点.

针灸是我国传统医学的一门学科，临床上广泛应用于各级别的治疗. 我院在临床治疗CFC中，我们将天枢、大横、关元、上巨虚、三阴交等作为治疗的主穴. 其中，天枢是手阳明大肠经的募穴，属于腑气之所通，又为气机运行之枢机. 选择天枢进行针刺，可以通腑行气、通便导滞. 此外，天枢配合下合穴上巨虚，更可合治内腑，加强通调大肠腑气的能力. 关元作为补益要穴，针刺后可培补元气、益气补肾，达到综合治疗的目的.

麦粒灸属于灸法中的直接灸，是让艾柱与患者的皮肤直接接触，通过点燃艾柱，让热量直接传输进穴位的一种治疗方式[12]. 现代研究表明[13]，麦粒灸是以短暂的灼热、灼痛感觉与持续的穴位炎性反应为其特殊的刺激形式. 有实验研究发现[14,15]，通过灼热局部皮肤，可以造成局部区域的小血管出现扩张，并引起小血管通透性增加，细胞吞噬的能力得到加强. 目前，麦粒灸已在临床广泛应用，皮肤科、消化科、呼吸科、心脑血管科等均可见较多的应用报道.

本研究将麦粒灸联合针刺作为CFC的治疗方案，同单纯针刺治疗CFC进行了疗效学与相关症状的观察. 首先，通过2个疗程的治疗，可以发现观察组治疗总有效率达到80.0%，高于对照组的51.43%. 提示麦粒灸与针刺合用，可以提高单纯针刺的疗效. 而对比治疗前后排便方式，可以发现，无论是观察组还是对照组，均能够增加CFC自主排便率，降低泻剂依赖率. 但观察组治疗后自主排便率(74.29%)与依赖泻剂率(20.0%)，相比较对照组的45.71%、45.71%，优势更为显著. 上述结果显示，针灸联合治疗是目前除药物外，疗效较为可靠的一种治疗方式. 针灸治疗，是通过调节患者自身内环境达到治疗的目的. 相对于药物治疗，其不存在药物并发症. 另外，我们对治疗前后2组便秘临床积分进行了统计与分析. 可以发现，治疗后2组便秘临床积分均较治疗前有了一定的下降. 对2组资料进行治疗后的组间比较，可以发现，观察组在改善CFC患者排便费力程度、排便时间、腹痛、排气不畅、排便不尽感、肛门梗阻感等方面，要优于对照组. 该结果提示，麦粒灸联合针刺，不但可以提高治疗疗效，还可以改善患者的临床症状，属于综合性治疗.

总之，麦粒灸合针刺治疗CFC，疗效优于单纯针刺，能显著改善CFC患者各项临床症状.

4 参考文献

1 巫秀义，张栋梁，付亚平，孙雪琴，陆明仙. 针灸治疗功能性便秘临床研究. 长春中医药大学学报 2012; 8:

793-794
2 尹平, 徐世芬, 朱博畅, 吴君怡. 穴位埋线治疗功能性便秘51例. 河北中医 2012; 34: 563-564
3 蒙珊, 吕计宝, 徐崟. 穴位埋线结合中药敷脐干预功能性便秘38例疗效观察. 河北中医 2011; 33: 1518-1520
4 雒福东, 代述东, 何涛, 唐学贵. 慢性功能性便秘中医临床研究. 长春中医药大学学报 2012; 28: 1041-1043
5 金洵, 丁曙晴, 丁义江, 王玲玲, 张华, 王丽雯, 刘妮妮, 王静, 曹建葆. 慢性便秘患者报告临床结局评估量表的性能评价和分值意义判定. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1360-1365
6 何洪波, 李宁, 王成伟, 吕建琴. 电针“天枢穴”不同深度刺激对慢传输型功能性便秘患者结肠转运时间的影响. 针灸临床杂志 2011; 27: 11-13
7 吴霜, 孙桂东, 陈玉根, 吴本升, 杨柏霖. 促结肠动力药物治疗慢性便秘的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 434-439
8 余卫华, 符文彬, 战晓农, 邱翠琼. 电温灸器治疗慢性功能性便秘的临床观察. 中国老年学杂志 2009; 29: 1556-1556
9 梁谊深, 谢胜, 冯金娟. 针刺结合穴位注射治疗功能性便秘. 针灸临床杂志 2010; 26: 29-30
10 任驰, 周思远, 牟建蛟, 李瑛. 针刺对功能性便秘ENS-ICC调节机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1758-1762
11 王成伟, 何洪波, 李宁, 文谦, 刘志顺. 电针深刺天枢穴治疗功能性便秘随机对照研究. 中国针灸 2010; 30: 705-708
12 杨德莉, 刘志顺. 深刺天枢治疗功能性便秘疗效观察. 北京中医药 2010; 29: 366-368
13 耿涛, 林容枝. 深刺天枢穴治疗慢性功能性便秘的临床疗效观察. 浙江中医药大学学报 2011; 35: 263-265
14 蔡玉梅, 郑继范, 黄文燕. 麦粒灸的临床应用和实验研究进展构. 针灸临床杂志 2008; 24: 61-62
15 王曙辉, 许明珠, 崔韶阳, 吴云天, 陈露华. 早期井穴麦粒灸结合Bobath治疗技术对脑梗死患者上肢功能的影响. 中国康复医学杂志 2011; 26: 770-772

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 对临床医师具有一定参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2364-2366
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

成人腹型过敏性紫癜临床表现及内镜特点分析26例

刘立玺, 朱方擎, 林 浩, 文 萍, 文剑波

■背景资料
过敏性紫癜是一种较常见的毛细血管变态反应性疾病, 可能与血管的自体免疫损伤有关. 临床上可根据临床表现将本病分为皮肤型(单纯紫癜型)、腹型(Schoulein型)、关节型(Henoch型)、肾型、混合型, 多见于儿童及青少年. 以腹痛、便血、呕吐为首发表现的成人腹型过敏性紫癜少见, 由于临床表现缺乏特异性及具有隐匿性, 早期很难作出诊断, 选择合适的诊断方法对早期有效治疗有一定意义.

刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波, 萍乡市人民医院消化内科 江西省萍乡市 337000
刘立玺, 主治医师, 主要从事炎症性肠病及消化系早期肿瘤的内镜下诊断与治疗.
作者贡献分布: 本文由刘立玺、朱方擎及林浩负责收集资料与论文撰写; 文萍与文剑波负责审校.
通讯作者: 文剑波, 主任医师, 337000, 江西省萍乡市安源区广场路128号, 萍乡市人民医院消化内科. wenjbpx@126.com
收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-06
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Clinical manifestations and endoscopic characteristics of adult abdominal type allergic purpura: An analysis of 26 cases

Li-Xi Liu, Fang-Qin Zhu, Hao Lin, Ping Wen, Jian-Bo Wen

Li-Xi Liu, Fang-Qin Zhu, Hao Lin, Ping Wen, Jian-Bo Wen, Department of Gastroenterology, Ping Xiang People's Hospital, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China
Correspondence to: Jian-Bo Wen, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Ping Xiang People's Hospital, 128 Guangchang Road, Anyuan District, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China. wenjbpx@126.com
Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-06
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract
AIM: To summarize the clinical and endoscopic features of abdominal type allergic purpura in adult patients.

METHODS: Clinical and endoscopic data for 26 adult patients with abdominal type allergic purpura were analyzed retrospectively.

RESULTS: All patients had abdominal pain, and 13 patients had digestive tract hemorrhage. Endoscopy revealed hyperaemia, edema, bleeding spots, erosion and ulcer in the gastrointestinal mucosa. Severe mucosal lesions were often found in the duodenum, ileum and caecum.

CONCLUSION: Gastrointestinal endoscopy is helpful for early diagnosis of adult abdominal type allergic purpura.

■同行评议者
何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Abdominal type allergic purport; Clinic manifestations; Endoscopy

Liu LX, Zhu FQ, Lin H, Wen P, Wen JB. Clinical manifestations and endoscopic characteristics of adult abdominal type allergic purpura: An analysis of 26 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2364-2366 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2364.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2364

摘要
目的: 总结成人腹型过敏性紫癜的临床特点、内镜下改变, 为该病早期诊断提供依据.

方法: 回顾性分析2000-01/2012-12我院收治的26例腹型过敏性紫癜的临床表现及内镜资料.

结果: 26例患者均有腹痛, 消化道出血13例, 内镜检查可见胃肠黏膜充血水肿、出血点、糜烂、溃疡, 以十二指肠、回肠末段为主.

结论: 胃肠镜有助于腹型过敏性紫癜的早期诊断.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 腹型过敏性紫癜; 临床表现; 内镜检查

核心提示: 本文回顾性分析腹型过敏性紫癜(henoch-schoulein purpura)的临床表现及内镜资料, 为早期诊断过敏性紫癜提供经验借鉴.

刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波. 成人腹型过敏性紫癜临床表现及内镜特点分析26例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2364-2366 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2364.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2364

0 引言
过敏性紫癜(henoch-schoulein purpura, HSP)又称出血性毛细血管中毒症, 是一种较常见的毛细血管变态反应性疾病, 可能与血管的自体免疫损伤有关. 临床上可根据临床表现将本病分为皮肤型(单纯紫癜型)、腹型(Schoulein型)、关节

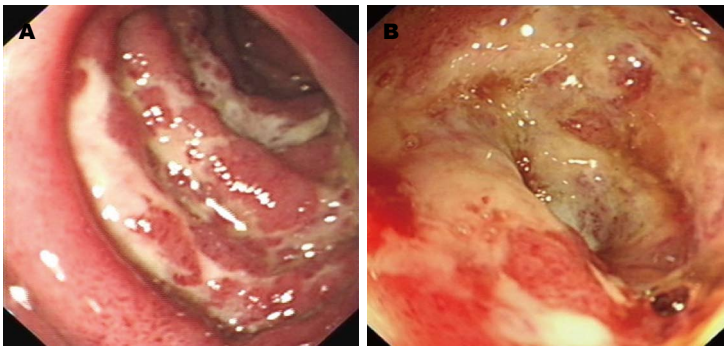


图 1 腹型过敏性紫癜治疗前内镜下表现. A: 十二指肠降部可见环形浅溃疡, 表覆黄白色苔; B: (回肠末端)可见不规则深大溃疡, 肠腔狭窄.

■应用要点
及时胃肠镜检查有助于腹型过敏性紫癜的诊断.

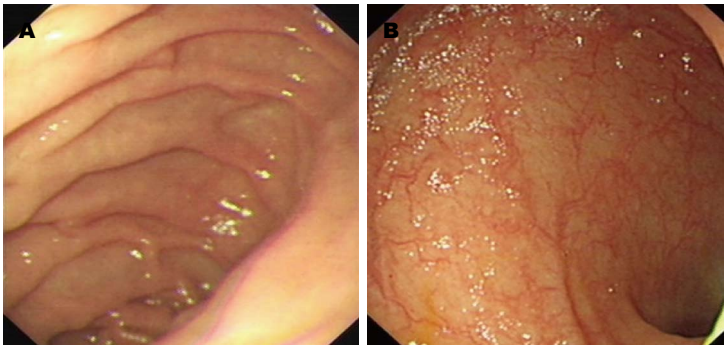


图 2 腹型过敏性紫癜治疗后内镜下表现. A: 十二指肠降部黏膜光滑; B: 回肠末端黏膜光滑.

型(Henoch型)、肾型、混合型, 多见于儿童及青少年[1]. 以腹痛、便血、呕吐为首发表现的成人腹型过敏性紫癜少见, 由于临床表现缺乏特异性及具有隐匿性, 早期很难作出诊断, 很易误诊误治[2]. 本文探讨其临床表现及内镜下特点, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2000-01/2012-12在我科收治腹型过敏性紫癜26例. 其中男16例, 女10例, 18-73岁, 平均年龄43.8岁. HSP的诊断依据为: (1)典型四肢皮肤紫癜, 可伴有腹痛等消化道症状、关节痛和/或血尿; (2)血小板计数、功能及凝血功能正常; (3)排除其他原因所致之血管炎及紫[3].

1.2 方法 所有患者入院后均检查血常规、尿常规、大便常规及潜血试验、凝血功能及血尿淀粉酶. 观察这26例患者的临床资料、实验室检查及内镜资料. 部分患者根据病情特点行腹部立卧位片、腹部B超或CT及胃肠镜检查.

2 结果

临床特点: 诱因: 有上呼吸道感染病史8例(30.7%), 食用海鲜产品3例(11.5%), 服用非甾体抗炎药2例(7.6%), 疫苗接种1例(3.8%). 26例HSP均存在腹痛, 腹痛部位可涉及腹部任何部位, 伴压痛, 反跳痛少见. 腹痛的程度可类似任何急腹症, 同时16例伴有呕吐(61.5%), 出现2例呕血(7.6%), 血便11例(42.3%), 表现为暗红色及柏油样大便, 所有病例均在3-10 d出现双下肢皮肤出现对称性小型荨麻疹或出血性皮疹. 26例腹型HSP入院时误诊19例. 误诊率73.1%, 其中误诊消化性溃疡病并出血5例, 急性阑尾炎6例, 急性肠梗阻、缺血性肠病各3例, Crohn病2例.

实验室检查: 其中大便潜血阳性13例(50%), 血尿淀粉酶升高6例(23.1%), 且腹部B超及上腹部CT未见胰腺炎表现. 14例(53.8%)尿常规有改变: 红细胞、隐血试验阳性和/或尿蛋白阳性, 血小板及凝血功能均正常, 21例(80.8%)血常规白细胞计数≥10×10^9/L, 3例患者腹部平片示液气平面.

内镜表现: 26例腹型HSP分别进行了31例次内镜检查, 其中胃镜有18例, 肠镜检查13例, 有5例患者同时接受了胃肠镜检查. 内镜下病变主要表现为: 黏膜弥漫性充血水肿、点状出血、糜烂; 溃疡: 常多发, 在胃和十二指肠多为浅溃疡, 十二指肠降部溃疡沿皱襞环形分布, 呈霜斑样(图1A), 回肠末端溃疡深大, 可出现肠腔狭窄(图1B).

病理特点: 接受内镜检查的患者行黏膜活检病理组织学检查, 组织学显示为非特异性炎性细胞浸润.

治疗与转归: 26例患者中入院时均予以质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂、解痉剂、抗生素等治疗, 效果均不佳, 待紫癜样皮疹出现后确诊HSP, 给予糖皮质激素及抗过敏药物后, 症状明显缓解, 胃肠镜复查结果较治疗前有明显好转(图2).

■名词解释
腹型过敏性紫癜：过敏性紫癜以胃肠道的病理改变突出时称为腹型过敏性紫癜，临床表现为腹痛、消化系出血、恶心、呕吐，内镜下表现为弥漫性充血水肿、出血、糜烂、溃疡，全消化道均可受累，十二指肠降部和回肠病变要重于胃和结肠，糖皮质激素激素治疗有较好效果.

3 讨论

过敏性紫癜是一种血管变态反应性出血性疾病，是由微生物、药物、食物、花粉、蛔虫等引起的免疫复合物变态反应性毛细血管炎症所致疾病. 主要机制是通过毛细血管脆性及通透性增加，从而造成血液外渗，产生紫癜、黏膜甚至某些脏器出血. 临床上以非血小板减少性紫斑、关节炎或关节痛、腹痛、胃肠道出血及肾炎为主要表现. HSP以胃肠道的病理改变突出时称为腹型HSP. 腹型HSP临床表现不典型，常延误诊治[4]，甚至导致不必要的外科手术，皮肤紫癜是诊断HSP必要条件. 但腹型HSP在皮疹出现晚于腹部症状时，早期很难做出诊断. 本组病例26例腹型HSP入院时误诊19例，误诊率73.1%，高于文献报道60.0%[5]，可能与对此病认识不够有关.

过敏性紫癜缺乏相关的实验室检查，大多数束臂试验阳性，血小板计数有助于与血小板减少性紫癜相鉴别. 本组病例23.1%的患者血尿淀粉酶升高，可能与胰腺的小血管炎，使小动脉和毛细血管的通透性增加，从而发生炎性渗出、水肿及出血，出现继发性改变有关[6].

HSP内镜的特征性表现包括黏膜弥漫性充血水肿、出血、糜烂、溃疡，这在以往的研究中有所报道[7-10]. 糜烂和溃疡多沿黏膜皱襞环形分布，与肠管的血管走行相符，提示病变为血管源性. 虽然全消化道均可受累，但是病变以小肠为重[11]，十二指肠降部和回肠病变要重于胃和结肠，重症患者可以出现小肠坏死、穿孔[12,13].

本组患者进行内镜检查时均于病变部位进行组织学检查，结果均为非特异性炎性细胞浸润. 并未见到过敏性紫癜所特有的白细胞破碎性血管炎，原因不清楚，可能与取材的深度及病理科医师认识不够有关. 文献报道免疫组织化学示IgA在胃肠道黏膜毛细血管的沉积. 对临床诊断起到重要的作用[14].

过敏性紫癜单纯使用抑酸剂、黏膜保护及解痉剂，治疗效果不佳，一旦确诊HSP，应立即使用肾上腺皮质激素，可以迅速缓解腹痛、消化系出血症状[15]. 为了最大限度降低误诊率，作为临床医生，首先应了解本病临床特点，其次应有宽广的思维，对诊断不明的腹痛、便血患者应想到过敏性紫癜的可能，尽快完善内镜检查，以利于早期诊断及治疗.

■同行评价
本文立意较好，回顾研究临床少见病的胃肠镜表现，有很好的临床参考价值，对急腹症的鉴别诊断有较大的帮助.

4 参考文献

1 陈灏珠，林国为. 实用内科学. 第13版. 北京：人民卫生出版社，2009: 2586-2588
2 Choong CK, Beasley SW. Intra-abdominal manifestations of Henoch-Schönlein purpura. *J Paediatr Child Health* 1998; 34: 405-409 [PMID: 9767498 DOI: 10.1046/j.1440-1754.1998.00263.x]
3 贝政平. 皮肤科疾病诊断标准. 第2版. 北京：科学出版社，2007: 366
4 宋继中，王巧民，丁西平，张明黎，盛园. 成人过敏性紫癜内镜表现及临床特点. 中国内镜杂志 2011; 17: 386-391
5 白顺艳，彭燕，肖思洁，黎启菊，刘晓臣. 腹型过敏性紫癜的内镜特征. 中华消化内镜杂志 2008; 2: 98-100
6 徐秀英，王爱瑶，林俊萍，王丹宁. 以急性胰腺炎为首发表现的过敏性紫癜临床特点分析. 中国实用内科杂志 2007; 27: 773-774
7 任万英，李华，赵丽婷. 内镜下过敏性紫癜胃、肠黏膜病变特点分析. 武警医学院学报 2001; 10: 223-224
8 Esaki M, Matsumoto T, Nakamura S, Kawasaki M, Iwai K, Hirakawa K, Tarumi K, Yao T, Iida M. GI involvement in Henoch-Schönlein purpura. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 920-923 [PMID: 12447314 DOI: 10.1016/S0016-5107(02)70376-3]
9 Kato S, Shibuya H, Naganuma H, Nakagawa H. Gastrointestinal endoscopy in Henoch-Schönlein purpura. *Eur J Pediatr* 1992; 151: 482-484 [PMID: 1396906 DOI: 10.1007/BF01957748]
10 Gunasekaran TS, Berman J, Gonzalez M. Duodenojejunitis: is it idiopathic or is it Henoch-Schönlein purpura without the purpura? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 22-28 [PMID: 10630435 DOI: 10.1097/00005176-200001000-00013]
11 Hokama A, Kishimoto K, Ihama Y, Kobashigawa C, Nakamoto M, Hirata T, Kinjo N, Higa F, Tateyama M, Kinjo F, Iseki K, Kato S, Fujita J. Endoscopic and radiographic features of gastrointestinal involvement in vasculitis. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 50-56 [PMID: 22442741 DOI: 10.4253/wjge.v4.i3.50]
12 Miniter U, Bae-Harboe YS, Powers JG, Campbell SM, Goldberg LJ. Fatal Henoch-Schonlein purpura in an adult related to bowel perforation: report and review of the literature. *Dermatol Online J* 2012; 18: 9 [PMID: 23122016]
13 Passam FH, Diamantis ID, Perisinaki G, Saridaki Z, Kritikos H, Georgopoulos D, Boumpas DT. Intestinal ischemia as the first manifestation of vasculitis. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 34: 431-441 [PMID: 15305242 DOI: 10.1016/j.semarthrit.2003.12.004]
14 Kato S, Ozawa K, Ando N, Naganuma H, Iinuma K, Nagura H. Immunoglobulin A enteropathy: a possible variant of Henoch-Schönlein purpura. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1777-1781 [PMID: 15628702 DOI: 10.1007/s10620-004-9569-0]
15 Weiss PF, Klink AJ, Localio R, Hall M, Hexem K, Burnham JM, Keren R, Feudtner C. Corticosteroids may improve clinical outcomes during hospitalization for Henoch-Schönlein purpura. *Pediatrics* 2010; 126: 674-681 [PMID: 20855386 DOI: 10.1542/peds.2009-3348]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): 2367-2368
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

食管结石2例

张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕 梅, 战淑慧

张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧, 山东省青岛市市立医院消化内一科 山东省青岛市 266000
张鸣鸣, 硕士, 住院医师, 主要从事功能性胃肠病的研究.
作者贡献分布: 本文由张鸣鸣完成; 由姜大磊、李文利及吕梅修改; 战淑慧负责审核.
通讯作者: 战淑慧, 教授, 主任医师, 266000, 山东省青岛市市北区胶州路1号, 青岛市市立医院消化内一科.
zhandoctor@126.com
电话: 0532-82789580
收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-06-11
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Esophageal calculus: Report of two cases

Ming-Ming Zhang, Da-Lei Jiang, Wen-Li Li, Mei Lv, Shu-Hui Zhan

Ming-Ming Zhang, Da-Lei Jiang, Wen-Li Li, Mei Lv, Shu-Hui Zhan, Department of Gastroenterology (Division I), Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, Shandong Province, China
Correspondence to: Shu-Hui Zhan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology (Division I), Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, Shandong Province, China. zhandoctor@126.com
Received: 2013-05-27 Revised: 2013-06-11
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract
Esophageal calculus is a rare clinical entity that is easily misdiagnosed or overlooked. It can induce severe complications such as hemorrhage and perforation. The symptoms of esophageal calculus are not specific, and substernal pain and dysphagia are common clinical manifestations. Gastroscopy is the preferred diagnostic modality, and endoscopic lithotrity is the optimal treatment. Underlying diseases, such as esophageal achalasia, are common in patients with esophageal calculus, which may be related to emptying delay and food retention.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Calculus; Esophagus

Zhang MM, Jiang DL, Li WL, Lv M, Zhan SH. Esophageal calculus: Report of two cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2367-2368 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2367.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2367

摘要
食管结石在临床上较为少见, 容易引起误诊、漏诊, 如得不到及时救治, 可引起消化系出血或穿孔等严重并发症. 食管结石症状无特异性, 常表现为胸骨后疼痛不适, 吞咽困难. 内镜为诊断食管结石的最佳方法, 内镜下碎石术也是其最佳治疗方法. 食管结石的形成多伴有食管的基础疾病, 常见合并贲门失迟缓症, 考虑与食管排空障碍, 长期食物潴留相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管; 结石

核心提示: 食管内呈低酸环境, 我们认为食管结石的成因为食管内容物排空障碍, 长期的食物潴留导致难以分解的植物纤维及蛋白质等成分相互混合形成结石. 所以对于合并有食管憩室、贲门失弛缓症、食管狭窄的患者应警惕该病可能.

张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧. 食管结石2例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2367-2368 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2367.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2367

■背景资料
消化道结石以胃石症较为常见, 食管结石临床上少见, 而食管结石的发病多伴有食管的基础疾病, 如贲门失弛缓症、食管憩室、食管狭窄等, 临床医生应提高对本病认识.

0 引言
临床上常见的消化系统结石多为植物性胃石, 主要与进食山楂、柿子、黑枣、石榴等鞣酸含量高的食物有关, 其形成也多与胃酸的作用相关. 食管的植物性结石临床上较为少见, 原因可能是食物较少存留于食管, 且食管内为低酸环境, 但对于能够引起食物残留于食管的疾病如: 食管憩室、贲门失弛缓症、食管狭窄等疾病可导致植物性结石的形成. 现就我院近期收治的2例食管植物性结石作如下报告.

1 病例报告
病例1: 67岁女性, 因“进食后梗阻感伴恶心、呕吐20 d”入院. 患者曾于1 mo前进食山楂, 20 d来进食后梗阻感进行性加重, 后期出现进水困难, 伴恶心、呕吐, 呕吐物为食物及水, 无鲜血及咖啡样液体, 2004年因贲门失迟缓症行内镜

■同行评议者
甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

■同行评价
食管结石临床上较少见，该报道对临床有一定的指导意义.

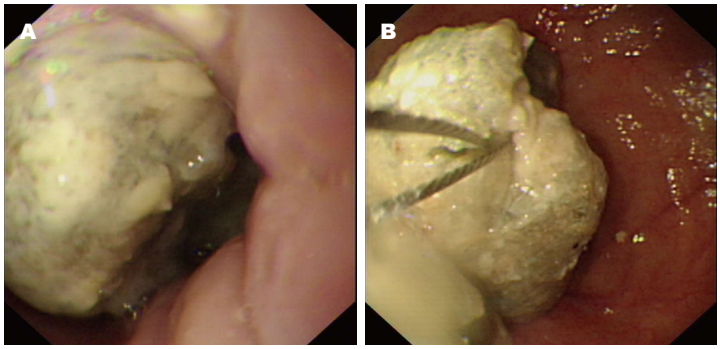


图 1 食管结石. A: 病例1; B: 病例2.

下扩张术治疗, 术后未再出现吞咽困难, 既往有慢性支气管炎及宫颈癌病史. 查体无明显阳性体征. 2013-02-05于我院行胃镜检查示: 食管结石(图1A)贲门失迟缓症, 予以内镜下碎石及口服碳酸氢钠治疗后好转.

病例2: 52岁女性, 因“反复上腹痛伴进食哽咽感19年, 加重10 d”入院. 患者19年前诊断为贲门失迟缓, 3年前曾因进食山楂出现食管结石, 10 d前患者进食山楂后再次感症状加重而就诊. 既往体健. 查体无明显阳性体征. 患者2013-01-12于我院行胃镜检查示: 食管结石(图1B)贲门失迟缓症. 行内镜下碎石术及口服碳酸氢钠及对症治疗后好转出院.

2 讨论

消化系结石目前并不少见, 但是食管结石较为罕见. 消化系结石以胃石多发, 根据组成不同分为植物性结石、毛发性结石、乳酸石及混合型结石4种, 其中以植物性胃石最为常见. 目前多数学者认为进食柿子、山楂、黑枣等植物形成胃石的原因主要在于这些食物中含有鞣酸, 鞣酸在胃酸的作用下能与蛋白质结合形成不溶于水的鞣酸蛋白, 鞣酸蛋白与树胶、果皮以及其他胃内食物黏合在一起形成团块, 而这些团块还可以互相黏着积聚成巨大的质地坚硬的胃石, 这些与胃腔的高酸环境有关[1]. 此外有观点认为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染通过引起胃酸分泌异常、影响胃肠运动而促进胃石的形成[2]. 此2例患者均为食管结石, 食管内为低酸环境, 且*H. pylori*对于食管的影响较小, 且此2例患者均合并有贲门失弛缓症, 所以我们考虑在该2例食管结石的发病中, 胃酸不占主导地位. 对于结石的成因, 我们认为是食管下端括约肌张力增高导致食管内容物排空障碍, 长期的食物潴留导致难以分解的植物纤维及蛋白质等成分相互混合, 加之山楂中的鞣酸, 形成了质地较为坚硬的结石. 食管结石容易漏诊、误诊, 而误诊的原因见于只进行了消化道造影, 而未行内镜检查[3]. 因而对于症状不典型的患者, 应仔细询问病史, 有无食管基础疾病, 有无进食山楂、黑枣、柿子等易于形成结石的食物, 尤其对于老年患者, 并且应警惕合并有肿瘤的报警症状. 对于病情允许者应早期行胃镜检查以明确诊断, 及时发现结石, 以防止严重的并发症出现. 内镜下诊断食管结石合并有食管黏膜损伤者, 应取病理检查以除外是否合并食管癌, 并且应在治疗后及时复查. 食管结石的治疗以内镜下碎石术为主, 并且可以应用食管黏膜保护剂和碳酸氢钠, 以减少食管的损伤, 缩短病程. 对于有严重并发症的患者, 例如结石嵌顿导致的梗阻、穿孔或者合并食管癌者, 应及时手术治疗. 如患者合并有食管的基础疾病, 如: 贲门失弛缓症、食管炎等导致的食管排空障碍, 应积极治疗原发病, 避免食用易导致消化系结石的食物.

3 参考文献

1 萧树东, 江绍基胃肠病学. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 800-801
2 张贺军, 崔荣丽, 金珠, 胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1714-1716
3 刘小雄, 熊汉鹏, 食管结石症误诊1例报告. 中国医师杂志 2006; 8: 1292

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《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, 肝病学, 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学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, 分别位居内科学研究领域类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》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.

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》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, ℃), *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 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

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υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^aP<0.05$, $^bP<0.01$($P>0.05$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±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±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±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

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

3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《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: wcjd@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: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 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/lcjy.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、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、补充或删节时, 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**.

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

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]

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.centralsurg.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
中国消化科学术论坛
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

世界华人消化杂志 2013年8月18日; 21(23): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白玉作 教授
中国医科大学附属盛京医院小儿外科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

迟宝荣 教授
吉林大学第一医院消化内科

甘华田 教授
四川大学华西医院老年消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李志霞 教授
首都医科大学附属北京同仁医院普外科

林潮双 副教授
中山大学附属第三医院感染科

刘亮明 副教授
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

陆云飞 教授
广西医科大学第一附属医院

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

邵华 副主任药师
东南大学附属中大医院药剂科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆外科西区

孙星 副教授
上海交通大学附属第一人民医院普外科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王俊平 教授
山西省人民医院消化科

王蒙 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王书奎 教授
南京医科大学附属南京医院科教处

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

王学美 研究员
北京大学第一医院中西医结合研究室

许文燮 教授
上海交通大学基础医学院, 病理、生理与病理生理系

姚登福 教授
南通大学附属医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张火俊 副教授
长海医院放射科

郑素军 副教授
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《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索量、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

北京大学图书馆

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

 © 2013 Baishideng. All rights reserved.