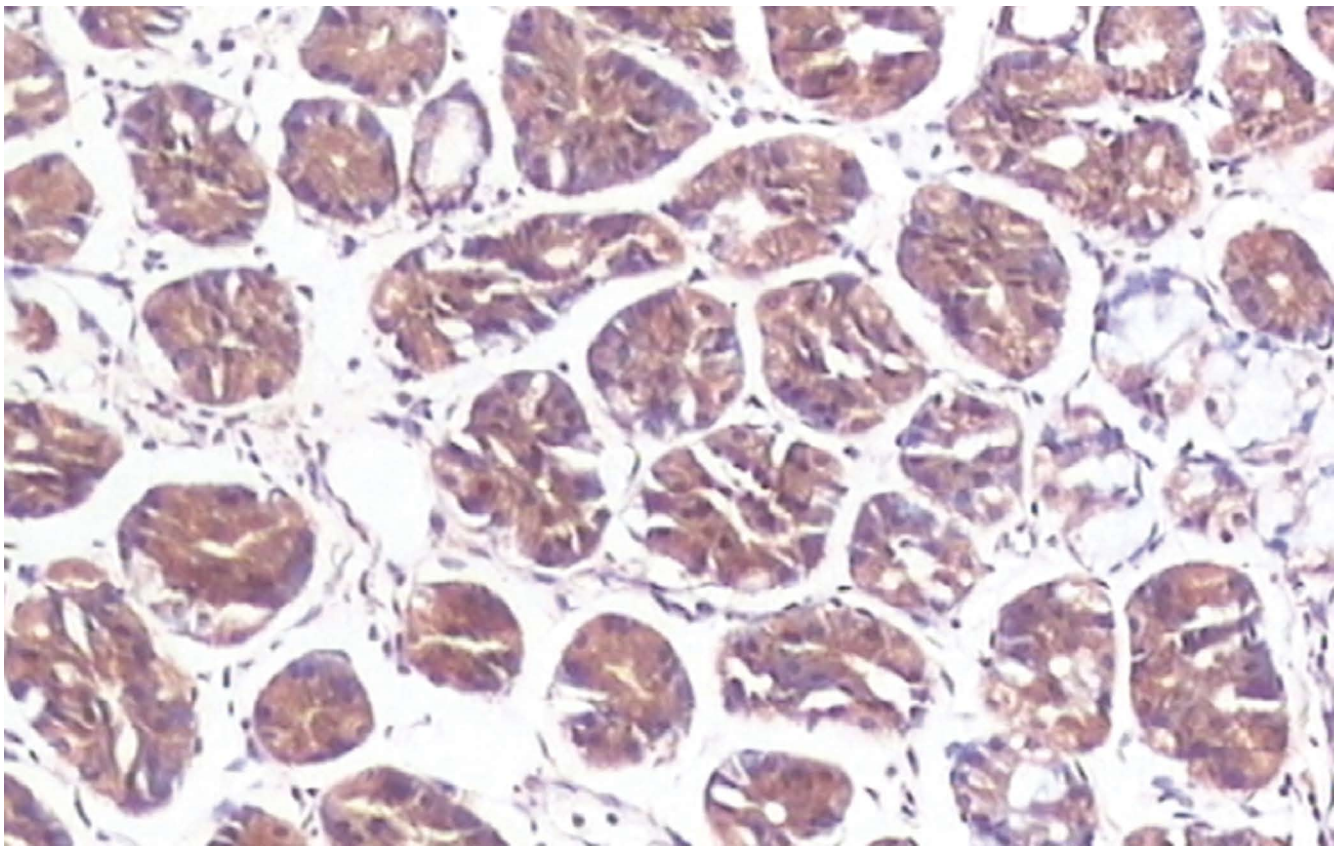
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 10 月 8 日　第 21 卷　第 28 期　(Volume 21 Number 28)



28/2013

ISSN 1009-3079

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

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一三年十月八日
第二十一卷
第二十八期

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
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
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
荚卫东教授
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
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
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
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
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 10 月 8 日　第 21 卷　第 28 期　(总第432期)

述　评

2897 肠道乳糖酶的研究进展
谭周进, 郭抗萧, 曾奥, 郭照辉, 王欢

基础研究

2902 全反式维甲酸治疗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎
洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平

2908 骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织血管内皮的修复作用
张夏梦, 寿折星, 石月萍, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星

临床研究

2915 USP22、MTA1及Ki-67蛋白在食管鳞癌中的表达及相关性
郑文凤, 李颖霞, 陈奎生, 温洪涛

2922 p53异构体与胃癌发生发展的相关性及其机制
张红梅, 张小茜, 仲华, 张娜, 李蕾, 季万胜

2929 RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义
赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东

2937 下调缺氧诱导因子-1α表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响
王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福

2945 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术对肥胖型2型糖尿病糖代谢的影响
雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延

文献综述

2950 S-1治疗进展期胃癌的研究进展
杨健, 周炎, 陈锦飞

2957 LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用
殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英

2963 遗传性非息肉性结直肠癌
陈昌望, 珠珠, 董坚

2969 *Oct4*基因在消化系肿瘤中的研究进展
黎江, 文坤明, 曾庆良

2975 中医方证相应理论的研究进展
周盼盼, 王彦刚

2981 益生菌修复幽门螺杆菌相关黏膜屏障破坏的机制
宋岩, 曹晓沧, 杨永妍, 姜葵

临床经验

2987 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的Meta分析
戴依慧, 高青, 王锦

2994 POEM治疗贲门失迟缓症7例
刘琳, 段树全, 孟宪梅, 党彤, 徐美东

2999 肠内营养在肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期的应用
盛博, 陈炜, 赵磊

3004 液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术中的应用
魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道

3008 超声内镜治疗胆道远端炎性狭窄临床分析165例
郝芳, 秦鸣放, 李宁

3013 Hippo通路中Yes相关蛋白在胰腺癌中的表达及意义
李晓宇, 田宇彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹

3019 单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比
金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞

3024 应用经脐单孔腹腔镜探查对ALVARADO评分系统诊断急性阑尾炎的再评估
李铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶博, 张鹏, 刘庆良

3030 脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的Meta分析
叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋

3037 不同疗程益生菌根除幽门螺杆菌的疗效
罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕

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	2921　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 2928　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 2936　《世界华人消化杂志》修回稿须知 2944　《世界华人消化杂志》参考文献要求 2949　《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) 2986　《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 2993　《世界华人消化杂志》外文字符标准 2998　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3023　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3029　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3036　《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东. RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2929-2936 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929
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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-10-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 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年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

October 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 27

EDITORIAL

2897 Advances in research of intestinal lactase
Tan ZJ, Guo KX, Zeng A, Guo ZH, Wang H

BASIC RESEARCH

2902 All-trans retinoic acid protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice
Hong K, Zhang Y, Guo Y, Bai AP

2908 Bone marrow mesenchymal stem cells repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis
Zhang XM, Shou ZX, Shi YP, Fan H, Tang Q, Zuo DM, Liu XX

CLINICAL RESEARCH

2915 Expression of USP22, MTA1 and Ki-67 in esophageal squamous cell carcinoma
Zheng WF, Li YX, Chen KS, Wen HT

2922 Relevance of p53 isoforms in genesis and progression of gastric cancer
Zhang HM, Zhang XQ, Zhong H, Zhang N, Li L, Ji WS

2929 Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer
Zhao YC, Chen H, Sun L, Qiu M, Chen XD

2937 Down-regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2
Wang L, Yao M, Gu X, Shi Y, Qiu LW, Lu SL, Yao DF

2945 Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus
Luo HZ, Chen H, Wang Y, Deng HZ, Guo ZG, Li JY

REVIEW

2950 Role of S-1 in treatment of advanced gastric cancer
Yang J, Zhou Y, Chen JF

2957 Role of LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease
Yin XL, Lu WN, Feng LY

2963 Hereditary nonpolyposis colorectal cancer
Chen CW, Zhu Z, Dong J

2969 Role of Oct4 in gastrointestinal tumors
Li J, Wen KM, Zeng QL

2975 Advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in traditional Chinese medicine
Zhou PP, Wang YG

2981 Mechanisms underlying role of probiotics in recovering *Helicobacter pylori*-associated intestinal mucosal barrier damage
Song Y, Cao XC, Jiang K

CLINICAL PRACTICE

2987 Risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation: A Meta-analysis
Dai YH, Gao Q, Wang J

2994 Peroral endoscopic myotomy for treatment of achalasia cardia: Our experience with 7 cases
Liu L, Duan SQ, Meng XM, Dang T, Xu MD

2999 Efficacy of perioperative enteral nutrition in management of hepatocellular carcinomar with cirrhosis
Sheng B, Chen W, Zhao L

3004 Application of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration
Wei XP, Tian DG, Yu HH, Wang QH, Hu MD

3008 Endoscopic ultrasonography for inflammatory distal biliary stricture: Analysis of 165 cases
Hao F, Qin MF, Li N

3013 Significance of expression of Yes-associated protein in pancreatic cancer
Li XY, Tian ZB, Shan XZ, Zhang CP, Liu XY, Xu YH, Li XH, Wu J, Zhao WJ, Li D

3019 Clinical comparison of single- versus double-balloon enteroscopy
Jin XW, Zhang J, Zhu M, Mao GP, Ning SB, Tang J, Li YF

3024 Re-evaluation of Alvarado score in diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration
Li D, Liu JH, Kang CB, Chen XF, Li XB, Lin DP, Li XW, Ye B, Zhang P, Liu QL

3030 Association between adiponectin gene polymorphisms and risk of colorectal cancer: A Meta-analysis
Ye CC, Tan SY, Wang J, Li M, Zhang J, Sun P

	3037 Efficacy of different durations of probiotic therapy in *Helicobacter pylori* eradication *Luo YH, Liu DH, Pan MY, Lian HY*
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	*Zhao YC, Chen H, Sun L, Qiu M, Chen XD*. Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2929-2936 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929
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 October 8, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 68 Yuan for each issue
RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. 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10月8日; 21(28): 2897-2901
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

肠道乳糖酶的研究进展

谭周进, 郭抗萧, 曾 奥, 郭照辉, 王 欢

谭周进, 郭抗萧, 王欢, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208
曾奥, 郭照辉, 湖南省微生物研究院 湖南省长沙市 410009
谭周进, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药微生态学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81173214
作者贡献分布: 本文综述由郭抗萧、曾奥及王欢完成; 谭周进与郭照辉审校.
通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区象嘴路, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com
电话: 0731-85381154
收稿日期: 2013-07-31 修回日期: 2013-08-28
接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Advances in research of intestinal lactase

Zhou-Jin Tan, Kang-Xiao Guo, Ao Zeng, Zhao-Hui Guo, Huan Wang

Zhou-Jin Tan, Kang-Xiao Guo, Huan Wang, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China
Ao Zeng, Zhao-Hui Guo, Hunan Institute of Microbiology, Changsha 410009, Hunan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173214
Correspondence to: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, Xiangzui Road, Hanpu Kejiao Zone, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com
Received: 2013-07-31 Revised: 2013-08-28
Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract
Lactase is a type of disaccharidase which exists on the surface of small intestinal villi of mammals and can be generated by many beneficial intestinal bacteria. The majority of humans are deficient in lactase and approximately 2/3 of the world's population are affected by lactase deficiency. Nowadays, the research of the metabolism of lactose, lactose enzyme expression and regulation has attracted wide attention both in China and other countries. In this article, we will review recent progresses in research of intestinal lactase.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lactase; Lactase deficiency; Diarrhea; Intestinal enzyme

Tan ZJ, Guo KX, Zeng A, Guo ZH, Wang H. Advances in research of intestinal lactase. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2897-2901 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2897.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2897

摘要
乳糖酶是存在于哺乳动物小肠黏膜微绒毛膜表面上的一种双糖酶, 很多肠道有益菌均具有产生乳糖酶的能力. 世界上大多数人群中存在乳糖酶缺乏, 影响了全世界近2/3的人口. 目前有关乳糖代谢和乳糖酶活性的表达调控方面的研究, 已引起国内外学者的关注. 本文将对此方面的近期研究进展进行综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乳糖酶; 乳糖酶缺乏; 腹泻; 肠道酶

核心提示: 肠道乳糖酶缺乏症主要是由于乳糖酶基因关闭, 且对于乳糖酶基因表达的调控机制尚未完全明确, 所以在基因水平上对乳糖酶进行调控, 还有待进一步研究. 目前广泛关注的研究热点依然是口服外源性的乳糖酶和用乳糖酶水解乳糖来生产低乳糖或无乳糖乳制品以辅助乳糖消化吸收.

谭周进, 郭抗萧, 曾奥, 郭照辉, 王欢. 肠道乳糖酶的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2897-2901 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2897.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2897

0 引言
乳糖是由葡萄糖和半乳糖构成, 这两种单糖极易被肠腔吸收, 是人体组织结构和能量的重要来源[1,2]. 乳糖被人体吸收利用的前提条件是经乳糖酶(lactase, LCT)水解. 乳糖酶是存在于哺乳动物小肠黏膜微绒毛膜表面上的一种双糖酶, 在肠黏膜呈灶块状分布, 可降解乳糖变为半乳糖和葡萄糖, 亦具有半乳糖苷的转移作用[3-5]. 事实上, 很多人由于小肠上皮细胞乳糖酶缺乏, 饮用牛奶后乳糖不能被分解吸收, 乳糖进入结

■背景资料
乳糖是由葡萄糖和半乳糖构成, 乳糖酶存在于哺乳动物小肠黏膜微绒毛膜表面上, 可降解乳糖变为半乳糖和葡萄糖. 肠道乳糖酶(lactase deficiency, LD)缺乏影响着世界2/3的人口, 对人类健康具有很大威胁. 如何提高肠道乳糖酶活性和降低乳糖不耐症的发生显得尤为重要, 本文就这方面进行综述.

■同行评议者
黄缘, 教授, 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

■研发前沿
C/T-13910和G/A-22018变异型基因并不能预测所有人种的乳糖酶持续, 有研究显示, 乳糖酶活性的调节主要在转录水平, 但也有很多学者提出乳糖酶活性的调节由顺式作用元件调节, 所以乳糖酶基因水平的调节还处于进一步的研究中. 从低温环境中分离出活性高的乳糖酶生产菌和固定化法生产低乳糖制品研究能够解决实际问题并能降低生产成本.

肠后, 被肠道细菌分解, 产生大量乳酸、甲酸等短链脂肪酸和氢气, 造成渗透压升高, 使肠腔中的水分增多, 引起腹胀、肠鸣、肠绞痛直至腹泻等现象, 这在医学上称为乳糖不耐症(lactose intolerance, LI). 除表现为乳糖不耐症之外, 还存在乳糖代谢不良但不表现出症状的人群, 通常称为乳糖吸收不良(lactose malabsorption, LM). 乳糖不耐症与乳糖吸收不良合称为乳糖酶缺乏(lactase deficiency, LD). 乳糖酶缺乏是一种广泛存在的世界性问题, 影响了全世界近2/3的人口, 亚洲患病率高达95%, LD对人类的健康造成很大的威胁[6-8], 尤其是青少年. 因此, 对肠道乳糖酶的研究就显得尤为重要. 本文就肠道乳糖酶的研究进展做如下综述.

1 肠道乳糖酶的来源

由于在自然条件下乳汁实际为乳糖仅有的来源, 幼仔于断奶后一生中极少可能再摄人大量乳糖, 成年后肠道乳糖酶即失去存在意义, 所以多数哺乳动物临近断奶时其肠道乳糖酶逐渐减少, 最终完全消失. 哺乳动物的乳糖酶活性随年龄增长具有典型的生理性降低[9,10]. 人体肠道乳糖酶的来源主要是靠机体自身合成、肠道内益生菌的少量合成并分泌和服用外源乳糖酶补充. 自身合成的肠道乳糖酶由乳糖酶基因合成并通过-COOH端的疏水氨基酸序列连接在肠黏膜微绒毛膜表面. 部分肠道菌含有乳糖酶, 如双歧杆菌、乳杆菌、大肠杆菌、酵母菌和霉菌等不同来源的乳糖酶, 其酶学性质相差很大[11], 已经有很多不同来源的乳糖酶基因被克隆[12,13]. 所有双歧杆菌都含有β-半乳糖苷酶, 可将乳糖降解成葡萄糖、半乳糖, 且活力明显高于其他肠道菌, 因此适量的补充双歧杆菌可以避免乳糖不耐症的发生[14]. 通过微生物工程和分离纯化工艺等手段把乳糖酶制成乳糖酶片, 目前, 克鲁维酵母制备的乳糖酶和米曲霉制备的真菌乳糖酶是国际市场上商品乳糖酶的主要来源[15].

2 肠道乳糖酶与机体营养、疾病等的相关性

乳糖酶在小肠黏膜双糖酶中成熟最晚, 含量最低, 最易受损, 恢复也最慢, 但却和人类的健康有着密切的关系[16,17]. 乳糖酶缺乏与种族、遗传、地理环境等诸多因素有关, 可分为先天性乳糖酶缺乏、成人型乳糖酶缺乏和继发性乳糖酶缺乏[18-23]. 乳糖代谢障碍可引起人类一系列的疾病[24,25].

2.1 肠道乳糖酶与机体营养的相关性

乳糖是人乳中唯一存在的双糖以及牛奶等乳制品中存在的主要碳水化合物, 全脂牛奶中约30%的热量和脱脂牛奶中60%的热量都是由乳糖提供, 是婴幼儿的主要能量来源. 人乳中约含7%的乳糖, 牛乳中约含4.7%[26]. 乳糖在进入人体后, 在小肠乳糖酶的作用下分解成葡萄糖和半乳糖, 后者是构成脑及神经组织糖脂质的成分, 为婴儿脑发育的必需物质. 乳糖区别于其他的糖类, 他是矿物质的载体, 可以促进矿物质特别是钙质的吸收. 再者, 乳糖酶还在在人体内通过转糖苷作用生产低聚糖, 这种分子量低、不粘稠的水溶性膳食纤维仅被双歧杆菌利用, 如此便可调整肠生态, 预防便秘和腹泻的发生[27].

2.2 肠道乳糖酶与疾病的相关性

在世界范围内大多数人群中, 婴儿期过后, 小肠黏膜乳糖酶活性会降到一个较低的水平, 并且维持终生. 肠道乳糖酶与疾病的相关性主要表现在乳糖不耐受. 当小肠黏膜乳糖酶缺乏或酶活性受到抑制, 未被吸收的乳糖滞留在肠道中, 被肠道细菌发酵分解成乳酸和CO_2等气体, 并使肠腔内渗透压增高, 进而引起肠胀气、肠痉挛、甚至腹泻, 使大量营养素尤其是钙吸收不良, 称为乳糖不耐受(LI). 当LD只引起乳糖吸收障碍而无临床症状时, 称为乳糖吸收不良[3]. 乳糖吸收障碍不仅伴有乳糖不耐的征兆, 还伴有食欲下降, 致使较少食物摄取, 同时出现腹胀、腹痛、腹泻等症状, 进而造成大量营养素尤其是乳钙的丢失[28], 还包括有价值的蛋白质、维生素、矿物质等[29]. 按发病机制, 乳糖酶缺乏可分为3类: 第1类是先天性乳糖酶缺乏. 此类型极为罕见, 指出生时机体乳糖酶活性几乎完全缺乏, 是机体常染色体隐性基因所致. 已知遗传上有缺乏乳糖酶的人, 如果给这样的人以过剩的乳糖, 则未消化的乳糖进入循环系统, 则会引起白内障等症状. 第2类是继发性乳糖酶缺乏, 继发于小肠黏膜弥漫性病变. 第3类是原发性乳糖酶缺乏(又称成人型乳糖酶缺乏), 为乳糖酶缺乏的主要类型, 是由于乳糖酶活性随年龄逐渐降低而引起, 无其他疾病影响, 见于3-5岁以上小儿或成人, 症状出现早晚受位于第2号染色体上的一个基因控制[30]. 有研究表明, 我国3-5岁、7-9岁、11-13岁儿童组中, 乳糖酶缺乏和乳糖不耐受的发生率分别是38.5%、87.0%、87.0%和12.2%、32.2%、29.0%[31].

3 肠道乳糖酶活性的影响因素

人类的幼儿在4岁的时候通常会失去90%的乳糖消化能力, 但各人之间的差异很大. 一些人种的第2号染色体上发生基因突变, 表现能终止乳糖酶的减少性状, 所以这些人种终生能消化乳糖. 有证据表明, 乳糖酶缺乏是成人常见的存在形式, 而乳糖酶持续保持生物活性则是少见的形式[32,33]. 哺乳动物的乳糖酶活性随年龄增长具有典型的生理性降低. Barr等研究表明出生1 mo的健康婴儿即使接受典型的喂养方式也出现了乳糖吸收不完全, 其原因是乳糖酶基因关闭, 故多数哺乳动物成年后不再能消化乳糖. 乳糖酶活性降低程度还与人种、年龄等因素有关. 在一些成年人中, 乳糖酶却持续保持高活性. 这是因为常染色体显性突变阻止了生长过程中乳糖酶表达的退化. 这种突变主要在北欧后裔中存在[34,35]. 有研究表明抗生素能够破坏或抑制肠道乳糖酶的活性, 研究表明β-内酰胺类抗生素可破坏肠道乳糖酶活性致腹泻, 即药物性腹泻继发乳糖不耐受[36]. 小肠黏膜疾病或某些全身性疾病, 如感染性腹泻、肠道手术、Ig缺乏症、急性胃肠炎、局限性回肠炎、乳糜泻、断肠综合征、克罗恩病、β-蛋白缺乏症、广泛肠切除, 或因服用新霉素或对氨基水杨酸等药物可导致暂时性乳糖酶活性低下, 但此类变化可逆, 随着原发病的治愈, 乳糖酶的活性会恢复正常[37].

4 肠道乳糖酶的调控技术

肠道乳糖酶缺乏症因为是基因原因导致, 目前没有根治的方法. 因此肠道乳糖酶的调控技术显得格外重要. 肠道乳糖酶的调控技术主要有以下几类.

第一类: 积极治疗原发病, 避免使用损害乳糖酶活性的药物. 禁止滥用抗生素, 不恰当地使用抗生素能抑制正常的益生菌群繁殖, 妨碍肠道微生物对乳糖的代谢作用, 从而加重乳糖不耐受症状. 促进肠上皮细胞修复及乳糖酶活性的恢复, 如补充叶酸、锌制剂等. 此类方法主要是针对小肠黏膜弥漫性病变引起的继发性乳糖酶缺乏症.

第二类: 乳糖酶基因的调节. 乳糖酶活性下调由于断奶后根皮苷水解酶基因表达的下调引起的, 是人类普遍存在的一种肠道双糖酶缺乏症状, 关于乳糖酶活性的调节因素众说纷纭. 自2002年Enattah[38]通过对北欧人种进行研究提出根皮苷水解酶基因上游C/T-13910和G/A-22018变异型是LD的基因标志物以来, 关于这2个单核苷酸的研究很多. 国内学者[39]通过研究发现乳糖酶基因C/T-13910位点可能与中国南方人群乳糖酶缺乏不相关, T-13910等位基因位点检测在中国南方人群中不能预测乳糖酶持续. 大多数研究显示, 乳糖酶mRNA的水平与乳糖酶的活性和L/S比率呈正相关, 说明乳糖酶活性的调节主要在转录水平. 但也有很多学者提出不同的观点, 有学者提出乳糖酶活性的调节由顺式作用元件调节[40,41]. 基因治疗因其毒性潜在长期危害性和侵袭性而不能普遍被人们接受, 所以乳糖酶基因水平的调节还处于进一步的研究中.

第三类: 直接补充乳糖酶和生产低乳糖制品. 口服外源性的乳糖酶和用乳糖酶水解乳糖来生产低乳糖或无乳糖乳制品以辅助乳糖消化吸收是目前广泛关注的研究热点[42]. 某些肠道微生物如乳杆菌能够产生少量乳糖酶, 通过基因工程诱变育种得到高产菌株, 使其大规模生产乳糖酶. 某些细菌、酵母菌和真菌也能合成乳糖酶. 目前, 国际市场的乳糖酶产品, 一种是乳酸克鲁维酵母制备的乳糖酶, 另一种是米曲霉制备的真菌乳糖酶. 比较成熟的是乳酸克鲁维酵母发酵的乳糖酶, 这种乳酸酵母最先是由伯约尼克1889年发现的. 随着1950年发现了乳糖不耐症的病因, 1960年研制出乳糖酶, 才得以应用[21,43,44]. 乳糖酶日摄入量不受限制, 已由FDA和JACFA等权威评审机构确认为安全物质[45]. 上述所述乳糖酶产品最适温度均在37 ℃左右, 对于生产低乳糖制品的储存和运输并不利, 低温乳糖酶具有中温乳糖酶无法达到的优越性, 多数学者开始从低温环境中分离乳糖酶产生菌[29,46-48], 通过16S rRNA序列分析可知, 多数低温乳糖酶产生菌属于节杆菌(*Arthrobacter*)和交替假单胞菌(*Pseudoalteromonas*)[49], 随着研究的深入, 低温乳糖酶的生产成本也将大幅降低. 同时将乳糖酶固定化后生产低乳糖制品也受到了多数酶学专家的关注, 既能提高生产效率, 也能明显降低生产成本[41].

第四类: 中医中药调节法. 采用太子参、白术、袂冬、焦山楂等, 健脾助运, 涩肠止泻, 获得较好效果. 已有研究表明某些中药复方能够治疗腹泻, 其原因是增强了乳糖酶的活性. 张晓利等[49]通过研究白头翁复方对腹泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性的影响, 研究说明白头翁复方能够显著增强腹泻小鼠肠道黏膜上乳糖酶的活性, 表明白头翁复方治疗腹泻的作用机制可能与调

■相关报道

从低温环境中分离乳糖酶产生菌, 通过16S rRNA序列分析可知, 多数低温乳糖酶产生菌属于节杆菌(*Arthrobacter*)和交替假单胞菌(*Pseudoalteromonas*). 中药白头翁能够增强腹泻小鼠肠道黏膜上乳糖酶的活性, 其治疗机制还有待于进一步的研究.

■创新盘点
本文通过对乳糖酶来源, 与机体相关性, 影响因素以及调控技术进行系统介绍和客观分析, 对临床以及如何降低乳糖酶缺乏的发生具有很好的指导意义.

节乳糖酶的活性有关.

5 结论

牛奶是一种最接近完善的营养食品, 牛奶中的主要碳水化合物是乳糖, 正常情况下, 这些乳糖应该在人体内的乳糖酶的作用下, 水解成葡萄糖和半乳糖后吸收并进入血液. 据研究发现, 随着人类的生长发育, 体内乳糖酶活性却呈规律性衰减, 其中我国就有75%-95%[50]. 因此, 如何提高人体胃肠道乳糖酶活性和降低乳糖不耐症的发生显得尤为重要. 肠道乳糖酶缺乏症主要是由于乳糖酶基因关闭, 且对于乳糖酶基因表达的调控机制尚未完全明确. 所以在基因水平上对乳糖酶进行调控, 还有待进一步研究, 目前广泛关注的研究热点依然是口服外源性的乳糖酶和用乳糖酶水解乳糖来生产低乳糖或无乳糖乳制品以辅助乳糖消化吸收, 而通过生物工程等技术手段来降低生产乳糖酶成本也将是近几年的重要研究课题.

6 参考文献

1 Fox MR, Yang J, Deng Y, Cong Y, Fried M, Dai N. The prevalence, clinical relevance and impact on diet of lactose intolerance in a population with lactase deficiency: a randomised, double-blind, dose response study in healthy subjects and patients with diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut* 2012; 61(suppl 2): 319-321 [DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302514d.55]
2 Zhu Y, Zheng X, Cong Y, Chu H, Fried M, Dai N, Fox M. Bloating and distention in irritable bowel syndrome: the role of gas production and visceral sensation after lactose ingestion in a population with lactase deficiency. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1516-1525 [PMID: 23917444 DOI: 10.1038/ajg.2013.198]
3 Carter SL, Attel S. The diagnosis and management of patients with lactose-intolerance. *Nurse Pract* 2013; 38: 23-28 [PMID: 23778177 DOI: 10.1097/01.NPR.0000429894.03255.80]
4 Swagerty DL, Walling AD, Klein RM. Lactose intolerance. *Am Fam Physician* 2002; 65: 1845-1850 [PMID: 12018807]
5 Ruchkina IN, Fadeeva NA, Parfenov AI, Shcherbakov PL, Gubina AV, Poleva NI, Khomeriki SG, Chikunova BZ. [The role of small bowel microflora in the development of secondary lactase deficiency and the possibilities of its treatment with probiotics]. *Ter Arkh* 2013; 85: 21-26 [PMID: 23653934]
6 Kienast W, Haeseler K, Herterich R. Protein-losing enteropathy following the Fontan procedure in a child with intestinal lactase deficiency treated with lactose-free diet. *Cardiol Young* 2013 Feb 27: 1-3. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23445879]
7 Basso MS, Luciano R, Ferretti F, Muraca M, Panetta F, Bracci F, Ottino S, Diamanti A. Association between celiac disease and primary lactase deficiency. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66: 1364-1365 [PMID: 23211657 DOI: 10.1038/ejcn.2012.153]
8 Solaymani-Mohammadi S, Singer SM. Host immunity and pathogen strain contribute to intestinal disaccharidase impairment following gut infection. *J Immunol* 2011; 187: 3769-3775 [PMID: 21873528 DOI: 10.4049/jimmunol.1100606]
9 Thomas M. The origins and evolution of lactase persistence. *Endocrine Abstracts* 2012; 28: S7
10 Itan Y, Powell A, Beaumont MA, Burger J, Thomas MG. The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Comput Biol* 2009; 5: e1000491 [PMID: 19714206 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000491]
11 王政, 马文丽, 郑文岭. 乳糖酶基因的克隆及生物信息学分析. 海南医学院学报 2009; 15: 19-21
12 Juajun O, Nguyen TH, Maischberger T, Iqbal S, Haltrich D, Yamabhai M. Cloning, purification, and characterization of β-galactosidase from Bacillus licheniformis DSM 13. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011; 89: 645-654 [PMID: 20852995 DOI: 10.1007/s00253-010-2862-2]
13 Rhimi M, Aghajari N, Jaouadi B, Juy M, Boudebbouze S, Maguin E, Haser R, Bejar S. Exploring the acidotolerance of beta-galactosidase from Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus: an attractive enzyme for lactose bioconversion. *Res Microbiol* 2009; 160: 775-784 [PMID: 19786095 DOI: 10.1016/j.resmic.2009.09.004]
14 李俊洁, 陈庆森. 双歧杆菌调理和改善肠道相关疾病作用的研究进展. 食品与科学 2011; 32: 327-328
15 徐金龙, 玄明, 曹宇婷. 乳糖酶研究进展. 饲料与添加剂 2011; 10: 50-51
16 李小芹, 周方, 李永春, 郭亚琼, 王新芳. 13C呼气试验对轮状病毒性腹泻继发乳糖不耐受的临床意义. 中华实用诊断与治疗杂志 2011; 25: 399-400
17 Hutyra T, Iwańczak B. [Lactose intolerance: pathophysiology, clinical symptoms, diagnosis and treatment]. *Pol Merkur Lekarski* 2009; 26: 148-152 [PMID: 19388523]
18 Lewinsky RH, Jensen TG, Møller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3945-3953 [PMID: 16301215]
19 Babu J, Kumar S, Babu P, Prasad JH, Ghoshal UC. Frequency of lactose malabsorption among healthy southern and northern Indian populations by genetic analysis and lactose hydrogen breath and tolerance tests. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 140-146 [PMID: 19889824 DOI: 10.3945/ajcn.2009.27946]
20 Mattar R, Monteiro Mdo S, Silva JM, Carrilho FJ. LCT-22018G>A single nucleotide polymorphism is a better predictor of adult-type hypolactasia/lactase persistence in Japanese-Brazilians than LCT-13910>T. *Clinics* (Sao Paulo) 2010; 65: 1399 [PMID: 21340236]
21 Uchida N, Sakamoto O, Irie M, Abukawa D, Takeyama J, Kure S, Tsuchiya S. Two novel mutations in the lactase gene in a Japanese infant with congenital lactase deficiency. *Tohoku J Exp Med* 2012; 227: 69-72 [PMID: 22688420]
22 Plantinga TS, Alonso S, Izagirre N, Hervella M, Fregel R, van der Meer JW, Netea MG, de la Rúa C. Low prevalence of lactase persistence in Neolithic South-West Europe. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 778-782 [PMID: 22234158 DOI: 10.1038/ejhg.2011.254]
23 Sousa RM, Ferri CP, Acosta D, Guerra M, Huang Y, Jacob K, Jotheeswaran A, Hernandez MA, Liu

Z, Pichardo GR, Rodriguez JJ, Salas A, Sosa AL, Williams J, Zuniga T, Prince M. The contribution of chronic diseases to the prevalence of dependence among older people in Latin America, China and India: a 10/66 Dementia Research Group population-based survey. *BMC Geriatr* 2010; 10: 53 [PMID: 20691064 DOI: 10.1186/1471-2318-10-53]
24 Peng MS, He JD, Zhu CL, Wu SF, Jin JQ, Zhang YP. Lactase persistence may have an independent origin in Tibetan populations from Tibet, China. *J Hum Genet* 2012; 57: 394-397 [PMID: 22572735 DOI: 10.1038/jhg.2012.41]
25 戈萱, 戈建军. 小儿乳糖不耐受及其实验室诊断. 中国儿童保健杂志 2008; 16: 70-71
26 张红艳, 刘成更, 赵文娟, 岳淑宁, 阎春娟, 林凯. 乳糖酶的酶学性质及其研究进展. 食品研究与开发 2004; 25: 34-36
27 Friedrich DC, Santos SE, Ribeiro-dos-Santos ÂK, Hutz MH. Several different lactase persistence associated alleles and high diversity of the lactase gene in the admixed Brazilian population. *PLoS One* 2012; 7: e46520 [PMID: 23029545 DOI: 10.1371/journal.pone.0046520]
28 何伟, 黄承钰. BALB/c小鼠乳糖酶基因Lac的克隆及其cDNA探针的制备. 四川大学学报(医学版) 2005; 36: 808-811
29 黄慧福. 乳糖酶的性质及其应用. 农技服务 2010; 27: 1353-1354
30 孙雨, 缪东幸. 肠道乳糖酶缺乏的诊断和治疗进. 南京部队医药 2002; 4: 79-80
31 Yang Y, He M, Cui H, Bian L, Wang Z. The prevalence of lactase deficiency and lactose intolerance in Chinese children of different ages. *Chin Med J* (Engl) 2000; 113: 1129-1132 [PMID: 11776151]
32 陆茹, 刁志英, 徐小详. 乳糖酶治疗婴幼儿急性腹泻继发乳糖不耐受疗效观察. 儿科药学杂志 2013; 19: 23-27
33 Järvelä I, Torniainen S, Kolho KL. Molecular genetics of human lactase deficiencies. *Ann Med* 2009; 41: 568-575 [PMID: 19639477 DOI: 10.1080/07853890903121033]
34 吕晓英. 乳糖不耐受研究动态. 现代预防医学 2005; 132: 319-321
35 Urdal P, Sandstad O, Løberg EM, Haug KB. [Useful genetic test for lactase deficiency]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2008; 128: 593 [PMID: 18311211]
36 彭海珍, 任立红. 不同年龄段婴幼儿抗生素性腹泻与乳糖不耐受的相关性研究. 中国全科医学 2011; 14: 2999-3006
37 郑爱香. 小儿慢性腹泻并乳糖不耐受及其治疗对策. 医学前沿 2012; 2: 200-201
38 Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Järvelä I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet* 2002; 30: 233-237 [PMID: 11788828]
39 罗俊. 中国南方人群乳糖酶基因C/T-13910多态性研究. 浙江大学, 2010
40 Raz M, Sharon Y, Yerushalmi B, Birk R. Frequency of LCT-13910C/T and LCT-22018G/A single nucleotide polymorphisms associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Israelis of different ethnic groups. *Gene* 2013; 519: 67-70 [PMID: 23415628 DOI: 10.1016/j.gene.2013.01.049]
41 张敏文, 顾取良, 张博, 李荷. 乳糖酶研究进展. 微生物学杂志 2011; 31: 81-86
42 贺红军, 孔保华, 孙承锋, 姜竹茂. 乳糖酶生物黏附纳米微囊的制备及黏附性评价. 食品工业 2011; 10: 54-55
43 Neele AM, Einerhand AW, Dekker J, Büller HA, Freund JN, Verhave M, Grand RJ, Montgomery RK. Verification of the lactase site of rat lactase-phlorizin hydrolase by site-directed mutagenesis. *Gastroenterology* 1995; 109: 1234-1240 [PMID: 7557090]
44 Michela Leonardi, Pascale Gerbault, Mark G. Thomas, Joachim Burger. The evolution of lactase persistence in Europe. A synthesis of archaeological and genetic evidence. *Int Dairy J* 2012; 12: 88-97 [DOI: 10.1016/j.idairyj.2011.10.010]
45 Torniainen S, Freddara R, Routi T, Gijsbers C, Catassi C, Höglund P, Savilahti E, Järvelä I. Four novel mutations in the lactase gene (LCT) underlying congenital lactase deficiency (CLD). *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 8 [PMID: 19161632 DOI: 10.1186/1471-230X-9-8]
46 Clocksin KM, Jung DO, Madigan MT. Cold-active chemoorganotrophic bacteria from permanently ice-covered Lake Hoare, McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 3077-3083 [PMID: 17369347]
47 Mondino LJ, Asao M, Madigan MT. Cold-active halophilic bacteria from the ice-sealed Lake Vida, Antarctica. *Arch Microbiol* 2009; 191: 785-790 [PMID: 19756515 DOI: 10.1007/s00203-009-0503-x]
48 Stingl U, Cho JC, Foo W, Vergin KL, Lanoil B, Giovannoni SJ. Dilution-to-extinction culturing of psychrotolerant planktonic bacteria from permanently ice-covered lakes in the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Microb Ecol* 2008; 55: 395-405 [PMID: 17623231]
49 刘文玉, 史应武, 王杏芹. 低温β-半乳糖苷酶的研究进展. 新疆农业科学 2007; 44: 647-651
50 张晓利, 王迎春, 徐倩倩, 王丽叶, 霍晓青, 曹琳芝, 张永辉, 董世山. 白头翁复方对腹泻小鼠肠道粘膜乳糖酶活性的影响. 河北农业大学学报 2010; 33: 99-102
51 Fang L, Ahn JK, Wodziak D, Sibley E. The human lactase persistence-associated SNP -13910*T enables in vivo functional persistence of lactase promoter-reporter transgene expression. *Hum Genet* 2012; 131: 1153-1159 [PMID: 22258180 DOI: 10.1007/s00439-012-1140-z]

■应用要点

乳糖酶可做助消化类药物, 药物可调整肠道正常菌群, 拮抗轮状病毒, 对肠黏膜上皮细胞损伤有一定治疗效果. 同时利用乳糖酶生产低乳糖制品对于降低乳糖不耐症的发生具有最实际性的意义.

■同行评价

本文选题很好, 论文叙述合理, 言简意赅, 条理清晰, 结果可信. 有一定的文献参考.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2902-2907
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

全反式维甲酸治疗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎

洪 凯, 张 翼, 郭 媛, 白爱平

■背景资料
炎症性肠病(flammatory bowel disease, IBD)目前具体机制尚不完全明确, 有研究表明可能与血液及其他部位的免疫细胞尤其是巨噬细胞向损伤肠黏膜趋化、浸润, 导致肠道巨噬细胞增多有关; 维甲酸又名视黄酸是维生素A的活性衍生, 近年来发现全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)能明显减轻小鼠实验性结肠炎的炎症反应, 但具体机制尚不完全明确. 有研究表明视黄酸能通过抑制巨噬细胞的功能而对恶性肿瘤、慢性炎症等疾病起作用, 但维甲酸是否能通过抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润而对IBD起治疗作用目前鲜有人进行研究.

洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006
洪凯, 南昌大学医学院消化科在读研究生, 主要从事炎症性肠病的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070310, 81270472
作者贡献分布: 本课题由白爱平与洪凯设计; 研究操作过程由洪凯、张翼及郭媛完成; 论文写作由洪凯、郭媛及白爱平完成.
通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科. baiap@163.com
收稿日期: 2013-06-11 修回日期: 2013-07-10
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

All-trans retinoic acid protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice

Kai Hong, Yi Zhang, Yuan Guo, Ai-Ping Bai

Kai Hong, Yi Zhang, Yuan Guo, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070310 and 81270472
Correspondence to: Ai-Ping Bai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com
Received: 2013-06-11 Revised: 2013-07-10
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of all-trans retinoic acid (ATRA) on dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice.

METHODS: Mice were randomly divided into four groups: a normal control group, a DSS group, an ATRA group, and a LE135 group. Except the normal control group, the other groups were fed 3%DSS (w/v) solution from days 1 to 8 to induce colitis. The DSS group and ATRA group were intraperitoneally injected with ATRA 0.5 mg/d and LE135 0.1 mg/d from day 3, respectively. Disease activity index (DAI) was recorded daily. The expression of CD68, NF-κB p65, MPO activity, and TNF level in the colon of mice of each group were measured.

RESULTS: DAI was significantly lower in the ATRA group than in the DSS and LE135 groups (both $P < 0.05$). The histological score and MPO activity in colonic tissue in the ATRA group were significantly lower than those in the DSS and LE135 groups (histological score: 7.63 ± 1.19 *vs* 10.13 ± 1.36, 10.38 ± 1.30, both $P < 0.05$; MPO activity: 7.88 ± 0.68 *vs* 11.36 ± 0.96, 12.65 ± 0.77, both $P < 0.05$), but were higher than those in the control group (7.63 ± 1.19 *vs* 0.25 ± 0.463, $P < 0.05$; 7.88 ± 0.68 *vs* 3.52 ± 0.58, $P < 0.05$). The levels of TNF in colonic tissue were significantly lower in the ATRA group than in the DSS and LE135 groups (178.63 ± 39.37 *vs* 316.67 ± 43.68, 362.45 ± 62.75, both $P < 0.05$). The numbers of CD68 positive cells and NF-kB positive cells in lamina propria in the ATRA group were significantly lower than those in the DSS and LE135 groups (all $P < 0.05$), but higher than those in the control group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: ATRA protects against DSS-induced colitis in mice possibly by inhibiting immune cell activation in the lamina propria and infiltration of macrophage into colon tissue.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Retinoic acid; IBD; Macrophages; CD68

Hong K, Zhang Y, Guo Y, Bai AP. All-trans retinoic acid protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2902-2907
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2902.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2902

摘要

目的: 探讨全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)结肠炎治疗作用的机制.

方法: 将小鼠随机分成4组: 正常对照组、DSS组、DSS+ATRA组和DSS+LE135组. 建立小鼠DSS结肠炎的急性模型, 从小鼠饮用DSS第3天开始, DSS+ATRA组、DSS+LE135组分别给予ATRA 0.5 mg/d、LE135 0.1 mg/d腹腔注射至实验结束. 每天观察各组小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI), 第8天颈椎脱

■同行评议者
任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

白处死小鼠取肠组织匀浆检测各组小鼠炎症肠段中髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的含量, ELISA检测肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)的含量, 免疫组织化学测定小鼠结肠CD68和核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB) P65的表达.

结果: (1)DAI评分: DSS+ATRA组小鼠的DAI评分为4.63±2.20, 与DSS组、DSS+LE135组相比评分明显较低(P<0.05); 对照组小鼠的DAI评分均为0; (2)组织学评分: DSS+ATRA组小鼠的组织学评分为7.63±1.19, 与DSS组(10.13±1.36)、DSS+LE135组(10.38±1.30)相比得分明显降低(P<0.05), 但明显高于正常对照组(0.25±0.463); (3)MPO活性: DSS+ATRA组小鼠的MPO活性为7.88±0.68, 与空白对照(3.52±0.58)、DSS组(11.36±0.96)、DSS+LE135组(12.65±0.77)相比均有明显差异(P<0.05); (4)组织匀浆TNF含量: DSS+ATRA组(178.63±39.37), 明显低于DSS组(316.67±43.68)、DSS+LE135组(362.45±62.75)这2组; (5)结肠组织CD68的表达: DSS+ATRA组肠黏膜固有层CD68阳性细胞数明显低于DSS组、DSS+LE135组(P<0.05), 与对照组小鼠的CD68表达量相比明显增高(P<0.05); (6)结肠组织NF-κB的表达: DSS+ATRA组肠黏膜固有层NF-κB阳性细胞数明显低于DSS组、DSS+LE135组(P<0.05), 与对照组NF-κB的表达量相比增高(P<0.05).

结论: ATRA对DSS诱导的小鼠结肠炎具有治疗作用, 机制为抑制结肠炎作用肠道免疫反应, 及外周巨噬细胞向肠黏膜浸润.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 维甲酸; 视黄酸; 炎症性肠病; 巨噬细胞; CD68

核心提示: 全反式维甲酸(all-trans retinoic acid)对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium)诱导的小鼠结肠炎具有治疗作用, 机制为抑制结肠炎作用肠道免疫反应, 及外周巨噬细胞向肠黏膜浸润.

洪凯, 张翼, 郭媛, 白爱平. 全反式维甲酸治疗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2902-2907
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2902.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2902

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是一组慢性肠道炎症性疾病, 目前其具体机制尚不完全明确[1], 有研究表明IBD患者肠道上皮细胞受损, 肠腔内细菌分泌的LPS等向肠黏膜固有层移位, LPS激活固有层免疫细胞, 这些免疫细胞释放炎症因子和趋化因子, 如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-12、核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)等, 诱导血液及其他部位的免疫细胞尤其是巨噬细胞向损伤肠黏膜趋化、浸润, 导致肠道巨噬细胞增多[2]; 维甲酸(retinoic acid, RA)又名视黄酸是维生素A的活性衍生物[3], 是脂溶性、小分子量信号分子, 通过与其细胞内的受体α(retinoic acid receptor α, RARα)结合发挥生物学功能[4]. 在体内的生理活性代谢产物主要包括全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)、9-顺式维甲酸和13-顺式维甲酸, 在调节生物各种进程如细胞分化、凋亡[5]、胚胎发育、再生和视力发育[6]中发挥重要作用. 近年来有研究表明, 全反式维甲酸能明显减轻小鼠实验性结肠炎的炎症反应[7], 但具体机制尚不完全明确. 有研究表明视黄酸能通过抑制巨噬细胞的功能而对恶性肿瘤、慢性炎症等疾病起作用, 但维甲酸是否能通过抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润而对炎症性肠病起治疗作用目前鲜有人研究.

1 材料和方法

1.1 材料 葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)购自美国MP公司, 兔抗小鼠NF-κB p65购自北京中杉金桥生物有限公司; anti mouse-CD68 antibody for IHC-P购自美国Abcam公司; 全反式维甲酸购自美国Sigma公司; LE135购自美国Santa cruz公司; 二步法免疫组织化学检测试剂盒(PV-9001)购自北京中山生物有限公司; DAB显色增强剂购自北京中山生物有限公司; 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)检测试剂盒购自南京建成生物工程有限公司; 小鼠TNF ELISA试剂盒购自上海森雄生物工程有限公司; DMSO购自Amresco公司.

1.2 方法

1.2.1 急性DSS结肠炎的诱导: 6-8周龄的♀Balb/c小鼠, 体质量18-22 g, 分为正常对照组、DSS组、DSS+ATRA组、DSS+LE135组, 每组8只, 按Cooper等[8]的方法建立小鼠急性DSS

■研发前沿
已有大量的研究表明Th17/Treg、Th1/Th2转化平衡是维持肠道免疫稳态的重要因素, 这可能是导致人类IBD的原因之一. 近年来研究表明全反式维甲酸可能是调控二者平衡关系的重要因素, 通过调节Th17/Treg、Th1/Th2转化平衡继而影响IBD的进程, 达到治疗的目的.

■相关报道
白爱平等的研究发现全反式维甲酸能通过调节Th17/Treg、Th1/Th2转化平衡继而影响IBD的进程，达到治疗的目的.

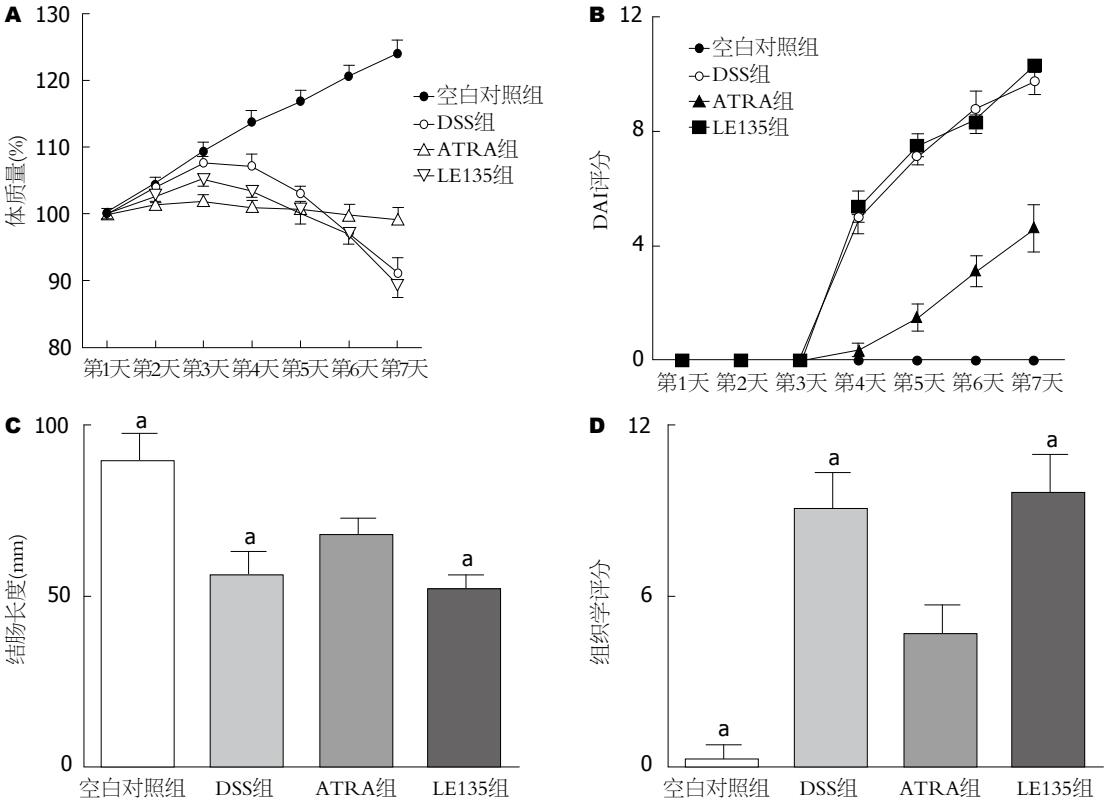


图 1 全反式维甲酸对DSS诱导的结肠炎的作用. A: 体质量变化; B: DAI评分; C: 结肠长度, $^{a}P<0.05$与其他各组均有差异; D: 组织学评分, $^{a}P<0.05$ *vs* ATAR组. DSS: 葡聚糖硫酸钠; ATAP: 全反式维甲酸.

结肠炎模型. 自实验开始第1-7天DSS组、DSS+ATRA组、DSS+LE135组小鼠喂含3%DSS的蒸馏水; 实验第3天开始给予DSS+ATRA组和DSS+LE135组分别向腹腔注射配好的ATRA 0.5 mL(浓度为1 mg/mL, 溶于DMSO中加生理盐水稀释)和LE135 0.5 mL(浓度为0.2 mg/mL, 溶于DMSO中加生理盐水稀释)直至第8天处死小鼠; 对照组小鼠喂蒸馏水, 实验第8天处死小鼠.

1.2.2 结肠炎疾病活动指数(disease activity index, DAI)的评估: 每天观察并纪录小鼠的体质量变化、大便性状和大便出血(隐血或血便)等情况, 按Murano等[9]的评分方法, 将体质量下降、大便性状、大便出血等情况的评分相加, 计算每只小鼠的疾病活动指数, 根据评估结肠炎症的严重程度.

1.2.3 组织学评分: 取距肛门5-6 cm处结肠行HE染色, 按Dielelman等[10]的评分方法, 用炎症的严重程度、病变侵及的深度、隐窝的破坏与病变范围等评分相加, 评估结肠炎的严重程度.

1.2.4 结肠组织MPO活性测定: 按南京建成生物工程有限公司试剂盒说明进行操作.

1.2.5 结肠组织细胞因子TNF-α的检测: 在距肛门3 cm处取0.1-0.2 cm的结肠组织块, 称质量后匀浆, 取上清, 按试剂盒说明进行操作, 检测结肠组织中TNF-α的含量.

1.2.6 免疫组织化学法检测结肠黏膜NF-κB p65及CD68的表达: 在距肛门约2 cm处取0.5 cm×0.5 cm大小的结肠组织块, 4%甲醛溶液固定、石蜡包埋、切片. 山羊血清封闭后, 加抗NF-κB p65抗体或抗CD68抗体4 ℃孵育过夜, 加二抗, DAB显色, 显微镜下观察. 细胞质、细胞核都出现棕褐色颗粒的细胞为NF-κB p65阳性细胞, 细胞质出现棕褐色颗粒的细胞为CD68阳性细胞, 在40倍高倍镜下计数100个细胞, 其中阳性细胞数作为NF-κB p65及CD68计数值.

统计学处理 所有的数据均以mean±SD形式表示. 计数、计量资料的统计分析均经SPSS18.0处理, 符合正态分布计量资料的比较采用方差分析; 不符合的采用秩和检验, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 小鼠体质量的变化 如图1A所示, DSS组和DSS+LE 135组小鼠在饮用DSS水的第3天出现毛发缺少光泽、身体蜷缩、懒动、进食减少等的情况, 第4天开始体质量出现不同程度的下降.

表 1 各组小鼠MPO活性变化 (n = 7)

分组	MPO活性(U/g)
空白对照组	3.52 ± 0.58[a]
DSS组	11.36 ± 0.96[a]
ATRA组	7.88 ± 0.68
LE135组	12.65 ± 0.77[a]

[a]P<0.05 *vs* ATRA组. MPO: 髓过氧化物酶; ATAP: 全反式维甲酸.

表 2 各组小鼠TNF-α活性 (n = 6)

分组	TNF-α活性(pg/g)
空白对照组	31.20 ± 4.5[a]
DSS组	316.67 ± 43.68[a]
ATRA组	178.63 ± 39.37
LE135组	362.45 ± 62.75[a]

[a]P<0.05 *vs* ATRA组. TNF-α: 肿瘤坏死因子α.

表 3 各组小鼠结肠NF-κB p65的表达情况 (n = 8)

分组	NF-κB p65阳性细胞数
空白对照组	6.38 ± 1.506[ac]
DSS组	51.00 ± 4.175[ac]
ATRA组	36.63 ± 2.669[c]
LE135组	53.38 ± 3.739[a]

[a]P<0.05 *vs* ATRA组; [c]P<0.05 *vs* LE135组. NF-κB: 核因子κB.

表 4 各组小鼠结肠CD68的表达情况 (n = 8)

分组	CD68阳性细胞数
空白对照组	4.50 ± 1.20[ac]
DSS组	32.00 ± 3.16[ac]
ATAR组	20.63 ± 2.77[c]
LE135组	36.00 ± 2.62[a]

[a]P<0.05 *vs* RA组; [c]P<0.05 *vs* LE135组.

■创新盘点
维甲酸是否能通过抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润而对炎症性肠病起治疗作用目前鲜有人研究.

DSS+ATRA下降幅度较DSS组和DSS+LE135组要小并有统计学意义(P<0.05). 对照组小鼠的体质量呈持续性的增长.

2.2 小鼠结肠炎DAI评分 DSS+ATRA组出现腹泻、便血等结肠炎症状DSS和DSS+LE135组轻, 症状出现时间也较晚. 自实验第4天开始, DSS+ATRA的DAI评分明显低于DSS和DSS+LE135组(P<0.05). 对照组小鼠每天DAI评分均为0(图1B).

2.3 各组小鼠结肠长度变化 所有饮用DSS溶液的小鼠均出现大肠不同程度的缩短, DSS组和DSS+LE135组缩短程度最大, DSS+ATRA组介于DSS组和正常对照组之间, 结肠长度明显比DSS组要长(P<0.05)(图1C).

2.4 小鼠DSS结肠炎的结肠组织学变化 各组小鼠组织学评分如图1D所示, 3个实验组的组织学评分明显高于空白对照组, DSS+ATRA组的组织学评分明显低于DSS组和DSS+LE135组(P<0.05).

2.5 各组结肠黏膜髓MPO活性 MPO主要还是存在于炎症细胞中, 以中性粒细胞的细胞质中最为多见, 他的活性反映了结肠组织中炎症细胞的浸润程度. DSS组和DSS+LE135组小鼠结肠组织的MPO活性较正常对照组小鼠明显增高(P<0.05), 给予ATRA干预后MPO活性明显比DSS组和DSS+LE135组要低(P<0.05)(表1).

2.6 各组小鼠结肠组织中TNF-α的表达 饮用了7 d DSS后, DSS组和DSS+LE135组TNF-α表达较正常组明显增高(P<0.05), 给予ATRA干预后TNF-α表达明显比DSS组和DSS+LE135组要低, 具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.7 免疫组织化学检测结肠组织NF-κB p65和CD68的表达 正常对照组小鼠黏膜层中、少数隐窝底部上皮细胞和少量的固有层单核细胞为P65阳性细胞, 且胞核着色较浅. DSS组的黏膜层中, 残存的腺体细胞均为P65阳性细胞, 黏膜层和黏膜下层有大量的炎症细胞胞核P65染色阳性. DSS+LE135组P65表达情况和DSS相似, DSS+ATRA组P65表达较DSS组相比明显下降, 具有统计学意义(P<0.05)(表3).

正常对照组小鼠少量的固有层单核细胞为CD68阳性细胞, 胞浆着色较浅. DSS组固有层有大量CD68染色阳性细胞, 较正常对照组明显增加(P<0.05). DSS+LE135组CD68的表达情况比DSS组要高(P<0.05), DSS+ATRA组CD68表达较DSS组相比明显下降, 具有明显的统计学意义(P<0.05)(表4).

3 讨论

肠黏膜巨噬细胞与其他部位的巨噬细胞一样起源于骨髓的造血干细胞, 大部分在正常肠黏膜定居的巨噬细胞主要位于上皮下的黏膜固有层和集合淋巴小结[11]. 巨噬细胞表面有许多特异性的单克隆抗体识别标志物: CD68[12,13]、

■应用要点

本研究发现ATRA能通过抑制结肠炎作用肠道免疫反应, 及外周巨噬细胞向肠黏膜浸润而对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的小鼠结肠炎起治疗作用, 有待进一步证实是否也能通过这样一个机制对人体炎症性肠病起治疗作用, 是否还有其他能抑制巨噬细胞向肠黏膜浸润的药物也能通过这个途径对炎症性肠病起治疗作用.

CD14[14]、巨噬细胞清除受体[15]、巨噬细胞甘露醇受体[16]、天然耐受相关巨噬细胞蛋白[17,18]、F4/80[19]、M-CSF受体[20]、巨噬细胞基因-1[21]、单核细胞特异性酯酶[22]等. 巨噬细胞在机体固有免疫、适应性免疫、炎症反应、组织修复中起关键作用, 巨噬细胞可产生和分泌多种生物活性物质, 如IL-1、IL-3、TNF-α等[23], 大量研究表明在炎症性肠病中巨噬细胞处于一种高表达状态[24,25], 其产生的炎症因子TNF-α也明显增多, CD68作为巨噬细胞表面特异性标记物在炎症性肠病中也呈高表达状态. 本实验中我们利用免疫组织化学法检测小鼠结肠组织中CD68的表达情况, 在正常对照组小鼠结肠组织黏膜固有层仅有少量的CD68表达, DSS结肠炎肠黏膜有大量的CD68表达, DSS+ATRA组CD68的表达明显减少, 而DSS+LE135组CD68的表达较DSS都有明显的增高.

TNF是一种由巨噬细胞产生的有广泛生物学活性的细胞因子[26], TNF-α是一种重要的炎症递质, 在启动和维持肠组织炎症中起着非常重要的作用[27]. 本实验中, 我们利用ELISA学法检测小鼠结肠组织TNF-α的表达情况, 在正常对照组小鼠结肠组织TNF-α含量较少, 而DSS小鼠结肠组织中TNF-α含量明显增高. 在小鼠腹腔注射ATRA后, 结肠损伤程度明显减轻, TNF-α含量较DSS组明显减少.

IBD患者肠黏膜组织中NF-κB的表达量明显上调[28,29], NF-κB在肠道主要定位于黏膜固有层单核细胞及巨噬细胞内, 黏膜下表皮细胞及内皮细胞中亦可见NF-κB的表达. NF-κB通过对细胞因子、黏附分子、趋化因子及其他炎性递质的调控在IBD炎症反应中起关键作用, 目前发现这些与炎症性肠病密切相关的细胞基因启动子或增强子部位均有κB的位点, NF-κB在核内与κB结合促进多种炎性细胞因子如IL-1β、IL-2、IL-6、IL-8等的基因转录[30], 已有大量的研究表明IBD中NF-κB表达上调的同时还伴有IL-1、TNF-α等表达的上调, 如前所述IL-1和TNF-α可促进NF-κB 表达进一步增加, 产生级联反应, 使炎症进一步加重[30]. 本实验中, 我们利用免疫组织化学法检测小鼠结肠组织NF-κB的活化情况, 在正常对照组小鼠结肠组织黏膜中仅有少量的肠上皮细胞和固有层单核细胞(LPMC)核表达NF-κB p65, DSS诱导小鼠结肠炎受损结肠组织中残存的腺体上皮细胞可见大量p65阳性细胞, LPMC高表达激活的NF-κB. 在小鼠腹腔注射ATRA后, 结肠损伤程度明显减轻, 黏膜层炎性细胞中p65阳性细胞数较DSS组的表达明显减少.

目前对维甲酸的研究相当的广泛, 过去的研究发现他对恶性肿瘤、肾病、肝脏疾病、肺气肿、动脉粥样硬化、炎症性肠病等疾病均有治疗的作用, 但其具体的机制尚不完全明确, 有研究表明他能通过抑制巨噬细胞的功能而对恶性肿瘤、慢性炎症等疾病起作用, 本实验通过检测巨噬细胞的表面特异性标记物CD68观察到维甲酸能抑制巨噬细胞向肠道浸润, 从而抑制炎症性肠病的进展.

4 参考文献

1 Thia KT, Loftus EV, Sandborn WJ, Yang SK. An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3167-3182 [PMID: 19086963 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02158.x]

2 Munitz A, Cole ET, Beichler A, Groschwitz K, Ahrens R, Steinbrecher K, Willson T, Han X, Denson L, Rothenberg ME, Hogan SP. Paired immunoglobulin-like receptor B (PIR-B) negatively regulates macrophage activation in experimental colitis. *Gastroenterology* 2010; 139: 530-541 [PMID: 20398663 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.006]

3 D'Ambrosio DN, Clugston RD, Blaner WS. Vitamin A metabolism: an update. *Nutrients* 2011; 3: 63-103 [PMID: 21350678 DOI: 10.3390/nu3010063]

4 Kasimanickam VR, Kasimanickam RK. Retinoic acid signaling biomarkers after treatment with retinoic acid and retinoic acid receptor alpha antagonist (Ro 41-5253) in canine testis: an in vitro organ culture study. *Theriogenology* 2013; 79: 10-16 [PMID: 23102850 DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.09.001]

5 Spano A, Barni S, Sciola L. PMA withdrawal in PMA-treated monocytic THP-1 cells and subsequent retinoic acid stimulation, modulate induction of apoptosis and appearance of dendritic cells. *Cell Prolif* 2013; 46: 328-347 [PMID: 23692091 DOI: 10.1111/cpr.12030]

6 Luo T, Sakai Y, Wagner E, Dräger UC. Retinoids, eye development, and maturation of visual function. *J Neurobiol* 2006; 66: 677-686 [PMID: 16688765 DOI: 10.1002/neu.20239]

7 Bai A, Lu N, Zeng H, Li Z, Zhou X, Chen J, Liu P, Peng Z, Guo Y. All-trans retinoic acid ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis by shifting Th1 to Th2 profile. *J Interferon Cytokine Res* 2010; 30: 399-406 [PMID: 20187766 DOI: 10.1089/jir.2009.0028]

8 Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993; 69: 238-249 [PMID: 8350599]

9 Murano M, Maemura K, Hirata I, Toshina K, Nishikawa T, Hamamoto N, Sasaki S, Saitoh O, Katsu K. Therapeutic effect of intracolonically administered nuclear factor kappa B (p65) antisense oligonucleotide on mouse dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis. *Clin Exp Immunol* 2000; 120: 51-58

[PMID: 10759763]
10 Dieleman LA, Ridwan BU, Tennyson GS, Beagley KW, Bucy RP, Elson CO. Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice. *Gastroenterology* 1994; 107: 1643-1652 [PMID: 7958674]
11 Fonseca J, Martins dos Santos J, Oliveira P, Laranjeira N, Castelo Branco NA. Noise-induced duodenal lesions: a light and electron microscopy study of the lesions of the rat duodenal mucosa exposed to low frequency noise. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 72-77 [PMID: 22104641 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.002]
12 Holness CL, Simmons DL. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood* 1993; 81: 1607-1613 [PMID: 7680921]
13 Holness CL, da Silva RP, Fawcett J, Gordon S, Simmons DL. Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/lgp family. *J Biol Chem* 1993; 268: 9661-9666 [PMID: 8486654]
14 Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249: 1431-1433 [PMID: 1698311 DOI: 10.1126/science.1698311]
15 Krieger M, Herz J. Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 601-637 [PMID: 7979249 DOI: 10.1146/annurev.bi.63.070194.003125]
16 Mokoena T, Gordon S. Human macrophage activation. Modulation of mannosyl, fucosyl receptor activity in vitro by lymphokines, gamma and alpha interferons, and dexamethasone. *J Clin Invest* 1985; 75: 624-631 [PMID: 2579101 DOI: 10.1172/JCI111740]
17 Chen SL, Xu MY, Ji XS, Yu GC. Cloning and characterisation of natural resistance associated macrophage protein (Nramp) cDNA from red sea bream (Pagrus major). *Fish Shellfish Immunol* 2004; 17: 305-313 [PMID: 15312657 DOI: 10.1016/j.fsi.2004.04.003]
18 Vidal SM, Malo D, Vogan K, Skamene E, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for Bcg. *Cell* 1993; 73: 469-485 [PMID: 8490962 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90135-D]
19 Lin HH, Stacey M, Stein-Streilein J, Gordon S. F4/80: the macrophage-specific adhesion-GPCR and its role in immunoregulation. *Adv Exp Med Biol* 2010; 706: 149-156 [PMID: 21618834 DOI: 10.1007/978-1-4419-7913-1_13]
20 Zhang DE, Hetherington CJ, Chen HM, Tenen DG. The macrophage transcription factor PU.1 directs tissue-specific expression of the macrophage colony-stimulating factor receptor. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 373-381 [PMID: 8264604 DOI: 10.1128/MCB.14.1.373]
21 Spilsbury K, O'Mara MA, Wu WM, Rowe PB, Symonds G, Takayama Y. Isolation of a novel macrophage-specific gene by differential cDNA analysis. *Blood* 1995; 85: 1620-1629 [PMID: 7888681]
22 Zschunke F, Salmassi A, Kreipe H, Buck F, Parwaresch MR, Radzun HJ. cDNA cloning and characterization of human monocyte/macrophage serine esterase-1. *Blood* 1991; 78: 506-512 [PMID: 2070086]
23 Hamilton JA. Colony stimulating factors, cytokines and monocyte-macrophages--some controversies. *Immunol Today* 1993; 14: 18-24 [PMID: 8442857 DOI: 10.1016/0167-5699(93)90319-G]
24 Allison MC, Cornwall S, Poulter LW, Dhillon AP, Pounder RE. Macrophage heterogeneity in normal colonic mucosa and in inflammatory bowel disease. *Gut* 1988; 29: 1531-1538 [PMID: 3209109 DOI: 10.1136/gut.29.11.1531]
25 Mahida YR, Patel S, Gionchetti P, Vaux D, Jewell DP. Macrophage subpopulations in lamina propria of normal and inflamed colon and terminal ileum. *Gut* 1989; 30: 826-834 [PMID: 2753407 DOI: 10.1136/gut.30.6.826]
26 Kapadia S, Lee J, Torre-Amione G, Birdsall HH, Ma TS, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest* 1995; 96: 1042-1052 [PMID: 7635940 DOI: 10.1172/JCI118090]
27 Blam ME, Stein RB, Lichtenstein GR. Integrating anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease: current and future perspectives. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1977-1997 [PMID: 11467623 DOI: 10.1016/S0002-9270(01)02494-7]
28 Atreya I, Atreya R, Neurath MF. NF-kappaB in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 2008; 263: 591-596 [PMID: 18479258 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.01953.x]
29 Thiele K, Bierhaus A, Autschbach F, Hofmann M, Stremmel W, Thiele H, Ziegler R, Nawroth PP. Cell specific effects of glucocorticoid treatment on the NF-kappaBp65/IkappaBalpha system in patients with Crohn's disease. *Gut* 1999; 45: 693-704 [PMID: 10517905 DOI: 10.1136/gut.45.5.693]
30 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11 [PMID: 11134171 DOI: 10.1172/JCI11830]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文探讨ATRA对DSS诱导的小鼠结肠炎的治疗作用机制, 设计合理, 具有可读性和科学性, 研究结果具有一定的学术意义和参考价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2908-2914
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织血管内皮的修复作用

张夏梦, 寿折星, 石月萍, 范 恒, 唐 庆, 左冬梅, 刘星星

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)被世界卫生组织列为难治性疾病, 寻求新的治疗方法成为当务之急. 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有很强的分化和免疫调节作用, 有望成为治疗UC新方法.

张夏梦, 辽宁医学院研究生学院 辽宁省锦州市 121001
寿折星, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西结合科 湖北省武汉市 430022
石月萍, 辽宁医学院附属第一医院中医科 辽宁省锦州市 121001
张夏梦, 2011级辽宁医学院在读硕士研究生, 主要从事消化系统疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81102690
作者贡献分布: 此课题由寿折星与张夏梦设计; 实验过程由张夏梦、左冬梅及刘星星操作完成; 石月萍、范恒及唐庆指导; 试剂由寿折星提供; 数据分析由张夏梦完成; 本论文写作由张夏梦与寿折星完成.
通讯作者: 寿折星, 讲师, 主治医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西结合科. 36747601@qq.com
电话: 027-85726395 传真: 027-85726395
收稿日期: 2013-08-02 修回日期: 2013-09-02
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Bone marrow mesenchymal stem cells repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis

Xia-Meng Zhang, Zhe-Xing Shou, Yue-Ping Shi, Heng Fan, Qing Tang, Dong-Mei Zuo, Xing-Xing Liu

Xia-Meng Zhang, Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China
Zhe-Xing Shou, Heng Fan, Qing Tang, Dong-Mei Zuo, Xing-Xing Liu, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Tecnology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Yue-Ping Shi, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81102690
Correspondence to: Zhe-Xing Shou, Lecturer, Attending Physician, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Street, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 36747601@qq.com
Received: 2013-08-02 Revised: 2013-09-02
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate whether bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) can repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis (UC).

METHODS: Monocytes were purified from bone marrow, amplified and identified as MSCs *in vitro*. Thirty female Wistar rats were randomly and equally divided into three groups: a normal control, a model group and a MSC group. Colitis was induced with trinitro-benzene-sulfonic acid in rats of the model and MSC groups. Rats of the MSC group were injected with 1 mL of MSC suspension via the tail vein, while the rats of the normal control group and model group were injected with equal volume of normal saline. After two weeks, colon tissue samples were analyzed for histopathology, and serial sections of the colon tissue were made for determining the distribution of Y chromosome and CD34 double positive cells. The protein expression of CD34 was detected by immunohistochemisty. The mRNA expression of CD34 was determined by RT-PCR. The contents of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in colon tissue were determined by ELISA.

RESULTS: Y chromosome and CD34 double positive cells could be seen in colon tissue of rats injected with MSCs. Compared to the normal control group, the expression of CD34 and IL-6 was increased (1.629 ± 0.067 *vs* 1.000 ± 0.113, $P < 0.05$; 238.304 ± 0.019 *vs* 81.439 ± 0.120, $P < 0.01$) and the expression of IL-10 was decreased (87.531 ± 0.101 *vs* 289.413 ± 0.039, $P < 0.01$) in the model group. Compared to the model group, the expression of CD34 and IL-10 was increased (2.502 ± 0.189 *vs* 1.629 ± 0.067, $P < 0.05$; 158.185 ± 0.033 *vs* 87.531 ± 0.115, $P < 0.01$) and the expression of IL-6 was decreased (160.95 ± 0.116 *vs* 238.304 ± 0.109, $P < 0.01$) in the MSC group.

CONCLUSION: MSCs may exert a therapeutic effect on colitis by differentiating into vascular cell endothelial cells and inhibiting inflammation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Ulcerative colitis; Repair; Vascular endothelium; Inflammation

■同行评议者
缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

Zhang XM, Shou ZX, Shi YP, Fan H, Tang Q, Zuo DM, Liu XX. Bone marrow mesenchymal stem cells repair colonic vascular endothelium in rats with ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2908-2914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2908.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2908

摘要

目的: 探讨骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是否具有修复溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠结肠血管内皮的潜能及其对UC大鼠的治疗作用.

方法: 从骨髓中提纯单核细胞, 体外扩增、鉴定为MSCs. 将30只♀大鼠随机分为正常组、模型组、MSCs组, 每组10只. 模型组和MSCs组用三硝基苯磺酸/乙醇复合法局部灌肠法建立大鼠UC模型; 24 h后, 正常组和模型组经尾静脉输入1 mL生理盐水; MSCs组经尾静脉输入1 mL MSCs悬液. 2 wk后留取结肠组织标本. 进行病理学观察; 结肠组织连续切片, 采用荧光原位杂交法结合免疫荧光染色, 观察移植组大鼠结肠组织Y染色体和CD34双阳性细胞的分布情况; 免疫组织化学法检测结肠组织CD34蛋白的表达; RT-PCR技术检测CD34 mRNA的表达; ELISA检测结肠组织中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-10含量.

结果: 连续切片可见MSCs组结肠组织可见Y染色体和CD34双阳性细胞. 与正常组比较, 模型组结肠组织中CD34的表达增高(1.629±0.067 *vs* 1.000±0.113, $P<0.05$), IL-6的表达增高(238.304 pg/mL±0.019 pg/mL *vs* 81.439 pg/mL±0.120 pg/mL, $P<0.01$), IL-10的表达降低(87.531 pg/mL ± 0.101 pg/mL *vs* 289.413 pg/mL±0.039 pg/mL, $P<0.01$); 与模型组比较, MSCs组结肠组织CD34的表达增高(2.502±0.189 *vs* 1.629±0.067, $P<0.05$); IL-6的表达降低(160.95 pg/mL±0.116 pg/mL *vs* 238.304 pg/mL±0.109 pg/mL, $P<0.01$), IL-10的表达增高(158.185 pg/mL±0.033 pg/mL *vs* 87.531 pg/mL±0.115 pg/mL, $P<0.01$).

结论: MSCs可向结肠血管内皮细胞分化从而促进血管生成, 同时能抑制肠道炎症, 有效地促进UC大鼠结肠黏膜的修复.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公

关键词: 骨髓间充质干细胞; 溃疡性结肠炎; 修复; 血管内皮; 炎症

核心提示: 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells)对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)有良好的治疗作用, 能够分化为结肠组织黏膜血管内皮细胞, 促进血管内皮修复.

张夏梦, 寿折星, 石月萍, 范恒, 唐庆, 左冬梅, 刘星星. 骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织血管内皮的修复作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2908-2914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2908.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2908

■研发前沿
目前已有大量实验证明MSCs能在体内外分化为各种非造血组织, 其免疫调节作用也得到广泛认同, 但是其具体的分化机制及免疫调节机制尚不明确, 尚需进一步研究.

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 是一类病因尚未完全明确的肠道非特异性炎症性疾病. UC伴随结肠黏膜损伤和肠道炎症, 修复受损肠黏膜、抑制肠道炎症是治疗的关键. 近年来的研究表明, 血管生成在UC结肠黏膜组织修复的过程中具有十分重要的意义[1,2]. 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种具有多分化潜能的细胞, 在特定条件下能诱导分化形成各种非造血组织[3-5], 另外还具有很强的免疫调节作用[6-8], 是用于组织工程和细胞治疗的理想细胞. 本实验通过建立大鼠UC模型, 观察MSCs是否能分化为血管内皮细胞从而促进UC大鼠结肠受损部位血管生成, 另外观察其改善肠道炎症的情况, 为MSCs移植治疗UC提供理论和实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级SD大鼠, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供[实验动物质量合格证SCKY(鄂)2008-0005, No: 4200696100; 实验动物设施使用证明SYXK(鄂)2010-0057, No: 00116132]. 3-4周龄雄性大鼠5只, 体质量160 g ±20 g, 用于制备移植细胞; 6-8周龄♀大鼠30只, 体质量250 g±20 g, 用于制作UC 模型. 2, 4, 6-三硝基苯磺酸(Sigma, P2297); 大鼠SRY DNA原位荧光杂交染色系统(天津市灏洋生物, RAT-2009BIO); 兔抗大鼠CD34单克隆抗体(bioss, bs-0217R); 生物素标记蓖麻凝集素(RCAI, Vector公司); 浓缩型DAB显色剂(bioss, C-0010); TRIzol(Invitrogen公司); 兔抗羊IgG-AP(武汉博士德, BA1011), SABC-Cy3试剂盒(武汉博士德, SA2001); DAPI(Sigma公司, D9564); 逆转录试剂盒(Fermentas); SYBR Green定量PCR试剂盒(Roche公司); 大鼠白介素6(interleukin-6, IL-6)酶联免疫吸附测定试剂盒、大鼠白介素10(in-

■相关报道
有研究表明MSCs移植对UC的修复有明显的促进作用，可能与其分化、旁分泌、免疫调节能力有关.

terleukin-10, IL-10)酶联免疫吸附测定试剂盒(伊莱瑞特, E-EL-R0015/E-EL-R0016); 实时荧光定量PCR仪(ABI7900HT); 荧光显微镜带自动照相和数字成像装置(OLYMPUS, BX58).

1.2 方法

1.2.1 MSCs的分离、传代与鉴定: ♂大鼠颈椎脱臼法处死, 750 mL/L酒精浸泡消毒, 无菌取双侧股骨和胫骨, 剔除骨表面的软组织, 于磷酸盐缓冲液(PBS)中剪断两端骨骺, 用PBS(20G针头)反复冲洗骨髓腔, 直到骨髓腔清亮, 去除红细胞, 收集骨髓细胞于15 mL离心管中, 轻拨动试管弹开细胞, 用完全培养基重悬, 转移至25 cm^2培养瓶中, 轻轻摇匀, 置于CO_2细胞培养箱中培养. 48 h后换新鲜培养基以去除未贴壁的细胞, 以后每隔3 d换一次液, 当贴壁细胞达到80%融合后, 0.25%的胰蛋白酶消化, 以1∶3的比例传代培养. 取第3代细胞留用. 取第3代MSC以0.25%胰蛋白酶消化, 室温离心5 min, 弃上清, 以PBS制成单细胞悬液, 每管100 μL, 分别加入荧光标记的CD29、CD90、CD45、CD11b, 4 ℃避光孵育30 min, 加入PBS清洗, 离心后弃上清, 除去未结合的荧光抗体, 加1 mL PBS悬浮上机检测.

1.2.2 UC模型制备及分组: 用三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇复合法[9]局部灌肠法建立溃疡性结肠炎大鼠模型. 在禁食不禁饮24 h条件下, 用10%的水合氯醛每3 mL/kg腹腔注射麻醉, 麻醉后将内径约2 mm的导尿管从肛门缓慢插入约8 cm, 向导尿管内注入500 mL/L的乙醇0.25 mL, 继而注入0.6 mL TNBS, 提起大鼠尾部倒立约30 s, 待清醒后自由进食和饮水. 将30只SD♀大鼠随机分为: 正常组、模型组、MSCs组, 每组10只. 模型组和MSCs组建立大鼠UC模型. 24 h后, 正常组和模型组经尾静脉注入生理盐水1 mL; MSCs组经尾静脉注入1×10^6个MSCs悬液1 mL. 建立模型后, 观察大鼠日常活动、进食以及腹泻和黏液脓血便情况. 2 wk后, 留取每只大鼠远端结肠组织长约8 cm, 比较各组大鼠结肠组织病理学变化. 取病变明显的结肠组织一部分迅速置于液氮中保存; 另一部分置于10倍标本体积以上的40 g/L甲醛溶液中, 24 h内石蜡包埋并HE染色切片.

1.2.3 荧光原位杂交结合免疫荧光染色: (1)Y染色体DNA荧光原位杂交: 结肠组织连续切片, 常规脱蜡, 置于枸橼酸缓冲液浸泡10 min; 置打孔液中室温10 min, 磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗2次, 加500 g/L去离子甲酰胺60 ℃ 1 h, 2×SSC洗1次, 加2 mol/L盐酸室温30 min, PBS冲洗2次, 置90 ℃水浴中加热15 min后迅速置4 ℃冰育液中; 滴加复合消化工作液, 室温10 min; 滴加预杂交工作液覆盖组织37 ℃湿盒孵育6 h, 盖上盖玻片; 滴加杂交工作液覆盖组织37 ℃湿盒孵育10 h; 杂交后洗涤; DAPI复染细胞核, 甲醇DAPI溶液37 ℃孵育组织切片15 min, 甩片, 甘油封片; (2)免疫荧光染色检测CD34表达: 结肠组织连续切片、拷片、脱蜡复水; 抗原修复后, 3% H_2O_2室温避光下孵育20 min, PBS漂洗3次; 滴加正常山羊血清封闭液, 室温封闭30 min ; 滴加兔抗大鼠CD34单克隆抗体, 置于湿盒中, 4 ℃过夜; 滴加生物素化兔抗羊抗体, 37 ℃湿盒孵育30 min; 加SABC-CY3室温30 min(避光); PBS洗3次, 甘油封片; 滴加DAPI避光孵育5 min, 进行核复染; 用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 在荧光显微镜下观察采集图像; (3)各组结肠组织切片按以上步骤处理后, 在荧光显微镜下, FAM 激发波长λ = 510 nm, 观察采集位于细胞核内的黄绿色荧光图像. DAPI激发波长λ = 360 nm, 观察采集细胞核内的蓝色荧光图像. CY3激发波长λ = 550 nm, 观察采集位于细胞浆的红色荧光. 应用Image2pro3DS 5.1图像处理软件进行图片扫描、取图、图像叠加.

1.2.4 免疫组织化学SP法检测CD34的表达: 常规脱蜡, 抗原修复后用PBS振荡浸洗3遍, 室温正常山羊血清封闭1 h, 加一抗, 4 ℃湿盒中孵育过夜, 加生物素化二抗, 湿盒中37 ℃孵育30 min, 加SABC复合物, 湿盒中37 ℃孵育30 min, DAB显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 中性树胶封片. 用PBS代替一抗, 同等条件下做阴性对照. 结果判断: CD34阳性表达为细胞质呈棕黄色. 阳性表达细胞计数标准: 每张切片随机选取5个高倍视野(×200), 分别计数200个细胞, 计算阳性细胞百分比.

1.2.5 RT-PCR技术检测CD34的表达: 按照TRIzol试剂盒说明书提取结肠组织细胞总RNA, 逆转录成cDNA. 取2 μL转录产物作模板, 引物序列如下: β-actin f: 5'-CACGATGGAGGGGCCG-GACTCATC-3', β-actin r: 5'-TAAAGACCTC-TATGCCAACACAGT-3', 扩增长度240 bp; CD34 f: 5'-ACTTCTGTTGCCTCGGAGAA-3', CD34 r: 5'-ACGGTTGGGTAAGTCTGTGG-3', 扩增长度248 bp. 反应条件为: 94 ℃ 4 min; 94 ℃ 30 s, 54 ℃ 30 s, 72 ℃ 25 s; 30个循环, 72 ℃ 4 min, 4 ℃ 4 min. 采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$方法分析各组相对基因表

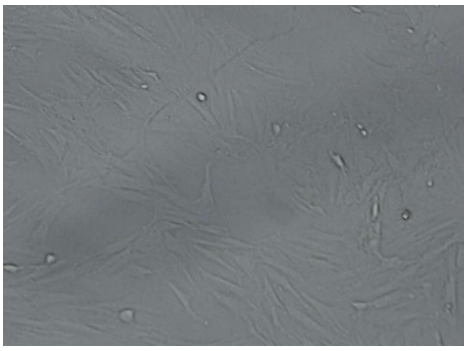


图 1 培养的第3代MSCs(×200).

达差异.

1.2.6 ELISA检测结肠组织IL-6、IL-10的表达: 将组织样品称重,按组织重PBS体积 = 1∶9的比例用预冷的PBS将组织样品匀浆, 4 ℃ 10000 r/min离心10 min, 小心吸取上清检测. ELISA实验步骤参照说明书进行, 采用酶标仪测*A*值.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学数据分析, 计量资料数据以mean±SD表示, 采用单因素方差分析, 两两比较用LSD法, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MSC形态学特征及鉴定 原代细胞接种24 h后可见散在分布的贴壁细胞, 为短梭形、椭圆形、长梭形; 15 d左右, 细胞的体积亦较刚贴壁时增大, 呈旋涡状排列. 经消化、传代后, 第3代MSCs在24 h内即可完全贴壁、伸展, 呈纺锤状、折光性好(图1). 流式细胞术分析表明第3代MSCs、CD29和CD90均高表达, CD45和CD11b均低表达, 可判定最终培养的细胞为MSCs.

2.2 一般状况改变 造模后24 h, 正常组大鼠一般状况无明显改变. 其余两组大鼠均出现不同程度的竖毛、喜扎堆、活动迟缓, 并出现稀便和黏液脓血便, 说明大鼠UC造模成功[10]. MSCs组经治疗后大鼠饮食、体质量逐渐增加, 大便次数减少、便血或大便隐血逐渐消失.

2.3 病理观察 病变结肠组织切片后常规HE染色, 镜下观察可见: 正常组: 结肠组织黏膜结构完整、连续, 腺体排列整齐, 黏膜内血管基质和纤维间质正常; 模型组: 结肠组织黏膜结构异常, 黏膜腺体破坏, 排列不规则, 杯状细胞减少, 黏膜和黏膜下层明显充血水肿, 可见黏膜局灶糜烂和溃疡, 有的溃疡深及黏膜肌层, 在黏膜层及黏膜下层可见大量炎性细胞浸润; MSCs组: 结肠组织黏膜结构尚完整, 黏膜层和黏膜下固有层充血、水肿较轻, 溃疡较浅表, 腺体增生活跃, 杯状细胞增多, 炎性细胞浸润减少(图2).

表 1 各组大鼠结肠组织中CD34阳性细胞百分比及mRNA相对表达结果 (n = 10, mean ± SD)

组别	n	阳性细胞百分比(%)	mRNA相对表达
正常组	10	2.25 ± 3.97	1.000 ± 0.113
模型组	10	11.81 ± 2.76[a]	1.629 ± 0.067[a]
MSCs组	10	21.42 ± 1.69[c]	2.502 ± 0.189[c]

[a]$P<0.05$ *vs* 正常组; [c]$P<0.05$ *vs* 模型组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

2.4 Y染色体和CD34双阳性细胞表达 正常组和模型组结肠组织免疫荧光切片可见位于细胞浆的红色荧光, 即CD34阳性, 主要分布在黏膜固有层和黏膜下层的血管内皮细胞中, 未发现细胞核内有黄绿色荧光, 即Y染色体SRY FISH阴性. MSCs移植组结肠组织切片可蓝色荧光的细胞核内有绿色荧光亮点, 即Y染色体SRY FISH阳性表达. 连续切片显示部分Y染色体阳性细胞, 荧光显微镜下可见位于细胞浆的红色荧光, 即Y染色体和CD34双阳性细胞表达. 观察到Y染色体阳性细胞在结肠组织固有层和黏膜下层的血管内皮细胞中均有分布(图3).

2.5 免疫组织化学结果 正常组少见CD34阳性表达; 模型组和MSCs组可见CD34阳性表达, 主要见于结肠组织黏膜及黏膜下层的血管内皮细胞中(图4); 模型组和MSCs组CD34表达较正常组增高($P<0.05$), MSCs组CD34的表达较模型组增高($P<0.05$, 表1).

2.6 RT-PCR结果 较正常组, 模型组及MSCs组CD34表达增高($P<0.05$); 较模型组, MSCs组CD34表达增高($P<0.05$, 表1). 说明结肠损伤后, CD34表达增高, 并提示MSCs能促进CD34的表达.

2.7 ELISA结果 模型组及MSCs组IL-6的水平较正常组显著增高($P<0.01$), MSCs组IL-6的水平较模型组显著降低($P<0.01$), 提示MSCs能降低UC大鼠结肠组织中IL-6的水平. 模型组及MSCs组IL-10的水平较正常组显著减低($P<0.01$), MSCs组中IL-10的水平比模型组显著增高($P<0.01$, 图5), 说明MSCs能提高UC大鼠结肠组织中IL-10的水平.

3 讨论

最近研究表明, UC愈合不良与受损结肠微血管

■创新盘点

关于MSCs治疗UC的研究尚比较少见, 本文通过Y-FISH结合免疫荧光的方法研究MSCs是否能分化为UC结肠血管内皮细胞.

■应用要点
MSCs来源广泛、取材容易，易于体外培养扩增，且体内植入排斥反应较弱，是一种用于细胞治疗的理想细胞. 本文为MSCs用于治疗UC提供了一定的理论依据.

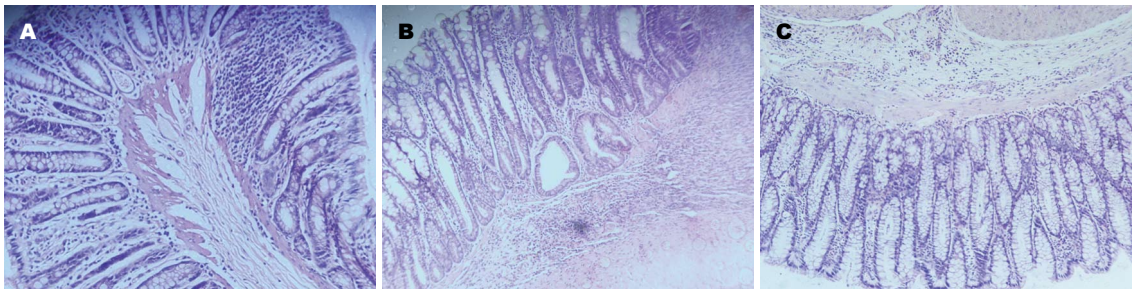


图 2 各组大鼠病变结肠组织病理观察(HE × 100). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

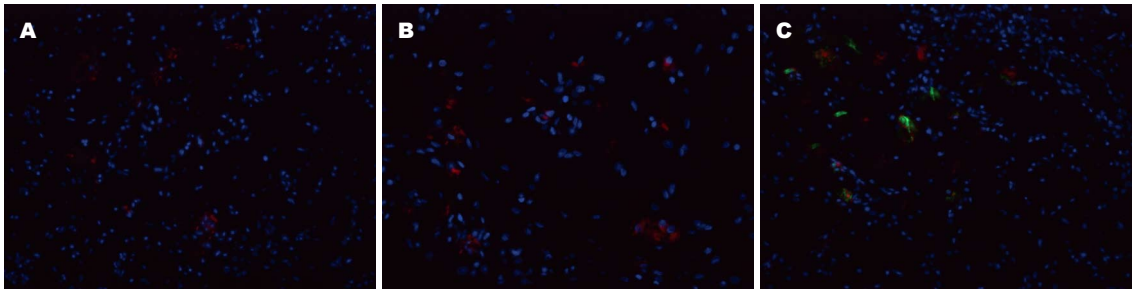


图 3 SRY FISH和CD34免疫荧光染色(× 400). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

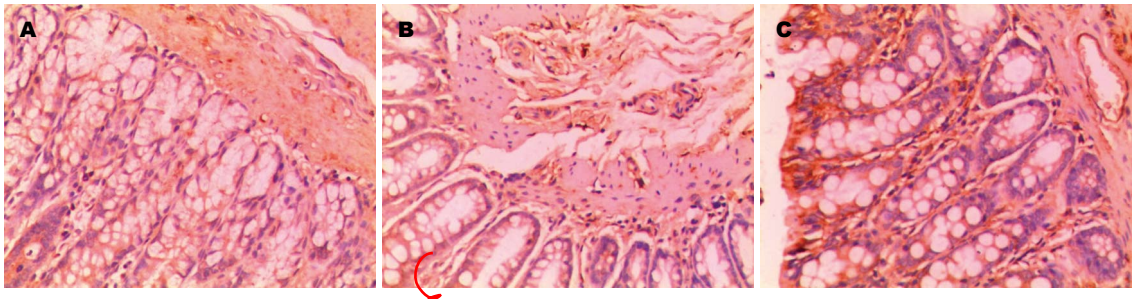


图 4 CD34在各组大鼠结肠黏膜中的表达(SP) × 200). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

功能障碍和内皮屏障缺陷导致组织持续低灌注和缺血密切相关[11]. 损伤的结肠组织需要肉芽组织来修复，包括沉积的结缔组织基质、成纤维细胞和血管生成，从而重建结肠黏膜微血管，提供氧气和营养[12]. 血管生成是UC治疗中的重要部分，重建血管是溃疡或伤口愈合的关键，是肉芽组织关键组成部分，新生的毛细血管和大血管提供氧气和营养，使纤维母细胞增生，形成临时疏松肉芽组织[1,13]. 肉芽组织是取代不能再生的细胞如平滑肌细胞(肠道壁最大组成部分)的唯一选择.

MSCs是一群存在于骨髓中的非造血成体干细胞，具有多向分化的潜能[14,15]，并可向特定的靶器官迁徙、定植，能分化平滑肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞和内皮细胞[16,17]. MSCs具有内皮细胞的部分表型，MSCs可表达vWF、SH2因子和内皮细胞黏附分子-1，以上因子均能在内皮细胞上表达且分别与内皮细胞的损伤、游走、和活化有关[18,19]. 另外，在机体组织发生损伤时，MSCs会迁移到损伤部位参与组织的修复[20-22]. 有研究表明，MSC移植到心肌梗死模型中，可以分化为血管内皮，使心肌中的毛细血管密度显著增加[23,24]. 说明MSCs具有分化成内皮细胞从而修复损伤结肠的潜能，关于MSCs移植分化为结肠血管内皮的报道尚比较罕见. CD34是一种高度糖基化跨膜蛋白，主要存在于幼稚的造血干细胞和造血祖细胞质膜以及内皮细胞的祖细胞表面，可作为内皮细胞的标志物，在内皮细胞胞浆中表达. 在MSCs组结肠组织连续切片上发现，部分Y染色体阳性的细胞中同时可见CD34阳性表达，说明雄性供体MSCs移植后能定值到受损结肠部位，并分化成为结

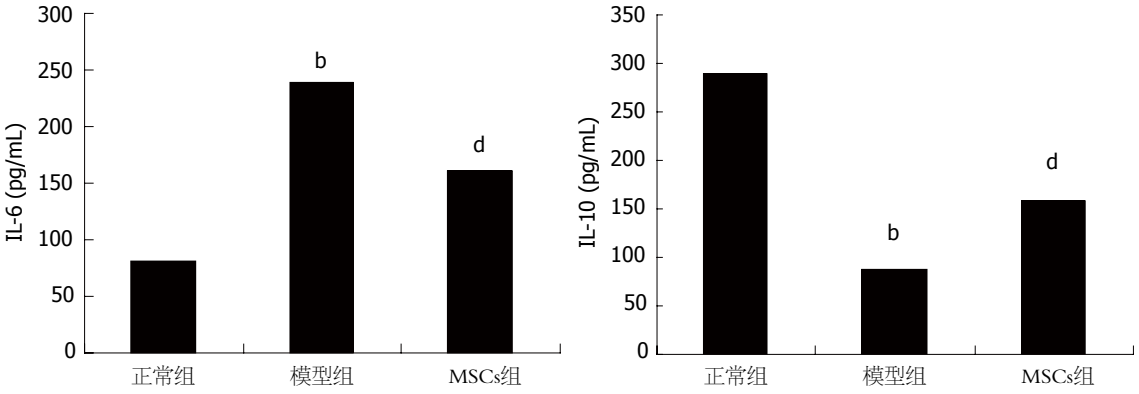


图 5 结肠组织中IL-6、IL-10的表达. $^{b}P<0.01$ *vs* 正常组; $^{d}P<0.01$ *vs* 模型组. MSCs: 骨髓间充质干细胞; IL: 白介素.

肠血管内皮细胞, 促进血管内皮的修复, 从而促进结肠血液动力学的恢复, 使受损的黏膜组织微循环得以重建, 组织血氧供应增加, 进而促进肉芽组织生成, 促进结肠黏膜修复.

根据在炎症反应中的作用可将细胞因子分为促炎因子肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、IL-6等和抗炎因子IL-10、IL-4等, 这两类细胞因子的失衡与UC的发病密切相关. IL-6在UC的发病过程其重要作用, 其增高是UC发病的主要特征之一[25,26], 其血浆中的浓度与溃疡性结肠炎病变范围和病变严重程度成正相关[27]; IL-10是维持正常肠道黏膜免疫调节与稳定肠道黏膜内环境的重要因子, 在结肠炎的发展和愈合中起重要作用[28,29]. MSCs有很强的免疫调节能力, 可以抑制T细胞增殖、影响树突细胞的成熟及功能、抑制B细胞增殖和分化, 对其他的免疫细胞如NK细胞、巨噬细胞也有免疫调制的作用[30,31]. MSCs移植后结肠组织IL-6表达降低, IL-10表达增高, 说明MSCs能通过调节促炎细胞因子和抑炎细胞因子失衡从而对UC大鼠起治疗作用. 另外, MSCs组炎症水平的降低可能与MSCs治疗后血流动力学恢复从而使促进炎症吸收有关.

总之, 本研究表明MSCs对UC有良好的治疗作用, 能够分化为结肠组织黏膜血管内皮细胞, 促进血管内皮修复, 另外能调节促炎因子IL-6和抑炎因子IL-10的表达, 为MSCs应用于UC的治疗提供了理论依据.

4 参考文献

1 Szabo S, Deng X, Tolstanova G, Khomenko T, Paunovic B, Chen L, Jadus M, Sandor Z. Angiogenic and anti-angiogenic therapy for gastrointestinal ulcers: new challenges for rational therapeutic predictions and drug design. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1633-1642 [PMID: 21548866 DOI: 10.2174/138161211796197034]

2 Tolstanova G, Khomenko T, Deng X, Szabo S, Sandor Z. New molecular mechanisms of the unexpectedly complex role of VEGF in ulcerative colitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 399: 613-616 [PMID: 20682292 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.07.124]

3 Liu J, Liu C, Sun B, Shi C, Qiao C, Ke X, Liu S, Liu X, Sun H. Differentiation of Rabbit Bone Mesenchymal Stem Cells into Endothelial Cells In Vitro and Promotion of Defective Bone Regeneration In Vivo. *Cell Biochem Biophys* 2013 Aug 14. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23943083]

4 Maxson S, Lopez EA, Yoo D, Danilkovitch-Miagkova A, Leroux MA. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 142-149 [PMID: 23197761 DOI: 10.5966/sctm.2011-0018]

5 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147 [PMID: 10102814 DOI: 10.1126/science.284.5411.143]

6 MacFarlane RJ, Graham SM, Davies PS, Korres N, Tsouchnica H, Heliotis M, Mantalaris A, Tsiridis E. Anti-inflammatory role and immunomodulation of mesenchymal stem cells in systemic joint diseases: potential for treatment. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 243-254 [PMID: 23293906 DOI: 10.1517/14728222.2013.746954]

7 Kuo YR, Chen CC, Goto S, Lin PY, Wei FC, Chen CL. Mesenchymal stem cells as immunomodulators in a vascularized composite allotransplantation. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 854846 [PMID: 23227090 DOI: 10.1155/2012/854846]

8 Auletta JJ, Bartholomew AM, Maziarz RT, Deans RJ, Miller RH, Lazarus HM, Cohen JA. The potential of mesenchymal stromal cells as a novel cellular therapy for multiple sclerosis. *Immunotherapy* 2012; 4: 529-547 [PMID: 22642335 DOI: 10.2217/imt.12.41]

9 Fan H, Shen L, Tang Q, Xiong P, Shou Z, Liao Y, Liang L, Chen X. Effect of Wumeiwan on cytokines TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and expression of NF-kappaBp65 in rats with ulcerative colitis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2009; 29: 650-654 [PMID: 19821103 DOI: 10.1007/s11596-009-0523-4]

10 Brenna Ø, Furnes MW, Drozdov I, van Beelen Granlund A, Flatberg A, Sandvik AK, Zwiggelaar

■同行评价
本文设计合理, 方法得当, 结果可信, 结论具有基础研究和临床研究价值.

RT, Mårvik R, Nordrum IS, Kidd M, Gustafsson BI. Relevance of TNBS-colitis in rats: a methodological study with endoscopic, histologic and Transcriptomic [corrected] characterization and correlation to IBD. *PLoS One* 2013; 8: e54543 [PMID: 23382912 DOI: 10.1371/journal.pone.0054543]

11 Deng X, Szabo S, Chen L, Paunovic B, Khomenko T, Tolstanova G, Tarnawski AS, Jones MK, Sandor Z. New cell therapy using bone marrow-derived stem cells/endothelial progenitor cells to accelerate neovascularization in healing of experimental ulcerative colitis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1643-1651 [PMID: 21548863]

12 Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velcich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, Van Seuningen I, Renes IB, Einerhand AW. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131: 117-129 [PMID: 16831596 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.020]

13 Danese S, Papa A, Scaldaferri F, Graziani C, Bonizzi M, Armuzzi A, Fedeli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. A novel pathogenic role for microvasculature in inflammatory bowel disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10: 3-5 [PMID: 16494103]

14 Dawn B, Bolli R. Adult bone marrow-derived cells: regenerative potential, plasticity, and tissue commitment. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 494-503 [PMID: 16237509 DOI: 10.1007/s00395-005-0552-5]

15 Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells* 2004; 22: 487-500 [PMID: 15277695 DOI: 10.1634/stemcells.22-4-487]

16 Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J Pathol* 2009; 217: 318-324 [PMID: 19023885 DOI: 10.1002/path.2469]

17 Maul TM, Chew DW, Nieponice A, Vorp DA. Mechanical stimuli differentially control stem cell behavior: morphology, proliferation, and differentiation. *Biomech Model Mechanobiol* 2011; 10: 939-953 [PMID: 21253809 DOI: 10.1007/s10237-010-0285-8]

18 Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1185-1189 [PMID: 12714439 DOI: 10.1161/01.ATV.0000073832.49290.B5]

19 Noseda M, McLean G, Niessen K, Chang L, Pollet I, Montpetit R, Shahidi R, Dorovini-Zis K, Li L, Beckstead B, Durand RE, Hoodless PA, Karsan A. Notch activation results in phenotypic and functional changes consistent with endothelial-to-mesenchymal transformation. *Circ Res* 2004; 94: 910-917 [PMID: 14988227 DOI: 10.1161/01.RES.0000124300.76171.C9]

20 Wu Y, Wang J, Scott PG, Tredget EE. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S18-S26 [PMID: 17727462 DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00221.x]

21 Ren G, Chen X, Dong F, Li W, Ren X, Zhang Y, Shi Y. Concise review: mesenchymal stem cells and translational medicine: emerging issues. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 51-58 [PMID: 23197640 DOI: 10.5966/sctm.2011-0019]

22 Mahmood A, Lu D, Lu M, Chopp M. Treatment of traumatic brain injury in adult rats with intravenous administration of human bone marrow stromal cells. *Neurosurgery* 2003; 53: 697-702; discussion 702-703 [PMID: 12943585]

23 Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T, Uematsu M, Yamagishi M, Mori H, Kangawa K, Kitamura S. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2670-H2676 [PMID: 15284059]

24 Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, Iwase T, Murakami S, Miyahara Y, Fujii T, Uematsu M, Ohgushi H, Yamagishi M, Tokudome T, Mori H, Miyatake K, Kitamura S. Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2005; 112: 1128-1135 [PMID: 16103243 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.500447]

25 Galvez-Llompart M, Del Carmen Recio Iglesias M, Gálvez J, García-Domenech R. Novel potential agents for ulcerative colitis by molecular topology: suppression of IL-6 production in Caco-2 and RAW 264.7 cell lines. *Mol Divers* 2013; 17: 573-593 [PMID: 23793777 DOI: 10.1007/s11030-013-9458-6]

26 Hegazy SK, El-Bedewy MM. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF-kappaB activation in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4145-4151 [PMID: 20806430 DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4145]

27 Atreya R, Neurath MF. Involvement of IL-6 in the pathogenesis of inflammatory bowel disease and colon cancer. *Clin Rev Allergy Immunol* 2005; 28: 187-196 [PMID: 16129903]

28 Bamba S, Lee CY, Brittan M, Preston SL, Direkze NC, Poulsom R, Alison MR, Wright NA, Otto WR. Bone marrow transplantation ameliorates pathology in interleukin-10 knockout colitic mice. *J Pathol* 2006; 209: 265-273 [PMID: 16550633 DOI: 10.1002/path.1967]

29 Fischbeck A, Leucht K, Frey-Wagner I, Bentz S, Pesch T, Kellermeier S, Krebs M, Fried M, Rogler G, Hausmann M, Humpf HU. Sphingomyelin induces cathepsin D-mediated apoptosis in intestinal epithelial cells and increases inflammation in DSS colitis. *Gut* 2011; 60: 55-65 [PMID: 21076125 DOI: 10.1136/gut.2009.201988]

30 Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35: 213-221 [PMID: 22370776 DOI: 10.1007/s12272-012-0202-z]

31 Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Gócza E, Vas V, Monostori E, Uher F. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells* 2008; 26: 244-253 [PMID: 17932424 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0267]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2915-2921
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

USP22、MTA1及Ki-67蛋白在食管鳞癌中的表达及相关性

郑文凤, 李颖霞, 陈奎生, 温洪涛

郑文凤, 李颖霞, 温洪涛, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052
陈奎生, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省郑州市 450052
郑文凤, 在读硕士研究生, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 课题设计、主要实验、数据分析及文章书写由郑文凤完成; 病理组织选择、样本取材由陈奎生完成; 实验器材及分析工具由陈奎生提供; 文章审阅和指导修改由李颖霞与温洪涛完成.
通讯作者: 温洪涛, 教授, 博士, 硕士生导师, 450052, 河南省郑州市建设路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科.
wenhongtao68@163.com
电话: 0371-66862073
收稿日期: 2013-07-19 修回日期: 2013-08-25
接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Expression of USP22, MTA1 and Ki-67 in esophageal squamous cell carcinoma

Wen-Feng Zheng, Ying-Xia Li, Kui-Sheng Chen, Hong-Tao Wen

Wen-Feng Zheng, Ying-Xia Li, Hong-Tao Wen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Kui-Sheng Chen, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Correspondence to: Hong-Tao Wen, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. wenhongtao68@163.com
Received: 2013-07-19 Revised: 2013-08-25
Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of ubiquitin specific peptidase 22 (USP22), metastasis associated gene 1 (MTA1) and nuclear associated antigen (Ki-67) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and to analyze their relationship with clinicopathologic features of ESCC.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of USP22, MTA1 and Ki-67 proteins in ESCC, matched tumor-adjacent tissue and normal esophageal tissue. The correlation between the expression of these proteins and clinicopathologic features of ESCC was analyzed.

RESULTS: The positive rate of USP22 expression in ESCC was significantly higher than that in tumor-adjacent tissue and normal esophageal tissue (68.18% *vs* 36.36%, 15.91%, both $P < 0.05$). Expression of USP22 was significantly associated with tumor invasion depth and histological grade, but not with age, sex or lymph node metastasis. The positive rate of MTA1 expression was also significantly higher in ESCC than in tumor-adjacent tissue and normal esophageal tissue (61.36% *vs* 31.82%, 6.82%, both $P < 0.05$). MTA1 expression was significantly associated with lymph node metastasis, tumor invasion depth and histological grade, but not with age or sex. The positive rate of Ki-67 expression was also significantly higher in ESCC than in tumor-adjacent tissue and normal esophageal tissue (70.45% *vs* 43.18%, 11.36%, both $P < 0.05$). Expression of Ki-67 was significantly associated with lymph node metastasis, tumor invasion depth and histological grade, but not with age or sex. USP22 protein expression was positively correlated with the expression of MTA1 and Ki-67 proteins; however, the expression of MTA1 protein was not significantly correlated with that of Ki-67 protein.

CONCLUSION: USP22, MTA1 and Ki-67 may participate in the occurrence and metastasis of esophageal carcinoma. Combined detection of the expression of these proteins will be helpful to the diagnosis of esophageal carcinoma and accurate determination of the biological behavior of this malignancy. USP22, MTA1 and Ki-67 may become new targets for gene therapy of esophageal carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; USP22; MTA1; Ki-67

Zheng WF, Li YX, Chen KS, Wen HT. Expression of USP22, MTA1 and Ki-67 in esophageal squamous cell carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2915-2921 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2915

■背景资料
食管癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 近年来随着对食管癌发病机制的不断深入研究, 泛素特异性肽酶(USP22)成为研究的热点, 对食管癌的诊断及探索新的有效治疗方式有一定的意义.

■同行评议者
张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

■研发前沿
食管癌的发病机制、诊断及靶向治疗越来越受到医学界的关注，而新的肿瘤标志基因USP22在食管癌中的研究较少，USP22在食管癌发病中的具体机制、与MTA1、Ki-67如何相互作用促进肿瘤形成及浸润转移是目前需要研究的问题.

摘要

目的: 探讨泛素特异性肽酶22(ubiquitin specific peptidase 22, USP22), 转移相关基因1(metastasis associated gene 1, MTA1)及细胞增殖核抗原(nuclear associated antigen, Ki-67)在人食管鳞癌组织中的表达、与肿瘤生物学行为的关系以及他们三者之间的相关性.

方法: 采用免疫组织化学的方法检测USP22、MTA1及Ki-67在人食管鳞癌组织、癌旁组织及正常组织的表达, 探讨上述三者在不同组织中表达的特点及他 们相互之间的相关性.

结果: (1)USP22的阳性表达率: 食管鳞癌组织68.18%, 癌旁组织36.36%, 正常组织15.91%, 两两组间比较, 均$P<0.05$, 差异均具有统计学意义; USP22蛋白的阳性表达率与肿瘤浸润深度及组织学分级有显著的关系, 而与淋巴结转移、年龄、性别无关; (2)MTA1的阳性表达率: 食管鳞癌组织61.36%, 癌旁组织31.82%, 正常组织6.82%, 两两组间比较, 均$P<0.05$, 差异均具有统计学意义; MTA1蛋白的阳性表达率与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级有显著的关系, 而与年龄、性别无关; (3)Ki-67的阳性表达率: 食管鳞癌组织70.45%, 癌旁组织43.18%, 正常组织11.36%, 两两组间比较, 均$P<0.05$, 差异均具有统计学意义; Ki-67蛋白的阳性表达率与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级有显著的关系, 而与年龄、性别无关; (4)USP22蛋白的表达与MTA1蛋白的表达呈正相关; USP22蛋白的表达与Ki-67蛋白的表达呈正相关; MTA1蛋白的表达与Ki-67蛋白的表达无相关性.

结论: USP22、MTA1及Ki-67参与食管癌的发生发展、浸润转移, 三者联合检测将有助于食管癌的诊断, 可更准确地判断食管癌的生物学行为, 并有望成为食管癌基因治疗的新靶点.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管鳞癌; USP22; MTA1; Ki-67

核心提示: 泛素特异性肽酶22(ubiquitin specific peptidase 22, USP22)、转移相关基因1(metastasis associated gene 1, MTA1)及Ki-67共同参与食管癌的发生发展、浸润转移, USP22与MTA1及Ki-67在肿瘤的形成中有一定程度的协同作用, 三者可作为食管癌潜在的分子标记物, 联合检测可以更准确地判断食管癌的生物学行为, 对食管癌患者的早期诊断及分子靶向治疗具有推动作用.

郑文凤, 李颖霞, 陈奎生, 温洪涛. USP22、MTA1及Ki-67蛋白在食管鳞癌中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2915-2921 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2915

0 引言

食管癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 在某些地区位于发病率和死亡率的首位[1,2]. 多种基因共同参与食管癌的发生发展、浸润转移. 泛素特异性肽酶22(ubiquitin specific peptidase 22, *USP22*), 定位于人17号染色体上, 由14个外显子组成, 编码525个氨基酸(分子量约60 kDa), 包括半胱氨酸、天冬氨酸、组氨酸、冬氨酸/天冬酰胺, 以及泛素特异性加工酶(ubiquitin-specific processing proteases, UBP)家族去泛素酶的高度保守区域等. USP22具有一个氨基末端的锌指基序, 是介导USP22分子与底物靶蛋白相互作用的结构基础[3]. 去泛素酶在调节蛋白酶体活性、转录调控及肿瘤形成等方面具有重要作用[4]. USP22表达于早期胚胎和成人多种组织, 适度表达于心脏和骨骼肌, 但弱表达于肺和肝脏[5]. 研究发现, USP22参与胚胎发育、调节细胞周期及端粒动态平衡等, 从而参与肿瘤的发生、发展[5-7]. 转移相关基因1(metastasis associated gene 1, *MTA1*)是Pencil等[8]利用相差杂交技术从鼠乳腺癌细胞13762NF中分离出的, 因与肿瘤转移能力呈正相关, 被命名为MTA1. 应用荧光原位杂交技术发现人*MTA1*基因位于14号染色体[9], *MTA1*是通过其蛋白参与信号转导, 直接或间接地作用于某些促进肿瘤浸润、转移的基因, 上调其转录[10]. 细胞增殖核抗原(nuclear associated antigen, Ki-67)是一种核抗原, 1983年由Scholzen等[11]研究Hodgkin淋巴瘤L428细胞系时发现, *Ki-67*基因位于10号染色体上. Ki-67可以较好地反映细胞的增殖活性, Ki-67蛋白的表达与恶性肿瘤的发展、转移及预后有关[12]. 肿瘤的发生发展、浸润、转移是多步骤, 多阶段的, 涉及多种基因及其产物的表达. 目前, 在食管癌中联合检测USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达尚未见报道, 本研究采用免疫组织化学方法检测USP22、MTA1及Ki-67在食管癌中的表达情况及相互之间的关系, 可能为食管癌患者的早期诊断、分子靶向治疗等带来新的前景.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2011-12于我院手术切除

表 1 3种组织中USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达

分组	n	USP22蛋白				MTA1蛋白				Ki-67蛋白			
		−	+	(%)	P值	−	+	(%)	P值	−	+	(%)	P值
正常组织	44	37	7	15.91	<0.05	41	3	6.82	<0.05	39	5	11.36	<0.05
癌旁组织	44	28	16	36.36		30	14	31.82		25	19	43.18	
食管鳞癌	44	14	30	68.18		17	27	61.36		13	31	70.45	

USP22: 泛素特异性肽酶22; MTA1: 转移相关基因1; Ki-67: 细胞增殖核抗原.

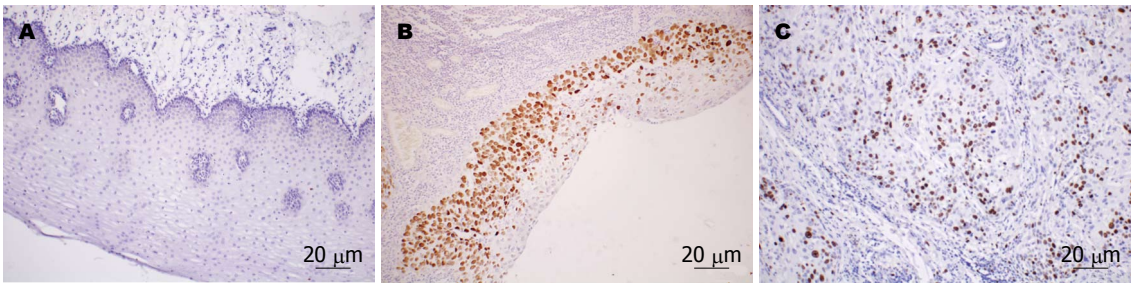


图 1 3种组织中USP22蛋白的表达. A: USP22在正常组织中的阴性表达(SP × 200); B: USP22在癌旁组织中的阳性表达(SP × 200); C: USP22在食管鳞癌中的强阳性表达(SP × 200).

44例患者的食管癌, 癌旁(距离癌床组织边缘3 cm以内)及正常组织(自手术切缘或癌组织边缘3 cm以外), 上述患者手术之前均未进行放化疗, 靶向治疗及中药等相关治疗, 术后均被病理所证实. 其中男27例, 女17例, 年龄45-82岁, 年龄分层: ≤60岁的22例, >60岁的22例; 组织学分级: 高及高中分化(Ⅰ/Ⅰ-Ⅱ级)15例, 中分化(Ⅱ级)15例, 低及中低分化(Ⅲ/Ⅱ-Ⅲ)14例; 局部淋巴结转移: 无转移19例, 有转移25例; 浸润深度: 浸润全层(突破肌层至外膜)23例, 未浸润全层(未突破肌层)21例. 兔抗人USP22多克隆抗体购于英国Abcam公司, 兔抗人MTA1多克隆抗体购于武汉博士德生物工程有限公司, 兔抗人Ki-67多克隆抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司, SP免疫组织化学染色系列试剂均购于北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法 采用SP免疫组织化学染色法进行试验, 所有试验操作步骤均按各自说明书严格进行, 用已知的阳性乳腺癌切片作为阳性对照, 用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照.

USP22及MTA1的结果判定: 阳性细胞总数量≤25%为1分, 26-50%为2分, 51-75%为3分, >75%为4分. 染色强度, 无色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分. 根据上述两项指标评分乘积进行分级: 0分为阴性(-), 1-2分为弱阳性(+), 3-4分为阳性(++), 大于4分为强阳性(+++). 统计学处理时将分级≥1分归为阳性, 记为“+”.

Ki-67的结果判定: 采用相对定量法: 对每张切片随机选取5个高倍镜视野, 每个视野计数200个细胞, 计算阳性细胞占镜下细胞的百分比. 阳性细胞比率<10%为(-), 10%-25%为(+), 26%-50%为(++), >50%为(+++). 统计学处理时将阳性细胞数≥10%归为阳性, 记为“+”.

统计学处理 应用SPSSl7.0统计软件进行分析, 各组之间率的比较采用χ^2检验, 相关分析采用Spearman检验, 检验水准α = 0. 05. P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 正常组织、癌旁组织、食管鳞癌组织中USP22、MTA1及Ki-67的表达 USP22蛋白主要表达于细胞核, 呈棕黄色颗粒; MTA1蛋白阳性染色定位于细胞质和细胞核, 以细胞核为主, 呈棕黄色颗粒; Ki-67蛋白主要在细胞核表达, 部分细胞胞浆也呈阳性反应, 呈棕黄色颗粒(图1-3, 表1).

2.2 USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达与食管鳞癌临床病理参数之间的关系 由表2可知, USP22的表达与肿瘤浸润深度、组织学分级有关, 而与淋巴结转移、年龄及性别无关; MTA1及Ki-67蛋白的表达与淋巴结转移、肿瘤浸润深度、组

■相关报道
Ki-67、MTA1蛋白的高表达与肿瘤的分化程度、浸润转移有关, USP22蛋白的高表达与肿瘤的分化程度、浸润深度有关, 与淋巴结转移无关. 在食管癌中USP22、MTA1及Ki-67蛋白表达的相关性未见报道.

■创新盘点
本文首次探讨了USP22、MTA1及Ki-67在食管癌中表达的相关关系，提示在食管癌中MTA1表达的上调激活了USP22基因，使USP22蛋白高表达；USP22和Ki-67相互作用，共同促进细胞增殖，加速肿瘤形成.

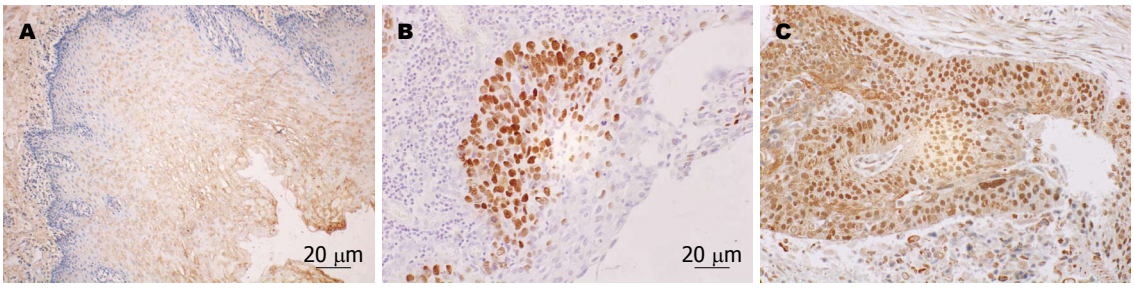


图 2 3种组织中MTA1蛋白的表达. A: MTA1在正常组织中的阴性表达(SP × 200); B: MTA1在癌旁组织中的阳性表达(SP × 400); C: MTA1在食管鳞癌组织中的强阳性表达(SP × 400).

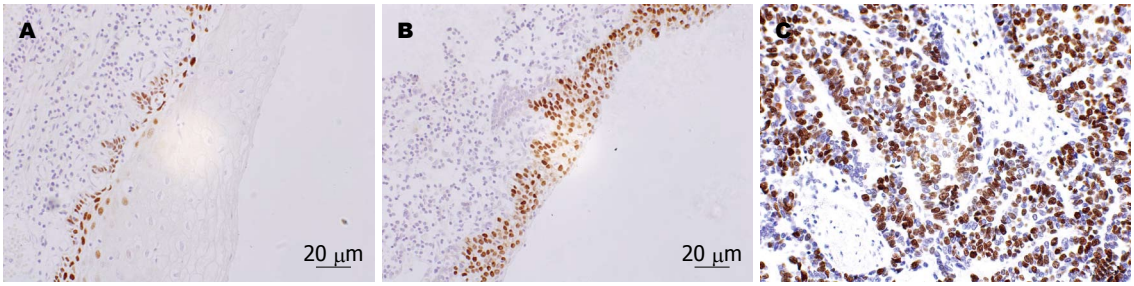


图 3 3种组织中Ki-67蛋白的表达. A: Ki-67在正常组织中的阴性表达(SP × 400); B: Ki-67在癌旁组织中的阳性表达(SP × 400); C: Ki-67在食管鳞癌中的强阳性表达(SP × 400).

表 2 USP22、MTA1及Ki-67蛋白的表达与食管鳞癌临床病理参数之间的关系

分组	*n*	USP22蛋白				MTA1蛋白				Ki-67蛋白			
		−	+	(%)	*P*值	−	+	(%)	*P*值	−	+	(%)	*P*值
年龄					0.517				0.353				0.741
≤60	22	8	14	63.64		10	12	54.55		7	15	68.18	
>60	22	6	16	72.73		7	15	68.18		6	16	72.73	
性别					0.786				0.718				0.488
男	27	9	18	66.67		11	16	59.26		9	18	66.67	
女	17	5	12	70.59		6	11	64.71		4	13	76.47	
淋巴结转移					0.181				0.004				0.024
无	19	4	15	78.95		12	7	36.84		9	10	52.63	
有	25	10	15	60.00		5	20	80.00		4	21	84.00	
肿瘤浸润深度					0.005				0.016				0.012
浸润全层	23	3	20	86.96		5	18	78.26		3	20	86.96	
未浸润全层	21	11	10	47.62		12	9	42.86		10	11	52.38	
组织学分级					0.019				0.013				0.043
I/I−II级	15	13	2	13.33		10	5	33.33		8	7	46.67	
II级	15	9	6	40.00		5	10	66.67		3	12	80.00	
III/II−III级	14	5	9	64.29[a]		2	12	85.71[a]		2	12	85.71[a]	

[a]*P*<0.05 *vs* I/I−II级组; USP22: 泛素特异性肽酶22; MTA1: 转移相关基因1; Ki-67: 细胞增殖核抗原.

织学分级有关，而与年龄、性别无关.

2.3 食管鳞癌组织中USP22、MTA1及Ki-67蛋白表达的相关性 食管鳞癌组织中USP22与MTA1蛋白，USP22与Ki-67蛋白表达均呈正相关，*P*<0.05；MTA1与Ki-67蛋白表达无相关性，*P*>0.05(表3).

3 讨论

食管癌的发生发展是一个由多种因素参与调控的过程，有多种基因参与肿瘤细胞的增殖、分化及凋亡. 自2008年以来，国际权威杂志不断发表有关USP22的研究文章，报道USP22与人转录复合物SAGA(human Spt-Ada-Gcn5-acet-

表 3 USP22、MTA1及Ki-67蛋白表达的相关性分析

USP22	MTA1		总计	USP22	Ki-67		总计	MTA1	Ki-67		总计
	−	+			−	+			−	+	
−	12	2	14		9	5	14		5	12	17
+	5	25	30		4	26	30		8	19	27
总计	17	27	44		13	31	44		13	31	44
*P*值	0.017				0.002				0.988		
*r*值	0.320				0.520						

USP22: 泛素特异性肽酶22; MTA1: 转移相关基因1; Ki-67: 细胞增殖核抗原.

■应用要点

本研究发现, USP22与食管癌浸润深度、肿瘤分化程度有关, MTA1及Ki-67与食管癌浸润深度、肿瘤分化程度、淋巴结转移有关; USP22与MTA1、Ki-67表达呈正相关; 联合使用免疫组织化学进行检测, 可考虑作为食管癌早期诊断及评价肿瘤生物学行为的重要指标.

yltransferase)的亚单位结合, 促使SAGA乙酰化染色体上的组蛋白(H2A、H2B), 激活基因的转录, 促进细胞由G_1/S、G_2/M期过渡, 促使肿瘤发生、发展及转移[13]. USP22促进多种肿瘤细胞增殖[14-16]. Lv等[17]通过沉默*USP22*基因, 下调了USP22的表达, 使细胞停留在G_1期, 抑制了膀胱癌细胞的增殖. 降低*USP22*基因的表达水平, 可抑制胃癌AGS细胞增殖, 阻滞细胞周期[18]. USP22异常高表达使肿瘤细胞增殖调控受到影响, 从而导致肿瘤异常增殖[19]. 本实验结果提示, USP22在正常组织、癌旁组织及食管癌组织中阳性表达率逐渐增加, 差异有显著的统计学意义, 并且与食管癌浸润深度、肿瘤分化程度有关, 与淋巴结转移无关. 本实验检测结果Ⅲ/Ⅱ-Ⅲ级组USP22的表达率高于Ⅰ/Ⅰ-Ⅱ级组, 差异有统计学意义($\chi^2 = 7.985$, $P = 0.005$), 而Ⅰ/Ⅰ-Ⅱ级组与Ⅱ级组、Ⅱ级组与Ⅲ/Ⅱ-Ⅲ级组间USP22蛋白阳性表达率差异无统计学意义, 可能是由于每组样本量不足的原因, 还需要我们更进一步的探究. 本实验研究提示USP22蛋白的高表达是食管癌发生的机制之一.

核糖体是染色质的结构单位, MTA1被认为是核小体重构及组蛋白脱乙酰基酶复合物的一个亚单位[20]. 乙酰化可以减少基因组DNA与组蛋白的结合, 使染色质结构松散, 有利于DNA的转录. Hofer等[21]研究发现MTA1可以改变细胞内角蛋白丝系统的装配及细胞骨架蛋白的定位, 细胞获得具有转移性和侵袭性的表面粘附分子, 通过相关信号转导, 调控一系列与肿瘤浸润、转移有关蛋白的表达, 使细胞之间粘附力下降, 增加细胞的侵袭及转移能力. 而具体分子机制目前尚未清楚, 还有待于医学界的同胞们进一步探究. 有研究报道, MTA1 mRNA相对量及MTA1蛋白的表达在胃癌组织中显著高于正常胃粘膜组织, 而伴有淋巴结转移的胃癌中MTA1 mRNA的相对量表达明显高于不伴有淋巴结转移的胃癌组织[22]. 在多种恶性肿瘤组织中MTA1过表达与肿瘤的浸润转移密切相关[23,24]. 在胃肠癌和食管癌中, MTA1的过表达与癌浸润的深度、淋巴转移等恶性表型显著相关[25]. 我们实验结果表明MTA1蛋白在食管癌组织中呈高表达, 显著高于癌旁组织及正常组织, 差异有统计学意义, MTA1蛋白的表达与性别、年龄无关, 与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级呈显著相关性. 由此可知, *MTA1*基因的异常高表达, 促使肿瘤细胞的浸润及转移.

目前大多数学者认为, 细胞持续增长时, 容易形成肿瘤. Ki-67蛋白是一种与细胞增殖特异性相关的核抗原, G_1期开始表达, G_2/M期表达最强, M期后递减, G_0期不表达[26-28]. 多数研究表明, Ki-67表达能可靠而迅速地反映恶性肿瘤增殖率[29,30]. 本实验研究结果表明, Ki-67在食管癌中高表达, 与癌旁组织及正常组织间的差异有统计学意义, 以胞核染色为主, 阳性细胞主要为基底细胞, 这种现象提示Ki-67与细胞增殖有关. Ki-67蛋白的表达与淋巴结转移、肿瘤浸润深度及组织学分级有关, 而与性别和年龄无关, 与Czyzewska等[31]研究一致. 因此, Ki-67反映细胞的增殖状态, 与细胞增殖的维持相关. Ki-67表达的高低对评价肿瘤细胞的增殖状态、研究肿瘤的生物学行为具有重要意义.

本研究发现USP22与MTA1、Ki-67蛋白的表达均呈正相关, 而MTA1与Ki-67蛋白的表达无相关性. 可能提示在食管癌中MTA1表达的上调激活了*USP22*基因, 使USP22蛋白高表达. 有关研究报道, USP22在乳腺癌中高表达, 其表达与肿瘤细胞增殖的标志Ki-67表达呈正相关[32]. USP22和Ki-67两者可能相互作用, 共同促进细胞增殖. 在本实验结果中, MTA1与Ki-67蛋白的表达无相关性($P = 0.988$), 需进一步实验探讨两

■同行评价
本文探讨USP22、MTA1及Ki-67蛋白在人食管鳞癌组织中的表达、与肿瘤生物学行为的关系及他们三者之间的相关性, 立题较新颖.

者之间有无相互作用. 在食管癌的发生发展中, USP22、MTA1及Ki-67可作为食管癌潜在的分子标记物, 对食管癌患者的早期诊断及分子靶向治疗具有推动作用, 联合检测可以更准确地判断食管癌的生物学行为, 指导临床工作.

4 参考文献

1 Yu R, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene: an update. *Front Horm Res* 2004; 32: 175-185 [PMID: 15281346]
2 Chen L, Puri R, Lefkowitz EJ, Kakar SS. Identification of the human pituitary tumor transforming gene (hPTTG) family: molecular structure, expression, and chromosomal localization. *Gene* 2000; 248: 41-50 [PMID: 10806349]
3 Zhao Y, Lang G, Ito S, Bonnet J, Metzger E, Sawatsubashi S, Suzuki E, Le Guezennec X, Stunnenberg HG, Krasnov A, Georgieva SG, Schüle R, Takeyama K, Kato S, Tora L, Devys D. A TFTC/STAGA module mediates histone H2A and H2B deubiquitination, coactivates nuclear receptors, and counteracts heterochromatin silencing. *Mol Cell* 2008; 29: 92-101 [PMID: 18206972 DOI: 10.1016./j.molcel.2007.12.011]
4 Shabek N, Ciechanover A. Degradation of ubiquitin: the fate of the cellular reaper. *Cell Cycle* 2010; 9: 523-530 [PMID: 20107325]
5 Lee HJ, Kim MS, Shin JM, Park TJ, Chung HM, Baek KH. The expression patterns of deubiquitinating enzymes, USP22 and Usp22. *Gene Expr Patterns* 2006; 6: 277-284 [PMID: 16378762]
6 Zhang XY, Varthi M, Sykes SM, Phillips C, Warzecha C, Zhu W, Wyce A, Thorne AW, Berger SL, McMahon SB. The putative cancer stem cell marker USP22 is a subunit of the human SAGA complex required for activated transcription and cell-cycle progression. *Mol Cell* 2008; 29: 102-111 [PMID: 18206973 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.12.015]
7 Atanassov BS, Evrard YA, Multani AS, Zhang Z, Tora L, Devys D, Chang S, Dent SY. Gcn5 and SAGA regulate shelterin protein turnover and telomere maintenance. *Mol Cell* 2009; 35: 352-364 [PMID: 19683498 DOI: 10.1016/j.molcel.2009.06.015]
8 Pencil SD, Toh Y, Nicolson GL. Candidate metastasis-associated genes of the rat 13762NF mammary adenocarcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 25: 165-174 [PMID: 8347848 DOI: 10.1007/BF00662141]
9 Cui Q, Takiguchi S, Matsusue K, Toh Y, Yoshida MA. Assignment of the human metastasis-associated gene 1 (MTA1) to human chromosome band 14q32.3 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 93: 139-140 [PMID: 11474200 DOI: 10.1159/000056969]
10 李斌, 陈武科, 陈鹏, 廖和和. 乳腺癌中MTA1、MMP-9 mRNA表达与临床病 理研究. 现代肿瘤医学 2009; 17: 1867-1871
11 Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-322 [PMID: 10653597]
12 蔡敏, 孔香云, 王研, 刘志艳, 周志强, 马榕, 张庆慧. 乳腺分叶状肿瘤EGFR、Ki-67的表达和意义. 中国现代普通外科进展 2007; 10: 247-250
13 Zhang XY, Pfeiffer HK, Thorne AW, McMahon SB. USP22, an hSAGA subunit and potential cancer stem cell marker, reverses the polycomb-catalyzed ubiquitylation of histone H2A. *Cell Cycle* 2008; 7: 1522-1524 [PMID: 18469533]
14 Liu YL, Yang YM, Xu H, Dong XS. Aberrant expression of USP22 is associated with liver metastasis and poor prognosis of colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2011; 103: 283-289 [PMID: 21337558 DOI: 10.1002/jso.21802]
15 熊建军, 干丽君, 林玲, 龚帧, 吴周环, 李卫东. 泛素特异性水解酶ZZ基因RNA干扰真核表达载体的构建及鉴定. 四川大学学报(医学版) 2011; 42: 166-169
16 Luo Y, Zeng FQ, Gu ZH, Wang L, Wang ZY, Jiang GS, Xiao XY. Quantitative analysis of the putative cancer stem cell marker USP22 mRNA in the transitional cell carcinoma of the bladder and the relationship between USP22 and the grading of tumor. *J Clin Urol* 2009; 24: 140-144[DOI: 10.3969/j.issn.1001-1420.2009.02.022]
17 Lv L, Xiao XY, Gu ZH, Zeng FQ, Huang LQ, Jiang GS. Silencing USP22 by asymmetric structure of interfering RNA inhibits proliferation and induces cell cycle arrest in bladder cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2011; 346: 11-21 [PMID: 20824490 DOI: 10.1007/s11010-010-0585-4]
18 邓美洲, 陶凯雄, 王国斌, 刘兴华. SiRNA沉默USP22基因对胃癌细胞增殖的抑制作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1985-1989
19 邓美洲, 陶开雄, 王国斌, 刘兴华. 泛素特异性肽酶22在胃癌中的表达及其临床意义. 腹部外科 2011; 24: 302-303
20 Xue Y, Wong J, Moreno GT, Young MK, Côté J, Wang W. NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell* 1998; 2: 851-861 [PMID: 9885572]
21 Hofer MD, Menke A, Genze F, Gierschik P, Giehl K. Expression of MTA1 promotes motility and invasiveness of PANC-1 pancreatic carcinoma cells. *Br J Cancer* 2004; 90: 455-462 [PMID: 14735193]
22 刘海, 胡俊波, 王志强, 卫子然. MTA1基因表达与人胃癌的浸润和转移. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3317-3320
23 Sasaki H, Moriyama S, Nakashima Y, Kobayashi Y, Yukiue H, Kaji M, Fukai I, Kiriyama M, Yamakawa Y, Fujii Y. Expression of the MTA1 mRNA in advanced lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 35: 149-154 [PMID: 11804687]
24 Hofer MD, Kuefer R, Varambally S, Li H, Ma J, Shapiro GI, Gschwend JE, Hautmann RE, Sanda MG, Giehl K, Menke A, Chinnaiyan AM, Rubin MA. The role of metastasis-associated protein 1 in prostate cancer progression. *Cancer Res* 2004; 64: 825-829 [PMID: 14871807]
25 Toh Y, Ohga T, Endo K, Adachi E, Kusumoto H, Haraguchi M, Okamura T, Nicolson GL. Expression of the metastasis-associated MTA1 protein and its relationship to deacetylation of the histone H4 in esophageal squamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 2004; 110: 362-367 [PMID: 15095300]
26 Nicolini A, Carpi A, Tarro G. Biomolecular markers of breast cancer. *Front Biosci* 2006; 11: 1818-1843 [PMID: 16368559]
27 樊素珍, 苑中甫. 宫颈癌组织中Annexin A2和Ki-67蛋白的表达. 郑州大学学报(医学版) 2010; 45: 81-84
28 南燕, 李红雨, 许雅娟. 宫颈癌组织中TSPAN-1与Ki-67蛋白的表达. 郑州大学学报(医学版) 2010; 45: 469-471
29 Mullerat J, Deroide F, Winslet MC, Perrett CW. Pro-

liferation and p53 expression in anal cancer precursor lesions. *Anticancer Res* 2003; 23: 2995-2999 [PMID: 12926152]
30 Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Ide C, Coche E, Weynand B, Desuter G, Hamoir M, Remacle M, Marbaix E. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations. *Head Neck* 2003; 25: 280-288 [PMID: 12658732]
31 Czyzewska J, Guzińska-Ustymowicz K, Lebelt A, Zalewski B, Kemona A. Evaluation of proliferating markers Ki-67, PCNA in gastric cancers. *Rocz Akad Med Bialymst* 2004; 49 Suppl 1: 64-66 [PMID: 15638377]
32 Zhang Y, Yao L, Zhang X, Ji H, Wang L, Sun S, Pang D. Elevated expression of USP22 in correlation with poor prognosis in patients with invasive breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1245-1253 [PMID: 21691749 DOI: 10.1007/s00432-011-0998-9]

编辑 郭鹏 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10月8日; 21(28): 2922-2928
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

p53异构体与胃癌发生发展的相关性及其机制

张红梅, 张小茜, 仲 华, 张 娜, 李 蕾, 季万胜

■背景资料
*p53*基因是迄今为止与人类肿瘤相关性最高的基因, 被认为一种抑癌基因, 但研究表明中国胃癌p53的突变率仅为30.6%提示部分胃癌的发生并没有伴随着p53的高突变率.

张红梅, 张小茜, 仲华, 李蕾, 季万胜, 潍坊医学院附属医院消化内科 山东省潍坊市 261031
张娜, 潍坊医学院 山东省潍坊市 261053
张红梅, 副主任医师, 主要从事胃癌及癌前疾病的研究.
山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目, No. BS2010SW034
作者贡献分布: 本课题由季万胜与张红梅设计; 研究过程由张红梅、张小茜、仲华、张娜、李蕾及季万胜共同完成; 数据分析由张红梅与张娜完成; 本论文写作由张红梅与张小茜完成.
通讯作者: 季万胜, 副教授, 261031, 山东省潍坊市奎文区465号, 潍坊医学院附属医院消化内科. jiwsh@wfmc.edu.cn
电话: 0536-8068912
收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-08-28
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Relevance of p53 isoforms in genesis and progression of gastric cancer

Hong-Mei Zhang, Xiao-Qian Zhang, Hua Zhong, Na Zhang, Lei Li, Wan-Sheng Ji

Hong-Mei Zhang, Xiao-Qian Zhang, Hua Zhong, Lei Li, Wan-Sheng Ji, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261031, Shandong Province, China
Na Zhang, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China
Correspondence to: Wan-Sheng Ji, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, 456 Kuiwen District, Weifang 261031, Shandong Province, China. jiwsh@wfmc.edu.cn
Received: 2013-07-03 Revised: 2013-08-28
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the relevance of p53 isoforms in the genesis and development of gastric cancer and to explore possible mechanisms involved.

METHODS: Ninety specimens of gastric cancer, atrophic gastritis and normal gastric mucosa were gathered. The expression of p53 splice variants (p53β, Δ133p53), PTEN, Bax, and p21waf1/cip1 in the above specimens was detected by nested reverse transcription-polymerase chain reaction (NT-PCR) and immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rate of p53β expression was significantly lower in gastric cancer and atrophic gastritis than in normal gastric mucosa (26.7%, 33.3% *vs* 70.0%, both $P < 0.01$). The positive rate of Δ133p53 expression was 70.0% in gastric cancer, 50.0% in atrophic gastritis, and 23.3% in normal gastric mucosa, which was significantly higher in gastric cancer than in normal gastric mucosa ($P < 0.01$). The positive rate of PTEN expression was 53.3% in gastric cancer, 76.7% in atrophic gastritis, and 86.7% in normal gastric mucosa, and the corresponding percentages were 36.7%, 73.3% and 83.3% for Bax, and 46.7%, 50.0% and 86.7% for p21waf1/cip1. The positive rates of PTEN, Bax and p21waf1/cip1 expression were significantly lower in gastric cancer than in normal gastric mucosa (all $P < 0.05$). There were positive correlations between the expression of p53β and PTEN, p53β and Bax, p53β and p21waf1/cip1, and negative correlations between the expression of Δ133p53 and PTEN, Δ133p53 and Bax, Δ133p53 and p21waf1/cip1 in gastric cancer (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Differential expression of p53β and Δ133p53 in gastric cancer may suppress the activity of p53 by regulating Bax, p21waf1/cip1 and PTEN and thereby affect the genesis and development of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: p53 isoforms; p53β; Δ133p53; PTEN; Bax gene; *p21waf1/cip1* gene; gastric cancer

Zhang HM, Zhang XQ, Zhong H, Zhang N, Li L, Ji WS. Relevance of p53 isoforms in genesis and progression of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2922-2928 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2922.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2922

摘要

目的: 探讨p53异构体与胃癌发生、发展中的相关性及其机制.

方法: 收集胃癌、萎缩性胃炎、正常胃黏膜组织各30例, 应用NT-PCR法及免疫组织化学方法检测3组中的p53异构体*p53β*、*Δ133p53*和*PTEN*、*Bax*、*p21waf1/cip1*基因的表达情况, 并进行统计学分析.

■同行评议者
陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

结果: p53β在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为26.7%、33.3%和70.0%, 胃癌组织p53β的表达明显低于正常胃组织(P<0.01); Δ133p53在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为70.0%、50.0%, 23.3%, 胃癌组织Δ133p53的表达明显高于正常胃组织(P<0.01); PTEN在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为53.3%、76.7%、86.7%; Bax在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为36.7%、73.3%、83.3%; p21waf1/cip1在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达率分别为46.7%、50.0%、86.7%, 胃癌组织中PTEN、Bax及p21waf1/cip1的表达均明显低于正常胃组织(P<0.05). p53β和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈正相关关系, 而Δ133p53和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈负相关关系(P<0.05).

结论: p53异构体p53β、Δ133p53在胃癌中的差异性表达, 可能通过调控*Bax*、*p21waf1/cip1*及*PTEN*等下游基因而抑制p53的活性, 对胃癌的发生发展产生了重要作用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: P53异构体; P53β; Δ133p53; 同源丢失性磷酸酶张力蛋白; Bax基因; p21waf1/cip1基因; 胃癌

核心提示: p53异构体p53β、Δ133p53在胃癌中的差异性表达, 通过下调*Bax*、*p21waf1/cip1*及*PTEN*等下游基因的生物学活性, 从而抑制了p53的活性, 对胃癌的发生发展起了重要的作用.

张红梅, 张小茜, 仲华, 张娜, 李蕾, 季万胜. p53异构体与胃癌发生发展的相关性及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2922-2928 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2922.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2922

0 引言

胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率均是世界平均水平的两倍多, 但其病因目前尚不清楚, 人们对胃癌的发病机制始终处于不断的研究探索之中. *p53*基因是迄今为止与人类肿瘤相关性最高的基因, 被认识为一种抑癌基因, 但最近的研究表明, 中国胃癌*p53*的突变率仅为30.6%[1], 提示部分胃癌的发生并没有伴随着*p53*的高突变率. 近几年来研究发现, 不同的*p53*剪接异构体作为一种转录因子可以调节*p53*的转录活性, 进而引发一系列的生物学反应, 对肿瘤的发生、发展发挥重要作用. 探讨*p53*异构体对野生型*p53*基因转录的影响以及对*p53*下游效应基因的影响, 都有可能发现胃癌发生的新机制. 本研究通过检测胃癌、萎缩性胃炎、正常胃组织中的*p53*异构体p53β、Δ133p53和同源丢失性磷酸酶张力蛋白*PTEN*、*Bax*(Bcl-2-associated X protein)、*p21waf1/cip1*基因的表达情况, 探讨*p53*异构体在胃癌发生、发展中的作用及他们之间的相互关系, 为研究胃癌的发生机制进一步提供理论依据.

■研发前沿
近几年来研究发现, 不同的p53剪接异构体作为一种转录因子可以调节p53的转录活性, 进而引发一系列的生物学反应, 对肿瘤的发生、发展发挥重要作用. 探讨p53异构体对野生型*p53*基因转录的影响以及对p53下游效应基因的影响, 都有可能发现胃癌发生的新机制..

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-10-08/2012-08-21就诊于潍坊医学院附属医院的患者90例, 其中胃癌手术切除标本21例, 胃镜下胃癌活检组织标本9例, 胃镜下慢性萎缩性胃炎(cronic atrophic gastratritis, CAG)活检组织标本30例, 胃镜下正常黏膜组织活检标本30例. 男性56例、女性34例, 年龄在23-81岁之间, 平均年龄47.3岁, 中位年龄48岁. 所有标本均经病理学确诊, 入选患者均无长期糖皮质激素及非甾体抗炎药服用史, 标本采集前均未接受任何放化疗.

1.2 方法 采用巢式逆转录多聚酶链反应法检测胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中p53β和Δ133p53的表达情况: 应用UNIQ-10柱式TRIzol总RNA提取试剂盒提取三组胃组织的总RNA. 按照MMLV第一链cDNA合成试剂盒说明书及相关文献操作, 以试剂盒内的Oligo-p(dT)18Primer为随机引物, 以M-MuLV RT酶为逆转录酶进行体外逆转录反应. 对胃组织中p53β、Δ133p53二种*p53*异构体PCR扩增, 引物序列如下: p53β外引物, 正向: 5'-GTC ACT GCC ATG GAG GAG CCG CA-3', 反向: 5-GAC GCA CAC CTA TTG CAA GCA AGG GTT C-3'; p53β内引物, 正向: 5'-ATG GAG GAG CCG CAGTCA GAT-3', 反向: 5'-TTT GAA AGC TGG TCT GGT CCT GA-3'; Δ133p53外引物, 正向: 5'-CTG AGG TGT AGA CGC CAA CTC TCT CTA G-3', 反向: 5'-AGT CAG TCT GAG TCA GGC CCT TCT GTC-3'; Δ133p53内引物, 正向: 5'-GCT AGT GGG TTG CAG GAG GTG CTT ACA C-3', 反向: 5'-CTC ACG CCC ACG GAT CTG A-3'. PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳后, 将凝胶放入Bio-Spectrum AC凝胶成像系统扫描并拍照, 并对电泳结果进行判定. 总RNA提取试剂盒、cDNA合

■相关报道
多项研究发现, 肿瘤组织中p53β经常表达缺失, 而Δ133p53常过表达, 二者在肿瘤的发生发展中起了重要作用, Hofstetter等研究证明Δ133p53可以作为发生p53突变的进展期卵巢癌患者的一项独立预后因子. 近期研究还显示Δ133p53α能够刺激肿瘤的血管形成和进一步发展.

表 1 不同胃组织中p53β、△133p53表达率比较 (n = 30)

	+	−	p53β阳性率(%)	χ^2	P值	+	−	Δ133p53阳性率(%)	χ^2	P值
胃癌	8	22	26.7	11.38	0.001	21	9	70.0	13.13	0.000
慢性萎缩性胃炎	9	21	33.3			15	15	50.0		
正常胃粘膜组织	21	9	70.0			7	23	23.3		

表 2 不同胃组织中PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达率比较 (n = 30)

	PTEN阳性率(%)	χ^2	P值	Bax阳性率(%)	χ^2	P值	p21waf1/cip1阳性率(%)	χ^2	P值
胃癌	53.3	7.937	0.005	36.7	15.808	0.000	46.7	10.800	0.001
慢性萎缩性胃炎	76.7			73.3			50.0		
正常胃粘膜组织	86.7			83.3			86.7		

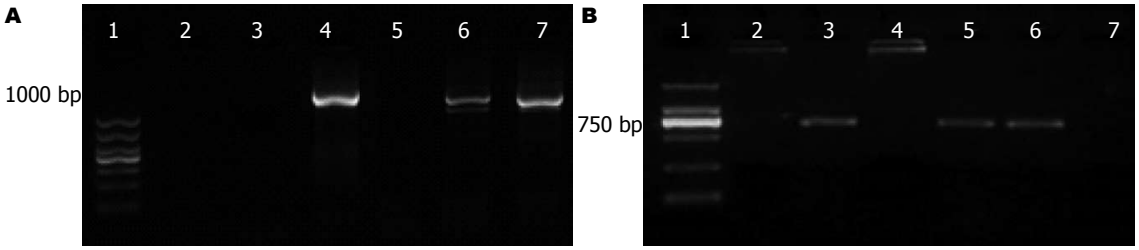


图 1 p53β与Δ133p53的电泳结果. A: p53β, 扩增片段大小为1050 bp; B: Δ133p53, 扩增片段大小为750 bp. 1: DNA Marker; 2, 5: 胃癌组织; 3, 6: 萎缩性胃炎组织; 4, 7: 正常胃黏膜组织.

成试剂盒、PCR扩增试剂盒、引物购自Sangon上海生工, BIO-RAD MyCyder PCR仪购自美国伯乐公司, BioSpectrum AC凝胶成像系统购自美国UVP公司.

采用免疫组织化学PV-9000两步法检测胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中PTEN、Bax及p21waf1/cip1的表达情况: 标本经40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 常规HE染色, 病理确诊, 免疫组织化学步骤按说明书进行. 每张切片随机选择5个视野, 共计数100个细胞, 分别计算3种抗体的阳性细胞百分率. 由两位以上病理医生对免疫组织化学染色进行评价, 分为两级, 阴性; 无染色或染色阳性细胞数占总细胞数≤10%, 阳性; 染色阳性细胞数占总细胞数>10%. 鼠抗人PTEN、Bax和p21waf1/cip1单克隆抗体均购自北京中杉金桥, 以PBS缓冲液代替一抗作阴性对照.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理, 计数资料采用χ^2检验, 数据的相关性采用Spearman秩相关分析, P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 p53β、Δ133p53在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达 p53β在30例胃癌组织中有8例表达, 占26.7%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有9例表达, 占33.3%, 在30例正常胃组织中有21例表达, 占70.0%, 胃癌组织p53β的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义(P<0.01). Δ133p53在30例胃癌组织中有21例表达, 占70.0%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有15例表达, 占50.0%, 在30例正常胃组织中有7例表达, 占23.3%, 胃癌组织Δ133p53的表达明显高于正常胃组织, 差异有统计学意义(P<0.01)(表1, 图1).

2.2 PTEN、Bax及p21waf1/cip1在胃癌、慢性萎缩性胃炎及正常胃黏膜组织中的表达 PTEN在30例胃癌组织中有16例表达, 占53.3%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有23例表达, 占76.7%, 在30例正常胃组织中有26例表达, 占86.7%, 胃癌组织PTEN的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义(P<0.01). Bax在30例胃癌组织中有11例表达, 占36.7%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有22例表达, 占73.3%, 在30例正常胃组织中有25例表达, 占83.3%, 胃癌组织Bax的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义(P<0.05). p21waf1/cip1在30例胃癌组织中有14例表达, 占46.7%, 在30例慢性萎缩性胃炎中有15例表达, 占50.0%, 在30例正常胃组织中有26例表达, 占

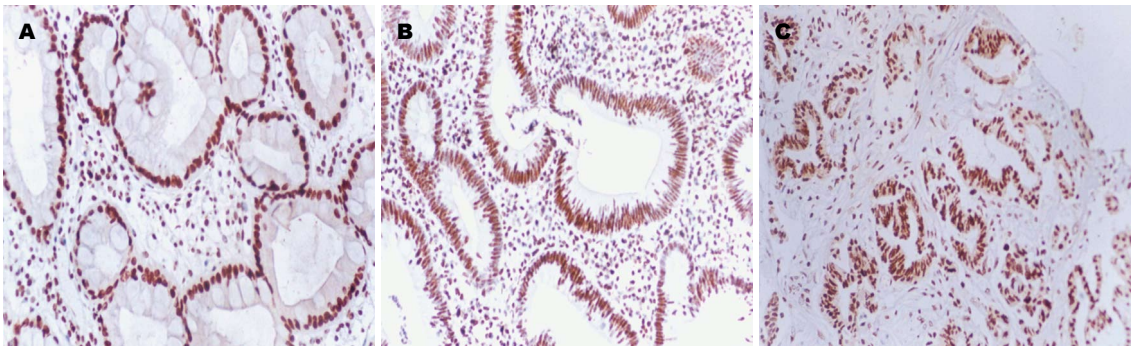


图 2 PTEN在不同胃组织中的表达(SABC法 × 100). A: PTEN在正常胃黏膜中阳性表达; B: PTEN在萎缩性胃炎中阳性表达; C: PTEN在胃癌组织阳性表达.

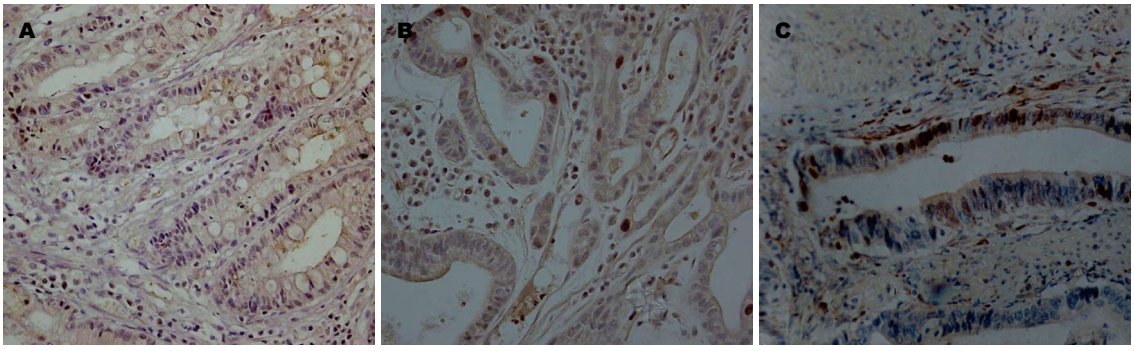


图 3 Bax在不同胃组织中的表达(SABC法 × 100). A: Bax在正常胃黏膜中弱阳性表达; B: Bax在萎缩性胃炎中阳性表达; C: Bax在胃癌组织中阳性表达.

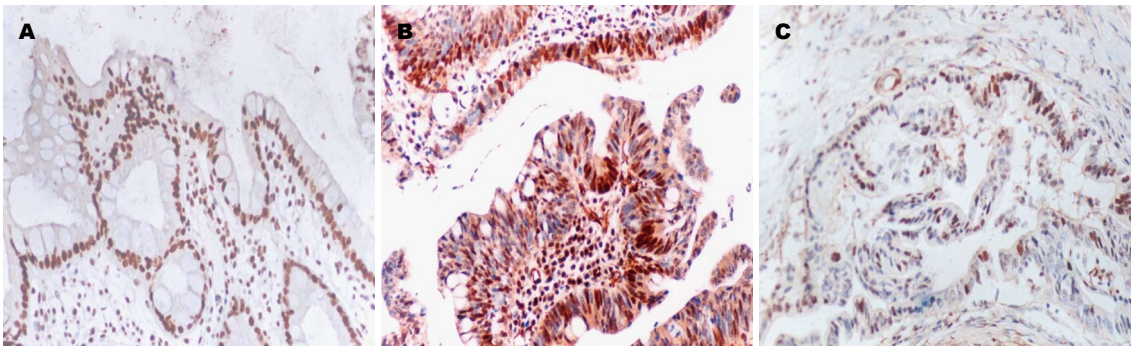


图 4 p21waf1/cip1在不同胃组织中的表达(SABC法 × 100). A: p21waf1/cip1在正常胃黏膜中阳性表达; B: p21waf1/cip1在萎缩性胃炎中阳性表达; C: p21waf1/cip1在胃癌组织中阳性表达.

86.7%, 胃癌组织p21waf1/cip1的表达明显低于正常胃组织, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2, 图2-4).

2.3 p53β、Δ133p53和PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达的相关性分析 Spearman秩相关分析显示, p53β和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈正相关关系(r = 0.413, P = 0.023、r = 0.480, P = 0.007、r = 0.494, P = 0.006); Δ133p53和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈负相关关系(r = -0.467, P = 0.009、r = -0.408, P = 0.025、r = -0.554, P = 0.001)(表3, 4).

3 讨论

*p53*基因是到目前为止在人类肿瘤的成因中占有重要作用的基因之一, *p53*在调节细胞的生长发育周期、DNA的损伤后修复、细胞的凋亡死亡等各个方面起着至关重要的作用[2-4]. *p53*剪接异构体是指*p53* mRNA前体通过选择不同的剪接位点组合产生不同的mRNA剪接变异体, 进而表达多种具有不同生物学功能的蛋白质[5]. 目前已发现*p53*至少存在12种不同的剪接异构体[6,7]. *p53*剪接异构体能够在人类多种不同类型的肿瘤组织中表达, 他的表达可能和很多肿瘤的发

■创新盘点
不同的p53剪接异构体作为一种转录因子可以调节p[illegible]转录活性, 进而引发一系列的生物学反应, 对肿瘤的发生、发展发挥重要作用. 探讨p53异构体对野生型*p53*基因转录的影响以及对p53下游效应基因的影响, 都有可能发现胃癌发生的新机制.

■应用要点
本研究通过检测胃癌、萎缩性胃炎、正常胃组织中的p53异构体p53β、Δ133p53和同源丢失性磷酸酶张力蛋白PTEN、Bax、p21waf1/cip1基因的表达情况, 探讨p53异构体在胃癌发生、发展中的作用及他们之间的相互关系, 为研究胃癌的发生机制进一步提供理论依据.

表 3 胃癌组织中p53β与PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达的相关性分析 (*n*)

p53β	*n*	PTEN		*r*	*P*值	Bax		*r*	*P*值	p21waf1/cip1		*r*	*P*值
		+	−			+	−			+	−		
+	8	7	1	0.413	0.023	6	2	0.480	0.007	7	1	0.494	0.006
−	22	9	13			5	17			7	15		

表 4 胃癌组织中Δ133p53与PTEN、Bax、p21waf1/cip1表达的相关性分析

Δ133p53	*n*	PTEN		*r*	*P*值	Bax		*r*	*P*值	p21waf1/cip1		*r*	*P*值
		+	−			+	−			+	−		
+	21	8	13	−0.467	0.009	5	16	−0.408	0.025	6	15	−0.554	0.001
−	9	8	1			6	3			8	1		

生、发展密切相关[8-12]. 近年来有关*p53*剪接异构体和人类肿瘤关系的研究不断增多, 但是关于各个异构体的生物学功能、异构体之间的联系以及他们与野生型*p53*之间的作用机制目前尚不完全清楚. 孙华银等[13]应用*p53*缺失型1299细胞和Δ133p53 1299细胞为模型, 发现Δ133p53在内质网应激条件下, 促进了内质网应激诱导的细胞凋亡, 提示Δ133p53保留了p53促进细胞凋亡的功能. 多项研究发现, 肿瘤组织中p53β经常表达缺失, 而Δ133p53常过表达, 二者在肿瘤的发生发展中起了重要作用[14-16]. Hofstetter等[17]研究证明Δ133p53可以作为发生p53突变的进展期卵巢癌患者的一项独立预后因子. 近期研究还显示Δ133p53α能够刺激肿瘤的血管形成和进一步发展[12]. 研究发现, p53β在肾癌组织中过表达, 且p53β mRNA水平与肿瘤的分期密切相关[18]. 另外, p53β的表达水平还与卵巢癌的分化程度相关, 其表达预示着更差的无瘤生存[19]. 已经有报道证实, 在头颈部鳞癌中存在着频繁的p53β缺失[20]. Anensen等[21]的研究结果表明p53β是*p53*肿瘤抑制活性的调节因子, 能够增强*p53*的转录活性, 进一步转录激活某些凋亡基因, 以此来调节细胞命运的转归. 本研究发现, 在胃癌组织中Δ133p53 mRNA水平较正常胃黏膜组织明显升高, 并在正常胃组织、萎缩性胃炎、胃癌3组中呈上升趋势, 而p53β mRNA水平的变化却完全相反, 这表明p53β和Δ133p53在胃癌的发生、发展中可能发挥了重要作用.

贾海江等[22]研究证实, PTEN蛋白的表达与胃癌浸润深度、有无淋巴结转移相关, 且阳性表达患者的术后5年生存率高于阴性者. 有研究发现, 在*p53*发生突变的肿瘤中, PTEN的表达与患者的生存期相关[23]. Lin等[24]研究发现*p53*突变对神经胶质瘤细胞增殖的调节作用是通过糖原合成酶激酶-3/PTEN信号通路来完成的. 古吉敏等[25]利用免疫组织化学法证实胃癌中*p53*的表达较胃炎组织明显升高, 而PTEN表达下降, 并提示突变型p53蛋白表达升高可能阻碍PTEN蛋白的表达. 欧阳艳红研究[26]发现子宫内膜癌和正常子宫内膜的PTEN蛋白表达缺失率和p53蛋白阳性表达率均有显著性差异. 但孙晓春[27]报道p53和PTEN在胃癌中的表达无明显相关性. *Bax*基因是近年来新发现的一种凋亡促进基因. 吴军等[28]利用免疫组织化学法检测100例胃癌和20例胃炎组织中的Bax表达, 发现胃癌组的Bax阳性表达率明显低于胃炎组. 朱亚杰等[29]研究证实, p21waf1/cip1在胃癌旁组织中的表达明显高于胃癌组织, 且随着肿瘤TNM分期的增高有表达降低的趋势. 黄荣等[30]通过检测胃癌组织中p53和p21waf1/cip1蛋白的表达情况, 发现p53蛋白高表达而p21waf1/cip1呈低表达, 且两者的表达呈负相关. Bourdon等[14]研究表明, p53β优先同*Bax*和*p21waf1/cip1*启动子结合, 而不是*MDM2*启动子, p53β能够通过*Bax*启动子干涉p53的转录活性. Marcel等[4]通过荧光素酶实验研究结果表明, 共转染Δ133p53和FLp53异构体之后, 他们通过作用于*p21waf1/cip1*和*Bax*启动子, 抑制了*p53*的转录表达. 以上研究表明了*p53*基因的生物学功能与PTEN、Bax、p21waf1/cip1有密切的相关性, 但以研究突变型p53为主. 本研究证实, 胃癌组织中*PTEN*、*Bax*及*p21waf1/cip1*基因的表达均明显低于正常胃组织, p53β和PTEN、Bax、p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈正相关关系, 而Δ133p53和PTEN、Bax、

p21waf1/cip1在胃癌中表达均呈负相关关系, 提示可能正是p53异构体的这种差异性表达, 通过下调*Bax*、*p21waf1/cip1*及*PTEN*等下游基因的生物学活性, 从而抑制了p53的活性, 并能参与调节细胞的某些生命过程, 对胃癌的发生发展起了重要的作用.

4 参考文献

1 张良军, 夏黎明. p53基因突变与胃癌关系的研究现状. 中华现代临床学杂志 2008; 6: 491-493
2 Ghosh A, Stewart D, Matlashewski G. Regulation of human p53 activity and cell localization by alternative splicing. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 7987-7997 [PMID: 15340061]
3 Hainaut P, Wiman KG. 30 years and a long way into p53 research. *Lancet Oncol* 2009; 10: 913-919 [PMID: 19717093 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70198-6]
4 Marcel V, Hainaut P. p53 isoforms - a conspiracy to kidnap p53 tumor suppressor activity? *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 391-406 [PMID: 18854945 DOI: 10.1007/s00018-008-8336-3]
5 Marcel V, Dichtel-Danjoy ML, Sagne C, Hafsi H, Ma D, Ortiz-Cuaran S, Olivier M, Hall J, Mollereau B, Hainaut P, Bourdon JC. Biological functions of p53 isoforms through evolution: lessons from animal and cellular models. *Cell Death Differ* 2011; 18: 1815-1824 [PMID: 21941372 DOI: 10.1038/cdd.2011.120]
6 Khoury MP, Bourdon JC. The isoforms of the p53 protein. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a000927 [PMID: 20300206 DOI: 10.1101/cshperspect.a000927]
7 Marcel V, Perrier S, Aoubala M, Ageorges S, Groves MJ, Diot A, Fernandes K, Tauro S, Bourdon JC. Δ160p53 is a novel N-terminal p53 isoform encoded by Δ133p53 transcript. *FEBS Lett* 2010; 584: 4463-4468 [PMID: 20937277 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.10.005.]
8 van den Berg L, Segun AD, Mersch S, Blasberg N, Grinstein E, Wai D, Anlauf M, Gabbert HE, Mahotka C, Heikaus S. Regulation of p53 isoform expression in renal cell carcinoma. *Front Biosci* (Elite Ed) 2010; 2: 1042-1053 [PMID: 20515774]
9 Wei J, Zaika E, Zaika A. p53 Family: Role of Protein Isoforms in Human Cancer. *J Nucleic Acids* 2012; 2012: 687359 [PMID: 22007292 DOI: 10.1155/2012/687359]
10 Bourdon JC. p53 and its isoforms in cancer. *Br J Cancer* 2007; 97: 277–282 [DOI: 10.1038/sj.bjc.6603886]
11 Chambers SK, Martinez JD. The significance of p53 isoform expression in serous ovarian cancer. *Future Oncol* 2012; 8: 683-686 [PMID: 22764765 DOI: 10.2217/fon.12.60]
12 Bernard H, Garmy-Susini B, Ainaoui N, Van Den Berghe L, Peurichard A, Javerzat S, Bikfalvi A, Lane DP, Bourdon JC, Prats AC. The p53 isoform, Δ133p53α, stimulates angiogenesis and tumour progression. *Oncogene* 2013; 32: 2150-2160 [PMID: 22733133 DOI: 10.1038/onc.2012.242]
13 孙华银, 任锋, 刘凯, 江瑛, 石英, 李莉, 刘秀红, 娄金丽, 段钟平, 陈德喜. Δ133p53异构体在内质网应激诱导自噬促进细胞凋亡的机制研究. 北京医学 2011; 33: 953-955
14 Bourdon JC, Fernandes K, Murray-Zmijewski F, Liu G, Diot A, Xirodimas DP, Saville MK, Lane DP. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity. *Genes Dev* 2005; 19: 2122-2137 [PMID: 16131611]
15 Avery-Kiejda KA, Zhang XD, Adams LJ, Scott RJ, Vojtesek B, Lane DP, Hersey P. Small molecular weight variants of p53 are expressed in human melanoma cells and are induced by the DNA-damaging agent cisplatin. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1659-1668 [PMID: 18310316 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1422]
16 Candeias MM, Powell DJ, Roubalova E, Apcher S, Bourougaa K, Vojtesek B, Bruzzoni-Giovanelli H, Fåhraeus R. Expression of p53 and p53/47 are controlled by alternative mechanisms of messenger RNA translation initiation. *Oncogene* 2006; 25: 6936-6947 [PMID: 16983332]
17 Hofstetter G, Berger A, Schuster E, Wolf A, Hager G, Vergote I, Cadron I, Sehouli J, Braicu EI, Mahner S, Speiser P, Marth C, Zeimet AG, Ulmer H, Zeillinger R, Concin N. Δ133p53 is an independent prognostic marker in p53 mutant advanced serous ovarian cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 1593-1599 [PMID: 22009029 DOI: 10.1038/bjc.2011.433]
18 Song W, Huo SW, Lü JJ, Liu Z, Fang XL, Jin XB, Yuan MZ. Expression of p53 isoforms in renal cell carcinoma. *Chin Med J* (Engl) 2009; 122: 921-926 [PMID: 19493415]
19 Hofstetter G, Berger A, Fiegl H, Slade N, Zorić A, Holzer B, Schuster E, Mobus VJ, Reimer D, Daxenbichler G, Marth C, Zeimet AG, Concin N, Zeillinger R. Alternative splicing of p53 and p73: the novel p53 splice variant p53delta is an independent prognostic marker in ovarian cancer. *Oncogene* 2010; 29: 1997-2004 [PMID: 20101229 DOI: 10.1038/onc.2009.482]
20 Boldrup L, Bourdon JC, Coates PJ, Sjöström B, Nylander K. Expression of p53 isoforms in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Eur J Cancer* 2007; 43: 617-623 [PMID: 17215121]
21 Anensen N, Oyan AM, Bourdon JC, Kalland KH, Bruserud O, Gjertsen BT. A distinct p53 protein isoform signature reflects the onset of induction chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3985-3992 [PMID: 16818696]
22 贾海江, 戴林. p53、PCNA和PTEN在胃癌组织中的表达及其临床意义. 国际消化病杂志 2012; 32: 302-305
23 Huang X, Zhang Y, Tang Y, Butler N, Kim J, Guessous F, Schiff D, Mandell J, Abounader R. A Novel PTEN/Mutant p53/c-Myc/Bcl-XL Axis Mediates Context-Dependent Oncogenic Effects of PTEN with Implications for Cancer Prognosis and Therapy. *Neoplasia* 2013; 15: 952-965 [PMID: 23908595]
24 Lin C, Liang Y, Zhu H, Zhang J, Zhong X. R280T mutation of p53 gene promotes proliferation of human glioma cells through GSK-3β/PTEN pathway. *Neurosci Lett* 2012; 529: 60-65 [PMID: 22999923 DOI: 10.1016/j.neulet.2012.09.022]
25 古吉敏, 华平, 简友丽. PTEN及p53蛋白在胃癌中的异常表达及临床意义. 肿瘤预防与治疗 2010; 23: 280-282
26 欧阳艳红. p53和PTEN在子宫内膜癌的表达及其意义. 西南军医 2010; 12: 421-422
27 孙晓春, 孙镇江, 吴乐乐, 谢岩, 朱伟. p53、PTEN和VEGF在胃癌组织中的表达及意义. 山东医药 2012; 52: 18-20
28 吴军, 张志广, 李熳, 卢向东, 闻淑军, 齐凤祥. 胃癌组

■同行评价
本文有一定的科学意义和临床应用价值, 课题设计合理, 结论可信, 有一定指导意义.

织中HIF-1α、Bax、Bcl-2的表达及意义. 天津医科大学学报 2010; 16: 226-228
29 朱亚杰, 邱萌, 周继陶, 刘明, 刘素蕊, 黄娟, 毕锋. 胃癌中p53蛋白转录调控活性的分析及其临床意义. 中华医学遗传学杂志 2010; 27: 60-65
30 黄荣, 张建兵. 小鼠双倍微体基因、P53及P21在胃癌组织中的表达及临床意义. 南通大学学报(医学版) 2010; 30: 177-179

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®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2929-2936
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义

赵艳春, 陈 洪, 孙 林, 邱 梅, 陈旭东

赵艳春, 东南大学医学院 江苏省南京市 210009
赵艳春, 陈旭东, 盐城市第二人民医院消化科 江苏省盐城市 224003
陈洪, 东南大学附属中大医院消化科 江苏省南京市 210009
孙林, 邱梅, 盐城市第二人民医院病理科 江苏省盐城市 224003
赵艳春, 东南大学医学院在职研究生, 目前就职于盐城市第二人民医院消化科, 主要从事消化内科疾病的研究.
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008301
作者贡献分布: 此课题由陈洪、赵艳春及陈旭东设计; 研究过程由赵艳春、孙林及邱梅完成; 数据分析由赵艳春与孙林完成; 研究用材料工具由邱梅与陈旭东提供; 文章由赵艳春撰写; 陈旭东、陈洪审阅论文, 并指导论文修改.
通讯作者: 陈洪, 博士, 副教授, 主任医师, 210009, 江苏省南京市丁家桥87号, 东南大学附属中大医院消化科.
njchenhong66@163.com
电话: 025-83262283
收稿日期: 2013-06-29 修回日期: 2013-07-30
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer

Yan-Chun Zhao, Hong Chen, Lin Sun, Mei Qiu, Xu-Dong Chen

Yan-Chun Zhao, Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China
Yan-Chun Zhao, Xu-Dong Chen, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224003, Jiangsu Province, China
Hong Chen, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China
Lin Sun, Mei Qiu, Department of Pathology, the Second People's Hospital of Yancheng City, Yancheng 224003, Jiangsu Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008301
Correspondence to: Hong Chen, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital, Medical College of Southeast University, 87 Dingjia Qiao, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. njchenhong66@163.com
Received: 2013-06-29 Revised: 2013-07-30
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of Ras protein activator like 1 (RASAL1) and extracellular regulated protein kinase (ERK) in gastric cancer and to analyze their association with clinicopathological features of gastric cancer.

METHODS: The expression of RASAL1, ERK and phosphorylated ERK (p-ERK) was detected by immunohistochemistry in 60 gastric cancer tissue specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens. The association of RASAL1 and ERK expression with clinicopathologic characteristics of gastric cancer was then analyzed.

RESULTS: RASAL1 expression was weak or undetectable in gastric cancer but strong in tumor-adjacent tissue (mean rank score: 35.84 *vs* 85.16, $P < 0.01$). No significant difference was observed in ERK expression between gastric cancer and tumor-adjacent tissue (mean rank score: 60.68 *vs* 60.33, $P > 0.05$). The expression level of p-ERK in gastric cancer was significantly higher than that in tumor-adjacent tissue (mean rank score: 84.93 *vs* 36.07, $P < 0.0001$). Besides, decreased expression of RASAL1 and over-activation of ERK were significantly correlated with tumor size, stage, depth of invasion, grade and lymph node metastasis (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Low expression of RASAL1 and high expression of p-ERK may be involved in the development and progression of gastric cancer. RASAL1 promotes gastric cancer occurrence and development possibly by regulating the activation of ERK.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Ras protein activator like 1; Extracellular regulated protein kinase; Immunohistochemistry

Zhao YC, Chen H, Sun L, Qiu M, Chen XD. Clinical significance of expression of Ras protein activator like 1 and extracellular regulated protein kinase in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013;

■背景资料
胃癌的发生发展涉及到多个基因的改变和多阶段的过程, 但具体发病机制目前尚未完全明确. 目前已明确*RAS*基因家族活性异常增高是人类恶性肿瘤形成的关键因素之一, 围绕*RAS*基因及其信号传导通路的研究一直是分子肿瘤学的研究热点. Ras蛋白激活物类似物-1(Ras protein activator like 1, *RASAL1*)是近年新发现的基因,研究发现功能失活与部分肿瘤的发生发展有关, 被认为是候选的抑癌基因.

■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
*RASAL1*基因编码的蛋白属于RAS GAP1家族, 可负性调控RAS蛋白的活性, 继而参与调控Ras/Raf/MEK/ERK信号通路. 目前已有研究发现RASAL1在胃癌组织中表达异常, 但其与胃癌组织中Ras/Raf/MEK/ERK信号通路失调的关系尚无确切证据.

21(28): 2929-2936 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929

摘要

目的: 研究观察胃癌及癌旁组织中Ras蛋白激酶类似物-1(Ras protein activator like 1, RASAL1)和细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)的表达情况, 并分析其与胃癌临床病理特征的关系.

方法: 采用免疫组织化学方法检测60例胃癌组织及其对应癌旁组织中RASAL1、ERK以及磷酸化ERK(p-ERK)的表达水平, 并结合胃癌临床病理资料进行分析.

结果: RASAL1在胃癌组织中呈弱表达或者无表达, 而在癌旁组织中呈强阳性表达, 两组间表达差异有统计学意义(秩均数分别为35.84和85.16, $P<0.001$). ERK在胃癌和癌旁组织中表达无明显差异(秩均数分别为60.68和60.33, $P>0.05$). p-ERK在胃癌组织中的水平明显高于癌旁组织中的水平, 两组间表达差异有统计学意义(秩均数分别为84.93和36.07, $P<0.001$), 且RASAL1的表达下降、p-ERK的过度活化与肿瘤大小、分期、浸润深度、分化程度及淋巴结转移明显相关(均$P<0.05$).

结论: RASAL1低表达和p-ERK过度表达可能与胃癌的发生、发展有关, 而RASAL1可能通过调控ERK的活化, 使之成为p-ERK, 促进胃癌发生及进展.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; Ras蛋白激酶类似物-1; 细胞外信号调节激酶; 免疫组织化学

核心提示: 本文研究发现胃癌组织中Ras蛋白激活物类似物-1(Ras protein activator like 1, RASAL1)呈低表达, 而p-ERK呈高表达,并与临床病理特点相关, 提示RASAL1可能通过参与调节Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路的活性而抑制胃癌的发生发展. 本研究结果将有助于加深理解胃癌发生发展的分子机制, 为胃癌的分子诊断、靶向治疗提供新思路.

赵艳春, 陈洪, 孙林, 邱梅, 陈旭东. RAS蛋白激酶类似物-1和细胞外信号调节激酶在胃癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2929-2936 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2929.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2929

0 引言

胃癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 据统计在我国胃癌死亡率居于各种癌症死亡率的首位[1]. 胃癌的发生发展涉及到多基因的改变和多阶段的过程, 但具体发病机制目前尚未完全明确. 近年来, Ras/Raf/MEK/细胞外信号激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)信号通路失调与多种肿瘤的发生发展的关系引起较多关注[2]. ERK是Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路中的关键激酶, 研究表明ERK参与了细胞外信号传递至细胞核的过程, 与细胞的增殖、分化有关, 并参与肿瘤的发生发展[2]. Ras蛋白激活物类似物-1(Ras protein activator like 1, *RASAL1*)是近年新发现的一个基因, 其编码蛋白可激活Ras GTP酶, 使与Ras P21蛋白结合的GTP转变为GDP, 进而导致Ras P21蛋白失活, 起到调节丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路活性的作用, 从而参与细胞的增殖、分化及凋亡[3,4]. 已有较多研究报道发现RASAL1以及ERK的表达失调参与肿瘤发生发展[2,4,5]. 本研究以胃癌组织及其相应癌旁组织为研究对象, 采用免疫组织化学的方法检测RASAL1、ERK以及p-ERK的表达水平, 并分析其与胃癌发生及进展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌组织及癌旁组织取自2012-04/2012-12在我院及盐城市第一人民医院确诊为原发性胃癌并行胃癌根治术患者的手术标本(n = 60). 收集所有病例的病理资料和临床资料, 包括年龄、性别、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移及TNM分期等情况. 其中男性44例, 女性16例; 最小年龄49岁, 最大79岁, 平均年龄65.78岁; 有淋巴结转移的患者48例, 无淋巴结转移的患者12例; TNM分期1、2期患者26例, 3、4期患者34例. 所有病例术前未进行任何放疗、化疗及生物靶向治疗. 癌旁标本取自距离胃癌组织边缘5 cm以上的组织, 标本获得后即以40 g/L甲醛固定24 h, 然后取材并以梯度酒精脱水, 再以10%硬脂酸石蜡(65 ℃)透明浸蜡处理8 h, 石蜡包埋; 组织块4 μm厚度组织切片, 载玻片多聚-L-赖氨酸预处理, 捞片后置入烤箱58 ℃-60 ℃ 60 min使切片紧密粘附. ERK、p-ERK及RASAL1一抗购自英国Abcam公司, 为羊抗人多克隆抗体, 使用浓度为1∶200. 二抗为兔抗羊单

表 1 癌组织及癌旁组织的RASAL1、ERK、p-ERK的差异性分析 (*n*)

		表达水平				秩均数	*Z*值, *P*值
		–	+	++	+++		
Ras蛋白激活物类似物-1	癌组织	25	28	7	0	35.84	–8.060, <0.001
	癌旁组织	1	8	30	21	85.16	
细胞外信号激酶	癌组织	1	10	29	20	60.68	–0.060, 0.952
	癌旁组织	2	8	31	19	60.33	
磷酸化细胞外信号激酶	癌组织	2	8	24	26	84.93	–7.966, <0.001
	癌旁组织	34	17	9	0	36.07	

■相关报道
杨晓薇等发现胃癌组织中*RASAL1*基因的表达在mRNA水平和蛋白水平均下调, 表达水平与胃癌的恶性程度有一定关系. 夏挺松等检测胃癌组织中RASAL1的表达可反映肿瘤大小、分化程度、浸润深度及有无淋巴结转移, 提示*RASAL1*基因的低表达与胃癌的发生及进展有密切关系.

克隆IgG-HRP, 购自南京巴傲得生物科技有限公司.

1.2 方法 利用免疫组织化学法(二步法)检测RASAL1、ERK及p-ERK在胃癌组织和癌旁组织的表达水平. 病理组织蜡块经4 μm连续切片、二甲苯脱蜡、将切片浸入0.01 mol/L柠檬酸盐抗原修复缓冲液(pH 6.0)内, 微波炉加热至沸腾后断电, 循环2-3次达到抗原修复目的, 分别做抗RASAL1、ERK及p-ERK免疫组织化学染色. 染色方法按免疫组织化学染色试剂盒(Vector Labs, USA)说明书步骤进行. 在光镜下观察, 以细胞浆或(和)细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性. 将细胞染色强度和阳性细胞百分数分为4级, 阳性细胞数<5%记为0分、5%-29%记为1分、30%-75%为2分、>75%为3分. 根据黄色的深浅将无显色评为0分、淡黄色评为1分、桔黄色评为2分、棕黄色评为3分. 将每张切片的染色程度与染色细胞百分率得分相乘作为最后得分. 0-1分为阴性(-), 2-3分为弱阳性(+), 4-6分为中等阳性(++), >6分为强阳性(+++). 所有染色切片由两位高级职称病理医师独立重复阅片.

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计分析. 计数资料采用频数描述原始数据. 该资料为单向有序R*C资料, 采用非参数秩和检验比较组间差异. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃癌组织中RASAL1、ERK、p-ERK的表达情况 胃癌组织和癌旁组织经HE染色后, 作抗RASAL1、抗ERK以及p-ERK免疫组织化学染色, 统计其表达情况. 结果显示, RASAL1在胃癌组织中呈弱表达或者无表达, 而在癌旁组织中呈强阳性表达; 胃癌组中RASAL1阳性率明显低于癌旁组织中的阳性率, 差异具有统计学意义($P<0.001$). 而p-ERK在胃癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织中的水平($P<0.001$). ERK在胃癌组织与癌旁组织中的表达水平无明显差异($P>0.05$)(表1, 图1).

2.2 胃癌组织中RASAL1、ERK、p-ERK表达与临床病理特征的关系 统计结果表明, RASAL1、ERK、p-ERK的表达与年龄、性别均无明显相关($P>0.05$). 胃癌组织中RASAL1的表达和肿瘤大小($P<0.01$)、分化程度($P<0.05$)、浸润深度($P<0.001$)、淋巴结转移($P<0.05$)、分期($P<0.001$)明显相关, 在肿瘤体积大、分化程度低、浸润程度深、有淋巴结转移及TNM分期晚的病例中, RASAL1呈低表达. p-ERK的表达也和肿瘤大小($P<0.05$)、分化程度($P<0.01$)、浸润深度($P<0.001$)、淋巴结转移($P<0.05$)、TNM分期($P<0.001$)明显相关, 在肿瘤体积大、分化程度低、浸润深、有淋巴结转移及TNM分期晚的病例中, p-ERK呈高表达. 而胃癌组织中ERK的表达与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期等无明显相关($P>0.05$)(表2-4).

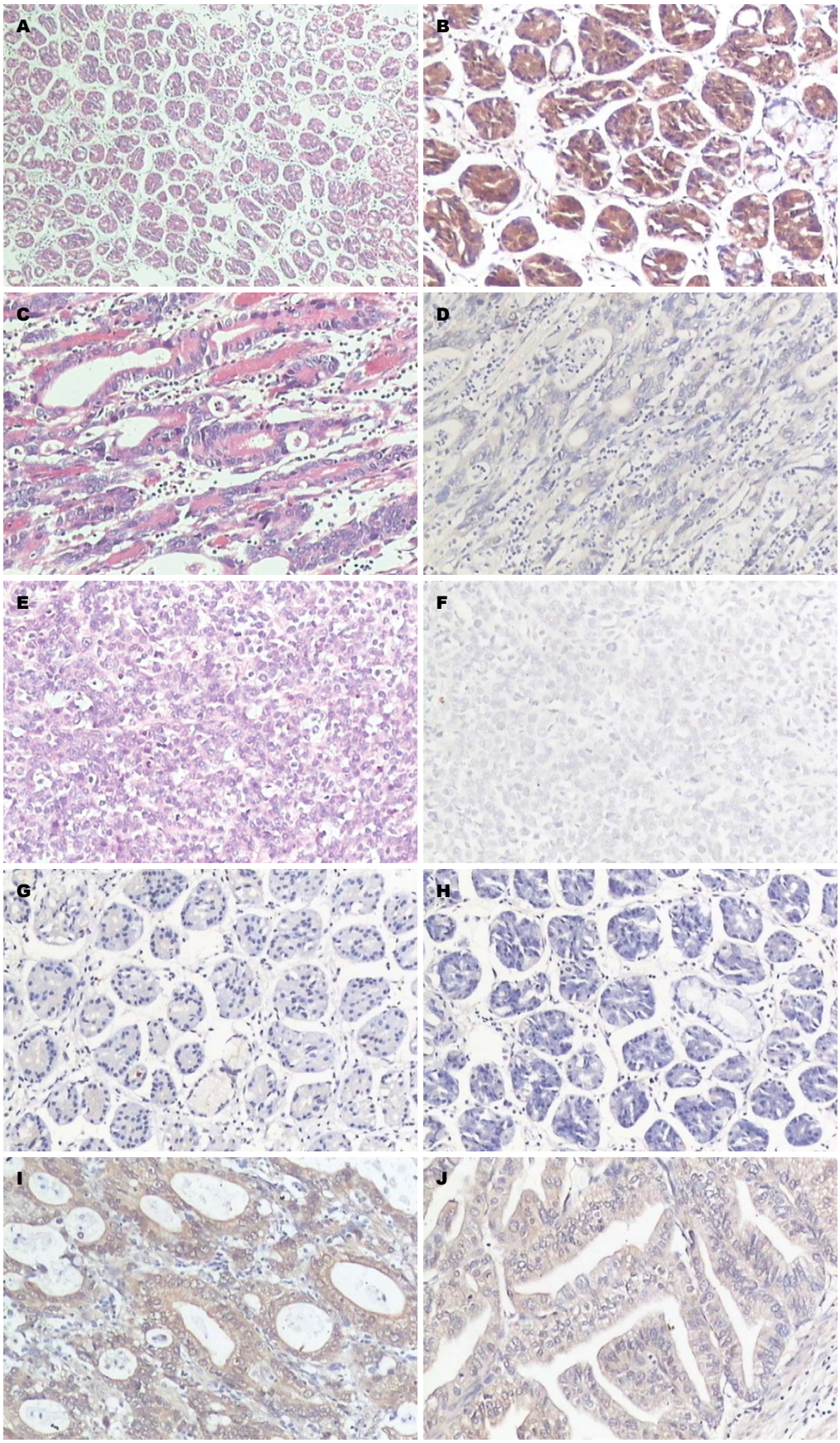
3 讨论

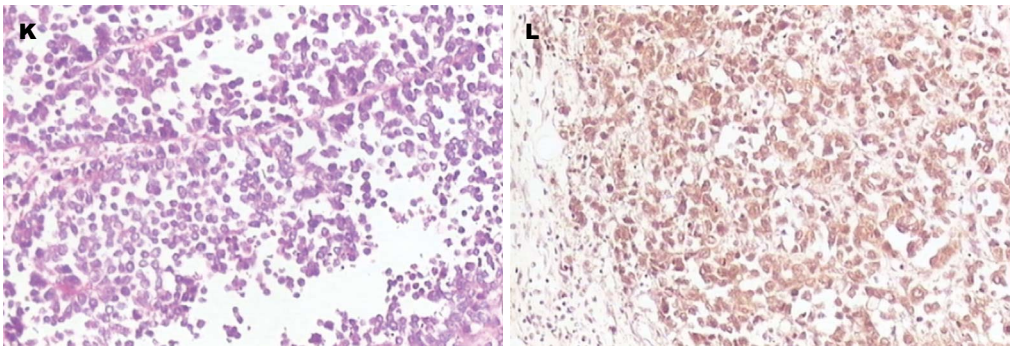
本研究通过免疫组织化学方法检测了60例胃癌及其相应癌旁组织中RASAL1、ERK以及p-ERK蛋白水平, 发现RASAL1、p-ERK蛋白在胃癌及癌组织中表达有明显的差异, 且两者蛋白表达水平和胃癌的进展相关, ERK在胃癌及癌旁组织中表达无明显差异.

肿瘤的发生发展是一个涉及到多基因的改变和多阶段的过程. 原癌基因及抑癌基因不可逆的积累突变并失调是肿瘤发生的一个重要的分子机制[6]. 其中*ras*基因是研究十分广泛的原癌基因, 编码Ras蛋白[7], 而*ras*基因突变、过量表达和多种肿瘤的发生发展密切相关[8-13]. 当Ras蛋白持续活化时, 其能持续激活下游的Raf/MEK/ERK信号传导通路, 造成细胞生长失控、无限制增殖, 进而引起肿瘤的发生[14-17]. 有研究表明Ras蛋白的活性可受Ras蛋白活性调节因子, 如

■创新盘点

本文同时检测胃癌组织和癌旁组织标本中RASAL1及其下游信号分子ERK和p-ERK的表达情况，结果发现RASAL1和p-ERK在胃癌组织和癌旁组织中的表达有显著差异. 作者从细胞外信号调节通路的角度分析这两种差异的内在联系，及其在胃癌的发生发展中的意义.





■应用要点

本文发现胃癌组织中RASAL1呈低表达, 而p-ERK呈高表达, 并与胃癌的临床病理特点密切相关, 该研究结果为胃癌的分子靶向治疗提供了潜在新靶点.

图 1 胃癌组织和癌旁组织中RASAL1、ERK、p-ERK的表达情况. A: 癌旁组织, 距癌组织边缘5 cm以上, 下同(HE染色×40); B: 癌旁组织RASAL1免疫组织化学(×100), >75%的细胞在细胞浆和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为强阳性; C: 胃癌组织, HE染色(×100), 中分化腺癌, 癌细胞呈腺管状排列, 腺管大小不一, 癌细胞核浆比例失调, 细胞核深染, 有核仁, 可见核分裂像; D: 胃癌组织的RASAL1免疫组织化学(×100), 中分化胃腺癌, 可见<75%的细胞在细胞浆和细胞膜有黄色颗粒沉着, 呈淡黄色, 计分为弱阳性; E: 低分化胃癌组织的HE染色(×100), 低分化腺癌, 癌细胞弥漫分布, 不呈腺管状排列, 细胞核深染, 核浆比失调, 核分裂像多见; F: 低分化胃癌组织的RASAL1免疫组织化学(×100), 基本不着色, 计分为阴性; G: 癌旁组织RASAL1免疫组织化学(×100), <75%的细胞在细胞浆有黄色染色, 呈淡黄色, 计分为弱阳性; H: 癌旁组织的p-ERK免疫组织化学(×100), 基本不着色, 计分为阴性; I: 中分化胃癌组织的ERK免疫组织化学(×100), >75%的癌细胞在细胞浆、细胞核和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为强阳性; J: 中分化胃癌组织的p-ERK免疫组织化学(×100), 30%-75%的癌细胞在细胞浆、细胞核和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为中阳性; K: 低分化胃癌组织的HE染色(×100), 低分化胃腺癌, 癌细胞弥漫分布, 不呈腺管状排列, 细胞核深染, 核浆比失调, 核分裂像多见; L: 低分化胃癌组织的p-ERK免疫组织化学(×100), 癌细胞弥漫分布, 不呈腺管状排列, 核深染上浮, 形态大小不一, 几乎全部细胞在细胞浆、细胞核和细胞膜有棕黄色颗粒沉着, 着色深, 计分为强阳性.

表 2 胃癌组织中RASAL1表达与临床病理资料的相关性

		表达水平			秩均数	*Z*值, *P*值
		−	+	++		
性别	男	19	20	5	30.05	−0.368, 0.713
	女	6	8	2	31.75	
年龄(岁)	≥60	19	20	7	31.22	−0.635, 0.525
	<60	6	8	0	28.14	
肿瘤大小(cm)	<4	6	18	6	37.70	−3.517, <0.001
	≥4	19	10	1	23.30	
浸润深度	黏膜层和黏膜下层	4	15	7	40.13	−4.115, <0.001
	肌层和浆膜层	21	13	0	23.13	
分化程度	低分化及印戒细胞癌	12	5	1	22.81	−2.460, 0.014
	中高分化	13	23	6	33.80	
淋巴结转移	无	2	5	5	42.38	−2.900, 0.004
	有	23	23	2	27.53	
TNM分期	1、2期	4	15	7	40.13	−4.115, <0.001
	3、4期	21	13	0	23.13	

Ras-GTP酶活化蛋白(GTPase activating protein, GAP)调控. Ras GAPs具有GTP酶活性, 能够通过水解作用使Ras蛋白失活. 在*ras*基因没有突变的情况下, Ras GAPs的功能缺失同样可以使Ras蛋白的过度活化, 进而促进肿瘤的形成和发展[4,18-19]. RASAL1作为Ras GAPs可以通过水解Ras GTP使Ras蛋白失活而发挥肿瘤生长抑制作用[3,20]. 已有研究表明, *RASAL1*在结直肠癌、肝癌等多种肿瘤中表达下调, 被认为是候选抑癌基因[21,22]. 本课题组既往研究及相关文献也表明*RASAL1*基因在胃癌细胞株及胃癌组织中表达降低、*RASAL1*基因可能参与了胃癌的发生发展[22,23-25]. 在本研究中, 我们发现RASAL1蛋白在肿瘤体积大、分化程度低、浸润程度深、有淋巴结转移及TNM分期晚的胃癌病例中RASAL1呈现为低表达, 表明胃癌组织的RASAL1表达和临床病理特征有着明显的相关性.

ERK是MAPK家族中的重要成员, 通过Ras/

■同行评价
本文结论可信, 具有一定指导意义.

表 3 胃癌组织中p-ERK表达与临床病理资料的相关性

		表达水平				秩均数	Z值, P值
		−	+	++	+++		
性别	男	1	8	19	16	30.07	−0.344, 0.731
	女	0	2	10	4	31.69	
年龄	≥60岁	1	8	22	15	30.57	−0.057, 0.955
	<60岁	0	2	7	5	30.29	
肿瘤大小	<4 cm	0	4	18	8	24.03	−3.106, 0.002
	≥4 cm	1	6	11	12	36.97	
浸润深度	黏膜层和黏膜下层	0	5	14	7	21.73	−3.684, <0.001
	肌层和浆膜层	1	5	15	13	37.21	
分化程度	低分化及印戒细胞癌	1	3	8	6	39.67	−2.883, 0.004
	中高分化	0	7	21	14	26.57	
淋巴结转移	无	0	4	5	3	20.33	−2.442, 0.015
	有	1	6	24	17	33.04	
TNM分期	1、2期	0	5	14	7	21.73	−3.684, <0.001
	3、4期	1	5	15	13	37.21	

表 4 胃癌组织中ERK表达与临床病理资料的相关性

		表达水平				秩均数	Z值, P值
		−	+	++	+++		
性别	男	1	6	19	18	30.80	−0.239, 0.813
	女	1	2	5	8	29.69	
年龄	≥60 岁	2	7	16	21	30.05	−0.390, 0.697
	<60 岁	0	1	8	5	31.96	
肿瘤大小	<4 cm	2	7	13	8	29.93	−0.273, 0.785
	≥4 cm	0	1	11	18	31.07	
浸润深度	黏膜层和黏膜下层	2	8	10	6	28.85	−0.698, 0.485
	肌层和浆膜层	0	0	14	20	31.76	
分化程度	低分化及印戒细胞癌	0	1	4	13	29.53	−0.307, 0.759
	中高分化	2	7	20	13	30.92	
淋巴结转移	无	1	5	3	3	25.63	−1.176, 0.240
	有	1	3	21	23	31.72	
TNM分期	1、2期	2	8	10	6	28.85	−0.698, 0.485
	3、4期	0	0	14	20	31.76	

Raf/MEK/ERK通路磷酸化激活. 活化的ERK(即p-ERK)转移至细胞核内, 可激活下游多种转录因子, 诱导细胞分裂增殖[26]. 大量的研究表明ERK过度活化在细胞恶性转化及演进中起重要作用[27-29]. 本研究发现ERK在胃癌组织中的表达与其在癌旁组织中的表达无明显差异, p-ERK和胃癌可能更为相关. 进一步研究也发现, p-ERK的表达和胃癌的临床病例特征有明显的相关性, 在肿瘤体积大、分化程度低、浸润程度深、有淋巴结转移及TNM分期晚的病例中p-ERK呈现高表达. 我们推测, 可能由于RASAL1的表达降低导致RAS蛋白活性异常上调, 持续激活Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路, 从而使ERK持续活化为p-ERK, 进而调控细胞异常增殖, 血管生成等, 但具体的调控机制尚有待进一步的研究.

本实验提示胃癌组织中RASAL1低表达和p-ERK过度表达可能与胃癌发生、发展有关. 进一步深入研究RASAL1与ERK信号通路的调控机制可能为胃癌的早期诊断、预后判断以及分子靶向治疗提供实验依据.

4 参考文献

1 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. Report of incidence and mortality in China cancer registries, 2009. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 10-21

[PMID: 23372337 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.12.04]
2 Santarpia L, Lippman SM, El-Naggar AK. Targeting the MAPK-RAS-RAF signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 103-119 [PMID: 22239440 DOI: 10.1517/14728222.2011.645805]
3 Seto M, Ohta M, Ikenoue T, Sugimoto T, Asaoka Y, Tada M, Mohri D, Kudo Y, Ijichi H, Tateishi K, Otsuka M, Hirata Y, Maeda S, Koike K, Omata M. Reduced expression of RAS protein activator like-1 in gastric cancer. *Int J Cancer* 2011; 128: 1293-1302 [PMID: 20473946 DOI: 10.1002/ijc.25459]
4 Jin H, Wang X, Ying J, Wong AH, Cui Y, Srivastava G, Shen ZY, Li EM, Zhang Q, Jin J, Kupzig S, Chan AT, Cullen PJ, Tao Q. Epigenetic silencing of a Ca(2+)-regulated Ras GTPase-activating protein RASAL defines a new mechanism of Ras activation in human cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 12353-12358 [PMID: 17640920 DOI: 10.1073/pnas.0700153104]
5 Ohta M, Seto M, Ijichi H, Miyabayashi K, Kudo Y, Mohri D, Asaoka Y, Tada M, Tanaka Y, Ikenoue T, Kanai F, Kawabe T, Omata M. Decreased expression of the RAS-GTPase activating protein RASAL1 is associated with colorectal tumor progression. *Gastroenterology* 2009; 136: 206-216 [PMID: 18992247 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.063]
6 Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9: 138-141 [PMID: 8516849 DOI: 10.1016/0168-9525(93)90209-Z]
7 Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989; 49: 4682-4689 [PMID: 2547513]
8 Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 459-465 [PMID: 12778136 DOI: 10.1038/nrc1097]
9 Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 11-22 [PMID: 12509763 DOI: 10.1038/nrc969]
10 Nakae K, Mitomi H, Saito T, Takahashi M, Morimoto T, Hidaka Y, Sakamoto N, Yao T, Watanabe S. MUC5AC/β-catenin expression and KRAS gene alteration in laterally spreading colorectal tumors. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5551-5559 [PMID: 23112547 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5551]
11 Tan C, Du X. KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5171-5180 [PMID: 23066310 DOI: 10.3748/wjg.v18.i37.5171]
12 Brose MS, Volpe P, Feldman M, Kumar M, Rishi I, Gerrero R, Einhorn E, Herlyn M, Minna J, Nicholson A, Roth JA, Albelda SM, Davies H, Cox C, Brignell G, Stephens P, Futreal PA, Wooster R, Stratton MR, Weber BL. BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6997-7000 [PMID: 12460918]
13 von Lintig FC, Dreilinger AD, Varki NM, Wallace AM, Casteel DE, Boss GR. Ras activation in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 62: 51-62 [PMID: 10989985 DOI: 10.1023/A:1006491619920]
14 McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Wong EW, Chang F, Lehmann B, Terrian DM, Milella M, Tafuri A, Stivala F, Libra M, Basecke J, Evangelisti C, Martelli AM, Franklin RA. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1263-1284 [PMID: 17126425 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.10.001]
15 Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007; 26: 3291-3310 [PMID: 17496923 DOI: 10.1038/sj.onc.1210422]
16 Steelman LS, Franklin RA, Abrams SL, Chappell W, Kempf CR, Bäsecke J, Stivala F, Donia M, Fagone P, Nicoletti F, Libra M, Ruvolo P, Ruvolo V, Evangelisti C, Martelli AM, McCubrey JA. Roles of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in leukemia therapy. *Leukemia* 2011; 25: 1080-1094 [PMID: 21494257 DOI: 10.1038/leu.2011.66]
17 Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer. *Onkologie* 2002; 25: 511-518 [PMID: 12566895 DOI: 10.1159/000068621]
18 Yarwood S, Bouyoucef-Cherchalli D, Cullen PJ, Kupzig S. The GAP1 family of GTPase-activating proteins: spatial and temporal regulators of small GTPase signalling. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 846-850 [PMID: 17052212 DOI: 10.1042/BST0340846]
19 Kupzig S, Deaconescu D, Bouyoucef D, Walker SA, Liu Q, Polte CL, Daumke O, Ishizaki T, Lockyer PJ, Wittinghofer A, Cullen PJ. GAP1 family members constitute bifunctional Ras and Rap GTPase-activating proteins. *J Biol Chem* 2006; 281: 9891-9900 [PMID: 16431904 DOI: 10.1074/jbc.M512802200]
20 Sot B, Behrmann E, Raunser S, Wittinghofer A. Ras GTPase activating (RasGAP) activity of the dual specificity GAP protein Rasal requires colocalization and C2 domain binding to lipid membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 111-116 [PMID: 23251034 DOI: 10.1073/pnas.1201658110]
21 张慧, 陈洪. Ras基因及其调节异常与肿瘤发生的研究进展. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 950-53
22 Qiao F, Su X, Qiu X, Qian D, Peng X, Chen H, Zhao Z, Fan H. Enforced expression of RASAL1 suppresses cell proliferation and the transformation ability of gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 28: 1475-1481 [PMID: 22825043 DOI: 10.3892/or.2012.1920]
23 夏挺松, 陈洪, 钱建忠, 徐洪明, 陆枫林. RASAL1基因在胃癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1403-1407
24 杨晓薇, 陈洪, 孔波, 张慧, 王智, 刘洋. RAS蛋白激活物类似物-1基因(Rasal1)在胃癌细胞中的表达及生物学意义. 癌变•畸变•突变 2011; 23: 38-41
25 Chen H, Yang XW, Zhang H, Yang Q, Wang Z, Liu Y, Lu FL, Zhou BY, Qiu-Xi CH, Lu SL. In vivo and in vitro expression of the RASAL1 gene in human gastric adenocarcinoma and its clinicopathological significance. *Oncol Lett* 2012; 3: 535-540 [PMID: 22740946 DOI: 10.3892/ol.2011.513]
26 Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22: 153-183 [PMID: 11294822 DOI: 10.1210/er.22.2.153]
27 Feng DY, Zheng H, Tan Y, Cheng RX. Effect of phosphorylation of MAPK and Stat3 and expression of c-fos and c-jun proteins on hepatocarcinogenesis and their clinical significance. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 33-36 [PMID: 11819729]
28 Liu Y, Yang Y, Ye YC, Shi QF, Chai K, Tashiro S, Onodera S, Ikejima T. Activation of ERK-p53 and ERK-mediated phosphorylation of Bcl-2 are involved in autophagic cell death induced by the c-Met inhibitor SU11274 in human lung cancer

A549 cells. *J Pharmacol Sci* 2012; 118: 423-432 [PMID: 22466960 DOI: 10.1254/jphs.11181FP]
29 Ravenhall C, Guida E, Harris T, Koutsoubos V, Stewart A. The importance of ERK activity in the regulation of cyclin D1 levels and DNA synthesis in human cultured airway smooth muscle. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 17-28 [PMID: 10960064 DOI: 10.1038/sj.bjp.0703454]

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》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2937-2944
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

下调缺氧诱导因子-1α表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响

王 理, 姚 敏, 顾 星, 时 运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福

王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福, 南通大学附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226001
王理, 博士后, 副教授, 主要从事临床医学及信息管理的研究.
中国博士后科学基金资助项目, No. 2012M521108
国家国际科技合作专项基金资助项目, No. 2013DFA32150
作者贡献分布: 方法研究、数据整理及文章起草由王理完成; 临床资料与病例选择由姚敏完成; 顾星与时运参加完成部分研究工作; 统计分析由邱历伟完成; 设计、论文修改及审阅由姚登福与陆少林完成
通讯作者: 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院临床医学研究中心. yaodf@ahnmc.com
电话: 0513-85052413 传真: 0513-85052297
收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-05-28
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Down-regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Li Wang, Min Yao, Xing Gu, Yun Shi, Li-Wei Qiu, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao

Li Wang, Min Yao, Xing Gu, Yun Shi, Li-Wei Qiu, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Chinese Postdoctoral Science Foundation No. 2012M521108; and the International S and T Cooperation Program of China, No, 2013DFA32150
Correspondence to: Deng-Fu Yao, Professor, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yaodf@ahnmc.com
Received: 2013-04-23 Revised: 2013-05-28
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To detect the expression of hypoxia inducible factor-1alpha (HIF-1α) in human hepatocellular carcinoma and to observe the effect of silencing *HIF-1α* gene on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma HepG2 cells.

METHODS: Hepatocellular carcinoma tissue samples and matched tumor-adjacent tissue samples were collected to detect the expression and cellular distribution of HIF-1α by immunohistochemistry. HIF-1α-specific miRNAs were synthesized and screened. After HepG2 cells were transfected with a miRNA, the expression of HIF-1α mRNA and protein was determined by real time-PCR and Western blot, respectively. Cell cycle progression and apoptosis were quantitatively analyzed by flow cytometry and annexin V-FITC/PI double dyeing assay.

RESULTS: HIF-1α was distributed mainly in the cytoplasm and less in the nucleus, which was especially prominent around the central vein. The positive rate of HIF-1α expression was significantly lower in hepatocellular carcinoma than in tumor-adjacent tissue (80% *vs* 100%, χ^2 = 22.35, P < 0.001). HIF-1α expression was correlated with tumor size and differentiation degree. After HepG2 cells were transfected with a miRNA, HIF-1α expression was down-regulated in a time-dependent manner, the apoptosis rate increased significantly (P < 0.01), and HepG2 cells were significantly arrested at G_1 phase (proportion of cells in G_1 phase: 61.49% ± 1.12%, P < 0.01). In the presence of doxorubicin, the apoptosis rate and the proportion of cells in G_1 phase were increased to 36.99% ± 0.88% and 65.68% ± 0.91%, respectively.

CONCLUSION: Abnormal HIF-1α expression is associated with the development of hepatocellular carcinoma. Silencing *HIF-1α* gene efficiently inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells possibly by regulating cell cycle progression and apoptosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; HIF-1α; miRNA; Gene silencing; Proliferation inhibition

Wang L, Yao M, Gu X, Shi Y, Qiu LW, Lu SL, Yao DF. Down-regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2937-2944 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2937.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2937

■背景资料
缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1alpha, HIF-1α)是介导生理性和病理性低氧反应的关键转录因子, 在缺氧环境中表达相对显著, 在转录水平调控细胞增殖, 调控血管新生“开关基因”, 与肿瘤的生长、转移和预后等密切相关. 肝癌演变过程中, 正常脉管系统破坏, 共同导致局部缺氧, 激活HIF-1α, 从而增强血管新生, 促进癌细胞增殖及转移.

■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; 庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■研发前沿
近年来对肿瘤血管新生的研究表明，血管新生在肝癌的恶变、生长、转移等方面是至关重要的. VEGF是肿瘤诱导产生新生血管的最主要的细胞因子之一，而HIF-1α则在基因水平上直接调控VEGF表达，是恶性肿瘤诱导新生血管形成的一个主要调控因子. 目前对HIF-1α调控肝癌新生血管机制的分析是研究热点，但如何利用这种机制来治疗肝癌尚缺乏深入研究.

摘要

目的: 观察肝癌缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1alpha, HIF-1α)表达及靶向其基因转录对肝癌细胞增殖的影响.

方法: 以自身配对法收集术后肝癌及癌周组织，免疫组织化学染色法分析HIF-1α胞内表达及分布；按照*HIF-1α*基因序列合成miRNA，筛选干扰效率最佳者转染肝癌(HepG2)细胞，以荧光定量-PCR和Western blot分别检测HIF-1α转录和蛋白表达；并以miRNA转染联合阿霉素后，流式细胞仪检测沉默细胞中HIF-1α对HepG2细胞增殖的影响.

结果: 肝癌及癌周组织HIF-1α表达呈棕黄色颗粒状，位于胞浆和部分胞核，呈均匀表达，中央静脉周围明显；其阳性率癌组织为80%，低于癌旁100%表达($\chi^2=22.35$, $P<0.001$)；与瘤体大小和分化程度相关；HepG2细胞经miRNA干扰后，HIF-1α在RNA和蛋白水平分别下降87%和56%，发生细胞凋亡(22.46%±0.61%)和G_1期阻滞(61.49%±1.12%, $P<0.01$)；加入阿霉素后细胞凋亡率和G_1期细胞分别增至36.99%±0.88%和65.68%± 0.91%.

结论: HIF-1α过表达与肝癌密切相关，以特异性miRNA靶向HIF-1α，可调控细胞周期，通过加速凋亡的机制抑制癌细胞增殖.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌; 缺氧诱导因子-1α; miRNA; 基因沉默; 增殖抑制

核心提示: 肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma)血供丰富，传统疗法易耐受，预后极差. 肝癌细胞增殖失控导致局部缺氧，激活缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)，进而增强血管新生、促进癌细胞增殖及转移，抑制细胞凋亡和分化. 本研究分析了肝癌及癌周组织HIF-1α表达，并以miRNA或联合阿霉素在体外干扰细胞中HIF-1α表达，观察肝癌细胞凋亡和增殖周期的变化，发现肝癌组织内HIF-1α表达水平异常升高，其表达增强与癌周围组织的增生活跃密切相关. 沉默HIF-1α可逆转缺氧引起的HIF-1α升高，控制癌细胞增殖，可作为一种辅助策略应用于肝癌的治疗.

王理, 姚敏, 顾星, 时运, 邱历伟, 陆少林, 姚登福. 下调缺氧诱导因子-1α表达对肝癌细胞增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2937-2944 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2937.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2937

0 引言

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一多基因、多阶段发生，血供丰富、传统疗法易耐受、预后极差、高度恶性的实体瘤[1,2]. 肝癌细胞增殖失控导致无效或畸形血供增加，在慢性肝损伤、肝硬化、肝癌演变过程中，正常脉管系统破坏，共同导致局部缺氧[3]. 肝组织缺氧微环境，激活缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)，促使其进入细胞核内与HIF-β异二聚体化，结合于百余种下游靶基因，发挥一系列细胞适应性调节，从而增强血管新生、癌细胞增殖及转移、对放化疗耐受、抑制细胞凋亡和分化[4,5]. HIF-1α是介导生理性和病理性低氧反应的关键转录因子，在缺氧环境中表达相对显著，在转录水平调控细胞增殖，调控血管新生“开关基因”，激活许多缺氧反应性基因表达，与肿瘤的生长、转移和预后等密切相关[6,7]. 本文分析了肝癌及癌周组织HIF-1α表达，并以miRNA在体外干扰肝癌细胞HIF-1α表达，或联合阿霉素观察对肝癌细胞凋亡和增殖周期的变化，以探讨干扰HIF-1α活化对肝癌细胞的增殖抑制作用与机制.

1 材料和方法

1.1 材料 35例肝癌组织取自南通大学附属医院2012-03/2012-12肝癌手术标本，标本切下后经40 g/L甲醛溶液固定、取材、石蜡包埋保存，均经病理学检查证实为肝细胞癌，其中高分化8例、中分化22例、低分化5例；男30例，女5例；年龄35-69岁，平均51岁±9.19岁. 癌灶直径为1.0-12.0 cm，中位数4.65 cm±2.96 cm. 肿瘤单发者28例，≥2个者7例. 所有病例均有完整随访资料，按全国肝癌防治协作组制定的标准核实诊断. 鼠抗人 HIF-1α单克隆抗体(Abcam, 英国)；双荧光素酶报告基因、pGL3及pRL-TK(Promega, 美国)；Annexin-V FITC凋亡检测试剂盒、FuGENE HD转染试剂(Roche, 德国)；Premix Taq酶、DNA Marker、T4连接酶、*Xho*-Ⅰ、*Hind*-Ⅲ及SYBR Premix Ex Taq(TaKaRa, 日本)；RevertAid™第一链cDNA合成试剂盒(Fermentas, 立陶宛)；pcDNA™6.2-GW/ EmGFPmiR载体、载体构建盒BLOCK-iT™含EmGFP的Pol Ⅱ miR RNAi表达

载体(Invitrogen, 美国); DYEnamic ET Dye测序(Amersham Biosciences, 美国); Top10感受态细胞(百奥生物); 鼠抗人β-actin一抗、HRP-羊抗鼠二抗、SDS-PAGE、彩色预染蛋白标准、PVDF膜、BCA蛋白、质粒抽提盒(碧云天生物技术有限公司).

1.2 方法

1.2.1 肝总RNA制备与浓度分析: 称取肝组织50 mg, 置于无RNase的匀浆器中, 加入RNA快速制备试剂(TRIzol)1.0 mL匀浆2 min, 在匀浆液中加氯仿混匀冻存, 高速离心, 上清液中加入等量异丙醇混匀, 再离心并经预冷乙醇洗涤, 弃上清至室温5 min, 加入TE缓冲液置60 ℃水浴10 min, 取出置于-85 ℃冰箱保存备用. 取RNA提取液置微量比色皿中, 于岛津UV-2201型紫外分光光度计上检测RNA吸光度A_{260}, 并换算总RNA浓度(μg/mg组织).

1.2.2 免疫组织化学分析: 采用二步法免疫组织化学检测法, 按照操作说明进行. 组织切片常规脱蜡及水化后, 以EDTA缓冲液冲洗后微波修复10 min. 加入HIF-1α一抗, 室温孵育1 h, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次后加入聚合体增强剂, 室温孵育20 min, PBS清洗切片3次后再加入二抗, 室温孵育30 min, PBS洗涤3次后经0.1%DAB显色5 min, 自来水充分冲洗、复染、脱水、透明、封片. 实验以PBS代替一抗作阴性对照. 阳性标准以已知表达HIF-1α的乳腺癌组织作阳性对照, 以组织中显示棕黄色颗粒为HIF-1α染色阳性. 阳性细胞计数: 每份标本切片选取5个高倍镜视野(×400)作阳性细胞计数, 按阳性细胞(清晰棕黄色染色)所占比例数分为: HIF-1α染色阴性(-), 阳性细胞数<10%; HIF-1α染色弱阳性(+), 10%-25%; HIF-1α染色中等阳性(++), 阳性细胞数在26%-50%; HIF-1α染色呈强阳性(+++), 阳性细胞数>50%.

1.2.3 细胞培养: 肝癌细胞株(HepG2, 南京凯基)常规复苏后, 以RPMI 1640完全培养液(含1%非必需氨基酸), 37 ℃, 50 mL/L CO_2及100%湿度的条件下培养, 传代, 取对数生长期细胞分析.设空白、阴性和干扰组, 检测细胞凋亡及周期时, 另加两组分别为阿霉素组(0.5 μmol/L)和干扰联合阿霉素组(0.5 μmol/L), 每组均设 3个复孔. 空白组常规培养; 阴性组添加阴性质粒和转染试剂培养; 干扰组加靶向HIF-1α载体和转染培养. 于转染后 24、48和72 h收集细胞.

1.2.3 miRNA设计: 人HIF-1α mRNA序列(NM_001530), 用Invitrogen miRNA设计系统软件设计4对miRNA寡聚单链DNA. 将4对oligo各自退火成双链. 然后用载体构建试剂盒BLOCK-iT™ Pol Ⅱ miR RNAi Expression Vector Kit with EmGFP(Invitrogen公司)进行重组克隆, 将双链的miRNA oligo各自插入到miRNA表达载体pcDNA™6.2-GW/EmGFPmiR中, 构建miRNA质粒, 筛选干扰效率最佳一对序列为5'-TGCTGTAAAGCATCAGGTTCCTTCTTGTTTTGGCC ACTGACTGACAAGAAGGACTGATGCTTTA-3'和5'-CCTGTAAAGCATCAGTC CTCT TGTCAGTCAGTGGCCAAAACAAGAAGGAACCTGATGCTTT AC-3', 其中加下划线部分为靶区序列, 其上下游为茎环结构.

1.2.4 细胞转染: FuGENE HD转染试剂转染HepG2细胞. 转染前 24 h每孔接种2 mL细胞悬液, 浓度为1×10^5/mL, 使转染时细胞密度达80%-90%. 每孔加转染试剂和干扰载体, RPMI 1640完全培养补至100 μL, 室温静置 15 min, 以形成干扰载体与转染试剂稳定复合物. 吸弃培养液, PBS洗两遍, 加入干扰载体与转染试剂稳定复合物, 加完全培养补至2 mL, 晃匀, 培养, 于转染后24、48和72 h取细胞备用.

1.2.5 干扰效率检测: 以QuickGene RNA culture cell试剂盒于核酸自动提取仪(Fujifilm, 日本)提取总RNA. 利用第一链cDNA合成试剂盒(ReverAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit)经RT-PCR生成相应的cDNA.以各组cDNA作为模板, 利用染料法进行Real-time PCR, 目标片段扩增引物HIF-1α-F和HIF-1α-R的序列分别为5'-CCACTGCCACCACTGATGAA-3'(nt 2254-2273)和5'-TTGGTGA GGCTGTCCGACTT-3'(nt 2412-2431), 产物大小178 bp, 退火温度为60 ℃, 延伸循环数为40. 根据相对定量法计算目标片段的扩增比例, mRNA的相对变化量公式为: Ratio = $2^{-\triangle\triangle Ct}$. 以GAPDH作为内参, 各样本重复3次.

1.2.6 Western blot分析: 制作10%分离胶, 蛋白40 μg, 加上样缓冲液, 沸水浴后上样, 恒压80 V×35 min, 后100 V×60 min. 结束后转膜, 封闭. 取膜用TBS-T漂洗, 加鼠抗人HIF-1α(1∶500), 4 ℃过夜, 漂洗, 加入HRP标记羊抗鼠 IgG(1∶1000)二抗, 孵育2 h, 漂洗、DAB显色并摄相.

1.2.7 Annexin V-FITC/PI法分析: 常规消化, 接种,

■相关报道

已有的研究表明, HIF-1α可调控VEGF和Ang-2, 影响血管生成; 而干扰HIF-1α后下调VEGF、Ang等, 显著抑制血管新生, 阻断肿瘤进展. 新近研究显示斯钙素(*STC-2*)启动子序列含有2个HIF-1α的结合位点, HIF-1α介导STC-2过表达可上调cyclin D的表达, 推动细胞G_1/S期转变, HIF-1α下调后STC-2表达也随之下调.

■创新盘点
本研究发现在人肝细胞性肝癌组织中，HIF-1α癌周组织表达明显强于癌灶组织，提示HIF-1α表达增强与癌周围组织的增生活跃密切相关．而通过miRNA或联合阿霉素沉默HIF-1α，可逆转缺氧引起的HIF-1α升高，控制癌细胞增殖．

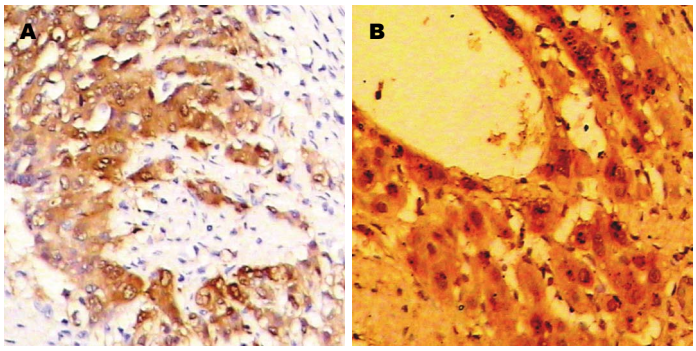


图 1 肝癌及癌旁组织HIF-1α表达的免疫组织化学分析(×200). A: 肝癌; B: 癌旁.

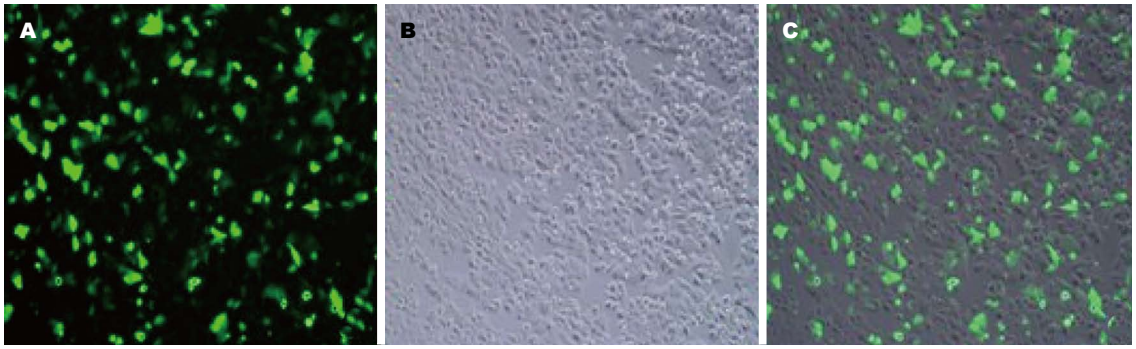


图 2 HIF-1α miRNA转染HepG2细胞荧光显微镜观察(×10). A: 荧光显微镜图; B: 同一视野普通光镜图; C: 融合图.

表 1 肝癌及癌周组织总RNA及HIF-1α表达的分析 (n = 35)

分组	总RNA(μg/mg) (mean ± SD)	HIF-1α(强度)				阳性n(%)
		−	+	+ +	+ + +	
癌灶	12.4 ± 7.3	7	21	7	0	28(80.0)
癌旁	53.8 ± 52.0[b]	0	10	18	7	35(100)[b]

[b]P<0.01 *vs* 癌灶.

培养，根据设计加入相应试剂．转染加阿霉素，分别于48、72 h后，收集细胞，离心，洗涤．加入Annexin V-FLUOS/PI混合液，重悬细胞，避光，流式细胞仪进行检测．

1.2.8 细胞周期：常规消化细胞，接种，培养后弃培养基，根据设计加入相应试剂，转染后加阿霉素，收集细胞，固定，洗涤，加碘化丙啶混合液，避光，过300目筛网，以488 nm波长为激发光检测，Macguit软件分析细胞周期．

统计学处理 数据以mean±SD表示，样本均数间的比较采用方差分析，两两比较采用q检验．用SPSS13.0统计软件包处理、分析数据．以P<0.05表示差异有统计学意义．

2 结果

2.1 肝癌组织HIF-1α表达与定位 免疫组织化学显示肝癌及癌周组织HIF-1α阳性表达呈棕黄色，颗粒状，主要定位于胞浆中，部分位于胞核．癌组织HIF-1α表达均匀，坏死区周围及浸润边缘HIF-1α表达增多(图1A)．癌旁近肿瘤边缘被压扁的组织条索中及中央静脉周围HIF-1α表达明显(图1B)．肝癌HIF-1α呈阳性表达28例占总数80%(+)-(++)，20%(7/35)未见表达；癌周组织HIF-1α全数表达，中等以上强度(++)-(+++)占71.4%(25/35)，癌周表达明显高于癌组织(χ^2 = 22.35，P<0.001，表1)．HIF-1α表达强度与分化程度负相关，高分化<中分化<低分化(P<0.05)，与肿瘤数目、HBsAg感染间均未见明显相关．

2.2 HIF-1α miRNA转染与鉴定 HIF-1α miRNA干扰质粒转染HepG2细胞，于转染后24 h镜下观察，成功转染的HepG2细胞发绿色荧光，转染效率达45%(图2)．

2.3 miRNA抑制*HIF-1α*基因转录 miRNA干扰HepG2细胞在转录水平上对HIF-1α表达抑制如

表 2 HIF-1α干扰后基因的Ct与△Ct值变化与比较 (n = 3)

分组	24 h			48 h			72 h		
	$Ct_{HIF-1\alpha}$	Ct_{GAPDH}	△Ct	$Ct_{HIF-1\alpha}$	Ct_{GAPDH}	△Ct	$Ct_{HIF-1\alpha}$	Ct_{GAPDH}	△Ct
空白	19.20	14.70	4.50	16.30	13.20	3.10	16.80	13.60	3.20
	19.30	14.80	4.50	16.00	12.90	3.10	16.80	13.20	3.60
	19.50	14.80	4.70	16.20	12.70	3.50	17.00	13.40	3.60
阴性	17.90	13.50	4.40	16.60	13.50	3.10	18.80	15.20	3.60
	18.30	13.30	5.00	16.70	13.00	3.70	18.80	15.00	3.80
	18.10	13.40	4.70	16.50	13.30	3.20	19.20	15.40	3.80
干扰	18.90	13.60	5.30	18.50	13.80	4.70	23.10	16.80	6.30
	18.90	13.80	5.10	18.30	13.60	4.70	23.50	16.70	6.80
	18.90	14.00	4.90	18.00	13.60	4.40	23.20	17.10	6.10

△Ct = Ct(HIF-1α)-Ct(GAPDH).

表 3 miRNA干扰后HIF-1α基因相对定量与效率 (n = 3)

分组	24 h			48 h			72 h		
	$\triangle Ct_{均值}$	△△Ct	$2^{-\triangle\triangle Ct}$	$\triangle Ct_{均值}$	△△Ct	$2^{-\triangle\triangle Ct}$	$\triangle Ct_{均值}$	△△Ct	$2^{-\triangle\triangle Ct}$
空白	4.57	0.00	1.00	3.23	0.00	1.00	3.47	0.00	1.00
阴性	4.70	0.13	0.91	3.30	0.10	0.93	3.73	0.27	0.83
干扰	5.10	0.53[a]	0.69	4.60	1.37	0.39[ac]	6.40	2.93	0.13[ace]

[a]P<0.05 *vs* 组内空白组; [c]P<0.05 *vs* 24 h干扰组; [e]P<0.05 *vs* 48 h干扰组. △△Ct = $\triangle Ct_{样本}-\triangle Ct_{空白}$, $2^{-\triangle\triangle Ct}$即为各组相对于空白组的干扰效率.

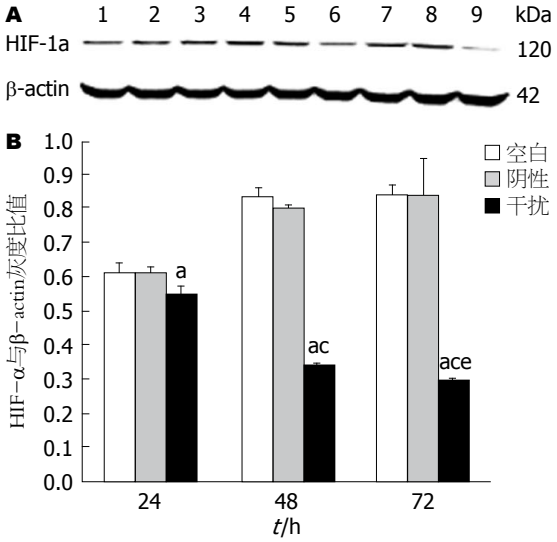


图 3 miRNA转染HepG2细胞HIF-1α蛋白表达. A: 24 h(1、2、3)、48 h(4、5、6)和72 h(7、8、9)的空白、阴性和干扰组; B: HIF-1α与β-actin灰度扫描比值, [a]P<0.05 *vs* 空白组; [c]P<0.05 *vs* 24 h组; [e]P<0.05 *vs* 48 h组.

表2. 与空白组相比, 转染HIF-1α miRNA后24、48和72 h, HepG2细胞中HIF-1α mRNA表达量($2^{-\triangle\triangle Ct}$)分别减少为0.69, 0.39和0.13, 抑制率分别为31%, 61%和87%(P值分别为0.007, 0.000和0.000); 且干扰效率依次递增(P<0.001). miRNA干扰后*HIF-1α*基因相对定量与效率如表3. 阴性组抑制率未见明显统计学差异. 阴性组抑制率分别为9%、7%和17%, 与空白组相比未见统计学明显差异(P值分别为0.297, 0.356和0.060).

2.4 miRNA抑制HIF-1α蛋白表达 miRNA对HepG2细胞HIF-1α蛋白表达的抑制作用如图3. 与空白组比, 转染HIF-1α miRNA干扰载体 48、72 h后HepG2细胞中HIF-1α蛋白表达明显减少(图3A), HIF-1α与β-actin灰度扫描比值显示HIF-1α表达量分别减少为空白组的0.85、0.41、0.35, 抑制率为15%、59%、65%(P值分别为0.024、0.000和0.000); 且蛋白表达率依次递减(P<0.05). 阴性组与空白组间未见明显统计学差异(图3B).

2.5 miRNA联合阿霉素对癌细胞增殖的影响

2.5.1 细胞周期改变: miRNA转染HepG2细胞48和72 h后, HepG2细胞周期时相均发生改变(表4). 干扰组G_0/G_1期比例明显高于空白组和阴性组(P<0.000), S期比例低于空白组和阴性组

■应用要点

TAE或TACE是晚期不可手术肝癌患者的疗法, 可阻断肿瘤血供引起坏死、萎缩, 但因造成缺氧, 诱导HIF-1α、VEGF等过表达, 导致侧支循环建立, 癌细胞逃逸, 残余癌迅速膨胀, 终使治疗失败. 联合HIF-1α沉默, 可逆转TAE致缺氧引起的HIF-1α、VEGF和增殖核抗原升高, 控制血管新生和癌细胞增殖, 抑制残余癌生长, 加强TAE疗效. 且HIF-1α沉默, 可逆转放化疗耐受, 可作为一种辅助策略应用于肝癌的治疗, 有应用前景.

■同行评价
本文结果可靠, 科学结论较明确, 实验证据较充足, 具有一定指导意义.

表 4 miRNA转染HepG2细胞周期时相的影响 (%)

分组		空白	阴性	miRNA	阿霉素	阿霉素+miRNA
48 h	G_0/G_1	37.91 ± 2.05	40.12 ± 1.64[a]	54.78 ± 1.64[a]	57.48 ± 0.71[a]	60.32 ± 1.20[ade]
	S	46.48 ± 2.44	43.75 ± 2.10[a]	28.43 ± 0.76[a]	27.31 ± 1.32[a]	24.24 ± 1.88[ace]
	G_2/M	15.61 ± 0.72	16.13 ± 0.68	16.79 ± 1.93	15.21 ± 0.77	15.44 ± 1.13
72 h	G_0/G_1	56.75 ± 1.13	57.43 ± 1.27[a]	61.49 ± 1.12[a]	61.95 ± 0.42[a]	65.68 ± 0.91[adf]
	S	26.14 ± 0.78	25.56 ± 1.21[a]	22.40 ± 0.58[a]	21.62 ± 1.19[a]	19.47 ± 1.34[ace]
	G_2/M	17.11 ± 0.36	17.01 ± 0.26	16.11 ± 1.41	16.43 ± 1.61	14.85 ± 2.07

[a]*P*<0.05 *vs* 空白组, G_0/G_1期$q_{48\,h}$ = 4.47, $q_{72\,h}$ = 5.50; [d]*P*<0.01 *vs* miRNA组, S期$q_{48\,h}$ = 3.51, $q_{72\,h}$ = 3.48, [c]*P*<0.05 *vs* miRNA组, G_0/G_1期$q_{48\,h}$ = 3.54, [e]*P*<0.05, $q_{72\,h}$ = 4.50; [f]*P*<0.01, S期$q_{48\,h}$ = 2.24, $q_{72\,h}$ = 2.48; [e]*P*<0.05 *vs* 阿霉素组.

表 5 miRNA转染促进HepG2细胞凋亡

分组	48 h凋亡(%)	*q*值	*P*值	72 h凋亡(%)	*q*值	*P*值
空白	3.80 ± 0.12			8.01 ± 0.71		
阴性	4.84 ± 0.23	2.10	0.062	9.38 ± 0.44	1.34	0.081
miRNA	15.49 ± 0.99[a]	23.65	0.000	22.46 ± 0.61[a]	14.44	0.000
阿霉素	15.91 ± 0.37[a]	24.50	0.000	27.52 ± 1.31[a]	19.51	0.000
阿霉素+miRNA	27.33 ± 0.94[abd]	47.40	0.000	36.99 ± 0.88[abd]	28.98	0.000

[a]*P*<0.05 *vs* 空白组; $q_{48\,h}$ = 23.75, $q_{72\,h}$ = 21.10, [b]*P*<0.01 *vs* miRNA组; $q_{48\,h}$ = 22.90, $q_{72\,h}$ =13.74, [d]*P*<0.01 *vs* 阿霉素组.

(*P*<0.000). 转染后48 h, 联合阿霉素组较阿霉素组G_0/G_1期比例增高(q = 0.10, P = 0.045), S期比例减低(q = 2.24, P = 0.049); 转染后72 h, 联合阿霉素组较阿霉素组G_0/G_1期比例同样增高(q = 4.50, P = 0.001), S期比例减低(q = 2.48, P = 0.033); 阴性组与空白组间未见统计学明显差异. 而G_2/M期比例, 各组间均未见统计学明显差异.

2.5.2 促进肝癌细胞凋亡: miRNA转染HepG2细胞48和72 h后, HepG2细胞凋亡率均明显增加(表5); 转染后48 h干扰组凋亡率为15.49%±0.99%, 阿霉素组凋亡率为15.91%±0.37%, 两者未见显著统计学差异, 而两者联合组凋亡率达27.33%±0.94%, 显著高于单用阿霉素组(q = 22.90, *P*<0.001); 72 h联合组凋亡率呈现同样改变(q = 13.74, *P*<0.001); 阴性组与空白组间未见显著统计学差异.

3 讨论

肝癌组织内HIF-1α表达水平异常升高, 肝癌组织及其周围组织中HIF-1α阳性表达呈棕黄色, 颗粒状, 主要定位于胞浆中, 部分位于胞核. 肝癌发生发展的早期阶段, HIF-1α在转录和蛋白水平上过表达, 癌前和癌变阶段在基因和蛋白表达上呈动态梯度增高[8]. 在人HCC癌灶组织中, 肿瘤坏死区周围及肿瘤浸润边缘HIF-1α表达增多; 癌旁组织中靠近肿瘤边缘被压扁的肝组织条索中及中央静脉周围HIF-1α表达明显, 癌周组织表达明显强于癌灶组织[9], 提示HIF-1α表达增强与癌周围组织的增生活跃密切相关.

HIF-1α调控VEGF和Ang-2[10,11]. 干扰HIF-1α后下调VEGF、Ang等, 显著抑制血管新生, 阻断肿瘤进展[12]. 干扰HIF-1α后, 随时间延长, HepG2细胞凋亡率逐渐增加, 且G_1期细胞明显增多, S期细胞显著减少, 阻断细胞有丝分裂, 从而抑制细胞增殖. 斯钙素(*STC-2*)启动子序列含有2个HIF-1α的结合位点, HIF-1α介导STC-2过表达可上调cyclin D的表达, 推动细胞G_1/S期转变, HIF-1α下调后STC-2表达也随之下调[13]. HIF-1α诱导髓样细胞因子、磷酸腺苷反应元件结合蛋白过表达, 降低Bax/Bcl-2比值, 抵抗凋亡; 干扰HIF-1α、bcl-2、bcl-xl下调, 抗凋亡能力减弱[14].

HIF-1α可诱导癌细胞周围间质成纤维细胞发生自噬, 实体瘤内巨噬细胞大量浸润及局部缺氧, 缺氧促使巨噬细胞介导的T细胞功能抑制效应增强, 靶向干扰巨噬细胞中HIF-1α, 明显抑制了移植瘤的生长[15]. 丝氨酸/苏氨酸激酶-15(STK-15)是细胞周期的重要调节因子、HIF-1α下游靶基因, 可编码一种中心体复制相关激

酶, 并具高水平的酪氨酸激酶活性, 参与调节、G_2/M期转换等, 干扰HIF-1α后, STK-15明显减少[16]. 阻断HIF-1α活化, 可显著增强化疗敏感性, 抑制肿瘤生长. HIF-1α可上调多重耐药基因*mdr1*, 下调Bax、caspase3表达, 抑制P53活性, 参与耐药形成; 干扰后可增强化疗药物诱导的凋亡, 逆转其化疗耐药[17,18]. HIF-1下调后, 提高化疗敏感性, 抑制肿瘤形成[19]. 阿霉素联合干扰, 凋亡率明显比单组高, 表明沉默HIF-1α可显著提高化疗敏感性.

TAE或TACE是晚期不可手术肝癌患者的疗法, 可阻断肿瘤血供引起坏死、萎缩, 但因造成缺氧, 诱导HIF-1α、VEGF等过表达, 导致侧支循环建立, 癌细胞逃逸, 残余癌迅速膨胀, 终使治疗失败[20]. 联合HIF-1α沉默, 可逆转TAE致缺氧引起的HIF-1α、VEGF和增殖核抗原升高, 控制血管新生和癌细胞增殖, 抑制残余癌生长, 加强TAE疗效. 且HIF -1α沉默, 可逆转放化疗耐受, 可作为一种辅助策略应用于肝癌的治疗, 具有应用前景[21].

4 参考文献

1 Yao DF, Jiang H, Yao M, Li YM, Gu WJ, Shen YC, Qiu LW, Wu W, Wu XH, Sai WL. Quantitative analysis of hepatic hypoxia-inducible factor-1alpha and its abnormal gene expression during the formation of hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 407-413 [PMID: 19666411]

2 Raza SA, Clifford GM, Franceschi S. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Br J Cancer* 2007; 96: 1127-1134 [PMID: 17406349 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603649]

3 van Malenstein H, Verslype C, Windmolders P, van Eijsden R, Nevens F, van Pelt J. Characterization of a cell culture model for clinically aggressive hepatocellular carcinoma induced by chronic hypoxia. *Cancer Lett* 2012; 315: 178-188 [PMID: 22088439 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.09.039]

4 Xiang ZL, Zeng ZC, Fan J, Tang ZY, He J, Zeng HY, Chang JY. The expression of HIF-1α in primary hepatocellular carcinoma and its correlation with radiotherapy response and clinical outcome. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 2021-2029 [PMID: 21647551 DOI: 10.1007/s11033-011-0949-1]

5 Jiao M, Nan KJ. Activation of PI3 kinase/Akt/HIF-1α pathway contributes to hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2012; 40: 461-468 [PMID: 21922131]

6 Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 537-547 [PMID: 21830968 DOI: 10.1056/NEJMra1011165]

7 姚登福, 邱历伟, 吴玮, 姚宁华, 李姗姗, 卞银珠. 血管内皮生长因子动态表达及干预对肝细胞癌变的影响. 中华医学杂志 2010; 90: 3014-3018

8 Li S, Yao D, Wang L, Wu W, Qiu L, Yao M, Yao N, Zhang H, Yu D, Ni Q. Expression characteristics of hypoxia-inducible factor-1α and its clinical values in diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon* 2011; 11: 821-828 [PMID: 22224081]

9 Huang C, Ding G, Gu C, Zhou J, Kuang M, Ji Y, He Y, Kondo T, Fan J. Decreased selenium-binding protein 1 enhances glutathione peroxidase 1 activity and downregulates HIF-1α to promote hepatocellular carcinoma invasiveness. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 3042-3053 [PMID: 22512980 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0183]

10 Sebastià J, Kieran D, Breen B, King MA, Netteland DF, Joyce D, Fitzpatrick SF, Taylor CT, Prehn JH. Angiogenin protects motoneurons against hypoxic injury. *Cell Death Differ* 2009; 16: 1238-1247 [PMID: 19444281 DOI: 10.1038/cdd.2009.52]

11 Simon MP, Tournaire R, Pouyssegur J. The angiopoietin-2 gene of endothelial cells is up-regulated in hypoxia by a HIF binding site located in its first intron and by the central factors GATA-2 and Ets-1. *J Cell Physiol* 2008; 217: 809-818 [PMID: 18720385 DOI: 10.1002/jcp.21558]

12 Kim TH, Hur EG, Kang SJ, Kim JA, Thapa D, Lee YM, Ku SK, Jung Y, Kwak MK. NRF2 blockade suppresses colon tumor angiogenesis by inhibiting hypoxia-induced activation of HIF-1α. *Cancer Res* 2011; 71: 2260-2275 [PMID: 21278237 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3007]

13 Chiche J, Rouleau M, Gounon P, Brahimi-Horn MC, Pouysségur J, Mazure NM. Hypoxic enlarged mitochondria protect cancer cells from apoptotic stimuli. *J Cell Physiol* 2010; 222: 648-657 [PMID: 19957303]

14 Torii S, Goto Y, Ishizawa T, Hoshi H, Goryo K, Yasumoto K, Fukumura H, Sogawa K. Pro-apoptotic activity of inhibitory PAS domain protein (IPAS), a negative regulator of HIF-1, through binding to pro-survival Bcl-2 family proteins. *Cell Death Differ* 2011; 18: 1711-1725 [PMID: 21546903 DOI: 10.1038/cdd.2011.47]

15 Thomas S, Harding MA, Smith SC, Overdevest JB, Nitz MD, Frierson HF, Tomlins SA, Kristiansen G, Theodorescu D. CD24 is an effector of HIF-1-driven primary tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2012; 72: 5600-5612 [PMID: 22926560 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3666]

16 Klein A, Flügel D, Kietzmann T. Transcriptional regulation of serine/threonine kinase-15 (STK15) expression by hypoxia and HIF-1. *Mol Biol Cell* 2008; 19: 3667-3675 [PMID: 18562694 DOI: 10.1091/mbc.E08-01-0042]

17 Lau CK, Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Yeoh GC, Poon RT, Fan ST. An Akt/hypoxia-inducible factor-1alpha/platelet-derived growth factor-BB autocrine loop mediates hypoxia-induced chemoresistance in liver cancer cells and tumorigenic hepatic progenitor cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3462-3471 [PMID: 19447872 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2127]

18 Brökers N, Le-Huu S, Vogel S, Hagos Y, Katschinski DM, Kleinschmidt M. Increased chemoresistance induced by inhibition of HIF-prolyl-hydroxylase domain enzymes. *Cancer Sci* 2010; 101: 129-136 [PMID: 19817749 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01367.x]

19 Kasuya K, Tsuchida A, Nagakawa Y, Suzuki M, Abe Y, Itoi T, Serizawa H, Nagao T, Shimazu M, Aoki T. Hypoxia-inducible factor-1α expression and gemcitabine chemotherapy for pancreatic cancer.

Oncol Rep 2011; 26: 1399-1406 [PMID: 21922147]
20 Chen C, Wang J, Liu R, Qian S. RNA interference of hypoxia-inducible factor-1 alpha improves the effects of transcatheter arterial embolization in rat liver tumors. *Tumour Biol* 2012; 33: 1095-1103 [PMID: 22407533 DOI: 10.1007/s13277-012-0349-8]
21 Sun X, Jiang H, Jiang X, Tan H, Meng Q, Sun B, Xu R, Krissansen GW. Antisense hypoxia-inducible factor-1alpha augments transcatheter arterial embolization in the treatment of hepatocellular carcinomas in rats. *Hum Gene Ther* 2009; 20: 314-324 [PMID: 19327024 DOI: 10.1089/hum.2008.164]

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》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2945-2949
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术对肥胖型2型糖尿病糖代谢的影响

雒洪志, 陈 宏, 王 尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延

雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延, 中山市人民医院普外三科 广东省中山市 528400
雒洪志, 副主任医师, 主要从事胃肠外科的基础与临床研究.
作者贡献分布: 雒洪志与陈宏对此文所作贡献均等; 此课题由雒洪志设计; 研究过程由雒洪志与陈宏操作完成; 指标监测与统计由王尧与邓辉洲完成; 数据分析由郭志刚与李继延完成; 本论文写作雒洪志完成.
通讯作者: 雒洪志,, 副主任医师, 528400, 广东省中山市孙文东路2号, 中山市人民医院普外三科. luo72cn@sina.com
电话: 0760-89880325
收稿日期: 2013-06-15 修回日期: 2013-08-22
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus

Hong-Zhi Luo, Hong Chen, Yao Wang, Hui-Zhou Deng, Zhi-Gang Guo, Ji-Yan Li

Hong-Zhi Luo, Hong Chen, Yao Wang, Hui-Zhou Deng, Zhi-Gang Guo, Ji-Yan Li, Department of General Surgery, the People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528400, Guangdong Province, China
Correspondence to: Hong-Zhi Luo, Department of General Surgery, the People's Hospital of Zhongshan City, 2 Sunwen East Road, Zhongshan 528400, Guangdong Province, China. luo72cn@sina.com
Received: 2013-06-15 Revised: 2013-08-22
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass (LRYGB) on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus.

METHODS: Twenty obese patients with type 2 diabetes mellitus underwent LRYGB. Fasting blood glucose (FBG), 2-hour postprandial blood glucose (2 h PBG), C peptide (C-P), glycosylated hemoglobin (HbA1C) and fasting insulin (Fins) were recorded before surgery and at the 1st, 4th, 8th, 12th, and 24th week after surgery. Insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated and compared.

RESULTS: LRYGB was successful in all the patients, without intraoperative complications or conversion to open surgery. FBG decreased from 11.25 mmol/L ± 3.36 mmol/L before surgery to 6.21 mmol/L ± 0.52 mmol/L at the 24th week after surgery ($P < 0.05$), 2 h PBG from 15.33 mmol/L ± 2.54 mmol/L to 8.78 mmol/L ± 1.51 mmol/L ($P < 0.05$), HbA1C from 9.05% ± 1.27% to 6.53% ± 0.58% ($P < 0.05$), HOMA-IR from 7.16 ± 0.65 to 3.84 ± 0.47 ($P < 0.05$), and Fins increased from 11.24 mU/L ± 0.98 mU/L to 12.03 mU/L ± 0.75 mU/L ($P > 0.05$). The total effective rate was 100%, the recovery rate was 85%, and the improvement rate was 15%.

CONCLUSION: LRYGB can significantly reduce plasma glucose levels and improve glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Roux-en-Y gastric bypass; obese; Type 2 diabetes mellitus; Glucose metabolism

Luo HZ, Chen H, Wang Y, Deng HZ, Guo ZG, Li JY. Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on glucose metabolism in obese patients with type 2 diabetes mellitus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2945-2949 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2945.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2945

摘要

目的: 观察腹腔镜下Roux-en-Y胃空肠转流术(laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, LRYGB)对肥胖型2型糖尿病的糖代谢影响.

方法: 以20例肥胖型2型糖尿病患者作为研究对象, 实施LRYGB, 测定患者术前1 wk及术后第1、4、8、12、24周空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、餐后2 h血糖(2 h PBG)、糖化血红蛋白(HbA1C)、空腹血清胰岛素(fasting insulin, Fins)的含量, 并比较胰岛素抵抗指数(HOMA-IR = FBG×Fins/22.5)的变化情况.

■背景资料
随着肥胖症的发病率逐年增高, 由肥胖引发的2型糖尿病正日益威胁着人类的健康, 对重度肥胖型2型糖尿病患者, 内科治疗效果不甚理想, 目前比较经典的全身减肥手术有胃空肠转流术、胃束带手术和胃缩小手术三种腹腔镜手术, 近年来兴起的腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术治疗肥胖型2型糖尿病尚存争议, 所以对该术式对患者糖代谢的变化情况, 作出评判, 为肥胖型2型糖尿病的手术治疗提供理论依据尤其重要.

■同行评议者
蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科; 智绪亭, 教授, 山东大学齐鲁医院普外科

■研发前沿
对于腹腔镜胃空肠转流术治疗糖尿病的机制目前尚无定论，有研究者认为胃空肠转流术通过胃肠改道，让十二指肠及近端空肠旷置，减少食物刺激和消化液分泌，延迟碳水化合物吸收，也有研究者认为其是可显著改善餐后胃肠道激素所致的糖代谢变化，目前比较热门学说是术后糖尿病的早期治愈与消化系重建后肠-胰岛轴的激素变化密切相关.

结果: 20例患者手术顺利，均无术中并发症的发生及中转开腹. 术后24 wk患者FBG由术前11.25 mmol/L±3.36 mmol/L下降到6.21 mmol/L±0.52 mmol/L(P<0.05)、2 h PBG由术前15.33 mmol/L±2.54 mmol/L下降到8.78 mmol/L±1.51 mmol/L(P<0.05)、HbA1C由术前9.05%±1.27%下降到6.53%±0.58%(P<0.05)、Fins由术前11.24 mU/L±0.98 mU/L微升至12.03 mU/L±0.75 mU/L(P>0.05)、HOMA-IR由术前7.16±0.65下降到3.84±0.47(P<0.05); 总体有效率为100%, 其中治愈率为85%(17/20), 好转率15%(3/20).

结论: 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术可以显著降低肥胖型2型糖尿病的血糖水平，改善糖代谢状态.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 胃空肠转流术; 肥胖; 2型糖尿病; 糖代谢

核心提示: 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术可以显著降低肥胖型2型糖尿病的血糖水平，改善糖代谢状态.

雒洪志, 陈宏, 王尧, 邓辉洲, 郭志刚, 李继延. 腹腔镜Roux-en-Y胃空肠转流术对肥胖型2型糖尿病糖代谢的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2945-2949 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2945.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2945

0 引言

目前, 随着人们生活水平的提高, 肥胖正日益威胁着人类的健康, 而由肥胖引发的2型糖尿病发病率逐年增高. Roux-en-Y胃空肠转流术(laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, RYGB)治疗肥胖型2型糖尿病已得到大家的肯定[1,2], 腹腔镜下胃旁路手术最早由美国外科医生Wittgrove[2]于1994年首先报告, 是目前最有效的减肥手术之一[3-6]. 本研究采用腹腔镜Roux-en-Y胃旁路术治疗肥胖型2型糖尿病, 观察患者术前及术后糖代谢的变化情况, 评判其临床疗效, 为肥胖型2型糖尿病的手术治疗提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-08/2012-06于我院接受LRYGB手术的肥胖型2型糖尿病患者20例, 其中男12例, 女8例; 年龄23-55岁, 平均年龄45岁; 术前平均体质量指数(body mass index, BMI)为32.5 kg/m^2±2.4 kg/m^2, 平均空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)为11.25 mmol/L±3.36 mmol/L, 餐后2 h血糖(2 h PBG)平均为15.33 mmol/L±2.54 mmol/L, 糖化血红蛋白(HbA1C)平均为9.05%±1.27%, 空腹血清胰岛素(Fins)平均为11.24 mU/L±0.98 mU/L, 胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)平均为7.16±0.65. 入选标准: 符合以下条件: (1)符合1999年WHO的T2DM诊断标准(空腹血糖>7.11 mmol/L和/或餐后2 h血糖> 11.11 mmol/L), 自愿接受RYGB手术患者; (2)年龄<60岁; (3)病程<15年; (4)胰岛储备功能接近正常, 空腹血清C肽≥2. 排除标准: (1)胰岛素抗体阳性患者; (2)胰岛储备功能异常, 空腹血清C肽<正常值1/3以下; (3)病程>15年; (4)患者心功能、肝功能、肾功能较差, 无法耐受手术; (5)合并恶性肿瘤患者; (6)严重的糖尿病并发症患者.

1.2 方法

1.2.1 手术: 常规术前准备, 全身麻醉下行RYGB, 腹腔镜下悬吊肝脏左外叶, 显露贲门. 超声刀切开肝胃韧带, 于贲门下3 cm左右使用腔镜直线型切割吻合器从小弯侧置入, 切割胃制作胃小囊, 容量控制在30-50 mL. 距Treitz韧带以下100 cm处, 使用直线型切割吻合器切断空肠, 在结肠前用直线型切割吻合器行胃空肠Roux-en-Y吻合, 从胃空肠吻合口向下100 cm行空肠侧侧吻合.

1.2.2 分析指标: 测定患者术前1周及术后第1、4、8、12、24周FBG、2 h PBG、HbA1C、Fins的含量, 并比较胰岛素抵抗指数(HOMA-IR = FBG×Fins/22.5)的变化情况.

1.2.3 疗效判定(WHO1999年标准): 治愈: 随机血糖<11.1 mmol/L, FBG<7 mmol/L; 好转: 血糖值降低<50%(术前血糖值-治愈标准值); 无效: 血糖值降低<25%(术前血糖值-治愈标准值).

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计学处理, 数据以mean±SD表示, 比较采用配对t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

手术结果20例患者手术顺利, 均无术中并发症的发生及中转开腹.

术后24 wk患者FBG由术前11.25 mmol/L±3.36 mmol/L下降到6.21 mmol/L±0.52 mmol/L(P<0.05)、2 h PBG由术前15.33 mmol/L±2.54 mmol/L下降到8.78 mmol/L±1.51 mmol/

表 1 患者术前与术后各指标比较

时间	FBG(mmol/L)	2 h PBG(mmol/L)	HbA1C(%)	Fins(mU/L)	HOMA-IR
术前	11.25±3.36	15.33±2.54	9.05±1.27	11.24±0.98	7.16±0.65
术后1 wk	9.34±2.51	12.33±3.71	8.32±1.17	11.57±0.48	6.89±0.72
术后4 wk	7.56±3.23	8.45±2.70	7.05±0.85	10.33±0.56	6.23±0.51
术后8 wk	6.69±1.74	9.52±1.06	7.21±0.53	11.55±0.34	5.75±0.13
术后12 wk	6.11±2.63	8.31±1.88	6.34±0.62	11.63±0.57	4.28±0.50
术后24 wk	6.21±0.52	8.78±1.51	6.53±0.58	12.03±0.75	3.84±0.47

FBG: 空腹血糖; 2 h PBG: 餐后2 h血糖; HbA1C: 糖化血红蛋白; Fins: 空腹血清胰岛素; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数.

■相关报道
腹腔镜下胃旁路手术最早由美国外科医生Wittgrove于1994年首先报告, 国内学者杨景哥、王存川等较早于2004年将腹腔镜胃空肠转流术应用于2型糖尿病的治疗, 取得较好疗效, 是目前最有效的减肥手术之一.

L(P<0.05)、HbA1C由术前9.05%±1.27%下降到6.53%±0.58%(P<0.05)、Fins由术前11.24 mU/L±0.98 mU/L至12.03 mU/L±0.75 mU/L(P>0.05)、HOMA-IR由术前7.16±0.65下降到3.84±0.47(P<0.05)(表1)

2.3 疗效评价 总体有效率(治愈率+好转率)为100%, 其中治愈率为85%(17/20); 好转率15%(3/20).

3 讨论

近年来, 由肥胖引发的2型糖尿病正日益威胁着人类的健康, 而目前的非手术治疗包括控制饮食、口服降糖药物及注射胰岛素等方式由于费用昂贵、患者依从性较差等导致血糖控制不理想[7], 最终导致糖尿病加重及各种严重并发症的发生[8]. 在2008-09在纽约召开的全球第一届手术治疗2型糖尿病峰会上, 美国食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)、美国糖尿病协会(American Diabetes Association, ADA)及与会专家就LRYGB用于2型糖尿病患者的治疗达成共识治疗, 并被纳入美国糖尿病协会2009年糖尿病治疗指南[9].

对于LRYGB治疗糖尿病的机制目前尚无定论, Hussain等[10]提出胃空肠转流术通过胃肠改道, 让十二指肠及近端空肠旷置, 减少食物刺激和消化液分泌, 延迟碳水化合物吸收, 更为重要的是可显著改善餐后胃肠道激素所致的糖代谢变化, 目前这一观点得到公认. 目前比较热门学说是术后糖尿病的早期治愈与消化系重建后肠-胰岛轴的激素变化密切相关, Rubino等[11]认为“前肠”(十二指肠和近端空肠)在2型糖尿病发病机制中起着重要作用, 即“前肠假说”, “前肠”被排除出胰岛轴后可以直接治疗糖尿病, 这些治疗作用可能与一些胃肠道激素如胰岛素生长因子-1、葡萄糖依赖性促胰岛素多肽、胰高血糖素样多肽-1、胆囊收缩素等相关[12,13]. LRYGB是目前手术治疗糖尿病的首选术式, 国内[14]外研究均已证明LRYGB可以明显降低肥胖型2型糖尿病患者的空腹血糖、餐后血糖、糖化血红蛋白[15]、血清胰岛素的水平[16], 改善眼底病变、手足麻木等糖尿病并发症[17].

本研究共有20例肥胖型糖2型尿病患者接受LRYGB手术治疗, 均无术中并发症的发生及中转开腹, 说明该术式安全可靠, 但该术式对手术者的技术要求较高, 手术者必须具有熟练的胃肠道腹腔镜操作基础, 尤其必须熟练腔镜下缝合打结[18]. LRYGB手术操作复杂, 学习曲线陡峭, 在学习曲线内发生并发症的临床处理棘手[19], 这点应引起初学者的足够重视; 在患者选择上, 目前国内和国外的指征尚存争议, 我们参考近年来的国内外相关研究, 认为结合中国人的体型和营养状态, 患者必须符合1999年WHO的2型糖尿病的诊断标准(空腹血糖> 7.11 mmol/L和/或餐后2 h血糖>11.11 mmol/L)、BMI≥28.5 kg/m^2, 且患者具有强烈的手术意愿.

本研究发现术后24 wk FPG、2 h PG、HbA1C和HOMA-IR与术前相比均明显下降, 但Fins在手术前后变化不大, 表明本术式能显著改善患者的胰岛素抵抗性, 且对血清胰岛素水平无显著影响, 这与国内多数学者[20-22]的研究结果近似.

本研究中总体治疗有效率为100%, 其中治愈率为85%, 好转率15%, 与黄致锟[23]研究结果相近. 研究中也发现部分患者术前有糖尿病合并症, 如高血压[24]、糖尿病眼病、糖尿病周围神经病变等在术后其症状均有不同程度的改善. 我们同时发现 术前越肥胖的患者、糖尿病病程较短的患者在术后血糖更易控制, 减重效果愈理想, 这与Hall等[25]的研究结果类似, 可能提示

■应用要点

肥胖型2型糖尿病患者目前的非手术治疗包括控制饮食、口服降糖药物及注射胰岛素等方式由于费用昂贵、患者依从性较差等导致血糖控制不理想, 最终导致糖尿病加重及各种严重并发症的发生, 如接受腹腔镜胃空肠转流术, 大多数患者完全可以摈弃胰岛素注射, 获得彻底终生有效治愈效果, 大大节约社会医疗费用.

对较肥胖的糖尿病患者, 应尽早进行手术干预.

虽然目前相关研究已证实LRYGB可治愈大部分肥胖型2型糖尿病, 但我们认为其作为糖尿病的一种新的、激进的治疗手段, 其术中Roux袢留置长度尚存争议, Lee等[26]认为, Roux袢长度100-150 cm时, Roux袢长度与患者术后1年BMI改变、体质量绝对减少量之间存在线性对应关; Freeman[27]报道, 在Roux袢长度≥180 cm时易出现顽固性腹泻, 而Sugerman[28]的研究表明Roux袢长度≥250 cm时易出现营养障碍. 另外, 对一些术后并发症[29], 如切口感染、吻合口溃疡、吻合口漏、肠梗阻等应引起足够重视. 长期疗效如何、是否有残胃癌变、营养不良发生率[30]等均有待进一步进行多中心合作、长期随访与回顾性统计分析.

4 参考文献

1 Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 1724-1737 [PMID: 15479938 DOI: 10.1001/jama.292.14.1724]

2 Wittgrove AC, Clark GW, Schubert KR. Laparoscopic Gastric Bypass, Roux-en-Y: Technique and Results in 75 Patients With 3-30 Months Follow-up. *Obes Surg* 1996; 6: 500-504 [PMID: 10729899 DOI: 10.1381/096089296765556412]

3 Mason EE, Ito C. Gastric bypass in obesity. *Surg Clin North Am* 1967; 47: 1345-1351 [PMID: 6073761]

4 Patriti A, Aisa MC, Annetti C, Sidoni A, Galli F, Ferri I, Gullà N, Donini A. How the hindgut can cure type 2 diabetes. Ileal transposition improves glucose metabolism and beta-cell function in Goto-kakizaki rats through an enhanced Proglucagon gene expression and L-cell number. *Surgery* 2007; 142: 74-85 [PMID: 17630003 DOI: 10.1016/j.surg.2007.03.001]

5 Bult MJ, van Dalen T, Muller AF. Surgical treatment of obesity. *Eur J Endocrinol* 2008; 158: 135-145 [PMID: 18230819 DOI: 10.1530/EJE-07-0145]

6 DePaula AL, Macedo AL, Rassi N, Machado CA, Schraibman V, Silva LQ, Halpern A. Laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus for patients with a body mass index less than 35. *Surg Endosc* 2008; 22: 706-716 [PMID: 17704886 DOI: 10.1007/S00464-007-9472-9]

7 Detournay B, Cros S, Charbonnel B, Grimaldi A, Liard F, Cogneau J, Fagnani F, Eschwège E. Managing type 2 diabetes in France: the ECODIA survey. *Diabetes Metab* 2000; 26: 363-369 [PMID: 11119015]

8 Smith BR, Schauer P, Nguyen NT. Surgical approaches to the treatment of obesity: bariatric surgery. *Med Clin North Am* 2011; 95: 1009-1030 [PMID: 21855705 DOI: 10.1016/J.mcna.2011.06.010]

9 Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2010; 251: 399-405 [PMID: 19934752 DOI: 10.1097/SLA.Ob013e318be34e7]

10 Hussain A, Mahmood H, El-Hasani S. Can Roux-en-Y gastric bypass provide a lifelong solution for diabetes mellitus? *Can J Surg* 2009; 52: E269-E275 [PMID: 20011163]

11 Rubino F, Gagner M. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2002; 236: 554-559 [PMID: 12409659 DOI: 10.1097/00000658-200211000-00003]

12 Oliván B, Teixeira J, Bose M, Bawa B, Chang T, Summe H, Lee H, Laferrère B. Effect of weight loss by diet or gastric bypass surgery on peptide YY3-36 levels. *Ann Surg* 2009; 249: 948-953 [PMID: 19474685 DOI: 10.1097/SLA.Ob013e3181a6cdbo]

13 Drucker DJ. The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2007; 117: 24-32 [PMID: 17200703 DOI: 10.1172/JCI30076]

14 李磊, 郑成竹. 胃大部切除毕Ⅱ式胃空肠吻合对2型糖尿病的疗效分析. 中国微创外科杂志 2008, 8: 951-953

15 Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg* 1995; 222: 339-350; discussion 350-352 [PMID: 7677463 DOI: 10.1097/00000658-199509000-00011]

16 Cummings DE, Flum DR. Gastrointestinal surgery as a treatment for diabetes. *JAMA* 2008; 299: 341-343 [PMID: 18212321 DOI: 10.1001/Jama.299.3.341]

17 Pories WJ, MacDonald KG, Flickinger EG, Dohm GL, Sinha MK, Barakat HA, May HJ, Khazanie P, Swanson MS, Morgan E. Is type II diabetes mellitus (NIDDM) a surgical disease? *Ann Surg* 1992; 215: 633-642; discussion 643 [PMID: 1632685]

18 保健明, 徐斌勇, 尹梅. 胃转流手术治疗Ⅱ型糖尿病的治疗体会. 昆明医学院学报 2010; 10: 89-92

19 Schauer PR, Ikramuddin S, Gourash W, Ramanathan R, Luketich J. Outcomes after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. *Ann Surg* 2000; 232: 515-529 [PMID: 10998650 DOI: 10.1097/00000658-200010000-00007]

20 高羽, 童卫东, 刘宝华, 张安平, 李凡, 李春穴, 王李. 全腹腔镜胃转流术治疗肥胖型和非肥胖型2型糖尿病的疗效分析. 河北医学 2012; 18: 1191-1194

21 杨景哥, 王存川, 黄璟, 胡友主, 李进义, 潘运龙, 刘贤明, 俞春亮, 沈莹莹, 喻海波. 腹腔镜Roux-en-Y胃旁路术治疗2型糖尿病.南方医科大学学报 2010: 30: 1373-1375

22 张玉新, 吴良平, 戴晓江, 唐新智, 康慧鑫. 腹腔镜下胃转流术治疗2型糖尿病临床疗效评价. 局解手术学杂志 2011; 20: 296-297

23 黄致锟. 腔镜下Roux-en-Y胃旁路术在非病态肥胖患者2型糖尿病治疗中的应用价值. 中国医学科学院学报 2011; 33: 272-276

24 Yan E, Ko E, Luong V, Wang HJ, Romanova M, Li Z. Long-term changes in weight loss and obesity-related comorbidities after Roux-en-Y gastric bypass: a primary care experience. *Am J Surg* 2008; 195: 94-98 [PMID: 18082548 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.01.036]

25 Hall TC, Pellen MG, Sedman PC, Jain PK. Preoperative factors predicting remission of type 2 diabetes mellitus after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity. *Obes Surg* 2010; 20: 1245-1250 [PMID: 20524158 DOI: 10.1007/s11695-010-0198-8]

26 Lee S, Sahagian KG, Schriver JP. Relationship between varying Roux limb lengths and weight loss

in gastric bypass. *Curr Surg* 2006; 63: 259-263 [PMID: 16843777 DOI: 10.1016/j.cursur.2006.05.001]
27 Freeman JB, Kotlarewsky M, Phoenix C. Weight loss after extended gastric bypass. *Obes Surg* 1997; 7: 337-344 [PMID: 9730521 DOI: 10.1381/096089297765555593]
28 Sugerman HJ, Kellum JM, DeMaria EJ. Conversion of proximal to distal gastric bypass for failed gastric bypass for superobesity. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 517-524; discussion 524-526 [PMID: 9834387 DOI: 10.1016/s1091-255x(97)80067-4]
29 刘斌, 王瑜. 正确认识胃旁路术后并发症. 中国现代普通外科进展 2010; 13: 806-808
30 Fujioka K. Follow-up of nutritional and metabolic problems after bariatric surgery. *Diabetes Care* 2005; 28: 481-484 [PMID: 15677821 DOI: 10.2337/diacare.28.2.481]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文结合国内外相关研究立题, 观点新颖, 论据充分, 结论可信, 是一篇学术价值较高的专业论文, 对临床糖尿病的治疗具有较大的指导价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》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10月8日; 21(28): 2950-2956
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

S-1治疗进展期胃癌的研究进展

杨 健, 周 炎, 陈锦飞

■背景资料
我国为胃癌高发区, 近50%的患者确诊时已为局部晚期或远处转移. 化疗是进展期胃癌治疗不可或缺的手段, 人们也不断寻求着高效低毒的化疗药物. S-1作为在胃癌治疗经典药物-5-氟尿嘧啶基础上研发的新药, 其使用安全性、有效性及适用性被广泛探讨.

杨健, 周炎, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤科 江苏省宜兴市 214200
陈锦飞, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤内科 江苏省南京市 210006
杨健, 住院医师, 主要从事消化系肿瘤的诊治.
作者贡献分布: 杨健与周炎完成综述; 陈锦飞审校.
通讯作者: 陈锦飞, 主任医师, 210006, 江苏省南京市秦淮区长乐路68号, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤内科.
jinfeichen@sohu.com

收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-15
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Role of S-1 in treatment of advanced gastric cancer

Jian Yang, Yan Zhou, Jin-Fei Chen

Jian Yang, Yan Zhou, Department of Oncology, the Affiliated Yixing Hospital of Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China
Jin-Fei Chen, Department of Oncology, the Affiliated Nanjing First Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Jin-Fei Chen, Chief Physician, Department of Oncology, the Affiliated Nanjing First Hospital of Nanjing Medical University, 68 Changle Road, Qinhuai District, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. jinfeichen@sohu.com

Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-15
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract
Gastric cancer is the fourth most common malignancy worldwide. More than 50% of gastric cancer patients have unresectable disease at diagnosis, and there is a high rate of local or distant recurrence, even in patients with an operable tumor. Chemotherapy is regarded as a significant and basic treatment that can provide a longer symptom-free period and improve quality of life. S-1 is a novel oral derivative of 5-FU. Compared with 5-FU, S-1 is more tolerable and effective, and will be more convenient to use for patients with advanced gastric cancer. Recent phase II randomized trials of S-1 based chemotherapy have achieved encouraging results with regard to objective response rate and overall survival. This paper aims to review the efficacy of S-1 in treating advanced gastric cancer, molecular markers that can predict efficacy, and the prospect for therapy with S-1 in combination with new chemotherapeutic drugs or molecularly targeted drugs.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: S-1; Gastric cancer; Chemotherapy

Yang J, Zhou Y, Chen JF. Role of S-1 in treatment of advanced gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2950-2956 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2950.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2950

摘要
在世界范围内胃癌为第4大常见恶性肿瘤, 我国亦为高发区, 且在确诊时, 约50%的患者已为局部进展或有远处转移, 失去了手术机会. 全身的系统性化疗能够显著延长患者的无进展生存期和总生存时间, 提高生存质量. S-1为口服氟尿嘧啶类新药, 与5-氟尿嘧啶(fluorouracil, 5-FU)安全性、耐受性良好的特点, 且使用方便. 近来一些Ⅱ、Ⅲ期随机临床试验对以S-1为基础的方案进行了研究, 也取得了令人鼓舞的客观缓解率、总生存率. 本文旨在综述S-1在治疗进展期胃癌的疗效、预测疗效相关分子标志物, 并展望S-1与新一代化疗药物、分子靶向药物联合治疗胃癌的前景.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: S-1; 胃癌; 化疗

核心提示: S-1无论单药还是联合其他化疗药物、靶向治疗药物, 均显示出了较高的疗效. 随着对S-1疗效相关分子标志物的不断研究, 相关的基因监测能更好地指导S-1的临床应用.

杨健, 周炎, 陈锦飞. S-1治疗进展期胃癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2950-2956 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2950.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2950

■同行评议者
王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

0 引言
在世界范围内胃癌为第4大常见恶性肿瘤, 死亡

率居所有恶性肿瘤第2位. 2008年全球胃癌新发病例数为989600[illegible]亡病例数为738000[illegible]. 不同国家甚至同一国家的不同地区胃癌发病差异大, 高、低发区发病率相差近10倍. 胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 居各类癌症病死率的第一位, 严重威胁人民健康. 目前手术是治疗胃癌最有效的手段, 但大多数患者最终因为肿瘤局部复发或远处转移而死亡. 且在确诊时, 约50%的患者已为局部进展或有远处转移, 失去了手术机会. 对于这类患者, 单纯的最佳支持治疗只有3-5 mo的中位生存时间[2,3].

化疗在进展期胃癌治疗中具有重要地位, 相对于最佳支持治疗, 全身的系统性化疗能够显著延长患者的无进展生存期和总生存时间, 提高生活质量[4,5]. 第一代化疗方案代表为FAM方案(5-FU、多柔比星、丝裂霉素), 此方案不良反应大, 临床已将其淘汰. 第二代化疗方案主要有FAMTX方案(5-FU、多柔比星、甲氨蝶呤)、FP方案(5-FU、顺铂)、ELF方案(依托泊苷VP-16、甲酰四氢叶酸、5-FU)、ECF方案(表柔比星、顺铂、5-FU)等, 有效率为30%-40%. 以上方案在随机对照的III期临床试验中, 仅ECF方案被证实具有可比有效性[6], 已被NCCN指南列为进展期胃癌一线治疗方案之一. 而该方案中位总生存时间约为9-10 mo, 且存在较大毒性, 亚洲地区人种往往不能耐受, 在日本, 仍提倡两药联合方案用于治疗进展期胃癌. 故目前世界范围内缺乏治疗进展期胃癌的标准化疗方案. 高效低毒的联合化疗方案亟待证实. 自2005年以来, 新的化疗药物不断被应用于进展期胃癌的治疗, 临床新药主要包括: 口服氟尿嘧啶类药物、第三代铂类、紫杉类药物以及拓扑异构酶I抑制剂. 氟尿嘧啶作为胃癌治疗的基础药物, 经改良为口服制剂, 提高疗效、降低毒性, 且方便使用, 在临床上被广泛应用.

S-1即为口服氟尿嘧啶类新药, 由5-FU前体药物替加氟(Tegafur, FT)及生化调节剂吉美嘧啶(Gimeracil, CDHP)、黏膜保护剂奥替拉西钾(Potassium oxonate, OXO)混合而成. FT在体内经P-450酶作用生成5-FU[7], 肝内二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD)可使5-FU失活. 而CDHP是一种DPD抑制剂, 能减缓5-FU的分解代谢, 明显提高5-FU的血药浓度[8,9]. OXO可抑制胃肠道内氟尿嘧啶磷酸化, 从而降低FU的胃肠道毒性[10]. 近来一些Ⅱ期随机临床试验对以S-1为基础的方案进行了研究, 也取得了令人鼓舞的客观缓解率、总生存. 例如Koizumi等[11]以S-1联合顺铂方案治疗进展期胃癌患者, 获得了76%的客观缓解率和383 d的中位总生存时间. 本文旨在综述S-1在治疗进展期胃癌的疗效、预测疗效相关分子标志物, 并展望S-1与新一代化疗药物、分子靶向药物联合治疗胃癌的前景.

■研发前沿
近年来针对胃癌高效低毒的联合化疗方案亟待证实. 临床新药主要包括: 口服氟尿嘧啶类药物、第3代铂类、紫杉类药物以及拓扑异构酶Ⅰ抑制剂. S-1为改良口服氟尿嘧啶类药物, 如何在临床合理应用, 以提高疗效, 改善患者生活治疗, 被广泛研究.

1 S-1单药治疗进展期胃癌的疗效与安全性

S-1单药治疗进展期胃癌患者的疾病控制率约为21%-44%, 中位无进展生存时间(progress free survival, PFS)约为3.9-5.7 mo, 中位总生存时间(overall survival, OS)约为10.8-15.7 mo, 主要III-Ⅳ度血液学不良反应为中性粒细胞减少、贫血, 发生率在5%-10%、10%-20%, III-Ⅳ度非血液学毒性反应主要为乏力、厌食、恶心等, 发生率低[12,13]. 研究表明, S-1单药一线治疗老年进展期胃癌患者的疗效较为可靠、不良反应轻[14]. 但随着年龄的增长, 有效率、PFS、OS逐步降低[15].

近年来, S-1均采用每日给药方案. 但已有文献证实, S-1隔日给药比每日给药能减轻不良反应, 并且能获得较好的临床疗效[16]. 一项前瞻性研究发现在对进展期胃癌的治疗中, S-1隔日给药能获得25%的客观缓解率(overall response ratio, ORR), 及338 d的OS[17]. 在小鼠模型研究中, S-1隔日给药方式与S-1每日给药方式在对肿瘤生长的抑制疗效类似[18]. 对于S-1给药方式值得进一步商榷.

2 以S-1为基础的化疗方案治疗进展期胃癌的疗效及安全性

2.1 S-1联合铂类 在日本, 已把S-1联合顺铂作为一线治疗进展期胃癌的标准方案[19]. 该方案ORR为45%-74%, 中位PFS为5.2-7.8 mo, 中位OS为11-19 mo. III-Ⅳ度不良反应主要有: 中性粒细胞减少16.7%-29%, 贫血10%-20%, 厌食12%-30%, 恶心7%-20%, 乏力6%-13%[20,21].

由于S-1联合顺铂方案存在较大的不良反应, 一些研究尝试S-1联合低剂量顺铂治疗方案, Tsuji等[22]采用S-1 80 mg/(m^2·d), 分两次使用, 顺铂6 mg/(m^2·次), 每周一、四, 持续实行4 wk, 休息2 wk方案, 结果ORR为78.1%, OS为12 mo; Nakata等[23]采用S-1 80-120 mg/(m^2·d), d1-28, 同时顺铂10 mg/(m^2·次), 2次/wk方案, 结果ORR为47.1%, OS为11 mo. S-1联合低剂量顺铂的治疗

■相关报道
随着分子肿瘤学的发展, 化疗药物疗效相关基因的监测, 为个体化治疗提供了依据. 我国学者Wang等就S-1治疗胃癌代谢途径中的关键基因多态性与疗效的关联性做了较为深入的研究, 为进一步探讨相关分子标志物提供了一定的思路.

似乎临床疗效可, 也降低了化疗的不良反应, 同时不需要水化治疗, 适合患者门诊化疗. 但这些均为小样本研究, 需要进一步大规模临床试验来验证.

另外, 研究者还尝试S-1联合奥沙利铂化疗方案[24], 结果ORR为59%, 疾病控制率为84%, PFS为6.5 mo, 1年生存率为71%, OS为16.5 mo. III-Ⅳ度不良反应主要有中性粒细胞22%, 血小板减少13%, 贫血9%, 厌食6%, 乏力6%, 周围神经病变4%. 该方案与S-1联合顺铂方案疗效相似, 但其消化系不良反应明显减轻, 值得进行进一步探讨.

2.2 S-1联合紫杉类 有文献表明[25], 紫杉醇类药物能调节影响S-1疗效的DPD、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)、乳清酸磷酸核糖基转移酶(orotate phosphoribosyl Transferase, OPRT)等的表达与活性, 被认为与S-1有协同作用. S-1与紫杉类药物联合在Ⅱ期临床试验中也取得了较好的结果. 一项来自日本的回顾性研究[26]共纳入86例患者, 多西他赛40 mg/m^2, d1, S-1 80 mg/(m^2·d), d1-14, 每3 wk为一疗程, 结果显示ORR为52.4%, PFS为6.5 mo, OS为15.1 mo. 主要的III-Ⅳ度不良反应为中性粒细胞减少36%, 白细胞减少31.7%, 中性粒细胞减少性发热4.7%, 贫血1.2%, 厌食5.8%. 另一项Ⅱ期临床试验[27]共有54例入组, 方案为紫杉醇50 mg/m^2, d1、8、15, S-1 40 mg/m^2, bid, d1-14, 每4 wk为一周期, 结果发现ORR为46.3%, PFS为6 mo, OS为14.3 mo, 主要的III-Ⅳ度不良反应为中性粒细胞减少27.8%, 腹泻9.3%. 而Kunisaki等[28]采用多西他赛联合S-1一线治疗进展期胃癌, 则获得了57.8%的ORR, PFS为6.9 mo, OS为15.3 mo, 最常见的III-Ⅳ度不良反应为中性粒细胞减少40.4%, 其次为白细胞减少29.8%.

2.3 S-1联合拓扑异构酶I抑制剂 S-1与伊立替康均被认为是治疗进展期胃癌的有效药物, 一些研究也探讨了两者联合应用的价值. 一项来自韩国的II期临床试验[29]采用S-1 40 mg/m^2, bid, d1-14; 伊立替康150 mg/m^2, d1, 每3 wk为一疗程. 共有45例患者入组, 结果ORR为48.9%, 中位PFS为5.7 mo, OS为10.4 mo. III-Ⅳ度不良反应主要有中性粒细胞减少29.5%, 呕吐13.6%. 另一项来自日本的研究[30]则获得了54.2%的ORR及581 d的OS. 这些试验提示S-1与伊立替康联合治疗可能可以取得较好的疗效及可接受的不良反应. 但在GC0301/TOP002试验中[31], 该方案的ORR、1.5年生存时间及中位生存时间等指标均未优于S-1单药组, 而已有SPIRITS研究[32]证实S-1联合顺铂比S-1单药明显延长总生存时间, 故一些学者认为伊立替康可能并不是最适合与S-1联合应用于进展期胃癌的一线治疗[33].

2.4 以S-1为基础的三药联合方案 Sato等[34]采用S-1联合多西他赛及顺铂方案一线治疗进展期胃癌的Ⅱ期多中心临床试验显示了很高的有效率. 该试验共入组34例患者, S-1 40 mg/m^2, bid, d1-14; 顺铂 60 mg/m^2、多西他赛60 mg/m^2, d8, 每3 wk为1个周期, 结果ORR为87.1%, 中位PFS为226 d, OS为687 d. III-Ⅳ度不良反应主要有中性粒细胞减少77.4%, 厌食35.5%, 恶心32.3%. 虽然该方案疗效高, 但不良反应较重, 之后一些研究将多西他赛更换为紫杉醇[35-37]. 结果发现ORR为60%-67%, 中位PFS为8-9.4 mo, OS为11-18 mo. 而III-Ⅳ度不良反应主要为血液学毒性, 主要有中性粒细胞减少20%-30%, 血小板减少12.7%, 贫血11.1%, 而非血液学毒性主要有Ⅰ-Ⅱ度的恶心27.2%, 腹泻9.0%. 该方案似乎更为安全, 但两者在疗效及生存时间上的差异需要进一步研究. 另外, 一项来自韩国的研究[38]采用S-1、伊立替康、奥沙利铂联合一线治疗转移性胃癌, S-1 40 mg/m^2, bid, d1-14, 伊立替康150 mg/m^2、奥沙利铂85 mg/m^2, d1, 每3 wk为1个疗程, 其ORR为75%, OS为17.6 mo, 也取得了较好的疗效.

3 其他药物耐药后S-1的疗效与安全性

目前虽然有大量临床试验证实了以S-1为基础的化疗方案在一线治疗进展期胃癌中的疗效, 其在二线以上的治疗中能否获益尚未有肯定的结果.

一项Ⅱ期临床试验[39]评价了已对紫杉醇和顺铂耐药的进展胃癌患者再使用S-1单药解救化疗的疗效及安全性, 共有53例患者入组, 给药剂量为体表面积(BSA)<1.25 m^2, 80 mg/d; BSA<1.5 m^2, 100 mg/d; BSA>1.5 m^2, 120 mg/d, 每日分2次给药, 连续给药4 wk, 休息2 wk. 结果9.4%的患者部分缓解, 34%的患者病情稳定. 中位PFS为4.9 mo, OS为10.4 mo. III-Ⅳ度不良反应主要为中性粒细胞减少症, 发生率为11%, 而非血液学毒性均为Ⅰ-Ⅱ度.

另一项来自日本的回顾性研究[40]则并不推荐S-1作为二线以上治疗进展期胃癌的方案. 该研究纳入了21例患者, 对伊力替康联合顺铂或氟尿嘧啶耐药, 最终无患者获得完全缓解(com-

plete remission, CR)或部分缓解(partial remission, PR), 47.6%的患者病情稳定, 中位OS为271 d, 1年生存率为32%, 且有约20%的患者出现III-IV度贫血或中性粒细胞减少, 分别有9.5%与14.2%的患者出现III-IV度腹泻与厌食.

由于目前这些研究样本量均过小, 且S-1治疗之前耐药的药物不同, 可能对S-1二线以上治疗进展期胃癌的疗效及安全性的评估存在缺陷, 需要进一步的研究来指导临床用药.

4 S-1与靶向药物联合方案的探索

传统抗肿瘤药物最大的缺陷在于缺乏选择性, 在快速杀死肿瘤细胞的同时产生明显不良作用. 而靶向药物能提高恶性肿瘤治疗的特异性, 最大程度杀灭肿瘤细胞而不损伤机体正常细胞, 已成为当前研究热点. 在临床上, 化疗药物联合靶向药物已用于恶性肿瘤的治疗, 取得了较好的疗效, 大量基础及临床研究也在进行中.

Yas[illegible]等[41]评估了Ki23057、舒尼替尼(sunitinib)、伊马替尼(glivec)、拉帕替尼(lapatinib)及SU11274, 这5种小分子靶向药物与S-1联合, 对胃硬癌细胞的生长抑制活性. 最终发现Ki23057与5-FU具有协同抗肿瘤作用. Ki23057作为一种成纤维细胞生长因子受体2抑制剂, 能降低DPD的表达, 增强细胞凋亡速率, 提高p21的表达水平. 其联合S-1比单药S-1显著提高原发灶及淋巴结转移灶的对药物的敏感性. Kobunai等[42]则评估了西妥昔单抗与S-1联合在裸鼠体内的抗肿瘤活性. 他们采用了EGFR高表达, 同时K-ras野生型的SC-2和SC-4两种胃癌细胞系. 结果发现西妥昔单抗与S-1联合应用比单用其中任何一种药物具有更高的抗肿瘤活性. 进一步研究发现, 西妥昔单抗能降低TS mRNA及蛋白表达量, 从而增强S-1的抗肿瘤疗效. 这些试验为进展期胃癌化疗联合靶向治疗方案提供了新的理论依据.

此外, 一些Ⅰ期与Ⅱ期S-1联合靶向药物的临床试验也在进行中. 如2011年第13届ESMO会议上汇报了S-1联合曲妥株单抗一线治疗HER-2阳性的进展期胃癌研究. 同年, 在亚洲肿瘤学高峰论坛中汇报了尼妥珠单抗联合S-1及顺铂方案一线治疗进展期胃癌的随机单中心研究. 另外, 舒尼替尼联合S-1及顺铂方案Ⅰ期临床试验也在进行中.

5 预测S-1治疗进展期胃癌疗效的分子标志物

近年来, 肿瘤的研究已向分子肿瘤学方向发展. 随着药物遗传学和基因组学研究的不断深入, 化疗药物疗效相关的基因监测, 为个体化化疗选择敏感药物提供了依据, 更好地指导临床用药.

由于S-1为复合制剂, CDHP与OXO并无抗肿瘤活性, 对S-1疗效相关分子标志物的研究主要集中在替加氟体内代谢途径相关作用酶上. 替加氟在人体肝脏内经由CYP2A6转化为5-FU, 一项来自中国的研究发现[43], CYP2A6的基因多态性与替加氟生物活化程度相关. CYP2A6*4限制了替加氟向5-FU的转化, 而CYP2A6*1B则能提高5-FU微粒体活性. 作者推测中国人群中CYP2A6*4和CYP2A6*1B为替加氟转化为5-FU个体差异的主要基因表型, 对S-1的疗效可能有一定预测作用, 需进一步的研究证实. 另外, Jeung等[44]分析了5-FU代谢及抗肿瘤途径基因, 包括DPD、OPRT、TS和胸腺嘧啶脱氧核苷磷酸化酶(thymidine phosphorylase, TP)mRNA在胃癌组织中的表达, 对S-1治疗进展期胃癌的预测作用, 结果发现*OPRT*基因高表达, 尤其是OPRT、TP同时高表达的患者, 对S-1的治疗具有较高的客观缓解率(40% *vs* 10%). OPRT高表达, 同时TS低表达能延长患者PFS与OS. 同样有研究发现[45], 患者肿瘤组织中OPRT蛋白高表达相较低表达, 能显著提高S-1治疗进展期胃癌的PFS(23.3 wk *vs* 14.1 wk)与OS (72.4 wk *vs* 55.4 wk), 而活检组织中OPRT与TS的比值则被认为可作为预测进展期胃癌患者行术前S-1新辅助化疗客观反应率的指标[46]. 另外, 由于SPIRITS试验认为S-1联合顺铂方案(PS-1)比S-1单药治疗显著提高患者总生存时间, 但伴随较高的不良反应, Koizumi等[47]试图寻找预测S-1单药比PS-1更具优势的生物标志物, 结果发现组织TP和TS mRNA同时低于其截断值时, S-1单药组的中位总生存时间比PS-1组延长(18.2 wk *vs* 9.4 wk).

此外, 人们还寻求更为简便的方法来预测S-1的疗效. 如有研究表明[48], 循环肿瘤细胞的监测在预测以S-1为基础的方案治疗进展期胃癌的疗效方面有一定的作用, 而作为能指示DPD活性的2-^{13}C-尿嘧啶呼吸试验, 也有研究表明其可用于预测S-1抗肿瘤的疗效[49].

6 结论

S-1无论单药还是联合其他化疗药物、靶向治疗药物, 均显示出了较高的有效率及较长的生存时间, 且以其为基础的化疗方案在其他药物治疗失败后仍有一定疗效, 是胃癌治疗中的一种

■创新盘点

本文旨在综述S-1在治疗进展期胃癌的疗效、预测疗效相关分子标志物, 并展望S-1与新一代化疗药物、分子靶向药物联合治疗胃癌的前景.

■应用要点
本文通过综述以S-1为基础的药物治疗方案在进展期胃癌中的疗效及不良反应, 为临床相关治疗提供了一定的参考, 并重点归纳了S-1个体化化疗初步探索的相关预测基因, 为临床进一步研究提供方向.

有益选择[50], 随着对S-1疗效相关分子标志物的不断研究, 相关的基因监测能更好地指导S-1的临床应用. 相信在对进展期胃癌不断的研究下, 临床医生有更多的治疗手段与方案, 并能最终实现个体化治疗的目标.

7 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
2 Murad AM, Santiago FF, Petroianu A, Rocha PR, Rodrigues MA, Rausch M. Modified therapy with 5-fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced gastric cancer. *Cancer* 1993; 72: 37-41 [PMID: 8508427 DOI: 10.1002/1097-0142(19930701)72]
3 Pyrhönen S, Kuitunen T, Nyandoto P, Kouri M. Randomised comparison of fluorouracil, epidoxorubicin and methotrexate (FEMTX) plus supportive care with supportive care alone in patients with non-resectable gastric cancer. *Br J Cancer* 1995; 71: 587-591 [PMID: 7533517 DOI: 10.1038/bjc.1995.114]
4 Casaretto L, Sousa PL, Mari JJ. Chemotherapy versus support cancer treatment in advanced gastric cancer: a meta-analysis. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 431-440 [PMID: 16612465 DOI: 10.1590/S0100-879X2006000400002]
5 Wagner AD, Grothe W, Haerting J, Kleber G, Grothey A, Fleig WE. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2903-2909 [PMID: 16782930 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.0245]
6 Waters JS, Norman A, Cunningham D, Scarffe JH, Webb A, Harper P, Joffe JK, Mackean M, Mansi J, Leahy M, Hill A, Oates J, Rao S, Nicolson M, Hickish T. Long-term survival after epirubicin, cisplatin and fluorouracil for gastric cancer: results of a randomized trial. *Br J Cancer* 1999; 80: 269-272 [PMID: 10390007 DOI: 10.1038/sj.bjc.6690350]
7 Ikeda K, Yoshisue K, Matsushima E, Nagayama S, Kobayashi K, Tyson CA, Chiba K, Kawaguchi Y. Bioactivation of tegafur to 5-fluorouracil is catalyzed by cytochrome P-450 2A6 in human liver microsomes in vitro. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4409-4415 [PMID: 11106261]
8 Saif MW, Rosen LS, Saito K, Zergebel C, Ravage-Mass L, Mendelson DS. A phase I study evaluating the effect of CDHP as a component of S-1 on the pharmacokinetics of 5-fluorouracil. *Anticancer Res* 2011; 31: 625-632 [PMID: 21378348]
9 Takechi T, Fujioka A, Matsushima E, Fukushima M. Enhancement of the antitumour activity of 5-fluorouracil (5-FU) by inhibiting dihydropyrimidine dehydrogenase activity (DPD) using 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine (CDHP) in human tumour cells. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1271-1277 [PMID: 12044515 DOI: 10.1016/S0959-8049(02)00048-5]
10 Maehara Y. S-1 in gastric cancer: a comprehensive review. *Gastric Cancer* 2003; 6 Suppl 1: 2-8 [PMID: 12775012 DOI: 10.1007/s10120-003-0232-9]
11 Koizumi W, Tanabe S, Saigenji K, Ohtsu A, Boku N, Nagashima F, Shirao K, Matsumura Y, Gotoh M. Phase I/II study of S-1 combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 2207-2212 [PMID: 14676796 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601413]
12 Lee SR, Kim HO, Yoo CH. Clinical outcomes of TS-1 chemotherapy for advanced and recurrent gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 2011; 81: 163-168 [PMID: 22066117 DOI: 10.4174/jkss.2011.81.3.163]
13 Koizumi W, Akiya T, Sato A, Sakuyama T, Sasaki E, Tomidokoro T, Hamada T, Fujimori M, Kikuchi Y, Shimada K, Mine T, Yamaguchi K, Sasaki T, Kurihara M. Phase II study of S-1 as first-line treatment for elderly patients over 75 years of age with advanced gastric cancer: the Tokyo Cooperative Oncology Group study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 65: 1093-1099 [PMID: 19727730 DOI: 10.1007/s00280-009-1114-6]
14 Lim JH, Lee MH, Kim HG, Shin YW, Yi HG, Shin SH, Hur YS, Kim CS, Chang HJ. Three-weekly s-1 monotherapy as first-line treatment in elderly patients with recurrent or metastatic gastric cancer. *Gut Liver* 2010; 4: 503-507 [PMID: 21253299 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.4.503]
15 Tsushima T, Hironaka S, Boku N, Machida N, Yamazaki K, Yasui H, Taku K, Fukutomi A, Onozawa Y. Safety and efficacy of S-1 monotherapy in elderly patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2010; 13: 245-250 [PMID: 21128060 DOI: 10.1007/s10120-010-0566-z]
16 Sakuma K, Hosoya Y, Arai W, Haruta H, Ui T, Kurashina K, Saito S, Hirashima Y, Yokoyama T, Zuiki T, Hyodo M, Nagai H, Yasuda Y, Shirasaka T. Alternate-day treatment with S-1 in patients with gastric cancer: a retrospective study of strategies for reducing toxicity. *Int J Clin Oncol* 2010; 15: 166-171 [PMID: 20195683 DOI: 10.1007/s10147-010-0036-y]
17 Arai W, Hosoya Y, Haruta H, Kurashina K, Saito S, Hirashima Y, Yokoyama T, Zuiki T, Sakuma K, Hyodo M, Yasuda Y, Nagai H, Shirasaka T. Comparison of alternate-day versus consecutive-day treatment with S-1: assessment of tumor growth inhibition and toxicity reduction in gastric cancer cell lines in vitro and in vivo. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 515-520 [PMID: 19093179 DOI: 10.1007/s10147-008-0780-4]
18 Sakata Y, Ohtsu A, Horikoshi N, Sugimachi K, Mitachi Y, Taguchi T. Late phase II study of novel oral fluoropyrimidine anticancer drug S-1 (1 M tegafur-0.4 M gimestat-1 M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1715-1720 [DOI: 10.1016/S0959-8049(98)00211-1]
19 Koizumi W. Clinical development of S-1 plus cisplatin therapy as first-line treatment for advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2009; 12: 50-54 [DOI: 10.1007/s10120-008-0487-2]
20 Baba E, Esaki T, Ariyama H, Mitsugi K, Morikita T, Fujishima H, Kusaba H, Nakano S, Akashi K. Phase II study of sequential treatment with S-1 and cisplatin for metastatic gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 611-617 [PMID: 21116623 DOI: 10.1007/s00280-010-1529-0]
21 Choi IS, Lee KW, Kim KH, Kim YJ, Kim JH, Lee JS. Three-weekly S-1 plus cisplatin chemotherapy as first-line treatment for advanced gastric cancer. *Med Oncol* 2010; 27: 992-997 [PMID: 20077040 DOI: 10.1007/s12032-009-9321-x]
22 Tsuji A, Shima Y, Morita S, Uchida M, Okamoto K, Morita M, Horimi T, Shirasaka T. Combination

chemotherapy of S-1 and low-dose twice-weekly cisplatin for advanced and recurrent gastric cancer in an outpatient setting: a retrospective study. *Anticancer Res* 2008; 28: 1433-1438 [PMID: 18505092]
23 Nakata B, Tsuji A, Mitachi Y, Taenaka N, Kamano T, Oikawa K, Onoda N, Kambe M, Takahashi M, Shirasaka T, Morita S, Sakamoto J, Tanaka Y, Saji S, Hirakawa K. Phase II trial of S-1 plus low-dose cisplatin for unresectable and recurrent gastric cancer (JFMC27-9902 Step2). *Oncology* 2010; 79: 337-342 [PMID: 21430401 DOI: 10.1159/000323286]
24 Koizumi W, Takiuchi H, Yamada Y, Boku N, Fuse N, Muro K, Komatsu Y, Tsuburaya A. Phase II study of oxaliplatin plus S-1 as first-line treatment for advanced gastric cancer (G-SOX study). *Ann Oncol* 2010; 21: 1001-1005 [PMID: 19875759 DOI: 10.1093/annonc/mdp464]
25 Yoshida K, Yamaguchi K, Osada S, Kawaguchi Y, Takahashi T, Sakashita F, Tanaka Y. Challenge for a better combination with basic evidence. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 212-219 [PMID: 18553230 DOI: 10.1007/s10147-008-0793-z]
26 Tanabe K, Suzuki T, Tokumoto N, Yamamoto H, Yoshida K, Ohdan H. Combination therapy with docetaxel and S-1 as a first-line treatment in patients with advanced or recurrent gastric cancer: a retrospective analysis. *World J Surg Oncol* 2010; 8: 40 [PMID: 20482840 DOI: 10.1186/1477-7819-8-40]
27 Ueda Y, Yamagishi H, Ichikawa D, Okamoto K, Otsuji E, Morii J, Koizumi K, Kakihara N, Shimotsuma M, Yamashita T, Taniguchi F, Aragane H, Nishi H, Itokawa Y, Morita S, Sakamoto J. Multicenter phase II study of weekly paclitaxel plus S-1 combination chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2010; 13: 149-154 [PMID: 20820983 DOI: 10.1007/s10120-010-0548-1]
28 Kunisaki C, Takahashi M, Makino H, Oshima T, Fujii S, Takagawa R, Kimura J, Kosaka T, Ono HA, Akiyama H, Kameda K, Kito F, Morita S, Endo I. Phase II study of biweekly docetaxel and S-1 combination chemotherapy as first-line treatment for advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 1363-1368 [PMID: 20803016 DOI: 10.1007/s00280-010-1433-7]
29 Hye J Kang Shc, Suk J Oh Shy, Moon H Lee Es, Hyun C Chung Iina, Ryoo B. Phase II study of S-1 and irinotecan combination chemotherapy as a first-line therapy for patients with advanced gastric cancer. Korean Cancer Study Group Protocol ST05-02. *ASIA-PAC J CLIN ONCO* 2009; 5: 46-54 [DOI: 10.1111/j.1743-7563.2009.01191.x]
30 Komatsu Y, Yuki S, Fuse N, Kato T, Miyagishima T, Kudo M, Kunieda Y, Tateyama M, Wakahama O, Meguro T, Sakata Y, Asaka M. Phase 1/2 clinical study of irinotecan and oral S-1 (IRIS) in patients with advanced gastric cancer. *Adv Ther* 2010; 27: 483-492 [PMID: 20559897 DOI: 10.1007/s12325-010-0037-2]
31 Narahara H, Iishi H, Imamura H, Tsuburaya A, Chin K, Imamoto H, Esaki T, Furukawa H, Hamada C, Sakata Y. Randomized phase III study comparing the efficacy and safety of irinotecan plus S-1 with S-1 alone as first-line treatment for advanced gastric cancer (study GC0301/TOP-002). *Gastric Cancer* 2011; 14: 72-80 [PMID: 21340666 DOI: 10.1007/s10120-011-0009-5]
32 Koizumi W, Narahara H, Hara T, Takagane A, Akiya T, Takagi M, Miyashita K, Nishizaki T, Kobayashi O, Takiyama W, Toh Y, Nagaie T, Takagi S, Yamamura Y, Yanaoka K, Orita H, Takeuchi M. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 215-221 [PMID: 18282805 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70035-4]
33 Takiuchi H. Combination therapy with S-1 and irinotecan (CPT-11) for advanced or recurrent gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012; 12: 55-59 [DOI: 10.1007/s10120-008-0462-y]
34 Sato Y, Takayama T, Sagawa T, Takahashi Y, Ohnuma H, Okubo S, Shintani N, Tanaka S, Kida M, Sato Y, Ohta H, Miyanishi K, Sato T, Takimoto R, Kobune M, Yamaguchi K, Hirata K, Niitsu Y, Kato J. Phase II study of S-1, docetaxel and cisplatin combination chemotherapy in patients with unresectable metastatic gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 721-728 [PMID: 20041328 DOI: 10.1007/s00280-009-1215-2]
35 Fujitani K, Hasegawa H, Hirao M, Kurokawa Y, Tsujinaka T. Feasibility study of triplet combination chemotherapy of paclitaxel, cisplatin and S-1 for advanced gastric cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 3085-3091 [PMID: 21868564]
36 Kim JY, Do YR, Park KU, Kim JG, Chae YS, Kim MK, Lee KH, Ryoo HM, Bae SH, Baek JH, Song HS. Multicenter phase II trial of S-1, paclitaxel and cisplatin triplet combination chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 527-532 [PMID: 20461377 DOI: 10.1007/s00280-010-1353-6]
37 Iwase H, Shimada M, Tsuzuki T, Ina K, Sugihara M, Haruta J, Shinoda M, Kumada T, Goto H. A phase II multi-center study of triple therapy with paclitaxel, S-1 and cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *Oncology* 2011; 80: 76-83 [PMID: 21659786 DOI: 10.1159/000328746]
38 Park SR, Kong SY, Rhee J, Park YI, Ryu KW, Lee JH, Kim YW, Choi IJ, Kim CG, Lee JY, Cho SJ, Kim NK. Phase II study of a triplet regimen of S-1 combined with irinotecan and oxaliplatin in patients with metastatic gastric cancer: clinical and pharmacogenetic results. *Ann Oncol* 2011; 22: 890-896 [PMID: 20860988 DOI: 10.1093/annonc/mdq435]
39 Lee SJ, Cho SH, Yoon JY, Hwang JE, Bae WK, Shim HJ, Chung IJ. Phase II study of S-1 monotherapy in paclitaxel- and cisplatin-refractory gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 65: 159-166 [PMID: 19479256 DOI: 10.1007/s00280-009-1019-4]
40 Ono A, Boku N, Onozawa Y, Hironaka S, Fukutomi A, Yasui H, Yamazaki K, Yoshino T, Taku K, Kojima T. Activity of S-1 in advanced or recurrent gastric cancer patients after failure of prior chemotherapy, including irinotecan + cisplatin or fluoropyrimidine (except S-1). *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39: 332-335 [PMID: 19318372 DOI: 10.1093/jjco/hyp018]
41 Yashiro M, Shinto O, Nakamura K, Tendo M, Matsuoka T, Matsuzaki T, Kaizaki R, Miwa A, Hirakawa K. Synergistic antitumor effects of FGFR2 inhibitor with 5-fluorouracil on scirrhous gastric carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 1004-1016 [PMID: 19621385]
42 Kobunai T, Watanabe T, Fukusato T. Antitumour activity of S-1 in combination with cetuximab on human gastric cancer cell lines in vivo. *Anticancer Res* 2011; 31: 3691-3696 [PMID: 22110188]

■同行评价
本文对S-1在胃癌治疗中的作用、疗效做了较系统全面的综述, 为临床治疗方案的个体化选择提供了有益的探讨.

43 Wang H, Bian T, Liu D, Jin T, Chen Y, Lin A, Chen C. Association analysis of CYP2A6 genotypes and haplotypes with 5-fluorouracil formation from tegafur in human liver microsomes. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 481-492 [PMID: 21521021 DOI: 10.2217/pgs.10.202]

44 Jeung HC, Rha SY, Shin SJ, Lim SJ, Roh JK, Noh SH, Chung HC. Predictive values of 5-fluorouracil pathway genes for S-1 treatment in patients with advanced gastric cancer. *Anticancer Drugs* 2011; 22: 801-810 [PMID: 21572321 DOI: 10.1097/CAD.0b013e328345c9ae]

45 Choi IS, Lee HS, Lee KW, Kim H, Kim KH, Kim YJ, Kim JH, Kim WH, Lee JS. Biomarker analysis in patients with advanced gastric cancer treated with S-1 plus cisplatin chemotherapy: orotate phosphoribosyltransferase expression is associated with treatment outcomes. *Med Oncol* 2011; 28: 991-998 [PMID: 20533001 DOI: 10.1007/s12032-010-9590-4]

46 Hashiguchi K, Kitajima Y, Kai K, Hiraki M, Nakamura J, Tokunaga O, Noshiro H, Miyazaki K. A quantitative evaluation of the determinant proteins for S-1 responsiveness in a biopsy specimen assists in patient selection to neoadjuvant therapy in cases of advanced gastric cancer. *Int J Oncol* 2010; 37: 257-264 [PMID: 20596652]

47 Koizumi W, Tanabe S, Azuma M, Ishido K, Nishimura K, Sasaki T, Nakatani K, Higuchi K, Nakayama N, Katada C. Impacts of fluorouracil-metabolizing enzymes on the outcomes of patients treated with S-1 alone or S-1 plus cisplatin for first-line treatment of advanced gastric cancer. *Int J Cancer* 2010; 126: 162-170 [PMID: 19588501 DOI: 10.1002/ijc.24726]

48 Matsusaka S, Suenaga M, Mishima Y, Kuniyoshi R, Takagi K, Terui Y, Mizunuma N, Hatake K. Circulating tumor cells as a surrogate marker for determining response to chemotherapy in Japanese patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Sci* 2011; 102: 1188-1192 [PMID: 21401804 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01926.x]

49 Ishii Y, Suzuki S, Takahashi Y, Takayama T, Asai S. Can the 2-(13)C-uracil breath test be used to predict the effect of the antitumor drug S-1? *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 333-343 [PMID: 19921195 DOI: 10.1007/s00280-009-1168-5]

50 Sanford M. S-1 (Teysuno®): a review of its use in advanced gastric cancer in non-Asian populations. *Drugs* 2013; 73: 845-855 [PMID: 23719766 DOI: 10.1007/s40265-013-0062-y]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2957-2962
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用

殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英

殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000
作者贡献分布: 本文综述由殷小磊与卢伟娜完成; 冯丽英审校.
通讯作者: 冯丽英, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科. hysfly888@163.com
电话: 0311-66002958
收稿日期: 2013-05-30 修回日期: 2013-08-23
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Role of LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease

Xiao-Lei Yin, Wei-Na Lu, Li-Ying Feng

Xiao-Lei Yin, Wei-Na Lu, Li-Ying Feng, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Li-Ying Feng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. hysfly888@163.com
Received: 2013-05-30 Revised: 2013-08-23
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

The LPS/TLR4 signaling pathway is involved in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. The up-regulation of expression of LPS receptor TLR4 induces inflammatory response and promotes liver cell damage in nonalcoholic fatty liver disease. When nonalcoholic fatty liver disease occurs, disordered intestinal bacterial growth leads to increased production of LPS and increased permeability of the intestinal wall and therefore induces intestinal endotoxemia. *Via* MyD88-dependent and -independent pathways, LPS up-regulates the expression of TLR4 in Kupffer cells, activates NF-κB, induces strong inflammatory responses and mediates liver injury. This review aims to elucidate the role of the LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: LPS/TLR4 signaling pathway; Nonalcoholic fatty liver disease; Kupffer cells; Liver injury

Yin XL, Lu WN, Feng LY. Role of LPS/TLR4 signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2957-2962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2957.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2957

摘要

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号途径参与非酒精性脂肪性肝病的发生发展, 非酒精性脂肪性肝病肝脏中LPS受体TLR4表达上调, 诱导炎症反应, 促使肝细胞损伤. 非酒精性脂肪性肝病时肠道菌群失调, LPS产生增多, 肠壁通透性增强, 形成肠源性内毒素血症, LPS上调Kupffer细胞TLR4的表达, 分别通过MyD88-依赖途径和MyD88-不依赖途径, 最终激活核因子κB, 诱导强力的炎症反应, 从而介导肝损伤. 本文就LPS/TLR4信号途径的构成、调节方式及与非酒精性脂肪性肝病的关系做一综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: LPS/TLR4信号途径; 非酒精性脂肪性肝病; Kupffer细胞; 肝损伤

核心提示: 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号途径可以诱导炎症、介导氧化应激、参与胰岛素抵抗和肝脏炎症损伤及纤维化修复, 在非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)发病中起关键性作用.

殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英. LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2957-2962
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2957.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2957

0 引言

目前认为非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与脂质代谢异常、胰岛素抵抗、氧化应激及遗传易感性等因素密切

■背景资料
非酒精性[illegible]肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)在我国发病率呈逐年上升的趋势, 已有研究表明NAFLD时肠道产生的内毒素可以引起肝细胞损伤, 而Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)作为脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的受体, 通过LPS/TLR4信号途径介导的炎症反应在肝细胞损伤中起到重要作用.

■同行评议者
方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研部

■研发前沿
NAFLD的发病机制中，内毒素通过LPS/TLR4信号途径介导肝细胞损伤是热点研究问题，需要更进一步的实验和临床研究去阐明其机制.

相关[1]. 随着研究的深入, 人们逐渐认识到与肠道环境的变化, 如小肠细菌过度生长、肠黏膜通透性的改变、细菌移位等过程中肠源性内毒素血症密切相关[2]. 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性杆菌细胞壁外层的主要成分, 也称内毒素(endotoxin), 是肝损伤中的一个重要因子, 他能激发机体引起强烈的炎症反应. Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)是LPS的模式识别受体, 表达于各种肝脏细胞中, 他的激活导致许多促炎、抗病毒、抗菌因子的产生[3]. 大量证据表明, LPS/TLR4信号途径可以诱导炎症、介导氧化应激、参与胰岛素抵抗和肝脏炎症损伤及纤维化修复, 在NAFLD发病机制中起到了关键性作用[4].

1 TLR4概述

1.1 TLR4受体 Toll样受体是一类天然免疫关键受体, 属于Ⅰ型跨膜受体[5]. 目前包括10多个成员, 最新研究证实, TLR2、TLR4和TLR9的基因多态性与中国人对2型糖尿病及冠脉疾病的易感性有关[6]. TLR4作为Toll家族的一员, 是免疫细胞表面识别病原相关分子模式的一个模式识别受体, 是革兰氏阴性细菌细胞壁成分LPS的受体[7]. TLR4作为LPS的受体, 能够迅速诱导促炎、抗病毒、抗菌细胞因子的产生[8,9].

TLR4表达于各种肝脏细胞. 表达TLR4受体的肝脏细胞持续暴露于肠源性LPS下而不出现炎症反应. 一方面与肝脏中TLR4和相关配体的相对低表达有关[10]. 另一方面, 肝脏拥有在不同水平上负向调节TLR4的信号途径, 我们称其为“肝脏耐受性”[10]. 随着LPS的增加或者TLR4的过表达, 当肝脏耐受性破坏时, 可以诱导不适当的免疫应答, 导致慢性炎症性肝脏疾病的发生[10].

1.2 TLR4配体 LPS激活TLR4受体是一个复杂的过程, 其中包括几个分子的参与[LPS结合蛋白(LBP)、CD14和MD-2][11,12]. 革兰阴性细菌在侵入人体后LPS脱落与血清中的LBP结合, LBP将其传给CD14形成三者的复合物, 再通过MD-2引起TLR4的二聚化, 最终激活TLR4. 除了LPS, TLR外, 还有可以识别来自机体损伤组织或细胞的内源性配体, 包括高迁移率蛋白B1(high-mobility group box-B1, HMGB1)、透明质酸、纤维粘连蛋白、热休克蛋白60、游离脂肪酸[13-15]. 最近的研究表明, 在无菌条件下, 坏死细胞刺激依赖髓样分化因子(MyD88)的TLR4受体, 从而先发制人, 诱导炎症反应[16,17]. 最新研究表明, 许多TLR4的内源性配位体还具有绑定、转运LPS, 和/或增强细胞对LPS敏感性的能力. 与其称之为TLR4配体, 将这些分子定义为PAMP绑定分子或PAMP增敏分子, 或许显得更为准确[18].

2 LPS/TLR4信号途径

2.1 TLR4正向调节途径 TRL配体与TLR受体的胞外域结合后导致感受器重排, 触发胞内域特异性衔接蛋白的募集, 进而引起一系列信号级联放大反应[11,12]. TLR4信号途径分为MyD88-依赖途径(MyD88介导的)和MyD88-不依赖途径(TRIF介导的)[19]. 在MyD88-依赖途径中, TLR4通过TIRAP募集MyD88, 激活IL-1受体相关激酶IRAK-4和IRAK-1, 进一步激活肿瘤坏死受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF-6)和转化生长因子-β-激活激酶1(TGF-β-activated kinase 1, TAK-1). 在MyD88-不依赖途径中, TRIF还可与丝氨酸苏氨酸受体分子(RIP-1)相互作用, 进而激活NF-κB, 诱导强力的炎症反应, 但是前者对NF-κB的激活反应更迅速. 最新研究表明, TLR4可以通过MyD88和TRIF两个途径的联合作用, 介导促炎的树突状细胞分化, 从而诱导后续的炎症反应[20].

2.2 TLR4负向调节途径 TLR4的激活可以诱导强有力的炎症反应, 为了保护宿主免受炎症损伤, 相应的抑制性途径是非常必要的. sTLR4、RP105、MyD88s和A20等都是常见的负向调控元件, TLR4信号途径可以在多个水平上(从受体水平到转录因子水平), 通过多种机制(降解、去泛素化酶、竞争是最常见的形式)被这些负向调控元件所调控. 最近研究表明, LPS的刺激能够使miR-146表达增强[21], 而且miR-146可以抑制IRAK-1和TRAF6, 引起促炎细胞因子的生产.

3 LPS/TLR4与肝脏细胞

在解剖学上肝脏与消化系的循环相连, 来自肠道的血液经门静脉入肝, 称之为肝肠循环. 相比机体其他器官, TLR4和MD-2、MyD88等信号分子在正常肝脏处于低mRNA表达水平[22,23]. 由于肝脏长期暴露于肠源性LPS中, 信号分子持续的低表达可能使肝脏对LPS产生了较强的耐受性. 近来研究表明, TLR4广泛表达于肝脏的所有细胞中, 对于肝脏清除病原体以及调节肝脏细胞的天然反应具有重要的意义.

3.1 LPS/TLR4与枯否细胞 枯否细胞是位于肝窦隙内的巨噬细胞, 具有吞噬、处理和递呈抗

原的能力, 并能分泌多种炎症相关分子, 因此枯否细胞(kupffer cells, KCs)在肝脏防御中起着重要作用[24]. 由于肝脏特殊的解剖结构, KCs成为最先接触LPS等肠源性毒素的细胞. 在NAFLD发病机制中, TLR4与枯否细胞具有直接的联系[25]. 当向腹腔内注射LPS后, 可诱导枯否细胞产生多种细胞因子和趋化因子[16], 但与外周血单核细胞相比, 枯否细胞表达低水平的CD14, 而CD14是TLR4激活所必需的[17]. 另外, LPS通过刺激枯否细胞激活TLR4信号途径, 诱导枯否细胞产生肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-6、IL-12、IL-18和抗炎因子IL-10[26,27]. 最近的一项实验更深一层的研究了非酒精性脂肪性肝病中LPS/TLR4通路, 肝脏枯否细胞中TLR4受体主要是通过激活下游区的X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP-1)进而激活NF-κB导致炎症因子的释放, 导致单纯性脂肪肝发展到脂肪性肝炎[28].

3.2 LPS/TLR4与肝细胞 肝细胞主要行使代谢和解毒功能, 可以摄取和清除来自门静脉和体循环的LPS[29]. 虽然TLR配体可以刺激肝细胞TLR4的表达, 但LPS水平与TLR4 mRNA表达量之间的关系, 仍存在不同意见[30,31]. 研究表明, TLR2在肝细胞中表达, 并且LPS、TNF-α、细菌脂蛋白和IL-1β可以上调TLR2的表达水平, 表明在炎症环境下肝细胞中的TLR2行使更重要的功能[19].

3.3 LPS/TLR4与肝星状细胞 活化的人体肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)表达CD14、TLR4, 并可被LPS激活, 诱导分泌促炎因子[32]. TLR4直接刺激HSC诱导炎症反应, 如上调炎症趋化因子(CCL2、CCL3、CCL4)和血管细胞粘附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1),下调TGF-b仿真受体、骨形态发生蛋白和激活素膜结合酶抑制剂(BMP and activin membrane bound inhibitor, BAMBI), 增强细胞间粘附分子1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、E-选择素和TGF-b的功能[30-32]. 最新的研究证实, HMGB1作为TLR4的一个内生配体, 可以激活HSC的LPS/TLR4信号途径从而介导炎症反应[33]. 其他肝脏细胞如胆管上皮细胞, 肝血窦内皮细胞和肝树突状细胞, 也接受LPS刺激表达TLR4, 但目前缺少详细的研究[30].

4 LPS/TLR4与NAFLD

4.1 LPS/TLR4与肠源性内毒素 肝脏, 由于特殊的解剖位置, 不断接触肠源性LPS[10,34]. 最近的研究证实, LPS/TLR4的信号途径在非酒精性脂肪肝病发病机制中起到了重要作用[10]. 不同人群和动物实验均证实, NAFLD的发生与门静脉中不断增加的LPS水平有关. LPS的不断增加主要由肠道细菌过增长、肠壁通透性增强和细菌移位引起[25,35-37]. Wigg等[2]发现NAFLD患者中普遍存在小肠细菌过度生长. Bergheim等[35]证实, 持续增加的肠内细菌移位甚至参与了果糖诱导NAFLD的发生. 遗传性肥胖或瘦素受体缺乏的动物对LPS有更高的敏感性, 在低剂量LPS的刺激下便可以发展成NAFLD[38]. 抗生素或益生菌改善肠道菌群后可以通过抑制LPS/TLR4信号途径预防NAFLD. 与瘦素缺乏小鼠相比, 肠道菌群的改善可以降低高脂饮食小鼠的LPS水平, 减少饮食诱导的肥胖小鼠肝脏甘油三酯的含量[36,37]. 益生菌可以减轻瘦素缺乏小鼠的NASH的炎症程度[39,40].

4.2 LPS/TLR4与胰岛素抵抗 大量研究表明, 胰岛素抵抗在NALFD的发生、发展中起了关键作用. 一方面, LPS/TLR4信号途径的激活能够增强促炎性细胞因子的表达, 进而诱导胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate 1, IRS-1)丝氨酸磷酸化, 下调酪氨酸激酶活性间接地阻止胰岛素信号的逐级传导; 另一方面, LPS/TLR4信号途径的激活还能够通过抑制胰岛素受体底物-1与胰岛素受体的结合, 降低葡萄糖转运体4(glucose transporter 4, GLUT4)的含量, 引起肝脏发生胰岛素抵抗[41]. 越来越多的研究证实, LPS/TLR4信号途径除了在NAFLD发病机制中的作用外, 其与胰岛素抵抗有密切关系. 一方面, Cani等[42]证实低剂量LPS皮下注射可以导致肝脏胰岛素抵抗. 另一方面, 胰岛素抵抗状态下, 脂肪组织分泌游离脂肪酸增多, 游离脂肪酸又能够通过激活TLR4引起胰岛素抵抗[15]. 值得注意的是, 一项最新的研究证实, 在2型糖尿病患者中TLR4和相关配体表达增强[43]. 同时, Liang等[44]证实在肥胖和2型糖尿病的受试者中, 血清LPS与肌肉细胞的胰岛素抵抗水平正相关, 抑制*TLR4*基因表达, 可以减轻肌肉细胞中由内毒素引起的炎症反应和胰岛素抵抗.

4.3 LPS/TLR4在NAFLD发病中的作用 NAFLD患者及动物模型证实, 肝脏对LPS的敏感性随着肝脏TLR4的表达增强而增强. 在蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(methionine choline deficient diet, MCDD)中, TLR4突变小鼠的肝损伤和脂肪积累降低

■相关报道
NAFLD患者血清LPS与肝脏TLR4蛋白呈正相关, 而给予益生菌减少肠源性内毒素血症对NAFLD具有良好的治疗效果.

■创新盘点
本文着眼于肠肝循环, 从LPS/TLR4信号途径来阐明NAFLD的发病机制, 对NAFLD的治疗具有潜在临床意义.

[25,36-40,45]这进一步证实了LPS/TLR4信号途径在NAFLD发病机制中的关键作用. 目前研究表明, LPS/TLR4信号途径的增强促进了NAFLD的发展. 与果糖诱导的野生型小鼠相比, 果糖诱导的TLR4突变型小鼠由于TLR4的缺失体内肝脏脂质过氧化、Myd88和TNF-α水平显著减少. 这表明, TLR4通过增强ROS和诱导TNF-α的产生, 从而在调节脂质代谢和炎症反应方面发挥关键作用[43,46]. Spruss等[47]发现, 在高果糖饮食诱导的小鼠NAFLD模型中, 观察到肠源性LPS的过度生长与肠黏膜通透性增加具有明显的有关性; 同时证实LPS可以通过LPS/TLR4介导的MyD88信号途径活化枯否细胞, 引起肝脏胰岛素抵抗的发生. Thuy等[48]的研究表明, 高果糖饮食的NAFLD患者中血清内毒素水平和肝脏TLR4 mRNA表达水平均明显升高, 并且两者之间具有显著的相关性.

5 LPS/TLR4与NAFLD相关肝纤维化及肝硬化

随着慢性肝损伤的进展, 肝脏中细胞外基质不断增加, 出现肝纤维化. 肝纤维化的晚期, 肝组织逐渐被细胞外基质和再生结节替代, 形成肝硬化. HSC是细胞外基质的主要来源. 尽管在肝脏中TLR4表达水平最高的枯否细胞被认为是LPS的主要靶点, 但表达于HSC上的TLR4则主要促进了肝纤维化[30]. 肝纤维化过程中肠道菌群发生改变, 黏膜完整性降低, 肠黏膜屏障消失, 因此LPS/TLR4途径在肝纤维形成中具有重要作用. 最近研究证实, 先天性TLR4缺陷和*TLR4*基因特定的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)都与人或大鼠HSC的LPS敏感性下降有关, 通过减少TLR4介导的炎症和纤维化信号转导以及降低活化HSC的凋亡阈值, 肝脏纤维化产生相应的保护作用[49,50].

肝脏损伤修复期伴随血管生成的出现, 这是肝纤维化特征性的表现之一. Jagavelu等[51]研究TLR4失活的CCl4诱导肝硬化小鼠模型时发现, 通过LPS诱发的肝脏血管生成及纤维化程度明显减轻, 证明LPS可以通过激活依赖MyD88的LPS/TLR4信号途径促进血管生成.

6 结论

LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病的发病机制中发挥了至关重要的作用. 了解LPS/TLR4信号途径的精确的级联反应和肠源性内毒素对肝脏特定细胞的影响, 将不仅对NAFLD发病机制提供新的见解, 而且也能指明研究治疗干预措施的新方向.

7 参考文献

1 Birkenfeld AL, Shulman GI. Non alcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Hepatology* 2013 Aug 8. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23929732 DOI: 10.1002/hep.26672]
2 Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001; 48: 206-211 [PMID: 11156641]
3 Choi KC, Hwang JM, Bang SJ, Kim BT, Kim DH, Chae M, Lee SA, Choi GJ, Kim da H, Lee JC. Chloroform extract of alfalfa (Medicago sativa) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by downregulating ERK/NF-κB signaling and cytokine production. *J Med Food* 2013; 16: 410-420 [PMID: 23631491 DOI: 10.1089/jmf.2012.2679]
4 Roh YS, Seki E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 1: 38-42 [PMID: 23855294 DOI: 10.1111/jgh.12019]
5 Love W, Dobbs N, Tabor L, Simecka JW. Toll-like receptor 2 (TLR2) plays a major role in innate resistance in the lung against murine Mycoplasma. *PLoS One* 2010; 5: e10739 [PMID: 20505832 DOI: 10.1371/journal.pone.0010739]
6 Liu F, Lu W, Qian Q, Qi W, Hu J, Feng B. Frequency of TLR 2, 4, and 9 gene polymorphisms in Chinese population and their susceptibility to type 2 diabetes and coronary artery disease. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 373945 [PMID: 23091345 DOI: 10.1155/2012/373945]
7 Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801 [PMID: 16497588]
8 Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406: 782-787 [PMID: 10963608]
9 Beutler BA. TLRs and innate immunity. *Blood* 2009; 113: 1399-1407 [PMID: 18757776 DOI: 10.1182/blood-2008-07-019307]
10 Pimentel-Nunes P, Soares JB, Roncon-Albuquerque R, Dinis-Ribeiro M, Leite-Moreira AF. Toll-like receptors as therapeutic targets in gastrointestinal diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 347-368 [PMID: 20146632 DOI: 10.1517/14728221003642027]
11 Kim HM, Park BS, Kim JI, Kim SE, Lee J, Oh SC, Enkhbayar P, Matsushima N, Lee H, Yoo OJ, Lee JO. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell* 2007; 130: 906-917 [PMID: 17803912]
12 Bryant CE, Spring DR, Gangloff M, Gay NJ. The molecular basis of the host response to lipopolysaccharide. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8: 8-14 [PMID: 19946286 DOI: 10.1038/nrmicro2266]
13 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Bil-

liar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240]
14 Jiang D, Liang J, Fan J, Yu S, Chen S, Luo Y, Prestwich GD, Mascarenhas MM, Garg HG, Quinn DA, Homer RJ, Goldstein DR, Bucala R, Lee PJ, Medzhitov R, Noble PW. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan. *Nat Med* 2005; 11: 1173-1179 [PMID: 16244651]
15 Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 2006; 116: 3015-3025 [PMID: 17053832]
16 Chen CJ, Kono H, Golenbock D, Reed G, Akira S, Rock KL. Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nat Med* 2007; 13: 851-856 [PMID: 17572686]
17 Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim K, Elsharkawy AM, Karin M. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science* 2007; 317: 121-124 [PMID: 17615358]
18 Erridge C. Endogenous ligands of TLR2 and TLR4: agonists or assistants? *J Leukoc Biol* 2010; 87: 989-999 [PMID: 20179153 DOI: 10.1189/jlb.1209775]
19 Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511 [PMID: 15229469]
20 Kolanowski ST, Dieker MC, Lissenberg-Thunnissen SN, van Schijndel GM, van Ham SM, Ten Brinke A. TLR4-mediated pro-inflammatory dendritic cell differentiation in humans requires the combined action of MyD88 and TRIF. Innate Immun 2013 Aug 13. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23941760]
21 Davidson-Moncada J, Papavasiliou FN, Tam W. MicroRNAs of the immune system: roles in inflammation and cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1183: 183-194 [PMID: 20146715 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05121.x]
22 De Creus A, Abe M, Lau AH, Hackstein H, Raimondi G, Thomson AW. Low TLR4 expression by liver dendritic cells correlates with reduced capacity to activate allogeneic T cells in response to endotoxin. *J Immunol* 2005; 174: 2037-2045 [PMID: 15699133]
23 Zarember KA, Godowski PJ. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J Immunol* 2002; 168: 554-561 [PMID: 11777946]
24 Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, Nagy LE. Kupffer cells in the liver. *Compr Physiol* 2013; 3: 785-797 [PMID: 23720329 DOI: 10.1002/cphy.c120026]
25 Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007; 47: 571-579 [PMID: 17644211]
26 Su GL, Klein RD, Aminlari A, Zhang HY, Steinstraesser L, Alarcon WH, Remick DG, Wang SC. Kupffer cell activation by lipopolysaccharide in rats: role for lipopolysaccharide binding protein and toll-like receptor 4. *Hepatology* 2000; 31: 932-936 [PMID: 10733550]
27 Seki E, Tsutsui H, Nakano H, Tsuji N, Hoshino K, Adachi O, Adachi K, Futatsugi S, Kuida K, Takeuchi O, Okamura H, Fujimoto J, Akira S, Nakanishi K. Lipopolysaccharide-induced IL-18 secretion from murine Kupffer cells independently of myeloid differentiation factor 88 that is critically involved in induction of production of IL-12 and IL-1beta. *J Immunol* 2001; 166: 2651-2657 [PMID: 11160328]
28 Ye D, Li FY, Lam KS, Li H, Jia W, Wang Y, Man K, Lo CM, Li X, Xu A. Toll-like receptor-4 mediates obesity-induced non-alcoholic steatohepatitis through activation of X-box binding protein-1 in mice. *Gut* 2012; 61: 1058-1067 [PMID: 22253482 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300269]
29 Schwabe RF, Seki E, Brenner DA. Toll-like receptor signaling in the liver. *Gastroenterology* 2006; 130: 1886-1900 [PMID: 16697751]
30 Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, Schwabe RF. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med* 2007; 13: 1324-1332 [PMID: 17952090]
31 Machida K, Tsukamoto H, Mkrtchyan H, Duan L, Dynnyk A, Liu HM, Asahina K, Govindarajan S, Ray R, Ou JH, Seki E, Deshaies R, Miyake K, Lai MM. Toll-like receptor 4 mediates synergism between alcohol and HCV in hepatic oncogenesis involving stem cell marker Nanog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 1548-1553 [PMID: 19171902 DOI: 10.1073/pnas.0807390106]
32 Paik YH, Schwabe RF, Bataller R, Russo MP, Jobin C, Brenner DA. Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003; 37: 1043-1055 [PMID: 12717385]
33 Zhang Z, Lin CZ, Peng LJ, Ouyang YY, Cao YR, Guo JS. [HMGB1-mediated activation of TLR4 signaling in hepatic stellate cells]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 581-584 [PMID: 23207150 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2012.08.008]
34 Szabo G, Bala S, Petrasek J, Gattu A. Gut-liver axis and sensing microbes. *Dig Dis* 2010; 28: 737-744 [PMID: 21525758 DOI: 10.1159/000324281]
35 Bergheim I, Weber S, Vos M, Krämer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, Bischoff SC. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 983-992 [PMID: 18395289 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.035]
36 Brun P, Castagliuolo I, Di Leo V, Buda A, Pinzani M, Palù G, Martines D. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G518-G525 [PMID: 17023554]
37 Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470-1481 [PMID: 18305141 DOI: 10.2337/db07-1403]
38 Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 2557-2562 [PMID: 9122234]
39 Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY, Diehl AM. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003; 37: 343-350 [PMID: 12540784]

■应用要点

通过抑制LPS/TLR4信号途径，减轻NAFLD时肝损伤进而达到保护肝脏的目的，有望成为控制NAFLD发生发展及保护肝脏的新措施.

■同行评价
本文较系统地阐述LPS/TLR4信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用, 对相关研究领域具有一定的现实意义.

40 Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol* 2003; 38: 681-687 [PMID: 12713883]

41 Ladefoged M, Buschard K, Hansen AM. Increased expression of toll-like receptor 4 and inflammatory cytokines, interleukin-6 in particular, in islets from a mouse model of obesity and type 2 diabetes. *APMIS* 2013; 121: 531-538 [PMID: 23134512 DOI: 10.1111/apm.12018.]

42 Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-1772 [PMID: 17456850]

43 Dasu MR, Devaraj S, Park S, Jialal I. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2010; 33: 861-868 [PMID: 20067962 DOI: 10.2337/dc09-1799]

44 Liang H, Hussey SE, Sanchez-Avila A, Tantiwong P, Musi N. Effect of lipopolysaccharide on inflammation and insulin action in human muscle. *PLoS One* 2013; 8: e63983 [PMID: 23704966 DOI: 10.1371/journal.pone.0063983.]

45 Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2009; 50: 1094-1104 [PMID: 19637282 DOI: 10.1002/hep.23122]

46 Huang S, Rutkowsky JM, Snodgrass RG, Ono-Moore KD, Schneider DA, Newman JW, Adams SH, Hwang DH. Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. *J Lipid Res* 2012; 53: 2002-2013 [PMID: 22766885 DOI: 10.1194/jlr.D029546]

47 Spruss A, Bergheim I. Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 657-662 [PMID: 19679262 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2009.05.006]

48 Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A, Maier KP, Bischoff SC, Bergheim I. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr* 2008; 138: 1452-1455 [PMID: 18641190]

49 Guo J, Loke J, Zheng F, Hong F, Yea S, Fukata M, Tarocchi M, Abar OT, Huang H, Sninsky JJ, Friedman SL. Functional linkage of cirrhosis-predictive single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptor 4 to hepatic stellate cell responses. *Hepatology* 2009; 49: 960-968 [PMID: 19085953 DOI: 10.1002/hep.22697]

50 Shi H, Dong L, Jiang J, Zhao J, Zhao G, Dang X, Lu X, Jia M. Chlorogenic acid reduces liver inflammation and fibrosis through inhibition of toll-like receptor 4 signaling pathway. *Toxicology* 2013; 303: 107-114 [PMID: 23146752 DOI: 10.1016/j.tox.2012.10.025]

51 Jagavelu K, Routray C, Shergill U, O'Hara SP, Faubion W, Shah VH. Endothelial cell toll-like receptor 4 regulates fibrosis-associated angiogenesis in the liver. *Hepatology* 2010; 52: 590-601 [PMID: 20564354 DOI: 10.1002/hep.23739]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2963-2968
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

遗传性非息肉性结直肠癌

陈昌望, 珠 珠, 董 坚

陈昌望, 董坚, 昆明医科大学第一附属医院肿瘤内科 云南省昆明市650032
珠珠, 昆明医科大学第一附属医院肿瘤科 云南省昆明市650032
陈昌望, 在读硕士, 主要从事遗传性结直肠癌的临床与基础研究.
国家自然科学基金资助项目: No. 81160245
作者贡献分布: 本文由陈昌望和珠珠综述; 董坚审校.
通讯作者: 董坚, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院肿瘤内科.
dongjian18@yahoo.com
收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-07-16
接受日期: 2013-09-13 在线出版日期: 2013-10-08

Hereditary nonpolyposis colorectal cancer

Chang-Wang Chen, Zhu Zhu, Jian Dong

Chang-Wang Chen, Jian Dong, Department of Medical Oncology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Zhu Zhu, Department of Oncology, First affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160245
Correspondence to: Jian Dong, Professor, Chief Physician, Department of Medical Oncology, First affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. dongjian18@yahoo.com
Received: 2013-06-26 Revised: 2013-07-16
Accepted: 2013-09-13 Published online: 2013-10-08

Abstract
Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC), also known as Lynch syndrome, is a class of autosomal dominant genetic disease. Main clinical characteristics of HNPCC include early onset age, more common in the right colon, and concomitant with simultaneous or metachronous extracolonic cancers, including endometrial cancer, stomach cancer, and ovarian cancer. However, the prognosis of HNPCC is better than sporadic colorectal cancer. Screening and intervention for HNPCC among high-risk pedigree population can effectively reduce the cancer incidence and mortality. In this article we will review the pathogenesis, epidemiology, diagnosis, screening, prevention and treatment of HNPCC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer; Mismatch repair gene; Microsatellite instability; Diagnosis and screening

Chen CW, Zhu Z, Dong J. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2963-2968 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2963.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2963

摘要
遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)又称为lynch综合征(lynch syndrome, LS)是一种常染色体显性遗传性疾病. 临床特点是: 发病年龄早, 多见于右半结肠, 伴同时性或异时性肠外恶性肿瘤如子宫内膜癌、胃癌、卵巢癌等, 预后比散发性结直肠癌好. 对高危家系人群的筛查和干预能有效降低结直肠及肠外恶性肿瘤的发生率和死亡率. 本文对HNPCC发病机制、流行病学、临床诊断、筛查、预防和治疗做一综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 遗传性非息肉性结直肠癌; 错配修复基因; 微卫星不稳定; 诊断筛查

核心提示: 随着我国家系日益小型化难以收集完整家族史资料, 在临床收治工作中Bethesda指南更适合用于临床初筛. 对于满足Bethesda指南任意一条的患者临床医生都应当引起重视. 对于所有符合临床诊断标准的患者进行IHC/MSI检测将很大程度上提高HNPCC的诊断率.

陈昌望, 珠珠, 董坚. 遗传性非息肉性结直肠癌. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2963-2968 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2963.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2963

0 引言
1966年Lynch等报道了两个家族的成员中聚集

■背景资料
遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)是一种由于错配修复基因突变导致的常染色体显性遗传性疾病, 外显率约为80%, 约占所有结直肠癌3%左右.

■同行评议者
王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

■研发前沿
如何经济、有效筛查出HNPCC患者是目前国外的研究热点之一.

性高发结直肠癌、胃癌和子宫内膜癌, 并命名为“癌症家族综合症”. Lynch还把本病分为Lynch Ⅰ型(家族性结直肠癌综合征, 家族呈现结直肠癌遗传)及Lynch Ⅱ型(家族性癌症综合征, 家族呈现结直肠癌和其他肿瘤遗传), 后来统称为HNPCC[1-3]. HNPCC是一种常染色体显性遗传病, 外显率约为80%[4], 约占所有结直肠癌的3%左右[5].

1 HNPCC的发病机制及分子生物学特征

目前研究认为DNA错配修复基因(DNA mismatch repair, *MMR*)的突变导致HNPCC[5,6]. 已知与HNPCC发病相关的错配修复基因有以下7种*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS1*、*PMS2*、*MLH3*、*EXO1*, 其中临床最常见是*MSH2*、*MLH1*、*PMS2*、*MSH6*, 其突变率分别为38%、32%、15%和14%[7,8]. 在HNPCC患者中携带不同的突变基因其患癌风险不尽相同. Engel等[9]报道*MLH1*或*MSH2*突变携带者中其患癌风险高于*MSH6*, *MSH6*突变携带者患癌风险高于PMS2. 同散发性结直肠癌一样,男性突变携带者罹患结直肠癌风险高于女性.

在部分患者中*MMR*启动子甲基化可能与HNPCC相关[10,11]. Zhou等[12]对18例未发现已知相关*MMR*突变的HNPCC家系先证者进行*MLH1*启动子甲基化检测, 发现5例先证者存在*MLH1*启动子甲基化. Morak等[13]研究发现在HNPCC家系中存在*MLH1*启动子甲基化, 并认为携带*MLH1*启动子甲基化具有可遗传性.

90%以上的HNPCC患者检测到微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)现象[14,15]. 微卫星DNA(microsatellite DNA)是一类短串联重复序列, 在DNA复制过程中容易发生滑动, 致使模板链或新生链可能产生一个小型环状结构. 在错配修复功能正常时很容易被修复, 如果错配修复功能缺陷, 这种“DNA环状结构”将随复制的进行而存在下去, 导致MSI产生[16]. 约12%的散发性结直肠癌中也存在MSI, 但致病机制与HNPCC截然不同. MSI的散发性结直肠癌致病原因多与*MLH1*启动子甲基化相关且存在*BRAF*基因V600E突变[17-22], 但是在HNPCC中尚未发现*BRAF*基因的突变[5]. 另外40%-45%符合Amsterdam诊断标准的患者中并没有发现MSI, 基因检测也没有发现已知的MMR突变. 与HNPCC患者比较这类患者患结直肠癌风险低, 发病年龄较晚, 且没有证据表明肠外肿瘤的风险增高, 被称为“家族性结直肠癌X型”[15,23,24].

2 HNPCC的临床病理特征

临床上HNPCC患者结直肠癌发病年龄早, 多在50岁以前(平均发病年龄45岁), 好发于右半结肠, 如仅采取单纯肠切除术25%-30%的患者10年内会发生异时性肠癌. 约30%患者十年之内会患上HNPCC相关的其他肿瘤[24], 但其预后较散发性结直肠癌好[25,26]. HNPCC患者终生患结直肠癌风险男性34%-73%、女性32-59%, 患HNPCC相关肿瘤风险分别为子宫内膜癌39%-50%、卵巢癌7%-8%、胃癌1%-6%、输尿管/肾盂癌2%-8%、胆管癌1%-4%、小肠癌1%-4%、中枢神经系统肿瘤大约2%、胰腺癌大约4%、皮脂腺瘤取决于发生突变的*MMR*基因[27-30]. 病理学上HNPCC患者常表现为低分化粘液腺癌或印戒细胞癌、伴肿瘤周围淋巴细胞浸润、Crohn's样淋巴反应[24].

3 HNPCC的临床诊断标准

目前国际通用的诊断标准有Amsterdam Ⅰ标准[31]、Amsterdam Ⅱ标准[32]及Bethesda指南[33]. Amsterdam Ⅰ标准是由HNPCC国际合作组织在1991年制定的, 之后在1999年该组织对该标准做了修改称Amsterdam Ⅱ. 1996年美国国家癌症研究所(National Cancer Institute, USA NCI)提出了Bethesda指南, 并在2004年做了修订和简化[5,34]: (1)结直肠癌发病早于50岁; (2)任何年龄诊断的同时和异时性多原发性结直肠癌及HNPCC相关肿瘤; (3)60岁以下结直肠癌组织学诊断发现有肿瘤浸润淋巴细胞、Crohn's样淋巴细胞增生、黏液癌/印戒细胞癌或髓样癌; (4)至少一个一级亲属发生HNPCC相关肿瘤, 且有一个肿瘤发生于50岁之前; (5)至少2个一级或二级亲属发生HNPCC相关肿瘤. 比较上述两个诊断标准Amsterdam标准诊断特异性高(达到99%)而敏感性较低(28%-45%), Bethesda指南诊断敏感性较高(73%-91%)而特异性稍低(77%-82%)[15]. 由于Amsterdam标准在诊断上过分严格限制家族史, 且随着我国家系日益小型化难以收集完整家族史资料, 在临床收治工作中Bethesda指南更适合用于临床初筛. 对于满足Bethesda指南任意一条的患者, 临床医生都应当引起重视.

4 HNPCC的实验室筛查

HNPCC的实验室筛查手段包括有MMR突变检

表 1 HNPCC诊断筛查策略

序号	HNPCC诊断筛查策略							
	IHC				MSI	*BRAF*V600E突变检测	*MLH1*启动子甲基化分析	MMR基因检测(诊断HNPCC金标准)
	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2				
1	+	+	+	+	MSI-L/MSS	UN	UN	SCRC(对符合临床诊断标准应行突变检测)
2	+	+	+	+	MSI-H	UN	UN	*MMR*突变检测
3	UN	UN	UN	UN	MSI-H	UN	UN	IHC(IHC结果判断同下)或/和*MMR*突变检测
4	–	+	+	–	UN	+	UN	SCRC
					UN	–	+	SCRC(对符合临床诊断标准应行突变检测)
					UN	–	–	*MLH1*突变检测
5	–	+	+	+	UN	UN	UN	*MLH1*突变检测
6	+	+	+	–	UN	UN	UN	*PMS2*基因检测没有发现时进一步行*MLH1*突变检测
7	+	–	–	+	UN	UN	UN	*MSH2*突变检测没有发现时进一步行*MSH6*突变检测
8	+	–	+	+	UN	UN	UN	*MSH2*突变检测
9	+	+	–	+	UN	UN	UN	*MSH6*突变检测没有发现时进一步行*MSH2*突变检测

所有新诊断的结直肠癌患者或者按照临床诊断标准对患者进行初筛行IHC/MSI检测. +: 蛋白表达正常或突变阳性或者MLH1启动子甲基化阳性; –: 代表蛋白表达缺失或突变阴性或者*MLH1*启动子甲基化阴性; UN: 未检测或者是与结果不相关; SCRC: 散发性结直肠癌.

■相关报道
Heald等认为对所有新诊断的肠癌患者行IHC/MSI检测来筛查HNPCC是一种经济、可行的方法. 要提高HNPCC的临床收治率还需要外科医生、遗传咨询医生及患者的共同配合.

测、MSI检测及免疫组织化学检测. MMR突变检测是HNPCC诊断的金标准[35], 但基因检测方法复杂和资金耗费多, 且*MMR*突变不存在突变热点区, 使以基因检测去筛检HNPCC存在很大困难. 目前临床上多应用MSI检测和免疫组织化学的方法来确定是否发生MMR突变.

4.1 *MMR*的基因检测 检测*MMR*突变的方法包括单链多态性分析、变性凝胶电泳、蛋白截短实验、变性高效液相色谱分析、多重连接探针扩增技术及直接测序等. 直接测序法敏感性和特异性最高, 但检测费用昂贵. 国外报道认为多重连接探针扩增技术在检测*MMR*突变中更方便和经济, 而且特异性、敏感性比其他检测方法高[36]. 近年来兴起的高通量测序技术使我们对更为细致的分析*MMR*突变全貌成为可能[35].

4.2 MSI检测 MSI是HNPPC肿瘤发生的重要标志. MSI作为最早应用于实验室筛查HNPCC的分子标记, 其敏感性100%, 特异性在90%以上[37]. 经典检测MSI的方法是由NCI提出的以单碱基重复序列BAT-25和BAT-26, 双碱基序列D2S123、D5S346、D17S250这5个微卫星点作为标记检测肿瘤. 5个位点中如果出现2个及以上位点有重复序列长度的改变称为高频MSI(for high-frequency MSI, MSI-H), 只有一个位点有长度改变称为低频MSI(for low-frequency MSI, MSI-L), 无任何位点的变化称为微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)[15,38].

4.3 免疫组织化学 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测错配修复蛋白MLH1、MSH2、MSH6、PMS2的表达也是一种有效的HNPCC筛查方法应用于临床[4,39]. Shia[40]认为免疫组织化学与MSI检测相比较敏感性相近, 但费用更为低廉, 更适用于临床筛查HNPCC患者. 另外IHC结果有助于鉴别突变的基因.

5 临床诊断筛查策略

虽然我们可以通过临床诊断标准和实验室检测手段来发现HNPCC患者, 但要从众多结直肠癌患者中查筛查出HNPCC犹如大海捞针. 在德国只有不到一半*HNPCC*基因突变携带者被确诊[5]. 如何采用高效、经济、易行的筛选策略来提高HNPCC的收治率, 成为临床研究的热点之一[41]. 这些策略不仅要考虑到诊断的敏感度和特异性还需综合考虑经济、伦理学及患者的心理负担等方面的问题[42-44]. 目前国外研究表明对所有新诊断的结直肠癌和子宫内膜癌患者行IHC, MSI分析是一种经济、可行的方式[19,45-47]如表1. 2013年NCCN(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)结直肠癌指南第一版对这种广泛的筛查方式进行了推荐[22].

6 HNPCC的治疗和预防

目前HNPCC的治疗上, 专家推荐采用结肠次全切除术, 虽然相比于传统节段性结肠切除术其总生存率并无差异, 但次全切除术能有效减少异时性肠癌发生概率和手术风险[48]. 但对于老年患者其术后异时性肠癌发生风险低, 结肠次全切除术可能过于激进, 反而增加手术并发症

■创新盘点
本文对HNPCC的发病机制、流行病学、临床诊断、防治做简要介绍, 以加强临床医生对其认识从而提高HNPCC的诊断率.

和死亡率[49]. 临床研究表明对于MSI的Ⅱ、Ⅲ期结直肠癌患者并不能从以5-氟尿嘧啶为基础的辅助化疗中获益, 但在HNPCC患者中是否存在相同情况需要进一步研究[5]. 欧洲肿瘤学会(European Society for Medical Oncology, ESMO)指出HNPCC化疗方案应与散发性结直癌一致[48]. HNPCC的预防治疗措施应同时针对患者及高风险的家系成员. 目前临床上提出的预防措施, 还缺乏足够的研究证据. 如预防性手术(预防性肠切除术、预防性子宫、卵巢切除术)及药物预防(阿司匹林和口服避孕药在肠息肉和子宫内膜/卵巢癌上已经分别显示出了一定的预防作用, 但对于预防HNPCC相关的肠癌和子宫内膜/卵巢癌是否有效还缺少研究证据)[48,50]. 大部分专家认为每1到2年的肠镜随访能降低结直肠癌的风险[5]. 德国HNPCC联盟推荐家系成员, 从25岁或者不迟于家族中最小发病年龄5年开始每年进行: 一般体格检查、腹部超声检查、全结肠镜检查、胃镜检查(35岁开始)、女性患者还应进行妇科体检包含阴道超声检查、子宫内膜活检(35岁开始)[5].

7 结论

目前我国HNPCC发病率尚无报道. 但我国人口基数大, 且随着结直肠癌发病率和死亡率逐年增加, 使得HNPCC的诊断、防治工作显得更加艰巨. 然而在临床工作中具有遗传背景的HNPCC患者容易被漏诊, 从而导致其高危家系成员丧失早期诊断和治疗的机会. 在我国HNPCC的总体收治率不高的原因有以下几方面: (1)由于临床医生对HNPCC认识不足, 仅有少数医疗单位在开展系统的收治和研究工作; (2)MMR蛋白免疫组织化学检测并未纳入结直肠癌术后常规检测项目; (3)HNPCC的诊断和筛查并未纳入医疗保险服务, 由于经济限制患者难以接受昂贵的基因检测费用; (4)国内缺乏针对此类患者的遗传咨询服务. 但随着我国经济发展, 医学基础和临床研究逐渐与国际接轨, 越来越多的临床医生开始认识和重视HNPCC, 随着对HNPCC临床特点, 遗传特征的深入研究以及基因诊断技术的不断进步, 必然会推动HNPCC的预防、筛查和规范化治疗.

8 参考文献

1 Boland CR, Lynch HT. The history of Lynch syndrome. *Fam Cancer* 2013; 12: 145-157 [PMID: 23546821 DOI: 10.1007/s10689-013-9637-8]
2 Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ. Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 1966; 117: 206-212 [PMID: 5901552 DOI: 10.1001/archinte.117.2.206]
3 Lynch HT, Watson P, Kriegler M, Lynch JF, Lanspa SJ, Marcus J, Smyrk T, Fitzgibbons RJ, Cristofaro G. Differential diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome I and Lynch syndrome II). *Dis Colon Rectum* 1988; 31: 372-377 [PMID: 3366037 DOI: 10.1007/BF02564888]
4 Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, Sotamaa K, Prior T, Westman JA, Panescu J, Fix D, Lockman J, LaJeunesse J, Comeras I, de la Chapelle A. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5783-5788 [PMID: 18809606 DOI: 10.1200/JCO.2008.17.5950]
5 Steinke V, Engel C, Büttner R, Schackert HK, Schmiegel WH, Propping P. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC)/Lynch syndrome. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110: 32-38 [PMID: 23413378]
6 Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993; 260: 816-819 [PMID: 8484122 DOI: 10.1126/science.8484122]
7 Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet Med* 2009; 11: 42-65 [PMID: 19125127 DOI: 10.1097/GIM.0b013e31818fa2db]
8 Pai R, Wilcox R, Hart J. Molecular gastrointestinal, liver, and pancreatic pathology. *Cell and tissue based molecular pathology* 2009: 269-293 [DOI: 10.1016/B978-044306901-7.50028-6]
9 Engel C, Rahner N, Schulmann K, Holinski-Feder E, Goecke TO, Schackert HK, Kloor M, Steinke V, Vogelsang H, Möslein G, Görgens H, Dechant S, von Knebel Doeberitz M, Rüschoff J, Friedrichs N, Büttner R, Loeffler M, Propping P, Schmiegel W. Efficacy of annual colonoscopic surveillance in individuals with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 174-182 [PMID: 19835992 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.10.003]
10 Goel A,Xicola RM,Nguyen TP,Doyle BJ,Sohn VR,Bandipalliam P, Rozek LS, Reyes J,Cordero C, Balaguer F, Castells A,Jover R,Andreu M, Syngal S,Boland CR and Llor X. Aberrant DNA methylation in hereditary non-polyposis colorectal cancer without mismatch repair deficiency. *Gastroenterology* 2010; 138: 1854-1862 [doi: 10.1053/j.gastro.2010.01.035]
11 Case AS, Zighelboim I, Mutch DG, Babb SA, Schmidt AP, Whelan AJ, Thibodeau SN, Goodfellow PJ. Clustering of Lynch syndrome malignancies with no evidence for a role of DNA mismatch repair. *Gynecol Oncol* 2008; 108: 438-444 [PMID: 18022218 DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.09.036]
12 Zhou HH, Yan SY, Zhou XY, Du X, Zhang TM, Cai X, Lu YM, Cai SJ, Shi DR. MLH1 promoter germline-methylation in selected probands of Chinese hereditary non-polyposis colorectal cancer families. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7329-7334 [PMID: 19109866 DOI: 10.3748/wjg.14.7329]
13 Morak M, Schackert HK, Rahner N, Betz B, Ebert

M, Walldorf C, Royer-Pokora B, Schulmann K, von Knebel-Doeberitz M, Dietmaier W, Keller G, Kerker B, Leitner G, Holinski-Feder E. Further evidence for heritability of an epimutation in one of 12 cases with MLH1 promoter methylation in blood cells clinically displaying HNPCC. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 804-811 [PMID: 18301449 DOI: 10.1038/ejhg.2008.25]
14 Lindor NM. Familial colorectal cancer type X: the other half of hereditary nonpolyposis colon cancer syndrome. *Surg Oncol Clin N Am* 2009; 18: 637-645 [PMID: 19793571 DOI: 10.1016/j.soc.2009.07.003]
15 Pino MS, Chung DC. Application of molecular diagnostics for the detection of Lynch syndrome. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 651-665 [PMID: 20629513 DOI: 10.1586/erm.10.45]
16 Sinicrope FA, Sargent DJ. Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive, and therapeutic implications. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1506-1512 [PMID: 22302899 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1469]
17 Mori S, Ogata Y, Shirouzu K. Biological features of sporadic colorectal carcinoma with high-frequency microsatellite instability: special reference to tumor proliferation and apoptosis. *Int J Clin Oncol* 2004; 9: 322-329 [PMID: 15375710 DOI: 10.1007/s10147-004-0406-4]
18 Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2073-2087.e3 [PMID: 20420947 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.064]
19 Greenson JK, Huang SC, Herron C, Moreno V, Bonner JD, Tomsho LP, Ben-Izhak O, Cohen HI, Trougouboff P, Bejhar J, Sova Y, Pinchev M, Rennert G, Gruber SB. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 126-133 [PMID: 18830122 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817ec2b1]
20 Bettstetter M, Dechant S, Ruemmele P, Vogel C, Kurz K, Morak M, Keller G, Holinski-Feder E, Hofstaedter F, Dietmaier W. MethyQESD, a robust and fast method for quantitative methylation analyses in HNPCC diagnostics using formalin-fixed and paraffin-embedded tissue samples. *Lab Invest* 2008; 88: 1367-1375 [PMID: 18936738 DOI: 10.1038/labinvest.2008.100]
21 Brim H, Mokarram P, Naghibalhossaini F, Saberi-Firoozi M, Al-Mandhari M, Al-Mawaly K, Al-Mjeni R, Al-Sayegh A, Raeburn S, Lee E, Giardiello F, Smoot DT, Vilkin A, Boland CR, Goel A, Hafezi M, Nouraie M, Ashktorab H. Impact of BRAF, MLH1 on the incidence of microsatellite instability high colorectal cancer in populations based study. *Mol Cancer* 2008; 7: 68 [PMID: 18718023 DOI: 10.1186/1476-4598-7-68]
22 Burt RW, Barthel JS, Dunn KB, David DS, Drelichman E, Ford JM, Giardiello FM, Gruber SB, Halverson AL, Hamilton SR, Ismail MK, Jasperson K, Lazenby AJ, Lynch PM, Martin EW Jr, Mayer RJ, Ness RM, Provenzale D, Rao MS, Shike M, Steinbach G, Terdiman JP, Weinberg D; NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Colorectal Cancer Screening. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8: 8-61[PMID: 20064289]
23 Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, Haile R, Casey G, Baron J, Gallinger S, Bapat B, Aronson M, Hopper J, Jass J, LeMarchand L, Grove J, Potter J, Newcomb P, Terdiman JP, Conrad P, Moslein G, Goldberg R, Ziogas A, Anton-Culver H, de Andrade M, Siegmund K, Thibodeau SN, Boardman LA, Seminara D. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA* 2005; 293: 1979-1985 [PMID: 15855431 DOI: 10.1001/jama.293.16.1979]
24 Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet* 2009; 76: 1-18 [PMID: 19659756 DOI: 10.1111/j.1399-0004.2009.01230.x]
25 Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, Perret GY, Morere JF, Uzzan B. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1890-1896 [PMID: 19427194 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.04.018]
26 Hong SP, Min BS, Kim TI, Cheon JH, Kim NK, Kim H, Kim WH. The differential impact of microsatellite instability as a marker of prognosis and tumour response between colon cancer and rectal cancer. *Eur J Cancer* 2012; 48: 1235-1243 [PMID: 22071131 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.10.005]
27 Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, Bernstein I, Aarnio M, Järvinen HJ, Myrhøj T, Sunde L, Wijnen JT, Lynch HT. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int J Cancer* 2008; 123: 444-449 [PMID: 18398828 DOI: 10.1002/ijc.23508]
28 Stoffel E, Mukherjee B, Raymond VM, Tayob N, Kastrinos F, Sparr J, Wang F, Bandipalliam P, Syngal S, Gruber SB. Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1621-1627 [PMID: 19622357 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.039]
29 Kastrinos F, Mukherjee B, Tayob N, Wang F, Sparr J, Raymond VM, Bandipalliam P, Stoffel EM, Gruber SB, Syngal S. Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome. *JAMA* 2009; 302: 1790-1795 [PMID: 19861671 DOI: 10.1001/jama.2009.1529]
30 Bonadona V, Bonaïti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, Guimbaud R, Buecher B, Bignon YJ, Caron O, Colas C, Noguès C, Lejeune-Dumoulin S, Olivier-Faivre L, Polycarpe-Osaer F, Nguyen TD, Desseigne F, Saurin JC, Berthet P, Leroux D, Duffour J, Manouvrier S, Frébourg T, Sobol H, Lasset C, Bonaïti-Pellié C. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA* 2011; 305: 2304-2310 [PMID: 21642682 DOI: 10.1001/jama.2011.743]
31 Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 424-425 [PMID: 2022152 DOI: 10.1007/BF02053699]
32 Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999; 116: 1453-1456 [PMID: 10348829 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70510-X]
33 Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, Lynch H, Perucho M, Smyrk T, Sobin L, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst*

■应用要点

随着对HNPCC临床特点, 遗传特征的深入研究以及基因诊断技术的不断进步, 必然会推动HNPCC的预防、筛查和规范化治疗.

■同行评价
本文对HNPCC的发病机制、流行病学、临床诊断及防治做了简要介绍, 对本病的临床诊治起到了一定的提示作用, 具有一定的临床应用价值.

1997; 89: 1758-1762 [PMID: 9392616 DOI: 10.1093/jnci/89.23.1758]
34 Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 261-268 [PMID: 14970275 DOI: 10.1093/jnci/djh034]
35 Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, Hopper JL, Le Marchand L, Gallinger S, Newcomb PA, Haile R, Thibodeau SN, Gunawardena S, Jenkins MA, Buchanan DD, Potter JD, Baron JA, Ahnen DJ, Moreno V, Andreu M, Ponz de Leon M, Rustgi AK, Castells A. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA* 2012; 308: 1555-1565 [PMID: 23073952 DOI: 10.1001/jama.2012.13088]
36 Gomez LC, Marzese DM, Adi J, Bertani D, Ibarra J, Mol B, Vos IJ, De Marchi G, Roqué M. MLPA mutation detection in Argentine HNPCC and FAP families. *Fam Cancer* 2009; 8: 67-73 [PMID: 18615272 DOI: 10.1007/s10689-008-9200-1]
37 Bonis PA, Trikalinos TA, Chung M, Chew P, Ip S, DeVine DA, Lau J. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: diagnostic strategies and their implications. Evid Rep Technol Assess (Full Rep) 2007; (150): 1-180 [PMID: 17764220]
38 Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58: 5248-5257 [PMID: 9823339]
39 Lindor NM, Burgart LJ, Leontovich O, Goldberg RM, Cunningham JM, Sargent DJ, Walsh-Vockley C, Petersen GM, Walsh MD, Leggett BA, Young JP, Barker MA, Jass JR, Hopper J, Gallinger S, Bapat B, Redston M, Thibodeau SN. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1043-1048 [PMID: 11844828 DOI: 10.1200/JCO.20.4.1043]
40 Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn* 2008; 10: 293-300 [PMID: 18556767 DOI: 10.2353/jmoldx.2008.080031]
41 Dinh TA, Rosner BI, Atwood JC, Boland CR, Syngal S, Vasen HF, Gruber SB, Burt RW. Health benefits and cost-effectiveness of primary genetic screening for Lynch syndrome in the general population. *Cancer Prev Res* (Phila) 2011; 4: 9-22 [PMID: 21088223 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0262]
42 Ladabaum U, Ford JM. Lynch syndrome in patients with colorectal cancer: finding the needle in the haystack. *JAMA* 2012; 308: 1581-1583 [PMID: 23073955 DOI: 10.1001/jama.2012.14171]
43 Landsbergen KM, Prins JB, Brunner HG, Kraaimaat FW, Hoogerbrugge N. Genetic testing for Lynch syndrome in the first year of colorectal cancer: a review of the psychological impact. *Fam Cancer* 2009; 8: 325-337 [PMID: 19330464 DOI: 10.1007/s10689-009-9239-7]
44 Landsbergen KM, Prins JB, Brunner HG, van Duijvendijk P, Nagengast FM, van Krieken JH, Ligtenberg M, Hoogerbrugge N. Psychological distress in newly diagnosed colorectal cancer patients following microsatellite instability testing for Lynch syndrome on the pathologist's initiative. *Fam Cancer* 2012; 11: 259-267 [PMID: 22311584 DOI: 10.1007/s10689-012-9510-1]
45 Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, French AJ, Kabat B, Foster NR, Torri V, Ribic C, Grothey A, Moore M, Zaniboni A, Seitz JF, Sinicrope F, Gallinger S. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3219-3226 [PMID: 20498393 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.1825]
46 Ladabaum U, Wang G, Terdiman J, Blanco A, Kuppermann M, Boland CR, Ford J, Elkin E, Phillips KA. Strategies to identify the Lynch syndrome among patients with colorectal cancer: a cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 2011; 155: 69-79 [PMID: 21768580 DOI: 10.1059/0003-4819-155-2-201107190-00002]
47 Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, Valentini V, Glimelius B, Haustermans K, Nordlinger B, van de Velde CJ, Balmana J, Regula J, Nagtegaal ID, Beets-Tan RG, Arnold D, Ciardiello F, Hoff P, Kerr D, Köhne CH, Labianca R, Price T, Scheithauer W, Sobrero A, Tabernero J, Aderka D, Barroso S, Bodoky G, Douillard JY, El Ghazaly H, Gallardo J, Garin A, Glynne-Jones R, Jordan K, Meshcheryakov A, Papamichail D, Pfeiffer P, Souglakos I, Turhal S, Cervantes A. ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. a personalized approach to clinical decision making. *Ann Oncol* 2012; 23: 2479-2516 [PMID: 23012255 DOI: 10.1093/annonc/mds236]
48 Natarajan N, Watson P, Silva-Lopez E, Lynch HT. Comparison of extended colectomy and limited resection in patients with Lynch syndrome. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 77-82 [PMID: 20010355 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181c702de]
49 Alvaro E, Perea J, Lomas M, Urioste M, Hidalgo M. [Influence of age on the surgical treatment of lynch syndrome]. *Cir Esp* 2010; 88: 338-340 [PMID: 20334855 DOI: 10.1016/j.ciresp.2009.12.022]
50 Márquez MF, Duarte AR, Ibáñez VM, Lozano RB, Gil FR, Sierra IB, Morales Mdel M. [Lynch syndrome: genetics and surgery]. *Cir Esp* 2011; 89: 3-9 [PMID: 21176896 DOI: 10.1016/j.ciresp.2010.06.010]
51 Heald B, Plesec T, Liu X, Pai R, Patil D, Moline J, Sharp RR, Burke CA, Kalady MF, Church J, Eng C. Implementation of universal microsatellite instability and immunohistochemistry screening for diagnosing lynch syndrome in a large academic medical center. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1336-1340 [PMID: 23401454 DOI: 10.1200/JCO.2012.45.1674]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2969-2974
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

*Oct4*基因在消化系肿瘤中的研究进展

黎 江, 文坤明, 曾庆良

黎江, 文坤明, 曾庆良, 遵义医学院附属医院胃肠外科 贵州省遵义市 563000
黎江, 遵义医学院附属医院胃肠外科研究生, 住院医师, 主要从事大肠癌的诊断及治疗研究.
贵州省科学技术基金资助项目, No. 黔科合J字[2012]2365
国家自然科学基金资助项目, No. 81260369
作者贡献分布: 本文文献检索、资料分析及撰写由黎江完成; 文坤明协助; 曾庆良指导及审核.
通讯作者: 曾庆良, 教授, 563000, 贵州省遵义市汇川区大连路海鸿小区, 遵义医学院附属医院胃肠外科.
zengql200611@yahoo.com
收稿日期: 2013-07-10 修回日期: 2013-07-24
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Role of Oct4 in gastrointestinal tumors

Jiang Li, Kun-Ming Wen, Qing-Liang Zeng

Jiang Li, Kun-Ming Wen, Qing-Liang Zeng, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Guizhou Province, No. Qian He J Zi [2012]2365; National Natural Science Foundation of China, No. 81260369
Correspondence to: Qing-Liang Zeng, Professor, the First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Haihong Community, Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. zengql200611@yahoo.com
Received: 2013-07-10 Revised: 2013-07-24
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

Octamer-binding transcription factor 4 (Oct4), a member of the POU transcription factor family, is one of the most important transcription factors for maintaining pluripotent and self-renewing state of stem cells. Oct4 is expressed not only in embryonic stem cells, germ cells and germ cell tumors but also in a variety of somatic cells of malignant tumors. The expression of Oct4 is closely related to the development and prognosis of malignant tumors. Therefore, detection of Oct4 expression has great significance in the diagnosis and treatment of tumors. This article provides a brief review of the role of Oct4 in gastrointestinal tumors.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oct4; Gastrointestinal tumors; Diagnosis; Treatment; Prognosis

Li J, Wen KM, Zeng QL. Role of Oct4 in gastrointestinal tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2969-2974
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2969.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2969

摘要

八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcriptionfactor 4, *Oct4*)基因是POU转录因子家族中的一员, 是维持干细胞多潜能性和自我更新的最重要转录因子之一. Oct4不仅在胚胎干细胞和生殖细胞及其肿瘤中有表达, 且在多种体细胞恶性肿瘤中也均有表达现象, 与恶性肿瘤患者的发生发展及临床预后存在密切的关系, 对肿瘤的诊断及治疗有着深远的影响. 本文就Oct4在消化系肿瘤中的作用及机制方面的研究给予综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 八聚体结合转录因子4; 消化系肿瘤; 诊断; 治疗; 预后

核心提示: 研究表明八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcriptionfactor 4, Oct4)参与了消化系肿瘤的发生发展及耐药, 影响患者预后及生存, 而Oct4是干细胞中最重要的转录因子, 因此推测Oct4可能通过WNT/β-catenin、TCL1-AKT-ABCG2、STAT3/Survivin通路影响肿瘤干细胞的活性发挥作用, 从而可能成为肿瘤的诊断治疗的新靶点.

黎江, 文坤明, 曾庆良. *Oct4*基因在消化系肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2969-2974 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2969.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2969

0 引言

消化系肿瘤的发病率及死亡率在国内外肿瘤病例中居高不下, 已成为人类肿瘤患者的头号杀手. 近期研究显示肿瘤的发生发展与肿瘤干细

■背景资料
八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcriptionfactor 4, Oct4)是干细胞中最重要的转录因子之一, 对干细胞的增殖、凋亡起着重要的调节作用, 大量研究显示Oct4在消化系肿瘤中普遍高表达, 参与肿瘤的发生发展、化疗抵抗以及影响患者预后及生存, 其机制可能是参与肿瘤干细胞的调节而发挥作用.

■同行评议者
王阁, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

■研发前沿
当前研究重点是明确Oct4与肿瘤干细胞的关系，在肿瘤的发生发展、耐药性等方面中的主要调节机制，为消化系肿瘤的诊断及治疗提供新的靶点.

胞有关, 通过抑制肿瘤干细胞的生长可减少肿瘤的发生, 提高病人的生存率, 因此干细胞相关基因在肿瘤的研究中一直是个热门话题. 八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcription-factor 4, *Oct4*)属于POU(Pit-Oct-Unic)蛋白家族, 该基因也称为*Oct3/4*、*POU5F1*、*OTF3*、*OTF4*, 其编码基因*POU5f1*位于6号染色体短臂6p21.33区[1]. *Oct4*基因通过与启动子区的八聚体基序(结构为ATTTGCAT序列)特异性结合调控基因表达, 是胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)维持自我更新及分化潜能的最重要的转录因子[2], 也是胚胎干细胞的标志物[3]. 近年, 随着对Oct4的不断深入研究, 科研重点也从ESC向肿瘤活体组织及肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)逐渐延伸. 通过PCR和免疫组织化学研究对比肿瘤及正常组织发现, Oct4不仅在胚胎细胞、生殖细胞及其肿瘤中高表达[4,5], 而且近年研究[6-12]显示Oct4普遍在消化系肿瘤中有表达, 且癌组织中的表达明显高于癌旁及正常组织(P<0.05). 此外, 肿瘤细胞中异位表达的Oct4结果是细胞去分化和增强如肿瘤耐药性、致瘤性以及类似干细胞性质的球体细胞形成[13,14], 增加了肿瘤复发及治疗难度, 严重威胁肿瘤患者的生存及生活质量[15,16]. 本文就Oct4在消化系恶性肿瘤中的功能及可能机制作一综述.

1 Oct4在消化系肿瘤中发挥的作用

研究表明Oct4不仅参与肿瘤的发生发展, 且在肿瘤的化疗抵抗性方面发挥着重要的作用, 进而影响患者的预后及生存. 具体原因可能与Oct4在肿瘤干细胞(CSCs)中不可取代的地位有密切的关系. 以下为Oct4在消化系肿瘤中的相关功能.

1.1 参与肿瘤的发生 肿瘤的发生是一个多因素、多步骤的过程, 其中*K-ras*基因突变是多种肿瘤发生早期的一个标志基因[16], 在Oct4及Nanog表达阳性的仓鼠胰腺癌模型中, 通过基因芯片分析发现K-ras基因的突变发生于Oct4表达之后[12], 利用免疫组织化学检测发现Oct4只在少部分的胰岛细胞的胞质中表达, 而在早期胰腺癌细胞核中均有所表达, 且两者具有统计学意义[17], 从体外胰腺癌模型中可以推断Oct4和Nanog等同源性转录因子在胰腺癌致癌作用的早期阶段发挥着重要的作用. 从胃炎到化生再到胃癌的多步骤致癌模型中, Oct4的表达随着组织恶化的各阶段逐渐提高(P<0.05), 因此推测Oct4参与胃癌的恶性形成过程[18].

1.2 参与肿瘤的浸润、转移 越来越多的研究表明, 上皮间质转化(epithelial- mesenchymal transition, EMT)与上皮细胞恶性肿瘤的浸润、转移关系密切, 特别是在胃肠道肿瘤中更加显著[19], 其主要表现为上皮细胞表型发生改变, 转变为间充质细胞, 而后者具有较高的迁移、侵袭和降解细胞外基质能力, 从而使细胞发生侵袭、转移. Dai等[20]通过Oct4-shRNA-LV下调大肠癌Oct4的表达后, 发现能诱导EMT特征性细胞的形态及其标志基因表达的下调, 在体外减慢了癌细胞的运动、侵袭性, 在体内降低了肝脏移植率, 且他们发现Oct4在伴有肝转移的大肠癌患者中比未伴肝转移的患者明显高表达, 因此推测大肠癌细胞的侵袭、转移可能是通过Oct4调节EMT而发挥作用, Oct4可作为预测大肠癌患者是否有肝转移危险性的标志. 另有统计分析表明, Oct4也参与了肝癌[21]、食管癌[22]、胰腺癌[23]的浸润转移. 但Chen等[6]在胃癌术后组织中发现, Oct4的表达与胃癌患者肿瘤侵入深度或是否出现淋巴结转移无统计学意义, 因此Oct4是否参与消化系肿瘤的浸润、转移还有待进一步的研究.

1.3 参与耐药 Zhang等[24]通过普通食管癌细胞培育出悬浮肿瘤细胞球, 对比普通贴壁肿瘤细胞发现前者Oct4明显高表达的同时对顺铂具有更高的耐药性, 进一步研究显示球体细胞中耐药基因(*ABCG2*、*MDR1*)过表达, 推测Oct4与耐药基因及肿瘤的耐药呈正相关性, Oct4参与肿瘤耐药研究在胰腺癌的中也有类似报道[25]. 另外, 有学者[26]通过化疗药物从低浓度到高浓度过程构建肝癌耐药细胞株, 发现此耐药细胞与肝癌细胞相比, Oct4和ABCG2呈过表达状态, 且两者具有统计学意义, 因此推测Oct4参与ABCG2的调节使肝癌耐药,从而影响肿瘤化疗效果. 在对肝癌以外消化系肿瘤的统计学分析发现, Oct4可作为大肠癌对化疗敏感性的相关检测因子[27], 可为临床治疗提供治疗前疗效参考.

1.4 影响患者预后及生存率 有学者在对食管癌患者术后标本进行检测时发现Oct4在癌组织中有不同程度的表达, 通过与患者预后进行统计分析显示*Oct4*基因的表达水平与患者不良预后有关(P<0.05)[11], 且可作为临床患者生存时间的单独预测因子[28]. Saigusa等[29]研究发现CD133、Oct4和SOX2的表达水平不仅可以作为直肠癌患者手术预后的标准, 还可对直肠癌远处复发、转移有警示的价值. 另有研究[7]证实Oct4在肝癌患者中的阳性表达可能是组织的低分化

和肿瘤复发的原因, 从而影响患者预后, Oct4与Nanog可作为术后复发的单独预测因子[21]. 通过Kaplan-Meier法生存曲线研究分析得出Oct4中重要的一个亚型Oct4A表达阳性的肝癌患者总体生存率较低[30]. 以上研究表明Oct4能影响消化系肿瘤患者的预后及生存率.

1.5 维持肿瘤干细胞存活 CSCs是肿瘤细胞中具有自我更新、多分化潜能等干细胞特性的一小部分细胞, 参与肿瘤的发生及发展, 促进肿瘤的生长, 增强肿瘤的耐药能力, 影响肿瘤患者的生存及预后[31,32]. 将少量CSCs接种免疫缺陷小鼠可形成明显的瘤体, 而普通肿瘤细胞却基本不能形成肿瘤[33]. Oct4是干细胞最重要的转录因子, 与干细胞功能和活性密切相关[34], 因此Oct4与肿瘤干细胞生物学功能的关系近年备受研究者青睐. 有学者[9]在富集CSCs的大肠癌耐药细胞中发现Oct4普遍高表达, 通过干扰Oct4的表达后, 结果发现肿瘤细胞的凋亡增加, 干细胞标志物CD44、CD133减少, 将Oct4干扰后富集CSCs的大肠癌耐药细胞与相同数量的未处理大肠癌耐药细胞接种NOD/SCID小鼠, 发现后者成瘤率比实验组高, 且瘤体的体积较后者大(P<0.05). 推测Oct4可能通过维持CSCs活性、控制其转录, 从而参与消化系肿瘤的发生发展、降低治疗效果、影响患者预后生存.

2 Oct4在消化系肿瘤中的信号通路

2.1 WNT/β-catenin及TGF-β信号通路 经典WNT信号通路是由于WNT信号进入细胞内后, 将信号传递给Gsh, 活化的Gsh抑制Axin、APC和GSK-3β复合物的活性, 使β-catenin不能被GSK-3β磷酸化, 在胞质中积聚, 并移向核内, 然后与*TCF/LEF*转录因子结合, 激活TCF转录活性, 调节靶基因的表达[35]. 该通路在正常情况下呈关闭状态, 当WNT通路激活后, 细胞会发生异常的增殖、分化, 最终导致肿瘤的形成. 有学者在消化系肿瘤以外研究中曾报道Oct4与WNT/β-catenin存在调控关系[4,36]. Yuan等[37]在肝癌组织及细胞系中研究发现Oct4与WNT/β-catenin及TGF-β信号通路相关基因的表达存在密切的关联, 通过下调Oct4的表达后, TGF-β家族(ELF, Smad3, Smad4)和WNT/β-catenin家族(WNT10b、β-catenin)的表达降低, 而TCF3却上升, 抑制TCF3后Oct4和TGF-β家族表达增加, 因此, Oct4可能在TGF-β与WNT/β-catenin信号通路中起到调节作用. Dai等[20]发现Oct4表达抑制后的大肠癌细胞WNT通路活性降低, 认为Oct4可能在该信号通路中扮演开关的角色. 但Kitisin[38]研究发现在Oct4阳性的肝癌组织中TGF-βR2、ELF阴性, 推测Oct4阳性而TGF-β信号缺失的癌细胞可能是肝癌发生的癌祖细胞. 因此, Oct4与WNT/β及TGF-β信号通路是正调节还是负调节关系, 在体内外研究中还存在一定的争议, 有待进一步研究阐明.

2.2 Oct4-TCL1-AKT和Oct4-TCL1-AKT-ABCG2途径 研究发现Oct4共转录能调节T细胞白血病/淋巴瘤1A, 进一步激活AKT信号通路从而调节胚胎干细胞的增殖[39], 另Oct4-TCL1-AKT可通过阻止干细胞样肿瘤细胞的凋亡影响其生存[40], 且AKT信号通路也可通过ABCG2的调控和定位调节部分肿瘤侧群细胞[41], 将化疗药物及毒素通过主动及胞吐作用排出胞外, 避免药物及毒素对细胞的伤害, 从而产生耐药性. 有学者在肝癌细胞中发现过表达的Oct4能诱导激活TCL1, 进而诱导AKT的活性增加, 因此猜测Oct4可能通过Oct4-TCL1-AKT途径在癌细胞的耐药中发挥作用, 进一步研究发现在肿瘤耐药细胞及Oct4过表达的细胞中ABCG2表达明显高于对照组(P<0.05), 且Oct4的上调与AKT和ABCG2的增高有显著相关性, 抑制Oct4和ABCG2后可增加肿瘤细胞对药物的敏感性, 而且抑制Oct4后ABCG2有不同程度的下调, 总之认为Oct4与ABCG2存在密切的关系. 另外, 通过添加PI3K/AKT通路抑制剂LY294002后发现,不但AKT活性降低, 而且ABCG2的表达水平也下调, 推测Oct4也可能通过Oct4-TCL1-AKT-ABCG2或者联合Oct4-TCL1-AKT途径在肝癌的生存及耐药性中扮演调节的作用[42].

2.3 STAT3/Survivin通路 信号传导与转录激活因子-3(signal transducer and activator of transcription-3, STAT3)已被证实是肿瘤的生存与凋亡以及ESC存活的调节器[43]. STAT3在肿瘤的形成中起着非常重要的角色, 例如STAT3的构成赋予一些恶性肿瘤抵抗化疗药物诱导凋亡的作用. 通过抑制STAT3的表达后, 可以增强肝癌、胰腺癌、胃癌等对化疗药物的敏感性[44-46]. 另有报道STAT3在干细胞样大肠癌细胞中具有维持细胞生存和肿瘤形成的能力[47]. 而Survivin通过IL-4(interleukin-4)信号途径维持大肠癌干细胞抗凋亡作用[48]. Wen等[9]使用奥沙利铂在大肠癌细胞中建立其耐药细胞, 发现Oct4过表达的同时STAT3和Survivin也明显表达, 通过Oct4-shRNA-

■相关报道
近几年, Oct4在干细胞和肿瘤组织的研究较多, 但在消化系肿瘤干细胞的研究还很局限, 在其信号传导通路研究方面更是凤毛麟角.

■创新盘点
本综述主要介绍了Oct4在消化系肿瘤中的功能, 与消化系肿瘤干细胞的大概关系及其可能机制, 对临床及实验工作都有较大参考价值.

LV沉默Oct4表达后发现细胞凋亡增加, STAT3、P-STAT3及Survivin下调, 因此推测Oct4参与大肠癌的耐药性可能与STAT3/Survivin信号途径有关.

3 结论

在消化系肿瘤中研究发现, Oct4与肿瘤的发生发展、侵袭转移及预后复发都有密切的关系, 通过抑制Oct4表达后肿瘤的恶性性质得到一定的控制, 可能是通过WNT/β-catenin、TCL1-AKT-ABCG2、STAT3/Survivin通路影响肿瘤干细胞的活性发挥作用, 为今后肿瘤的治疗研究提供了一定实验及理论基础. 由于消化系肿瘤类型多样且各部位肿瘤的研究大多以细胞实验为主, 而细胞的研究涉及个人操作及实验室条件等较多影响因素, 以及因细胞中假基因转录和DNA污染的存在使Oct4假阳性率明显增高[49,50], 这使得该基因在决定肿瘤恶性性质的解释变得复杂多样. 因此. Oct4在消化系肿瘤的临床应用中还不具备诊断及治疗指标的价值, 尚需更深层次的研究. 另外, Oct4在肿瘤中的调控作用呈一个庞大的网络体系, 其在肿瘤恶性程度中发挥作用的主要通路还前途未卜, 且其各条通路是否相互影响需更深入的研究. 最后, 根据其不同剪切体表达部位、功能以及信号途径的不同, 其在消化系肿瘤的发生、发展以及治疗的相关性也有待进一步的研究, 为甄选出可靠的临床筛查、诊断及治疗的靶向分子标志和肿瘤的研究提供新的思路及理论.

4 参考文献

1 Cauffman G, Liebaers I, Van Steirteghem A, Van de Velde H. POU5F1 isoforms show different expression patterns in human embryonic stem cells and preimplantation embryos. *Stem Cells* 2006; 24: 2685-2691 [PMID: 16916925 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0611]
2 Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, Guenther MG, Kumar RM, Murray HL, Jenner RG, Gifford DK, Melton DA, Jaenisch R, Young RA. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell* 2005; 122: 947-956 [PMID: 16153702 DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.020]
3 Kang J, Shakya A, Tantin D. Stem cells, stress, metabolism and cancer: a drama in two Octs. *Trends Biochem Sci* 2009; 34: 491-499 [PMID: 19733480 DOI: 10.1016/j.tibs.2009.06.003]
4 Ezeh UI, Turek PJ, Reijo RA, Clark AT. Human embryonic stem cell genes OCT4, NANOG, STELLAR, and GDF3 are expressed in both seminoma and breast carcinoma. *Cancer* 2005; 104: 2255-2265 [PMID: 16228988 DOI: 10.1002/cncr.21432]
5 Sheikine Y, Genega E, Melamed J, Lee P, Reuter VE, Ye H. Molecular genetics of testicular germ cell tumors. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 153-167 [PMID: 22432056]
6 Chen Z, Xu WR, Qian H, Zhu W, Bu XF, Wang S, Yan YM, Mao F, Gu HB, Cao HL, Xu XJ. Oct4, a novel marker for human gastric cancer. *J Surg Oncol* 2009; 99: 414-419 [PMID: 19347886 DOI: 10.1002/jso.21270]
7 Dong Z, Zeng Q, Luo H, Zou J, Cao C, Liang J, Wu D, Liu L. Increased expression of OCT4 is associated with low differentiation and tumor recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Pathol Res Pract* 2012; 208: 527-533 [PMID: 22824146 DOI: 10.1016/j.prp.2012.05.019]
8 Wang Q, He W, Lu C, Wang Z, Wang J, Giercksky KE, Nesland JM, Suo Z. Oct3/4 and Sox2 are significantly associated with an unfavorable clinical outcome in human esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2009; 29: 1233-1241 [PMID: 19414369]
9 Wen K, Fu Z, Wu X, Feng J, Chen W, Qian J. Oct-4 is required for an antiapoptotic behavior of chemoresistant colorectal cancer cells enriched for cancer stem cells: effects associated with STAT3/Survivin. *Cancer Lett* 2013; 333: 56-65 [PMID: 23340171 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.01.009]
10 Gazouli M, Roubelakis MG, Theodoropoulos GE, Papailiou J, Vaiopoulou A, Pappa KI, Nikiteas N, Anagnou NP. OCT4 spliced variant OCT4B1 is expressed in human colorectal cancer. *Mol Carcinog* 2012; 51: 165-173 [PMID: 21480394 DOI: 10.1002/mc.20773]
11 He W, Li K, Wang F, Qin YR, Fan QX. Expression of OCT4 in human esophageal squamous cell carcinoma is significantly associated with poorer prognosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 712-719 [PMID: 22363145 DOI: 10.3748/wjg.v18.i7.712]
12 Wen J, Park JY, Park KH, Chung HW, Bang S, Park SW, Song SY. Oct4 and Nanog expression is associated with early stages of pancreatic carcinogenesis. *Pancreas* 2010; 39: 622-626 [PMID: 20173672 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181c75f5e]
13 Eckardt S, Leu NA, Kurosaka S, McLaughlin KJ. Differential reprogramming of somatic cell nuclei after transfer into mouse cleavage stage blastomeres. *Reproduction* 2005; 129: 547-556 [PMID: 15855618 DOI: 10.1530/rep.1.00673]
14 Santagata S, Ligon KL, Hornick JL. Embryonic stem cell transcription factor signatures in the diagnosis of primary and metastatic germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 836-845 [PMID: 17527070 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31802e708a]
15 Ge N, Lin HX, Xiao XS, Guo L, Xu HM, Wang X, Jin T, Cai XY, Liang Y, Hu WH, Kang T. Prognostic significance of Oct4 and Sox2 expression in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *J Transl Med* 2010; 8: 94 [PMID: 20937145 DOI: 10.1186/1479-5876-8-94]
16 Taketomi A, Shirabe K, Muto J, Yoshiya S, Motomura T, Mano Y, Ikegami T, Yoshizumi T, Sugio K, Maehara Y. A rare point mutation in the Ras oncogene in hepatocellular carcinoma. *Surg Today* 2013; 43: 289-292 [PMID: 23266750 DOI: 10.1007/s00595-012-0462-8]
17 Iki K, Pour PM. Expression of Oct4, a stem cell marker, in the hamster pancreatic cancer model. *Pancreatology* 2006; 6: 406-413 [PMID: 16809941 DOI:

10.1159/000094317]
18 Von Tigerstrom RG, Manchak JM. Isolation and characterization of two alkaline ribonucleases from calf serum. *Biochim Biophys Acta* 1976; 418: 184-194 [PMID: 2292 DOI: 10.3892/ijo.2012.1608]
19 Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, Thompson EW. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol* 2006; 172: 973-981 [PMID: 16567498 DOI: 10.1083/jcb.200601018]
20 Dai X, Ge J, Wang X, Qian X, Zhang C, Li X. OCT4 regulates epithelial-mesenchymal transition and its knockdown inhibits colorectal cancer cell migration and invasion. *Oncol Rep* 2013; 29: 155-160 [PMID: 23076549]
21 Yin X, Li YW, Zhang BH, Ren ZG, Qiu SJ, Yi Y, Fan J. Coexpression of stemness factors Oct4 and Nanog predict liver resection. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2877-2887 [PMID: 22461131 DOI: 10.1245/s10434-012-2314-6]
22 Zhou X, Huang GR, Hu P. Over-expression of Oct4 in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cells* 2011; 32: 39-45 [PMID: 21547540 DOI: 10.1007/s10059-011-2315-5]
23 Quint K, Tonigold M, Di Fazio P, Montalbano R, Lingelbach S, Rückert F, Alinger B, Ocker M, Neureiter D. Pancreatic cancer cells surviving gemcitabine treatment express markers of stem cell differentiation and epithelial-mesenchymal transition. *Int J Oncol* 2012; 41: 2093-2102 [PMID: 23026911]
24 Zhang G, Ma L, Xie YK, Miao XB, Jin C. Esophageal cancer tumorspheres involve cancer stem-like populations with elevated aldehyde dehydrogenase enzymatic activity. *Mol Med Rep* 2012; 6: 519-524 [PMID: 22684859]
25 Wang D, Zhu H, Zhu Y, Liu Y, Shen H, Yin R, Zhang Z, Su Z. CD133(+)/CD44(+)/Oct4(+)/Nestin(+) stem-like cells isolated from Panc-1 cell line may contribute to multi-resistance and metastasis of pancreatic cancer. *Acta Histochem* 2013; 115: 349-356 [PMID: 23036582 DOI: 10.1016/j.acthis.2012.09.007]
26 Jia Q, Zhang X, Deng T, Gao J. Positive correlation of Oct4 and ABCG2 to chemotherapeutic resistance in CD90(+)CD133(+) liver cancer stem cells. *Cell Reprogram* 2013; 15: 143-150 [PMID: 23438193 DOI: 10.1089/cell.2012.0048]
27 Padín-Iruegas ME, Herranz-Carnero M, Aguin-Losada S, Brozos-Vazquez E, Anido-Herranz U, Antunez-Lopez JR, Ruibal-Morell A, López-López R. Prognostic value of changes in the expression of stem cell markers in the peripheral blood of patients with colon cancer. *Oncol Rep* 2013; 29: 2467-2472 [PMID: 23545848 DOI: 10.3892/or.2013.2368]
28 Li C, Yan Y, Ji W, Bao L, Qian H, Chen L, Wu M, Chen H, Li Z, Su C. OCT4 positively regulates Survivin expression to promote cancer cell proliferation and leads to poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e49693 [PMID: 23185410 DOI: 10.1371/journal.pone.0049693]
29 Saigusa S, Tanaka K, Toiyama Y, Yokoe T, Okugawa Y, Ioue Y, Miki C, Kusunoki M. Correlation of CD133, OCT4, and SOX2 in rectal cancer and their association with distant recurrence after chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3488-3498 [PMID: 19657699 DOI: 10.1245/s10434-009-0617-z]
30 Huang PZ, Lu CL, Li BK, Hong J, Huang L, Wang L, Zhang Y, Yuan YF. [OCT4 expression in hepatocellular carcinoma and its clinical significance]. *Chin J Cancer* 2010; 29: 111-116 [PMID: 20038322]
31 Merlos-Suárez A, Barriga FM, Jung P, Iglesias M, Céspedes MV, Rossell D, Sevillano M, Hernando-Momblona X, da Silva-Diz V, Muñoz P, Clevers H, Sancho E, Mangues R, Batlle E. The intestinal stem cell signature identifies colorectal cancer stem cells and predicts disease relapse. *Cell Stem Cell* 2011; 8: 511-524 [PMID: 21419747 DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.020]
32 Hsu W, Mohyeldin A, Shah SR, Gokaslan ZL, Quinones-Hinojosa A. Role of cancer stem cells in spine tumors: review of current literature. *Neurosurgery* 2012; 71: 117-125 [PMID: 22418583 DOI: 10.1227/NEU.0b013e3182532e71]
33 Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, Cammareri P, Vermeulen L, Iovino F, Tripodo C, Russo A, Gulotta G, Medema JP, Stassi G. Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 389-402 [PMID: 18371377 DOI: 10.1016/j.stem.2007.08.001]
34 Chen YC, Hsu HS, Chen YW, Tsai TH, How CK, Wang CY, Hung SC, Chang YL, Tsai ML, Lee YY, Ku HH, Chiou SH. Oct-4 expression maintained cancer stem-like properties in lung cancer-derived CD133-positive cells. *PLoS One* 2008; 3: e2637 [PMID: 18612434 DOI: 10.1371/journal.pone.0002637]
35 Clevers H, Nusse R. Wnt/β-catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149: 1192-1205 [PMID: 22682243 DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012]
36 Davidson KC, Adams AM, Goodson JM, McDonald CE, Potter JC, Berndt JD, Biechele TL, Taylor RJ, Moon RT. Wnt/β-catenin signaling promotes differentiation, not self-renewal, of human embryonic stem cells and is repressed by Oct4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 4485-4490 [PMID: 22392999 DOI: 1073/pnas.1118777109]
37 Yuan F, Zhou W, Zou C, Zhang Z, Hu H, Dai Z, Zhang Y. Expression of Oct4 in HCC and modulation to wnt/β-catenin and TGF-β signal pathways. *Mol Cell Biochem* 2010; 343: 155-162 [PMID: 20549546 DOI: 10.1007/s11010-010-0509-3]
38 Kitisin K, Ganesan N, Tang Y, Jogunoori W, Volpe EA, Kim SS, Katuri V, Kallakury B, Pishvaian M, Albanese C, Mendelson J, Zasloff M, Rashid A, Fishbein T, Evans SR, Sidawy A, Reddy EP, Mishra B, Johnson LB, Shetty K, Mishra L. Disruption of transforming growth factor-beta signaling through beta-spectrin ELF leads to hepatocellular cancer through cyclin D1 activation. *Oncogene* 2007; 26: 7103-7110 [PMID: 17546056 DOI: 10.1038/sj.onc.1210513]
39 Matoba R, Niwa H, Masui S, Ohtsuka S, Carter MG, Sharov AA, Ko MS. Dissecting Oct3/4-regulated gene networks in embryonic stem cells by expression profiling. *PLoS One* 2006; 1: e26 [PMID: 17183653 DOI: 10.1371/journal.pone.0000026]
40 Hu T, Liu S, Breiter DR, Wang F, Tang Y, Sun S. Octamer 4 small interfering RNA results in cancer stem cell-like cell apoptosis. *Cancer Res* 2008; 68: 6533-6540 [PMID: 18701476 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6642]
41 Mogi M, Yang J, Lambert JF, Colvin GA, Shiojima I, Skurk C, Summer R, Fine A, Quesenberry PJ, Walsh K. Akt signaling regulates side population cell phenotype via Bcrp1 translocation. *J Biol Chem* 2003;

■应用要点
Oct4是近期消化系肿瘤及其干细胞研究的一个热点, 明确Oct4在消化系肿瘤中的作用及机制后, 将为消化系肿瘤的治疗及进一步研究提供新的靶点.

■同行评价

本文对*Oct4*基因在消化系肿瘤中的研究进展进行了综述，具有一定指导意义.

278: 39068-39075 [PMID: 12851395 DOI: 10.1074/jbc.M306362200]

42 Wang XQ, Ongkeko WM, Chen L, Yang ZF, Lu P, Chen KK, Lopez JP, Poon RT, Fan ST. Octamer 4 (Oct4) mediates chemotherapeutic drug resistance in liver cancer cells through a potential Oct4-AKT-ATP-binding cassette G2 pathway. *Hepatology* 2010; 52: 528-539 [PMID: 20683952 DOI: 10.1002/hep.23692]

43 Glienke W, Hausmann E, Bergmann L. Down-regulation of STAT3 signaling induces apoptosis but also promotes anti-apoptotic gene expression in human pancreatic cancer cell lines. *Tumour Biol* 2011; 32: 493-500 [PMID: 21174186 DOI: 10.1007/s13277-010-0143-4]

44 Kim JH, Lee SC, Ro J, Kang HS, Kim HS, Yoon S. Jnk signaling pathway-mediated regulation of Stat3 activation is linked to the development of doxorubicin resistance in cancer cell lines. *Biochem Pharmacol* 2010; 79: 373-380 [PMID: 19766599 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.09.008]

45 Huang S, Chen M, Shen Y, Shen W, Guo H, Gao Q, Zou X. Inhibition of activated Stat3 reverses drug resistance to chemotherapeutic agents in gastric cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 315: 198-205 [PMID: 22104727 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.10.011]

46 Nagaraj NS, Washington MK, Merchant NB. Combined blockade of Src kinase and epidermal growth factor receptor with gemcitabine overcomes STAT3-mediated resistance of inhibition of pancreatic tumor growth. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 483-493 [PMID: 21266529 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1670]

47 Lin L, Fuchs J, Li C, Olson V, Bekaii-Saab T, Lin J. STAT3 signaling pathway is necessary for cell survival and tumorsphere forming capacity in ALDH/CD133 stem cell-like human colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 416: 246-251 [PMID: 22074823 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.10.112]

48 Di Stefano AB, Iovino F, Lombardo Y, Eterno V, Höger T, Dieli F, Stassi G, Todaro M. Survivin is regulated by interleukin-4 in colon cancer stem cells. *J Cell Physiol* 2010; 225: 555-561 [PMID: 20506498 DOI: 10.1002/jcp.22238]

49 Liedtke S, Enczmann J, Waclawczyk S, Wernet P, Kögler G. Oct4 and its pseudogenes confuse stem cell research. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 364-366 [PMID: 18371374 DOI: 10.1016/j.stem.2007.09.003]

50 Lengner CJ, Welstead GG, Jaenisch R. The pluripotency regulator Oct4: a role in somatic stem cells? *Cell Cycle* 2008; 7: 725-728 [PMID: 18239456 DOI: 10.4161/cc.7.6.5573]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2975-2980
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

中医方证相应理论的研究进展

周盼盼, 王彦刚

周盼盼, 河北医科大学研究生院 河北省石家庄市 050011
王彦刚, 河北省中医院脾胃病二科 河北省石家庄市 050011
周盼盼, 主要从事中西医结合治疗消化疾病的研究.
作者贡献分布: 本文选题设计与审校由王彦刚完成; 文献资料搜集由周盼盼完成; 写作由周盼盼与王彦刚共同完成.
通讯作者: 王彦刚, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 050011, 河北省石家庄市中山东路389号, 河北省中医院脾胃病二科.
piwei001@163.com
电话: 0311-85990276
收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-08-09
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in traditional Chinese medicine

Pan-Pan Zhou, Yan-Gang Wang

Pan-Pan Zhou, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Yan-Gang Wang, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Correspondence to: Yan-Gang Wang, Professor, Chief Physician, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 389 Zhongshan East Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. piwei001@163.com
Received: 2013-06-21 Revised: 2013-08-09
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

Over the past decades, many Chinese scholars agree that the relationship between formula and syndrome is a very important direction of TCM theoretical and clinical research, and considerable progress has been achieved in the research of the theory of correspondence between formula and syndrome. Syndrome differentiation-based treatment is the core content of TCM theory, and the correspondence between formula and syndrome is the important link between syndrome differentiation and treatment. A syndrome corresponds to a formula, and a formula also corresponds to a syndrome. The theory of correspondence between formula and syndrome has become the premise of clinical treatment. This article summarizes the recent advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in terms of theoretical knowledge, experimental research, and clinical research.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Theory of correspondence between formula and syndrome; Theoretical knowledge; Experimental research; Clinical research

Zhou PP, Wang YG. Advances in research of the theory of correspondence between formula and syndrome in traditional Chinese medicine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2975-2980 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2975.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2975

摘要

近现代以来, 国内许多学者普遍认同方证关系是中医理论与临床研究的极其重要的方向, 尤其围绕方证相应关系的研究取得了相当大的进展. 辨证论治是中医理论中的核心内容, 而方证相应则是辨证论治的重要环节, 有是证而用是方, 用是方而治是证, 方证相应成为临床取效的前提. 本文结合不同医家对方证相应理论的研究及应用, 从理论认识、实验研究、临床研究等三个方面, 对当前方证相应理论相关研究做了全面综述; 进一步肯定该理论的临床使用价值, 并将其广泛应用于中医理论研究及临床实践, 旨在为进一步提高中医临床疾病的诊治水平提供新的思路和方法.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 方证相应; 理论认识; 实验研究; 临床研究

核心提示: 方证研究是中医现代化研究的一个重要内容, "方证相应"是其核心问题, 在中医理论指导下研究中医"方证相应"诊疗模式的内涵, 揭示其随证用方、随证加减的方剂配伍规律, 是中医药服务于临床的需要, 因此进行"方证相应"研究有着十分重要的意义.

周盼盼, 王彦刚. 中医方证相应理论的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2975-2980 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2975.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2975

■背景资料
方证相应理论的应用为临床疾病的诊治提供了新的思路和方法. 抓住方证, 寻找证与方药的对应关系, 实现方证对应研究方法的客观化, 方证的规范化, 弄清方药所以取效的机制, 是提高中医药临床疗效的可靠途径.

■同行评议者
王富春, 教授, 长春中医药大学; 侯风刚, 副教授, 副主任医师, 上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

■研发前沿
辨证论治是中医学的诊疗特色，证、法、方、药是辨证论治的核心内容，“法随证立，方从法出，方以药成”反映了证-法-方-药之间的密切关系. 在这个体系中，方药与病证的关系占据重要地位，是中医学的重要命题. 围绕中医方证关系的科学内涵及其关键问题的研究已成为中医药现代研究的热点领域.

0 引言

方剂是以证候为依据，根据君、臣、佐、使及七情和合原则制定的针对某种证候的药物集合体；证候是确定方剂的依据，又是方剂干预的对象. 方证相应，顾名思义，指方剂与证候两者间的对应性关系，即方剂的主治病证范畴及该方组方之理法与病人所表现出来的主要病症或病机相符合[1]. 有学者将之称为“方证对应”，简言之，就是方与证要相符合. 辨证论治是理、法、方、药的有机结合体，是中医认识和治疗疾病的基本原则，而方证相应则是辨证论治的总目的. 法依证立，方随法出，有是证用是方，用是方而治是证，方证相应，有助于提高临床辨证论治的水平及疗效. 笔者就方证相应理论的发展从不同方面总结如下：

1 方证相应的理论认识

1.1 相关概念与内涵 方证相应首见于《伤寒论》第317条曰：“病皆与方相应者，乃服之”，指出在整个方证证治体系中普遍存在着相关的证与方的对应关系，即治疗每一具体病证，皆有其相对应的最佳方、首选方，且常以方名证，如“桂枝证”、“柴胡证”等. 宋代朱肱对方证相应理论进一步阐述为“所谓药证者，药方前有证也，如某方治某病是也”，“须是将病对药，将药合病，乃可服之”. 徐灵胎《伤寒论类方》中指出“不类经而类方”，及“方之治病有定，而病之变迁无定，知其一定之治，随其病之千变万化而应用不爽”，其认识更为深刻. 认识疾病在于“证”，“证”之精妙之处，古人称之为“机”，辨证求机为高度的理性思维过程；施“方”则是治疗疾病的过程. 证随机转，方随证出，方因证变是方证相应的一般规律. 胡希恕认为“临证有无疗效，决定于方证对应与否，执一法不如守一方”，“方证辨证是六经、八纲辨证的继续，更是辨证的尖端”[2]，认为中医药治病有无疗效，其关键就在于方证是否对应.

谢鸣[3]认为方证相应中“方”是指具有特定药味、药量、剂型、用法等内容的用药形式，“证”则指特定方剂所针对的具体病证. 方药的功用体现治法，治法与病证相对应，把方与证的这种对应关系叫做“方证相应”. 即指一个方剂的功效和方剂内的药味及其配伍关系与其针对的病证、病机及病理环节之间具有高度相关性和针对性. 王阶等[4]认为“方证相应”的实现依赖于辨证体系的全面和准确，反过来也成为检验辨证体系健全和实用与否的标准. 他们认为方证相应中“证”的内涵可以理解为证候要素，对方与证候要素相对应进行临床施治和研究，可以提高中医临床应用的灵活性和规范性，广泛深入寻找对应证候要素的不同病种的方药配伍和组合，并在药味、药量等具体用药方面进一步细化，强调用药对证的契合度，尽力遵循方证传统理论，进行临床验证，以推动“证候要素及应证组合”为主体的辨证体系的完善. 不同医家对“方证相应”理论的不同认识，极大丰富了其内涵，并充分肯定了其存在的价值，为临床进一步提高诊治水平提供了更为清晰的思路.

1.2 主要表现形式 从方证相应的定义可以看出，方证相应不是方与证的单一对应，而是方与主证、方证的病机、方证的症状、方证间病势病位病情病性等相对应的综合体. 主证是决定证候性质的根本所在，针对主证处方用药，对其兼证辨证化裁，以切中病情收取良效. 例如少阳病的小柴胡汤以寒热往来、胸胁苦满、心烦喜呕为主证，故见此为主证者，给予小柴胡汤，若兼夹他证则适当加减，以收方证相应之效. 随着病情变化，辨证论治，以达到方与证的动态对应[1]. 方证相应的关键是主要的、关键的病机层面上的对应，方剂所治病证有一定的病机，证候所体现的病机应与方剂所针对的病机吻合[5]，方能取效. 证与方剂应遵循定位、定势、定量以及定性同步原则，以使方证对应达到了较高的境界[6]. 此外，方证相应还包括药量与病情对应、煎服法与病情对应[7]. 宋姚屏等[8]以中医理论为基础，提出方证相应应结合辨证，从多维角度进行分析，结构维度(症的主次、方剂的君臣佐使)、性质维度(方、证的虚实寒热)、程度维度(方、证的轻重不同)、位置维度(证的病位、方的归经和作用部位). 综合应用各个维度分析方证相应，揭示中医药理论指导下的方证相应的本质，能更好地指导临床实践.

2 方证相应的动物实验研究

中医证候动物模型是中医理论和中药现代研究的重要技术手段. 现代药理学对中药“方”的评价多集中在生化指标方面，对方与证的相应性证候指标的相关研究较少. “方证相应”理论尤其是以方测证逆向辨证方式的提出，为中医证候的现代研究提供了方法学上的参考. 从几种造模方法中筛选出与临床最吻合的动物模

型建立方法, 在相应方治疗下机体所发生的物质变化视为该证候的物质基础, 通过选用经典方剂, 对所建立的证候动物模型进行治疗, 观察方剂对模型的影响, 检测模型宏观指标和微观指标的变化, 这些变化即为模型的生物学基础, 亦是方剂的作用机理, 从而为方证相应理论的进一步研究提供客观依据.

王聪丽等[9]将方证相应从模型与方剂的对应性角度将实验研究模式总结为一模一方、一模两方、一模多方及两模两方, 从而通过动物实验来验证存在对应关系的方与证.

2.1 两模两方 两模两方适用于两种相反证型与其各自对应的方剂的实验研究, 通过交叉治疗观察疗效, 进而证明方与证存在客观的对应性. 李冀等[10-12]采用寒热因素结合腹腔注射消炎痛法和水浸应激法, 分别建立大鼠胃溃疡寒、热证模型, 使用寒热不同性质的大黄黄连泻心汤、理中丸对两种模型进行交叉治疗, 结果显示大鼠血清NO、GAS、MOT、ET的含量、胃组织EGF和TGF-α含量均有相应变化. 运用方剂佐证性研究证明了寒、热证模型与寒热属性之方剂的相关性, 从实验研究方面印证了“寒者热之、热者寒之”法则与“方证相应”模式的客观性. 李茹柳等[13]将乙醇和NaOH作为胃热和胃寒证的造模因素, 分别造成大鼠胃寒热Ⅰ°、胃寒热Ⅱ°及胃寒Ⅲ°等5种模型, 结果表明寒性方剂左金丸发挥作用在热证模型上, 热性方剂反左金丸发挥作用在寒证模型上, 也充分印证了方证相应的客观性.

2.2 一模多方 一模多方重在从多个方中选择与某种证型相对应的最佳方, 以证实方证相应的科学性, 为方证相应提供客观依据. 刘丽梅等[14]建立溃疡性结肠炎动物模型, 根据溃疡性结肠炎发展的不同阶段证候特点, 探索不同经方干预大鼠溃疡性结肠炎模型的作用机制, 用以方测证的思维方式, 依据方证相应的原则, 阐明不同经方在不同阶段治疗该病的方证对应关系及其中医病机, 揭示中医证候的现代医学病理实质, 诠释不同经方对机体整体调节机制, 阐明方剂配伍意义, 为提高临床疗效奠定理论基础.

2.3 一模两方 一模两方目的在于探讨某些方剂作用的相似性, 适用于功效相类似的方剂与其所对应的相同功效证型的实验研究. 陈素红等[15]采用附子汤+麻黄碱+盐水三因素制备大鼠高血压肝阳上亢证模型, 分组给药, 探讨羚角降压方、天麻钩藤方与高血压肝阳上亢证的方证相应性研究. 结果发现天麻钩藤方、羚角降压方具有平肝潜阳的功效, 能改善高血压肝阳上亢证的证候指标, 降低收缩压, 具有一定的方-证相应性. 唐汉庆等[16]造成大鼠脾阳虚模型, 用高效液相色谱测量骨骼肌能荷. 观察到温热性质的附子理中丸增强解偶联蛋白3活性, 降低骨骼肌能耗, 提高机体产能, 从而发挥了对脾阳虚的治疗作用. 以寒凉复方黄连解毒汤作为反证对照, 疗效不明显.

2.4 一模一方 一模一方的实验研究模式重在探讨方证之间的一一对应关系, 也是目前研究最多最基本的实验研究方法. 张杰等[17]通过右归饮对肾阳虚证动物模型大鼠干预的研究, 运用蛋白质组学技术探寻肾阳虚证标志蛋白质, 从而证明右归饮和肾阳虚证存在方证相应关系. 李俊丽等[18,19]基于方证相应学说探寻肾阴虚证的标志蛋白质的研究及关于左归饮与肾阴虚证方证相应机制的蛋白质组学研究, 王文萍等[20]基于“方证相应”理论验证慢性间歇性缺氧模型气阴两虚证候属性的初步研究等, 均以方证相应理论为基础, 通过动物模型验证方对证的肯定疗效.

3 方证相应的临床研究及方法

临床要做到方证相应, 需要经过一个抓主证、辨兼证、析类证、排除禁忌证的一系列临床思维. 回归方证相应思维模式有助于临床经验的总结, 提高中医药临床疗效[21]. 近年来众多学者致力于方证相应理论的研究探讨, 不断探索新的研究方法, 将其应用于临床实践中.

3.1 综合多学科知识, 建立不同的临床研究方法 任锡禄[22]认为多学科研究方法是实现方证相应的可行性途径, 循证医学为解决这一问题提供了新的思路, 在此基础上建立具有中医特色的“以方统证”、“以方统药”、“以方统病”的系统评价方法, 使其适合中医药文献的特点, 以经方为研究对象进行方证相应研究.

潘大为[23]将层次分析法(AHP)引入中医方证研究, 建立方证耦合数学模型, 在现代科学基础上探索《伤寒论》方证相应原理, 为提出客观、规范的中医方证临床疗效评价标准提供可靠依据. 陈云慧等[24]运用贝叶斯方法对样本方数据库进行挖掘, 从而发现症-证间的关联, 为方证相应的判定及研究提供了一种较为客观、可行的方法. 包巨太等[25]从哲学、中医学和临床实践三个层面提出“阴阳球-八纲三级结构系统模

■相关报道
郁祥以“黄金分割法”为标准, 通过对10年间血府逐瘀汤文献资料的整理, 总结其主要脉症及主治疾病, 符合原书所载“胸中血府血瘀之证”, 建立了稳定的血府逐瘀汤的方证相应关系, 为临床准确辨证施治提供了科学理论依据.

■创新盘点
本文所涉及的内容基本涵盖了目前国内中医方证相应理论发展的现状, 并从理论认识、实验研究、临床研究不同角度对当前方证相应理论相关研究做了全面综述, 对指导中医临床具有很好实践意义.

型”假说, 使抽象的中医概念得到客观的展现, 为方证相应的客观性研究提出了新的思路和研究方法. 郭超峰等[26,27]引入基于案例推理方法研究经方的“方证相应”理论, 进而构建“方证相应”证治体系, 研究方与证之间的特殊相应关系以及中医临床思维模式, 为“方证相应”学说的进一步研究打下坚实的基础; 并遵循经方“方证相应”理论的内涵构建了桂枝汤方证网络, 运用复杂网络理论对该网络进行了分析, 其思路与方法对“方证相应”研究进行了新的尝试, 有助于“方证相应”科学内涵的深入探讨. 黄煌教授在多年经验基础上, 提出了鲜明实用的“方证三角”学说, 认为只有方-病-人三者相结合, 构成一个合理的“方证三角”, 才能更好地运用于临床实际[28], 实是对方证相应学说的进一步发展.

3.2 回顾性分析, 归纳方证相应规律 郁祥[29]以“黄金分割法”为标准, 通过对10年间血府逐瘀汤文献资料的整理, 总结其主要脉症为胸痛, 心烦易怒, 失眠, 舌暗红或有瘀点, 苔薄白, 脉涩或弦; 主治疾病为瘀血阻滞心胸, 符合原书所记载“胸中血府血瘀之证”, 建立了稳定的血府逐瘀汤的方证相应关系, 为临床准确辨证施治提供了科学理论依据.

张士强等[30]将频率描述、系统聚类、对应分析等数据挖掘的统计分析方法引入至探求黄吉赓教授在诊治肺系疾病的方证相应的诊治思路中, 既实现对中医特有的“方证相应”现象及其内在规律的理论挖掘和知识发现, 同时也是名老中医经验总结的客观化、直观化的实践应用. 寇爽等[31]通过对近五年中医辨证论治酒精性肝病的文献总结, 从遣方用药的角度探讨中医药对于本病的认识及遣方用药规律, 根据“以方测证”、“方证相应”的原理, 总结酒精性肝病的治疗法则及主要证素认识. 魏春等[32]基于《金匮要略》温经汤方证相应规律的文献统计分析的研究, 李童关于归脾汤[33]、小青龙汤[34]方证相应研究的文献统计等, 从不同角度发掘其稳定而规范的方证相应关系, 使其客观化, 为临床遣方用药提供行之有效的理论基础.

4 方证相应的临床应用及疗效观察

4.1 方剂的临床应用以探寻相应证的表现 何永明[35]依据方证相应原则, 将柴苓汤广泛应用于肿瘤治疗中. 临床中肿瘤患者亦多见患者情绪低落或焦虑, 食欲不振或呕吐, 口渴或小便不利, 或面目肢体浮肿等, 柴苓汤对此有较好的治疗作用, 故也. 张涛等[36]在寒温统一论的指导下进行通脉养心丸方证探讨, 并总结其典型脉症. 小柴胡汤为少阳病而设, 证见“往来寒热、胸胁苦满、嘿嘿不欲饮食、心烦喜呕、口苦、咽干、目眩”, 临床应用“但见一证便是, 不必悉具”, 杨海燕等[37]从几则误诊误治案例分析, 有小柴胡汤证便可用小柴胡汤, 且疗效显著. 陈建芳[38]总结黄煌运用柴胡加龙骨牡蛎汤经验, 归纳其方证：其一以胸胁苦满为主的柴胡证; 其二精神神经症状;准确运用“方-人-病”的方证三角诊疗模式, 收效甚著. 由此可知, 方证相应在临床疾病治疗中的重要性和必要性.

4.2 方证对应程度决定临床疗效 临床治疗疾病的疗效取决于方证对用程度, 方证对应则疗效佳, 方不对证则疗效差. 从临床的误诊误治病例中也可看出方证对应才能药到病除.

杨海梅等[37]总结临床中几例小柴胡汤证误诊误治病例, 其临床表现以眩晕、经期发热、咳嗽症状为主, 分别予其半夏白术天麻汤、丹栀逍遥散加减、止咳化痰药物治疗, 疗效欠佳, 后改用小柴胡汤加减口服, 治之而显效. 由此而至, 方证对应是临床取效的保证. 王阶等[39]采用随机双盲双模拟实验, 选择冠心病心绞痛属血瘀气滞证或气阴两虚证为研究对象, 以血府逐瘀汤及生脉饮为干预手段, 通过观察临床疗效及理化指标的变化, 考察方证对应关系. 结果表明, 临床疗效取决于方证对应程度, 方证对应疗效及药物在体内的作用方式与方对证契合点及方对病作用靶点有关. 周庆兵等[40]从方证相应角度探析周霭祥辨治再生障碍性贫血经验, 其倡导以补肾为中心进行辨证施治, 总结十四味建中汤方证和加味大菟丝子饮方证, 随症加减疗效显著, 广泛用于再障的治疗. 高广飞[41]以方证相应为原则, 辨证论治咳嗽变异性哮喘, 在临床施治中取得较好疗效. 严兴亚等[42]通过观察方证相应对急性脑梗死患者D-二聚体含量的影响, 表明方证相应组可降低死亡率, 提高生活质量, 可见方证治疗急性脑梗死安全、有效. 马家驹等[43]通过探讨经方治疗荨麻疹, 指出其重在临床先辨六经继辨方证, 方证相应, 方可取得良好疗效.

4.3 为中医证候规范化研究产生积极的推动作用 张军平等[44]基于病证结合、方证相应优化病毒性心肌炎治疗方案, 使诊疗更具针对性、高效性, 从而取得最佳的治疗效果. 郑香春等[45]关于癫痫中医证候规范化研究的思路和方法探析,

对癫痫的中医诊断标准与疗效评价体系提供依据. 邵明义等[46]从经方医学的实践入手, 结合病症结合、方证相应探索建立中药新药临床疗效评价的新方法, 为客观评价中药新药临床疗效提供新思路.

5 结论

方证相应是对方剂与证候两者间关系的一种阐述, 他强调方与证的对应性, 证候是处方的依据, 反过来方剂又是检验证候诊断是否正确的手段, 证候所体现的病机应与方剂所针对的病机吻合. 中医临床用药主要是用方剂治病, 方证相应成为临床取效的前提. 方证相应关系, 是理、法、方、药的方剂辨证体系的统一, 其理论研究必不可少, 实验研究为基础, 结合临床研究才能揭示其内在本质, 才能最终达到中医服务于临床的目的.

辨证施治是中医理论中的核心内容, 而方证对应是辨证论治的重要环节. 抓住方证, 寻找证与方药的对应关系, 实现方证对应研究方法的客观化, 方证的规范化, 弄清方药所以取效的机理, 是提高中医药临床疗效的可靠途径[24], 同时也易于动物模型的设计, 进而可能找到方与证相对应的现代病理生理模型和药理学的结合点. 通过病症结合、方证相应研究, 探求病证和方证的相关性, 揭示证候的生物学基础, 进行证候的规范化、数据化及与疾病、方剂的相关性研究, 为证候的诊断规范与疗效评价标准提供现代科学依据, 建立病证方结合的模型评价指标体系, 将为中医临床诊疗标准的制定提供参考[47]. “方证相应”理论不仅是临床实践应遵循的原则, 也是开展中医药现代化研究应有的重要内容与突破点.

方证相应理论的应用为中医新理论及临床疾病的诊治提供了新的思路和方法. 目前研究较多的浊毒理论是近年来提出的一个重要病因学说, 浊毒致病论已成为现代中医病因学的基础理论[48], 这一学说为临床上许多重大疑难疾病的治疗提供和开辟了新的重要途径, 正广泛应用于临床许多疾病, 包括慢性萎缩性胃炎、溃疡性结肠炎、慢性肝炎、肝纤维化、肝硬化、糖尿病等[49]. 浊毒既是一种对人体脏腑经络及气血阴阳均能造成严重损害的致病因素, 同时也是多种病因导致脏腑功能紊乱、气血运行失常, 机体内产生的代谢产物不能及时正常排出, 蕴积体内而化生的病理产物[50]. 浊毒为患所形成的病证乃为浊毒证, 是广泛存在于多种疾病中的病理状态. 应用化浊解毒法治疗浊毒证, 临床已取得较满意的疗效.

因此, 通过将中医整体观念与方证相应理论相结合, 来探讨浊毒证共性病机演变、临床证候特征、化浊解毒用药规律, 发展浊毒学说, 进而提高浊毒证临床辨证治疗水平. 立足于方证相应, 继续深入发掘化浊解毒方与浊毒证候稳定而规范的方证相应关系, 为进一步完善中医浊毒理论开辟了新的思路, 同时为其进一步规范化研究提供理论基础, 有助于浊毒理论更好的应用于临床.

■应用要点

方证相应是对方剂与证候两者间关系的一种阐述, 他强调方与证的对应性, 证候所体现的病机应与方剂所针对的病机吻合. 中医临床用药主要是用方剂治病, 方证相应成为临床取效的前提. 有是证用是方, 用是方而治是证, 为进一步提高临床疾病的诊治水平提供新的思路和方法.

6 参考文献

1 张兰凤, 王阶, 王永炎. 方证对应研究. 中华中医药杂志 2005; 20: 8-10
2 李国臣, 王冠民, 崔文艺. 胡希恕方证辨证说略. 上海中医药杂志 2003; 37: 39-41
3 谢鸣. “方证相关”逻辑命题及其意义. 北京中医药大学学报 2003; 26: 11-12
4 王阶, 汤艳丽, 何庆勇, 熊兴江. 方证对应在中医辨证体系构建中的思考. 中华中医药杂志 2009; 24: 837-839
5 衷敬柏, 王阶, 赵宜军, 王永炎. 病证结合与方证相应研究. 辽宁中医杂志 2006; 33: 137-139
6 袁冬生. 论方剂教学中的方证对应关系. 江西中医药 2000; 31: 46-47
7 冯世纶. 认识经方方证. 上海中医药杂志 2013; 47: 26-28
8 宋姚屏, 雍小嘉, 蒋永光, 周训伦. 从多维角度看方证相应. 新中医 2007; 39: 6-7
9 王聪利, 马红, 蔡宝昌. 方证相应的实验研究模式. 吉林中医药 2008; 28: 872-873
10 李冀, 谢田, 于海, 蒋蕾, 柴剑波, 赵伟国, 毕珺辉. 大黄黄连泻心汤、理中丸对消炎痛型及水浸应激型胃溃疡寒热证模型大鼠血清NO和ET含量的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 1862-1864
11 李冀, 谢田, 于海, 蒋蕾, 赵伟国, 赵雪莹, 毕珺辉, 柴剑波. 大黄黄连泻心汤、理中丸对对消炎痛型及水浸应激型胃溃疡寒热证模型大鼠胃组织EGF和TGF-a含量的影响. 中医药信息 2011; 28: 52-55
12 李冀, 柴剑波, 李胜志, 胡晓阳, 肖洪彬, 陈宝忠. 寒、热方剂对消炎痛型胃溃疡寒、热证模型大鼠血清GAS, MOT含量的影响. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 170-172
13 李茹柳, 陈艳芬, 陈蔚文. 左金丸方证相应动物模型建立的回顾及其对方证研究的意义. 广州中医药大学学报 2005; 22: 236-238
14 刘丽梅, 陈琳, 王瑞海, 刘振丽, 卢贺起, 张玲, 宋志前. 病证结合方证相应基础研究的现状. 中国中医基础医学杂志 2009; 15: 334-336
15 陈素红, 吕圭源, 陈宁, 陈晓琳, 刘丽君. 羚角降压方、天麻钩藤方与高血压肝阳上亢证的方证相应性研究. 中国实验方剂学杂志 2010; 16: 128-131
16 唐汉庆, 韦祎. 脾阳虚模型小鼠产热障碍机制及附子理中汤的干预作用. 海南医学院学报 2010; 16: 285-288
17 张杰, 李浧, 彭锦, 温瑞兴. 基于右归饮与肾阳虚证方证相应关系探寻肾阳虚证标志蛋白质的初步研究. 中国中医基础医学杂志 2008; 14: 230-232
18 李俊丽, 李浧, 刘铭福, 张杰. 基于方证相应学说探寻肾阴虚证的标志蛋白质. 中国中医基础医学杂志 2011;

■同行评价

本文有一定科学性和可读性, 叙述条理分明, 反应了当前方证相应这一理论的研究现状, 对中医药的研究有很好地指导意义.

17: 1084

19 李俊丽, 李浧, 刘铭福, 张杰. 左归饮与肾阴虚证方证相应机理的蛋白质组学研究. 中国中医基础医学杂志 2010; 16: 203-208

20 王文萍, 柴程芝, 寇俊萍, 朱丹妮, 严永清, 余伯阳. 基于“方证相应”理论验证慢性间歇性缺氧模型气阴两虚证候属性的初步研究. 中国中医基础医学杂志 2012; 18: 50-52

21 徐珉, 老膺荣, 范宇鹏, 温丹婷, 刘志清, 古求知. 方证相应理论及其临床思维模式探讨. 新中医 2013; 45: 4-5

22 任锡禄. 病证结合、方证相应研究的思考. 光明中医 2007; 22: 1-2

23 潘大为. 运用AHP法建立方证耦合模型: 一种方证研究的新思路. 时珍国医国药 2011; 22: 1226-1228

24 陈云慧, 王燕, 张昱, 叶晓, 李仕进. 基于贝叶斯方法的方证相应研究. 辽宁中医杂志 2008; 35: 360-362

25 包巨太, 吴范武, 图娅, 齐峰, 马会霞. 《伤寒论》方证对应规律的可视化研究. 中医杂志 2008; 49: 372-374

26 郭超峰, 施学丽. 基于案例推理构建“方证相应”证治体系的探讨. 中国中医基础医学杂志 2011; 17: 1332

27 郭超峰, 施学丽. 基于复杂网络理论的经方“方证相应”研究–以桂枝汤为例. 辽宁中医杂志 2013; 40: 438-440

28 杨杰. 黄煌教授“方–病–人”学说浅析. 西部中医药 2013; 26: 45-48

29 郁祥. 血府逐瘀汤方证相应研究. 江西中医学院学报 2009; 21: 39-40

30 张士强, 余小萍. 黄吉赓教授咳喘病例的数据挖掘及知识发现. 全国中医内科肺系病第十四次学术研讨会论文集 2010; 7: 88-92

31 寇爽, 车念聪, 王蕾. 酒精性肝病的遣方用药规律探析. 中华中医药杂志 2010; 25: 872-877

32 魏春, 武亿红. 基于《金匮要略》温经汤方证相应规律的文献统计分析. 中国中医急症 2012; 21: 1758

33 李童. 归脾汤方证相应研究的文献统计分析. 中医学报 2011; 26: 577-578

34 李童. 小青龙汤方证相应研究. 长春中医药大学学报 2011; 27: 176-178

35 何永明. 柴苓汤在肿瘤治疗中的应用. 浙江中医药大学学报 2009; 33: 854

36 张涛, 杨瑾, 张国骏. 基于寒温统一论的通脉养心丸方证探讨. 吉林中医药 2012; 32: 1145-1146

37 杨海燕, 王萍, 刘新亚. 从误诊误治案例看小柴胡汤的方证相应. 江西中医药 2009; 40: 16

38 陈建芳, 黄煌. 黄煌运用柴胡加龙骨牡蛎汤经验. 山东中医杂志 2012; 31: 899-901

39 王阶, 张兰凤, 王永炎. 方证对应理论源流及临床研究. 世界科学技术 2004; 6: 13-17

40 周庆兵, 胡晓梅. 从方证相应探析周霭祥辨治再生障碍性贫血经验. 上海中医药杂志 2011; 45: 1-2, 8

41 高广飞. 方证相应论在咳嗽变异性哮喘治疗中的应用. 河北中医 2009; 31: 60-61

42 严兴亚, 杨文明, 董婷. 方证相应对急性脑梗死患者D-二聚体含量的影响. 中医药临床杂志 2011; 23: 581-583

43 马家驹, 张广中. 经方治疗荨麻疹探讨. 中华中医药杂志(原中国医药学报) 2013; 28: 997-1000

44 张军平, 吕仕超, 朱亚萍, 周亚男, 肖楠, 郭晓辰, 王小玲. 基于病证结合、方证相应优化病毒性心肌炎治疗方案. 中华中医药学刊 2012; 30: 2153-2154

45 郑香春, 刘金民. 癫痫中医证候规范化研究的思路和方法探析. 中医药学报 2008; 36: 1-5

46 邵明义, 阎博华. 借鉴经方医学模式探索中药新药疗效评价的方法. 第十三次临床药理大会论文汇编, 442-444

47 苗明三, 张玉林, 杨保新. 病证方结合研究的思路. 时珍国医国药 2008; 19: 95-96

48 王正品, 李佃贵, 杜艳茹, 王彦刚, 张纨, 刘启泉, 贾娟娟, 房家毅, 郭启云,张建中, 郭明州. 浊毒致病论与现代中医病因学. 中医杂志 2010; 51: 11-13

49 李佃贵, 王彦刚. 浊毒理论临床应用进展. 中华中医药学会脾胃病分会第十九次全国脾胃病学术交流会论文汇编 2007, 8: 580-584

50 裴林, 李佃贵, 曹东义, 刘启泉, 王彦刚. 浊毒浅识. 河北中医 2010; 32: 24-25

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2981-2986
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

益生菌修复幽门螺杆菌相关黏膜屏障破坏的机制

宋 岩, 曹晓沧, 杨永妍, 姜 葵

宋岩, 天津医科大学 天津市 300070
曹晓沧, 姜葵, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052
杨永妍, 天津医科大学第二临床医学院 天津市 300211
宋岩, 在读研究生, 研究方向为消化系统相关疾病.
作者贡献分布: 本文综述由宋岩与杨永妍完成; 曹晓沧与姜葵负责审校.
通讯作者: 姜葵, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科. jiangkui66@sohu.com
电话: 022-60362977
收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-11
接受日期: 2013-09-08 在线出版日期: 2013-10-08

Mechanisms underlying role of probiotics in recovering *Helicobacter pylori*-associated intestinal mucosal barrier damage

Yan Song, Xiao-Cang Cao, Yong-Yan Yang, Kui Jiang

Yan Song, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Xiao-Cang Cao, Kui Jiang, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China
Yong-Yan Yang, the Second Clinical Medical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China
Correspondence to: Kui Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China. jiangkui66@sohu.com
Received: 2013-06-21 Revised: 2013-07-11
Accepted: 2013-09-08 Published online: 2013-10-08

Abstract

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is closely associated with many gastrointestinal diseases, including peptic ulcers, chronic gastritis, gastric cancer and gastric mucosa-associated lymphoid tumors. In recent year, traditional triple therapy for *H. pylori* eradication has become less effective than the past, which is related to the resistance of bacteria. The addition of probiotics into the regimen has been proved to be able to significantly enhance the eradication rate and reduce side effects. Probiotics increase the eradication of *H. pylori* by recovering the damage of the chemical barrier, biological barrier, mechanical barrier and immune barrier.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Probiotic; Intestinal mucosal barrier

Song Y, Cao XC, Jiang K. Mechanisms underlying role of probiotics in recovering *Helicobacter pylori*-associated intestinal mucosal barrier damage. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2981-2986 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2981.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2986

摘要

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)自发现至今被认为能够导致多种疾病的发生, 包括消化性溃疡、慢性胃炎、胃癌以及胃淋巴细胞相关性肿瘤. 近年来传统三联疗法(质子泵抑制剂+两种抗生素)对于*H. pylori*根除率明显下降, 这与细菌耐药性的增强有关. 在传统三联疗法基础上添加益生菌能够有效的提高*H. pylori*根除率, 同时降低不良反应的发生. 其机制可能为益生菌能够修复*H. pylori*引起的化学屏障、生物屏障、机械屏障以及免疫屏障的破坏, 恢复消化系正常防御功能, 从而辅助*H. pylori*根除. 此文将就益生菌修复*H. pylori*相关消化系屏障功能破坏的具体机制进行综述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 益生菌; 黏膜屏障

核心提示: 益生菌在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关疾病治疗中的应用逐渐引起了人们的重视. 益生菌能够修复*H. pylori*引起的黏膜屏障损伤, 恢复正常的消化系黏膜屏障功能, 从而有助于*H. pylori*相关疾病的治疗.

宋岩, 曹晓沧, 杨永妍, 姜葵. 益生菌修复幽门螺杆菌相关黏膜屏障破坏的机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2981-2986
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2981.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2981

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染会导致黏膜屏障损伤, 本文旨在归纳总结益生菌修复*H. pylori*引起黏膜屏障损伤的机制, 为益生菌在*H. pylori*治疗中的应用提供证据.

■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

■研发前沿
益生菌的添加能够提高*H. pylori*的根除率，降低不良反应的发生.

种定植于胃黏膜的革兰氏阴性菌, 发展中国家约有79%-90%[1,2]的人群感染*H. pylori*, 发达国家感染率约为25%-50%[3]. *H. pylori*已被确认能够引起多种疾病, 主要包括消化性溃疡、慢性胃炎、胃癌以及胃淋巴细胞相关性肿瘤. 多年来, 人们一直都致力于研究如何将*H. pylori*根除. 目前, 传统的三联疗法(质子泵抑制剂+两种抗生素)为*H. pylori*的一线根除方案, 最初应用时效果理想, 但近年来, 三联疗法对于*H. pylori*的根除率有所下降, 这与抗生素滥用导致的*H. pylori*耐药性增强有着十分紧密的联系. 近年来多数实验证实, 在三联疗法根除*H. pylori*的同时, 对患者补充益生菌, 能够显著提高*H. pylori*根除率[4-8], 减轻不良反应[2,6,9-11]. 这引起越来越多的国内外学者开始关注消化系菌群与*H. pylori*之间的关系, 试图从一个新的角度重新思考*H. pylori*感染以及致病与消化系菌群之间关系, 从而为*H. pylori*的治疗开辟一条新的道路. 其中, 益生菌通过修复*H. pylori*引起的消化系黏膜屏障破坏, 辅助治疗*H. pylori*相关疾病成为了研究的新方向. 本文将就近年来的相关报道进行综述.

1 背景

消化系黏膜屏障主要由化学屏障、生物屏障、机械屏障以及免疫屏障构成, 他们共同维持消化系内稳态, 在预防致病菌感染中发挥着重要作用. 人在健康情况下消化系黏膜上皮表面覆盖含有离子、蛋白等物质的黏液屏障. 消化系内分布着种类丰富, 总量庞大[12]的菌群, 他们构成了消化系的生物屏障. 消化系黏膜上皮以及上皮间细胞连接作为机械屏障限制物质及微生物的通过. 而免疫细胞及炎性介质能够在致病菌入侵时及时激活并将其清除. 这些共同作用, 维持消化系内的稳态.

人类在出生后消化系内菌群开始定植, 消化系内菌群构成受多种因素的影响, 其中包括遗传学因素、饮食情况、环境暴露以及抗生素应用等[13]. 应用抗生素根除*H. pylori*会导致消化系内菌群失调, 引起诸多不良反应. 另外有研究表明, 抗生素灌胃后, 小鼠胃内原生菌群数量锐减, 胃内正常的微环境被破坏, 促进*H. pylori*的定植[14]. 益生菌是一类适当摄取后能够维持人体健康的微生物[15], 他们不仅大量定居于肠道内, 同时也是胃内原籍菌的一部分, 补充益生菌能够提高*H. pylori*的根除率, 降低三联疗法的不良反应. 由此我们重新思索: 长久以来, 我们一直着眼于*H. pylori*的致病以及治疗, 却忽视了*H. pylori*阳性患者在感染前是否存在消化系菌群失调、传统*H. pylori*根除治疗引起的菌群失调是否增加了*H. pylori*根治的难度. 因此, 应用益生菌恢复消化系菌群平衡, 修复消化系黏膜屏障, 治疗*H. pylori*相关疾病成为了一条可行的新思路.

2 益生菌修复*H. pylori*引起的化学屏障破坏

正常情况下, 胃内的pH值很低, 大约在1-4之间, 能够抑制*H. pylori*的活性. *H. pylori*产生尿素酶, 分解尿素产生二氧化碳和氨, 升高周围微环境的pH值, 从而起到自我保护作用. 益生菌能够产生有机酸, 如乳酸、乙酸等, 这些酸性物质能够降低胃内pH值, 破坏*H. pylori*建立的中性pH微环境[16], 降低尿素酶活性[17], 抑制*H. pylori*的生长. Celli等[18]的研究认为, 黏蛋白(mucin, MUC)在pH呈中性时为黏液状态, 在酸性条件下则为凝胶状态. 因此, 益生菌生成酸性物质, 降低pH值, 使得黏蛋白向凝胶状态转换, 阻碍了*H. pylori*的运动, 使其不易黏附于上皮组织而排出. 另外, 在大鼠模型胃损伤模型中, 双歧杆菌BF-1菌株能够提高Muc5ac的表达, 有助于增强黏膜的化学屏障作用[19]. 因此添加益生菌恢复正常的消化系化学屏障, 有助于黏液层*H. pylori*排出体外，从而提高*H. pylori*根除率.

3 益生菌修复*H. pylori*引起的生物屏障破坏

健康状态下, 由于胃内pH值较低, 常驻菌群数量相应的较少, 但其种类较丰富, 以厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门为主[20,21]. 胃内菌群的种类与比例和口腔内菌群相似[20,22], 这印证了胃内细菌主要来源为经口食入.

*H. pylori*感染对于胃内正常菌群的结构以及数量有所影响, 破坏了黏膜的生物屏障作用. 研究显示, 当*H. pylori*阳性时, 胃内细菌培养以*H. pylori*为主[23], 可达93%-97%, 厚壁菌门、放线菌门及拟杆菌门数量大幅降低, 非*H. pylori*变形菌、兼性厌氧菌数量有所上升, 胃内菌群多样性降低[20,24]. 除此之外，抗生素的应用对于消化系菌群也有着重要的影响. Hedvig等[25]对应用抗生素治疗胃部不适患者治疗前及治疗后口腔以及粪便内菌群的数量和种类进行分析, 发现抗生素的应用能够显著降低这两个位置的细菌多样性, 其中放线菌门数量明显降低, 且菌群状态恢复至治疗前水平所需时间最久达4年. 由此我们大胆猜测*H. pylori*感染后导致持续感染、溃

疡、胃炎、胃癌的发生与*H. pylori*感染以及抗生素使用所致胃内生物屏障破坏密切相关.

Mukai等[26]发现*L. reuteri*通过与*H. pylori*竞争上皮细胞表面中相同的糖基位点,使得*H. pylori*失去黏附位点而被排出体外. 有动物实验显示预先用乳酸杆菌和双歧杆菌灌胃能够有效地阻止小鼠胃内*H. pylori*的定植[14]. Lactobacillus johnsonii La1(LC1)能够有效抑制蒙古沙鼠胃黏膜上*H. pylori*的定植[27]. Myllyluoma等和Jensen等[28,29]关于多种益生菌在体外对于*H. pylori*抑制作用的实验得出结论, 乳酸杆菌、双歧杆菌以及丙酸杆菌的多个菌株能够有效的抑制*H. pylori*对Caco-2细胞的黏附. 这些结果证明了益生菌与*H. pylori*之间存在拮抗作用, 能够抑制*H. pylori*的黏附, 修复生物屏障的破坏.

4 益生菌修复*H. pylori*引起的机械屏障破坏

消化系上皮组织由上皮细胞及细胞间的上皮连接构成, 上皮连接分为紧密连接、黏合连接、桥粒和间隙连接. 益生菌能够修复紧密连接以及黏合连接, 使得*H. pylori*不易到达上皮深处, 从而提高抗生素的根除效果.

4.1 对紧密连接的修复 紧密连接由多种具有功能的蛋白组成, 包括连接黏附分子(junction adhesion molecule, JAM)-1、闭合蛋白、封闭蛋白、闭锁小带蛋白(zonula occlude, ZO)-1等, 这些蛋白能够防止物质自上皮间通过[30]. *H. pylori*感染后, 细胞毒素相关蛋白A(CagA)进入胃黏膜上皮细胞, 引起ZO-1从紧密连接移位至细菌附着部位[31-33]. 空泡毒素A(VacA)也能帮助松解紧密连接[34]. *H. pylori*产生的铵盐能够介导闭合蛋白的功能, 同时能够上调IL-1Ⅰ型受体的磷酸化[35], 破坏紧密连接[36]. 这些作用使得胃上皮紧密连接打开, 上皮通透性增加, *H. pylori*能够到达上皮更深处. 乳酸杆菌菌株WCFS1在人体内能够提高人胃黏膜ZO-1的水平和闭合蛋白的水平, 离体时能够促进ZO-1定位于紧密连接处, 提高黏膜屏障作用[37]. 尽管, 目前关于益生菌修复*H. pylori*引起的胃黏膜紧密连接损伤的报道并不多, 然而其修复其他原因引起的消化系屏障功能损伤的报道却十分丰富. 在炎症性肠病、感染性结肠炎、急性胃黏膜损伤等模型中, 益生菌能够防止ZO-1、闭合蛋白、封闭蛋白的丢失, 维持黏膜屏障功能[36,38,39]. 这些让我们有理由相信, 益生菌在修复*H. pylori*引起的胃黏膜上皮紧密连接破坏中, 有着可观的研究前景.

4.2 对黏合连接的修复 黏合连接中E钙蛋白是微生物黏附的主要受体. *H. pylori*分泌的产物能够引起编码E钙蛋白的*CDH1*基因甲基化, 以及E钙蛋白的细胞外域水解, 使得上皮细胞间的黏合连接松解, 这些都有利于*H. pylori*定植于胃黏膜, 引起病理性变化[40]. 研究表明, 在T84细胞屏障模型中, 乳酸杆菌能够调节编码E钙蛋白以及β钙蛋白基因的表达水平, 稳定黏膜屏障, 提高对致病菌的抵抗能力[41].

5 益生菌修复*H. pylori*引起的免疫屏障破坏

致病菌进入消化系后可引起免疫系统恰当的激活, 消除致病菌. *H. pylori*感染后一方面可能引起免疫逃逸, 导致*H. pylori*持续感染. 另一方面会引起Smad7、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)以及白介素-8(interleukin-8, IL-8)等细胞因子水平过度升高, 介导免疫反应, 引起胃黏膜上皮细胞的损伤. 益生菌能够平衡多种细胞因子的水平, 促进*H. pylori*的清除, 同时降低过度炎症反应. Wiese等[42]的研究表明与单纯*H. pylori*刺激相比, *H. pylori*和乳酸杆菌联合刺激能够提高INF-γ水平, 促进单核细胞MHC-Ⅱ(如HLA-DR)分子表达, 加强抗原呈递作用, 降低*H. pylori*免疫逃逸的发生, 从而有助于*H. pylori*的根除. 一项离体实验证明高剂量的嗜酸乳杆菌能够导致Smad7和NF-κB途径失活, 从而减轻*H. pylori*感染所引起的炎症反应[43-45]. 植物乳杆菌B7能够降低*H. pylori*感染大鼠血清TNF-α水平, 使多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fat acids, PUFAs)的主要氧化产物丙二醛水平降低, 降低胃黏膜上皮细胞凋亡率, 以上作用与细菌数量正相关, pH = 4时较7时作用显著[46]. 含共轭亚油酸(由乳酸杆菌产生)的培养基能够抑制*H. pylori*引起的IL-8 mRNA以及TNF-α mRNA的升高, 在抗炎症反应以及抗癌变反应中起到了重要的作用[45]. 一项在儿童中进行的研究显示, 向*H. pylori*感染的儿童补充含有益生菌的酸奶, 患儿血清中IL-6水平有所下降, IgA和胃蛋白酶原水平有所上升, 这些都有助于抑制*H. pylori*在胃黏膜的定植[47], 恢复胃黏膜的免疫屏障作用，提高根除效果.

6 结论

正常情况下, 消化系具有屏障作用, 对于致病菌有着一定的防御功能. 消化系内寄居着大量的微生物, 不同部位的菌群构成差别较大. 胃内由

■创新盘点

近年来报道益生菌提高*H. pylori*根除率的文章日趋增多, 但关于益生菌这一作用的机制却众说纷纭. 本文旨在从修复黏膜屏障的角度为益生菌的在*H. pylori*相关疾病治疗中的应用提供证据.

■应用要点
本文为益生菌在治疗*H. pylori*相关疾病的临床应用提供有力的证据.

于特殊的低pH环境, 微生物数量相对较少, 但菌群种类丰富. Linz等[4]认为*H. pylori*在50000年前就开始寄居于人体内, 并随人类共同进化. *H. pylori*可导致胃部多种疾病的发生, 一直被认为是一种致病菌, 因此一直致力于通过了解*H. pylori*的生物学特性来提高*H. pylori*的根除率, 从而治疗*H. pylori*所引起的相关疾病. 然而, 随着传统三联疗法对于*H. pylori*根除率的下降, 以及不良反应的增多, 探索新的治疗方案成为了一项紧迫的任务. 是否能够通过添加益生菌来恢复胃黏膜屏障功能, 阻断*H. pylori*所引起的病理变化, 并辅助根除*H. pylori*. 本文通过总结近年来有关益生菌治疗*H. pylori*的研究, 得出初步结论: 益生菌能够稳定胃黏膜屏障, 修复*H. pylori*引起的黏膜屏障破坏, 在三联疗法的基础上加入益生菌有助于*H. pylori*的根除. 然而关于益生菌菌株的选择、剂量、给予时间等具体问题尚无定论[48]. 关于*H. pylori*与消化系内菌群的关系以及*H. pylori*相关疾病的治疗仍然存在极大的盲区需要我们去探索.

7 参考文献

1 Navarro-Rodriguez T, Silva FM, Barbuti RC, Mattar R, Moraes-Filho JP, de Oliveira MN, Bogsan CS, Chinzon D, Eisig JN. Association of a probiotic to a Helicobacter pylori eradication regimen does not increase efficacy or decreases the adverse effects of the treatment: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 56 [PMID: 23530767 DOI: 10.1186/1471-230X-13-56]

2 Ahmad K, Fatemeh F, Mehri N, Maryam S. Probiotics for the treatment of pediatric helicobacter pylori infection: a randomized double blind clinical trial. *Iran J Pediatr* 2013; 23: 79-84 [PMID: 23446685]

3 Go MF. Review article: natural history and epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 Suppl 1: 3-15 [PMID: 11849122]

4 Linz B, Balloux F, Moodley Y, Manica A, Liu H, Roumagnac P, Falush D, Stamer C, Prugnolle F, van der Merwe SW, Yamaoka Y, Graham DY, Perez-Trallero E, Wadstrom T, Suerbaum S, Achtman M. An African origin for the intimate association between humans and Helicobacter pylori. *Nature* 2007; 445: 915-918 [PMID: 17287725]

5 Du YQ, Su T, Fan JG, Lu YX, Zheng P, Li XH, Guo CY, Xu P, Gong YF, Li ZS. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6302-6307 [PMID: 23180952 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6302]

6 Lesbros-Pantoflickova D, Corthésy-Theulaz I, Blum AL. Helicobacter pylori and probiotics. *J Nutr* 2007; 137: 812S-818S [PMID: 17311980]

7 Wang ZH, Gao QY, Fang JY. Meta-analysis of the efficacy and safety of Lactobacillus-containing and Bifidobacterium-containing probiotic compound preparation in Helicobacter pylori eradication therapy. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 25-32 [PMID: 23090045 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318266f6cf.]

8 Wilhelm SM, Johnson JL, Kale-Pradhan PB. Treating bugs with bugs: the role of probiotics as adjunctive therapy for Helicobacter pylori. *Ann Pharmacother* 2011; 45: 960-966 [PMID: 21693698 DOI: 10.1345/aph.1Q104.]

9 Yaşar B, Abut E, Kayadıbı H, Toros B, Sezıklı M, Akkan Z, Keskın Ö, Övünç Kurdaş O. Efficacy of probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21: 212-217 [PMID: 20931422]

10 Hurduc V, Plesca D, Dragomir D, Sajin M, Vandenplas Y. A randomized, open trial evaluating the effect of Saccharomyces boulardii on the eradication rate of Helicobacter pylori infection in children. *Acta Paediatr* 2009; 98: 127-131 [PMID: 18681892 DOI: 10.1111/j.1651-2227.2008.00977.x.]

11 Tolone S, Pellino V, Vitaliti G, et al. Evaluation of Helicobacter Pylori eradication in pediatric patients by triple therapy plus lactoferrin and probiotic-scompared to triple therapy alone. *Ital J Pediatr* 2012; 12: 38: 63 [DOI: 10.1186/1824-7288-38-63]

12 Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480-484 [PMID: 19043404 DOI: 10.1038/nature07540]

13 Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, et al: Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev* 2010; 90(3): 859–904 [DOI: 10.1152/physrev.00045.2009]

14 刘翔, 杨涛, 林红. 胃内微生态环境对Hp感染BALBc小鼠的影响. 中国现代医学杂志 2010; 20: 3552-3555

15 Varbanova M, Schulz C, Malfertheiner P. Helicobacter pylori and other gastric bacteria. *Dig Dis* 2011; 29: 562-569 [PMID: 22179212 DOI: 10.1159/000332989.]

16 El-Adawi H, El-Sheekh M, Khalil M, El-Deeb N, Hussein M. Lactic acid bacterial extracts as anti-Helicobacter pylori: a molecular approach. *Ir J Med Sci* 2013; 182: 439-452 [PMID: 23404362 DOI: 10.1007/s11845-013-0909-y]

17 Hsieh PS, Tsai YC, Chen YC, Teh SF, Ou CM, King VA. Eradication of Helicobacter pylori infection by the probiotic strains Lactobacillus johnsonii MH-68 and L. salivarius ssp. salicinius AP-32. *Helicobacter* 2012; 17: 466-477 [PMID: 23067294 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00992.x]

18 Celli JP, Turner BS, Afdhal NH, Keates S, Ghiran I, Kelly CP, Ewoldt RH, McKinley GH, So P, Erramilli S, Bansil R. Helicobacter pylori moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 14321-14326 [PMID: 19706518 DOI: 10.1073/pnas.0903438106]

19 Gomi A, Harima-Mizusawa N, Shibahara-Sone H, Kano M, Miyazaki K, Ishikawa F. Effect of Bifidobacterium bifidum BF-1 on gastric protection and mucin production in an acute gastric injury rat model. *J Dairy Sci* 2013; 96: 832-837 [PMID: 23200466 DOI: 10.3168/jds.2012-5950]

20 Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2008; 3: e2836 [PMID: 18665274 DOI: 10.1371/journal.pone.0002836]

21 Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vitorino F, Karaoz U, Contreras M, Blaser MJ, Brodie EL, Dominguez-Bello MG. Structure of the human gastric bacterial community in relation to Helicobacter pylori status. *ISME J* 2011; 5: 574-579 [PMID: 20927139 DOI: 10.1038/ismej]

22 Bik EM, Long CD, Armitage GC, Loomer P, Emerson J, Mongodin EF, Nelson KE, Gill SR, Fraser-Liggett CM, Relman DA. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *ISME J* 2010; 4: 962-974 [PMID: 20336157 DOI: 10.1038/ismej.2010.30.]

23 Li XX, Wong GL, To KF, et al. Bacterial microbiota profiling in stomachs with and without Helicobacter pylori infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One* 2009; 4: e7985 [DOI: 10.1371/journal.pone.0007985]

24 Madden JA, Plummer SF, Tang J, Garaiova I, Plummer NT, Herbison M, Hunter JO, Shimada T, Cheng L, Shirakawa T. Effect of probiotics on preventing disruption of the intestinal microflora following antibiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 1091-1097 [PMID: 15829425]

25 Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 2010; 5: e9836 [PMID: 20352091 DOI: 10.1371/journal.pone.0009836]

26 Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of Helicobacter pylori to the glycolipid receptors by probiotic Lactobacillus reuteri. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 32: 105-110 [PMID: 11821231]

27 Isobe H, Nishiyama A, Takano T, Higuchi W, Nakagawa S, Taneike I, Fukushima Y, Yamamoto T. Reduction of overall Helicobacter pylori colonization levels in the stomach of Mongolian gerbil by Lactobacillus johnsonii La1 (LC1) and its in vitro activities against H. pylori motility and adherence. *Biosci Biotechnol Biochem* 2012; 76: 850-852 [PMID: 22484956]

28 Myllyluoma E, Ahonen AM, Korpela R, Vapaatalo H, Kankuri E. Effects of multispecies probiotic combination on helicobacter pylori infection in vitro. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 1472-1482 [PMID: 18579692 DOI: 10.1128/CVI.00080-08]

29 Jensen H, Grimmer S, Naterstad K, Axelsson L. In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 2012; 153: 216-222 [PMID: 22177712 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.]

30 Wessler S, Backert S. Molecular mechanisms of epithelial-barrier disruption by Helicobacter pylori. *Trends Microbiol* 2008; 16: 397-405 [PMID: 18619844 DOI: 10.1016/j.tim.2008.05.005.]

31 Amieva MR, Vogelmann R, Covacci A, Tompkins LS, Nelson WJ, Falkow S. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by Helicobacter pylori CagA. *Science* 2003; 300: 1430-1434 [PMID: 12775840]

32 Bagnoli F, Buti L, Tompkins L, Covacci A, Amieva MR. Helicobacter pylori CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 16339-16344 [PMID: 16258069]

33 Guttman JA, Finlay BB. Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788: 832-841 [PMID: 19059200 DOI: 10.1016/j.bbamem]

34 Wroblewski LE, Shen L, Ogden S, Romero-Gallo J, Lapierre LA, Israel DA, Turner JR, Peek RM. Helicobacter pylori dysregulation of gastric epithelial tight junctions by urease-mediated myosin II activation. *Gastroenterology* 2009; 136: 236-246 [PMID: 18996125 DOI: 10.1053/j.gastro]

35 Lapointe TK, O'Connor PM, Jones NL, Menard D, Buret AG. Interleukin-1 receptor phosphorylation activates Rho kinase to disrupt human gastric tight junctional claudin-4 during Helicobacter pylori infection. *Cell Microbiol* 2010; 12: 692-703 [PMID: 20070312 DOI: 10.1111/j.1462-5822.2010.01429.x]

36 Lytton SD, Fischer W, Nagel W, Haas R, Beck FX. Production of ammonium by Helicobacter pylori mediates occludin processing and disruption of tight junctions in Caco-2 cells. *Microbiology* 2005; 151: 3267-3276 [PMID: 16207910]

37 Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer RJ, Wells JM. Regulation of human epithelial tight junction proteins by Lactobacillus plantarum in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G851-G859 [PMID: 20224007 DOI: 10.1152/ajpgi.00327.2009.]

38 Mennigen R, Nolte K, Rijcken E, Utech M, Loeffler B, Senninger N, Bruewer M. Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1140-G1149 [PMID: 19221015 DOI: 10.1152/ajpgi.90534.2008]

39 Qin H, Zhang Z, Hang X, Jiang Y. L. plantarum prevents enteroinvasive Escherichia coli-induced tight junction proteins changes in intestinal epithelial cells. *BMC Microbiol* 2009; 9: 63 [PMID: 19331693 DOI: 10.1186/1471-2180-9-63]

40 Costa AM, Leite M, Seruca R, Figueiredo C. Adherens junctions as targets of microorganisms: a focus on Helicobacter pylori. *FEBS Lett* 2013; 587: 259-265 [PMID: 23262219 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.12.008]

41 Hummel S, Veltman K, Cichon C, Sonnenborn U, Schmidt MA. Differential targeting of the E-Cadherin/β-Catenin complex by gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 1140-1147 [PMID: 22179242 DOI: 10.1128/AEM.06983-11]

42 Wiese M, Eljaszewicz A, Andryszczyk M, Gronek S, Gackowska L, Kubiszewska I, Kaszewski W, Helmin-Basa A, Januszewska M, Motyl I, Wieczynska J, Michalkiewicz J. Immunomodulatory effects of Lactobacillous plantarum and Helicobacter pylori CagA on the expression of selected superficial molecules on monocyte and lymphocyte and the synthesis of cytokines in whole blood culture. *J Physiol Pharmacol* 2012; 63: 217-224 [PMID: 22791635]

43 Yang YJ, Chuang CC, Yang HB, Lu CC, Sheu BS. Lactobacillus acidophilus ameliorates H. pylori-induced gastric inflammation by inactivating the Smad7 and NFκB pathways. *BMC Microbiol* 2012; 12: 38 [PMID: 22429929 DOI: 10.1186/1471-2180-12-38.]

44 Lee JS, Paek NS, Kwon OS, Hahm KB. Anti-inflammatory actions of probiotics through activating suppressor of cytokine signaling (SOCS)

■应用要点

提高幽门螺杆根除率是目前临床研究的热点, 本文从益生菌角度出发, 选题具有一定新意.

expression and signaling in Helicobacter pylori infection: a novel mechanism. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 194-202 [PMID: 20136974 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06127.x]

45 Hwang SW, Kim N, Kim JM, Huh CS, Ahn YT, Park SH, Shin CM, Park JH, Lee MK, Nam RH, Lee HS, Kim JS, Jung HC, Song IS. Probiotic suppression of the H. pylori-induced responses by conjugated linoleic acids in a gastric epithelial cell line. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2012; 86: 225-231 [PMID: 22521089 DOI: 10.1016/j.plefa.2012.04.002]

46 Sunanliganon C, Thong-Ngam D, Tumwasorn S, Klaikeaw N. Lactobacillus plantarum B7 inhibits Helicobacter pylori growth and attenuates gastric inflammation. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2472-2480 [PMID: 22654444 DOI: 10.3748/wjg.v18.i20.2472]

47 Yang YJ, Sheu BS. Probiotics-containing yogurts suppress Helicobacter pylori load and modify immune response and intestinal microbiota in the Helicobacter pylori-infected children. *Helicobacter* 2012; 17: 297-304 [PMID: 22759330 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00941.x]

48 Matsushima M, Takagi A. "Is it effective?" to "How to use it?": the era has changed in probiotics and functional food products against Helicobacter pylori infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 851-853 [PMID: 22515805 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07094.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 •

《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10月8日; 21(28): 2987-2993
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的Meta分析

戴依慧, 高 青, 王 锦

戴依慧, 高青, 王锦, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016
戴依慧, 消化内科在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由高青与戴依慧设计; 戴依慧与王锦负责资料收集、文献纳入与排除、数据提取、数据分析; 本论文写作由戴依慧与高青完成; 高青审校.
通讯作者: 高青, 主任医师, 400016, 重庆市渝中区袁家岗友谊路1号, 重庆医科大学附属第一医院消化内科.
gaoqing27@aliyun.com
电话: 023-89012020
收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-08-14
接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-08

Risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation: A Meta-analysis

Yi-Hui Dai, Qing Gao, Jin Wang

Yi-Hui Dai, Qing Gao, Jin Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China
Correspondence to: Qing Gao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 1 Youyi Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, China. gaoqing27@aliyun.com
Received: 2013-06-13 Revised: 2013-08-14
Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To analyze risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation (EVL) to provide evidence for clinical use of preventive measures.

METHODS: Seven papers reporting risk factors for early rebleeding after EVL were analyzed by meta-analysis. Pooled odds ratio (OR), weighted mean difference (WMD) and 95% confidence interval (CI) were calculated.

RESULTS: Severe grade of esophageal varices (OR = 0.04, 95%CI: 0.02, 0.08), Child-Pugh classification C [OR = 0.03, 95% CI (0.01, 0.07)], presence of a moderate to large amount of ascites (OR = 0.00, 95%CI: 0.00, 0.01), thrombus of the portal vein (OR = 0.12, 95%CI: 0.07, 0.22), and a history of diabetes (OR = 0.36, 95%CI: 0.18, 0.72) were risk factors for early rebleeding after EVL. Moderate grade of esophageal varices (OR = 17.53, 95%CI: 8.51, 36.12), Child-Pugh classification A (OR = 4.24, 95%CI: 2.73, 6.58), Child-Pugh classification B (OR = 3.86, 95%CI: 2.55, 5.85), absence or presence of a small amount of ascites (OR = 245.37, 95%CI: 108.35, 555.64), small width of the portal vein (WMD = -2.45, 95%CI: -3.92, -0.99), few number of varices (WMD = -1.37, 95%CI: -1.72, -1.01), few number of ligated veins (WMD = -1.72, 95%CI: -1.95, -1.50), high level of hemoglobin (WMD = 13.72, 95%CI: 2.35, 25.09), short prothrombin time (PT) (WMD = -3.54, 95%CI: -4.84,-2.24), low level of alanine aminotransferase (WMD = -6.48, 95%CI: -11.59, -1.36), low level of total bilirubin (WMD = -8.01, 95%CI: -12.04, -3.98), high level of prothrombin activity (WMD = 11.03, 95%CI: 6.09, 15.96), and few number of bands used (WMD = -1.49, 95%CI: -1.64, -1.33) were protective factors for early rebleeding after EVL. Mild grade of esophageal varices had no significant correlation with early rebleeding after EVL.

CONCLUSION: Improving Child-Pugh classification and blood coagulation function and decreasing the amount of ascites can reduce the risk for early rebleeding after EVL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal varices; EVL; Risk factors; Meta-analysis

Dai YH, Gao Q, Wang J. Risk factors for early rebleeding after endoscopic variceal ligation: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2987-2993 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2987.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2987

摘要

目的: 综合分析食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)后早期再出血的危险因素, 为制定相关预防措施提供临床依据.

方法: 应用Meta分析的方法, 对有关食管静脉

■背景资料
食管静脉曲张破裂出血是肝硬化的严重并发症, 内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是预防和治疗食管静脉曲张破裂出血的重要方法, 但EVL术后早期再出血危险极大. 如何避免或预防EVL术后早期再出血至关重要, 然而国内外关于EVL术后早期再出血的危险因素的相关研究结果有较大的差异.

■同行评议者
黄晓东, 主任医师, 武汉市中心医院消化内科

■研发前沿
多项研究认为肝功能Child-Pugh分级、腹水量、门静脉宽度、曲张静脉根数与食管静脉曲张套扎术后早期再出血密切相关. 相关研究认为套扎联合药物如奥曲肽、心得安或其他方法可减小EVL术后早期再出血的风险.

曲张套扎术后早期再出血危险因素相关的7篇文献进行综合分析, 计算各个可疑危险因素的合并比值比(odds ratio, OR)或加权均数差(weighted mean difference, WMD)及其95%可信区间(95%CI).

结果: Grade分级重度(OR = 0.04, 95%CI: 0.02, 0.08)、Child-Pugh 分级C(OR = 0.03, 95%CI: 0.01, 0.07)、腹水量(中量-大量)(OR = 0.00, 95%CI: 0.00, 0.01)、门静脉血栓(OR = 0.12, 95%CI: 0.07, 0.22)、既往有糖尿病病史(OR = 0.36, 95%CI: 0.18, 0.72)为EVL术后早期再出血的危险因素; 而Grade分级中度(OR = 17.53, 95%CI: 8.51, 36.12)、Child-Pugh分级A(OR = 4.24, 95%CI: 2.73, 6.58)或B(OR = 3.86, 95%CI: 2.55, 5.85)、腹水量(无-少量)(OR = 245.37, 95%CI: 108.35, 555.64)、门静脉宽度小(WMD = -2.45, 95%CI: -3.92, -0.99)、曲张静脉根数少(WMD = -1.37, 95%CI: -1.72, -1.01)、结扎静脉根数少(WMD = -1.72, 95%CI: -1.95, -1.50)、血红蛋白含量高(WMD = 13.72, 95%CI: 2.35, 25.09)、凝血酶原时间短(WMD = -3.54, 95%CI: -4.84, -2.24)、丙氨酸氨基转移酶数值低(WMD = -6.48, 95%CI: -11.59, -1.36)、总胆红素含量低(WMD = -8.01, 95%CI: -12.04, -3.98)、凝血酶原活动度高(WMD = 11.03, 95%CI: 6.09, 15.96)、套扎所用皮圈数目少(WMD = -1.49, 95%CI: -1.64, -1.33)为EVL术后早期再出血的保护因素; Grade分级轻度与EVL术后早期再出血关系不显著.

结论: 通过改善肝功能Child-Pugh分级C级、减少腹水量、改善凝血功能等方法, 可减少EVL术后早期再出血的风险.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管静脉曲张; 套扎术; 危险因素; Meta分析

核心提示: 内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是治疗食管静脉曲张破裂出血的有效方法, 现已广泛运用于临床, 然而EVL术后早期再出血常危及病人生命. 本文通过Meta分析的方法初步确定了多个EVL术后早期再出血的危险因素, 预防或避免这些危险因素, 一定程度上可减小EVL术后早期再出血的风险.

戴依慧, 高青, 王锦. 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2987-2993
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2987.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2987

0 引言

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化的严重并发症, 出血量大, 病情凶险, 病死率高. 内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是预防和治疗食管静脉曲张破裂出血的有效方法[1,2], 但术后早期再出血的发生常危及病人生命. 肝静脉压力梯度[3]是预测EVL术后早期再出血的可靠指标, 但该项检查的有创性限制了其在临床上的应用. 准确预测EVL术后早期再出血的危险因素, 对于预防套扎术后早期再出血、改善预后都非常重要. 然而, 国内外关于EVL术后早期再出血的危险因素的相关研究结果有较大的差异. 因此, 本文对国内外有关食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素的相关文献进行了Meta分析, 为制定相关预防措施提供临床依据.

1 材料和方法

1.1 材料 通过检索PubMed数据库、Medline数据库、中国生物医学文献数据库(CBM)、Elsevier数据库、OVID数据库、重庆维普中文数据库、中文科技期刊全文数据库和中国学术期刊全文数据库等数据库, 搜集相关文献, 不能获取的文献通过重庆医科大学图书馆手工检索获得. 检索时间为建库至2013-04. 中文检索词为“食管静脉曲张”、“出血”、“套扎”, 英文检索词为“esophagus或esophageal ”、“variceal或varices”、“bleeding或hemorrhage”、“ligation或loop ligature”. 最后, 为提高文献的查全率, 查阅所有入选文献所引用的参考文献.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)文献为前瞻性队列研究或回顾性队列研究; (2)文献均提供可以换算成合并比值比(odds ratio, OR)或加权均数差(weighted mean difference, WMD)及其95%CI的原始数据; (3)涉及食管静脉曲张套扎术后早期再出血危险因素的研究, 相同样本或同一样本来源的多篇文献, 选择其资料数据最全的1篇作为研究对象; (4)文献语种仅限于中文或英文.

1.2.2 排除标准: (1)对未给出原始临床数据, 只有计算后的OR值或WMD及其95%CI的文献, 予以排除; (2)对文献质量太差、重复报告或无法利用数据的文献予以排除. 诊断标准: (1)套扎术后

表 1 文献质量评价标准(NOS评价标准)

栏目	条目[1]	评价标准
研究人群选择	暴露组的代表性如何(1分)	(1)真正代表人群中暴露组的特征[2]; (2)一定程度上代表了人群中暴露组的特征[2]; (3)选择某类人群, 如护士、志愿者; (4)未描述暴露组来源情况
	非暴露组的选择方法(1分)	(1)与暴露组来自同一人群[2]; (2)与暴露组来自不同人群; (3)未描述非暴露组来源情况
	暴露因素的确定方法(1分)	(1)固定的档案记录(如外科手术记录)[2]; (2)采用结构式访谈[2]; (3)研究对象自己写的报告; (4)未描述
	确定研究起始时尚无要观察的结局指标(1分)	(1)是[2]; (2)否
组间可比性	设计和统计分析时考虑暴露组和未暴露组的可比性(2分)	(1)研究控制了最重要的混杂因素[2]; (2)研究控制了任何其他的混杂因素[2](词条可以进行修改用以说明特定控制第二重要因素)
结果测量	研究对于结果的评价是否充分(1分)	(1)盲法独立评价[2]; (2)有档案记录[2]; (3)自我报告; (4)未描述
	结果发生后随访是否足够长(1分)	(1)是(评价前规定恰当的随访时间)[2]; (2)否
	暴露组和非暴露组的随访是否充分(1分)	(1)随访完整[2]; (2)有少量研究对象失访但不至于引入偏倚(规定失访率或描述失访情况)[2]; (3)有失访(规定失访率)但未行描述; (4)未描述随访情况

[1]给分条目; [2]给分点.

表 2 纳入文献的基本特征

作者	年代	未出血组			出血组			质量评分
		n	男/女	平均年龄(岁)	*n*	男/女	平均年龄(岁)	
李鹏等[4]	2006	565	401/164	51.88±11.51	28	26/2	47.18±10.94	6
邓国孙等[5]	2012	194	138/56	52.44±9.65	22	12/10	60.69±10.16	6
邓应江等[6]	2012	118	79/39	50.42±7.03	12	6/6	61.82±8.17	6
邵晓冬等[7]	2012	30	19/11	52.10±9.51	30	16/14	54.77±10.36	6
Xu等[8]	2011	316	227/89	52.3±11.0	26	15/11	57.5±8.3	6
季峰等[9]	2010	237	163/74	52.44±10.67	22	11/11	59.05±7.31	6
Yang等[10]	2007	77	54/23	61.40±10.32	19	13/6	65.73±10.73	6

早期再出血的定义[4]: “术后24 h至14 d内再发呕血或黑便, 或胃管内抽出血性液体, 且血红蛋白、红细胞压积进行性下降, 或临床上有低血容量休克证据, 或有出血表现需要输血者.” (2)肝功能分级按Child-Pugh分级标准分为A、B、C 3级; (3)食管静脉曲张诊断标准按Grade分级法分为轻、中、重度.

1.2.3 资料提取: 由2位评价者独立根据纳入排除标准, 对文献进行纳入排除, 通过讨论达成一致. 对原始数据的收集也由两位评价者独立完成、多次核对数据. 最终纳入7篇相关文献[4-10].

1.2.4 质量评价: 参考Newcastle-Ottawa Scale(NOS)量表[11]对每篇纳入文献进行质量评价, 文献质量评价标准如表1所示, 文献质量评价结果如表2所示.

统计学处理 遵循Meta分析步骤, 在完成文献检索、数据提取后, 利用Review Manager 5.0软件对数据进行统计学分析. 逐一对每个可疑危险因素相关的纳入文献进行异质性检验: 如果异质性检验结果为$P>0.1$, 认为多个研究同质, 采用固定效应模型计算合并统计量; 若$P\leq0.1$, 认为多个研究异质, 进一步寻找异质性的原因, 采取剔除导致异质性的文献、亚组分析等方法去除文献异质性, 或采用随机效应模型计算合并统计量. 合并效应量选用OR或WMD及其95%CI. 敏感性分析: 分别采用固定效应模型和随机效应模型计算各个可疑危险因素的合并统计量, 并比较其结果. 两种方法结果的一致性在一定程度上反映了合并结果的可靠性.

2 结果

2.1 文献检索结果 初步检出文献308篇, 其中中

■相关报道

季峰等研究对凝血酶原时间(PT)进行了分层(PT<18 s、PT≥18 s)并指出: 后者EVL术后再出血的风险是前者的23.45倍. 同时该研究还指出: EVL术后过早进食硬食是引起套扎术后再出血的独立危险因素, 其风险为流质饮食患者的17.23倍. 由此可知, 改善凝血功能与避免过早进食硬食可大大减小EVL术后早期再出血的风险.

■创新盘点

本文应用Meta分析的方法, 对有关食管静脉曲张套扎术(EVL)后早期再出血危险因素相关的文献进行了综合分析(纳入研究中未出血组共1537例, 出血组159例), 运用统计学方法对各项可疑危险因素进行了分析并得出相应结论.

表 3 各可疑危险因素的异质性检验结果

可疑危险因素	参考文献数目	χ^2值	*P*值
Grade分级轻	3	0.00	
Grade分级中	3	5.95	0.55
Grade分级重	3	0.05	
Child-Pugh分级A	6	0.87	
Child-Pugh分级B	6	8.64	
Child-Pugh分级C	6	91.40	<0.00001
腹水量(无-少量)	3	59.48	<0.00001
腹水量(中量-大量)	3	0.34	
门静脉血栓	5	21.48	0.0003
既往有糖尿病史	4	1.02	
门静脉宽度	5	68.23	<0.00001
曲张静脉根数	5	31.55	<0.00001
结扎静脉根数	2	0.06	
血红蛋白	2	154.70	<0.00001
凝血酶原时间	5	12.02	0.02
凝血酶原活动度	2	0.29	
丙氨酸氨基转移酶	4	4.30	
总胆红素	5	5.36	
套扎所用皮圈数目	3	1.28	

文236篇, 英文72篇, 通过阅读题目和摘要, 排除291篇不符合纳入标准的文献, 进一步阅读全文, 根据相应的纳入排除标准, 9篇不符合纳入标准, 2篇文献数据来源相同, 最终纳入7篇相关文献[4-10], 其中未出血组1537例(男1081例, 女456例), 出血组159例(男99例, 女60例).

2.2 Meta分析结果

2.2.1 文献异质性检验结果: 逐一对每个可疑危险因素相关的纳入文献进行异质性检验. 异质性检验结果提示: 涉及到Grade分级轻度、Grade分级重度、Child-Pugh分级A、Child-Pugh分级B、腹水量(中量-大量)、既往有糖尿病病史、结扎静脉根数、丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、凝血酶原活动度、套扎皮圈数目的相关文献, 研究结果具有同质性, 故采用固定效应模型计算合并统计量; 而涉及到Grade分级中度、Child-Pugh分级C、腹水量(无-少量)、门静脉血栓、门静脉宽度、曲张静脉根数、血红蛋白、凝血酶原时间的相关文献, 研究结果具有异质性(表3).

文献异质性原因分析及统计学处理: (1)Grade分级中度: 按照逐一排除法, 在剔除李鹏等[4]文献后Grade分级中度相关文献的异质性消失, 并且Grade分级轻度、中度、重度相关文献均同质, 按固定效应模型处理. 分析异质性原因, 可能与该文献中未出血组Grade分级中度患者比例小, 存在选择偏倚有关. (2)Child-Pugh分级C: 邵晓东等[7]文献中Child-Pugh分级C患者比例53%, 远远大于其他研究中Child-Pugh分级C患者比例(5%-14%), 在剔除该文献后Child-Pugh分级A、B相关文献均同质, 按固定效应模型处理, 而Child -Pugh分级C相关文献仍异质, 按随机效应模型处理; (3)腹水量(无-少量): 邓国孙等[5]文献中腹水量(无-少量)患者比例小(19%), 远远小于其他研究中腹水量(无-少量)患者比例(67%-90%), 在剔除该文献后腹水量(无-少量)、腹水量(中量-大量)相关文献均同质, 按固定效应模型处理; (4)门静脉血栓、门静脉宽度、曲张静脉根数、血红蛋白、凝血酶原时间: 相关文献均为高质量文献, 相关文献的分组方法等因素均不会导致文献异质性, 故采用随机效应模型处理.

2.2.2 Meta分析结果: (1)Grade分级重度、Child-Pugh分级C、腹水量(中量-大量)、门静脉血栓、既往有糖尿病病史均为EVL术后早期再出血的危险因素; (2)Grade分级中度、Child-Pugh分级A或 B、腹水量(无-少量)、门静脉宽度小、曲张静脉根数少、结扎静脉根数少、血红蛋白含量高、凝血酶原时间短、丙氨酸氨基转移酶数值低、总胆红素含量低、凝血酶原活动度高、套扎所用皮圈数目少为EVL术后早期再出血的保护因素; (3)Grade分级轻度与EVL术后早期再出血的关系不显著. 具体Meta分析结果如表4所示.

2.3 敏感性分析 分别采用固定效应模型和随机效应模型计算各个可疑危险因素的合并统计量, 并比较其结果. 两种方法结果的一致性在一定程度上反映了合并结果的可靠性. 结果提示: Grade分级中度、腹水量(无-少量)、血红蛋白三项可疑危险因素采用两种模型计算结果相差较大, 提示其结果欠可靠, 考虑与上述三项可疑危险因素纳入的参考文献数目太少有关. 余指标两种模型计算结果较一致, 提示其合并计算结果较可靠(表5).

3 讨论

内镜下食管静脉曲张套扎术是预防和治疗食管静脉曲张破裂出血的有效方法, 然而EVL术后早期再出血是该方法的一大风险, 清楚地认识EVL术后早期再出血的危险因素, 对于预防EVL术后

表 4 各可疑危险因素的Meta分析结果

可疑危险因素	未出血组(n1/n)	出血组(n2/n1)	OR或WMD(95%CI)	P值
Grade分级轻	18/355	0/34	3.15(0.60, 16.66)	
Grade分级中	241/355	0/34	17.53(8.51, 36.12)	<0.00001
Grade分级重	96/355	34/34	0.04(0.02, 0.08)	<0.00001
Child-Pugh分级A	335/942	5/101	4.24(2.73, 6.58)	<0.00001
Child-Pugh分级B	537/942	23/101	3.86(2.55, 5.85)	<0.00001
Child-Pugh分级C	70/942	73/101	0.03(0.01, 0.07)	<0.00001
腹水量(无-少量)	500/553	9/48	245.37(108.35, 555.64)	<0.00001
腹水量(中量-大量)	53/553	39/48	0.00(0.00, 0.01)	<0.00001
门静脉血栓	79/854	51/119	0.12(0.07, 0.22)	<0.00001
既往有糖尿病病史	96/1148	21/106	0.36(0.18, 0.72)	0.003
门静脉宽度(mm)	1342	128	−2.45(−3.92, −0.99)	0.001
曲张静脉根数	1430	110	−1.37(−1.72, −1.01)	<0.00001
结扎静脉根数	312	34	−1.72(−1.95, −1.50)	<0.00001
血红蛋白(g/L)	1419	147	13.72(2.35, 25.09)	0.02
凝血酶原时间(s)	895	112	−3.54(−4.84,−2.24)	<0.00001
凝血酶原活动度	683	40	11.03(6.09, 15.96)	<0.0001
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	1236	88	−6.48(−11.59, −1.36)	0.01
总胆红素(μmol/L)	1266	118	−8.01(−12.04, −3.98)	<0.0001
套扎所用皮圈数目	1118	76	−1.49(−1.64, −1.33)	<0.00001

表 5 固定效应模型和随机效应模型计算结果比较

可疑危险因素	固定效应模型OR或WMD(95%CI)	随机效应模型OR或WMD(95%CI)
Grade分级轻	3.15(0.60, 16.66)	2.00(0.26, 15.44)
Grade分级中	17.53(8.51, 36.12)	70.11(9.45, 520.00)
Grade分级重	0.04(0.02, 0.08)	0.01(0.00, 0.08)
Child-Pugh分级A	4.24(2.73, 6.58)	7.18(2.97, 17.36)
Child-Pugh分级B	3.86(2.55, 5.85)	4.18(2.14, 8.15)
Child-Pugh分级C	0.00(0.00, 0.01)	0.03(0.01, 0.07)
腹水量(无-少量)	245.37(108.35, 555.64)	39.65(18.11, 86.83)
腹水量(中量-大量)	0.00(0.00, 0.01)	0.03(0.01, 0.06)
门静脉血栓	0.05(0.03, 0.09)	0.12(0.07, 0.22)
既往有糖尿病病史	0.36(0.18, 0.72)	0.44(0.24, 0.81)
门静脉宽度(mm)	−2.78(−3.12, −2.43)	−2.45(−3.92, −0.99)
曲张静脉根数	−1.33(−1.46, −1.21)	−1.37(−1.72, −1.01)
结扎静脉根数	−1.72(−1.95, −1.50)	−1.72(−1.95, −1.50)
血红蛋白(g/L)	4.71(3.60, 5.83)	13.72(2.35, 25.09)
凝血酶原时间(s)	−3.76(−4.49, −3.04)	−3.54(−4.84,−2.24)
凝血酶原活动度	11.03(6.09, 15.96)	11.03(6.09, 15.96)
丙氨酸转移酶(U/L)	−6.48(−11.59, −1.36)	−7.54(−14.52, −0.56)
总胆红素(μmol/L)	−8.01(−12.04, −3.98)	−9.14(−14.56, −3.73)
套扎所用皮圈数目	−1.49(−1.64, −1.33)	−1.49(−1.64, −1.33)

■应用要点

通过改善肝功能Child-Pugh分级C级、减少腹水量、改善凝血功能、减小门静脉宽度等方法,可减少食管静脉曲张套扎术(EVL)后早期再出血的风险,一定程度上可降低套扎术后患者的死亡率.

早期再出血、改善预后都非常重要.

本研究发现, Child-Pugh分级C、腹水量(中量-大量)[13]为食管静脉曲张破裂出血的危险因素, 且均为高度关联. Child-Pugh分级C是腹水量、凝血酶原时间、胆红素、血清白蛋白、肝性脑病5项指标综合评分的结果, 5项指标间的相互影响及作用尚待进一步研究. 相关研究[14]指出, Child-Pugh分级是EVL术后早期再出血的独

■同行评价
本文对国内外有关食管静脉曲张套扎术(EVL)后早期再出血的危险因素的相关文献进行了Meta分析, 为制定相关预防措施提供了临床依据. 文章具有一定的科学性、创新性, 其研究内容较为重要, 有一定的临床应用价值.

立危险因素之一. Child-Pugh C患者凝血功能差, EVL术后套扎静脉内不易形成血栓, 套圈容易脱落, 易形成浅溃疡, 从而易发生EVL术后早期再出血. 肝硬化门脉高压腹水的形成机制中, 低蛋白血症是其中一项重要原因[15], 因而血清白蛋白与腹水量两项指标是相互有关联的.

本研究发现, 套扎所用皮圈数目少为EVL术后早期再出血的保护因素. 结合临床, 笔者考虑套扎所用皮圈数目少可能为食管静脉曲张程度轻的一项表现, 因食管静脉曲张程度轻是EVL术后早期再出血的保护因素, 从而得到了套扎所用皮圈数目少为EVL术后早期再出血的保护因素的结果. 纳入研究中未提供套扎所用皮圈数目与食管静脉曲张程度的关系, 故未进行进一步研究. 纳入文献中涉及摄入硬食、血甲胎蛋白、细菌感染、天门冬氨酸氨基转移酶、出血次数、空腹血糖等可疑危险因素的各相关文献仅1篇, 偏倚较大, 故本文未对其进行分析. 有研究报道[10]细菌感染是EVL术后早期再出血的独立危险因素, 同时早期再出血[16, 17]的患者也更易发生细菌感染. 某些相关研究表明[9,18], 摄入硬食为EVL术后早期再出血的危险因素. 硬食对食管的机械性摩擦较大, 可划破食管或造成套扎圈过早脱落, 从而导致出血. 但关于硬食的定义目前尚无统一标准, 故难以对该项指标进行客观的评价和分析.

本研究进行数据分析时, 研究结果均为单因素分析所得, 未能排除各可疑危险因素间的相互作用, 该相互作用可能会对研究结果有一定的影响. 本研究纳入的文献数目较少也限制了本研究结论的可靠性. 此外, 本次研究得出的各项危险因素所涉及的文献来源不同, 无法直接统计多因素. 但本研究初步确定了多个EVL术后早期再出血的危险因素, 通过改善肝功能Child-Pugh分级C、减少腹水量、改善凝血功能等方法, 可减少EVL术后早期再出血的风险. 同时联合其他的方法如β受体阻滞剂等[19-21]进一步减小EVL术后早期再出血的风险, 也是我们需要关注的问题.

4 参考文献

1 Ouakaa-Kchaou A, Kharrat J, Mir K, Houda B, Abdelli N, Ajmi S, Azzouz M, Ben Abdallah H, Ben Mami N, Bouzaidi S, Chouaib S, Golli L, Melki W, Najjar T, Saffar H, Belhadj N, Ghorbel A. Variceal band ligation in the prevention of variceal bleeding: a multicenter trial. *Saudi J Gastroenterol* 2011; 17: 105-109 [PMID: 21372346 DOI: 10.4103/1319-3767.77238]

2 Lahbabi M, Elyousfi M, Aqodad N, Elabkari M, Mellouki I, Ibrahimi SA, Benajah DA. Esophageal variceal ligation for hemostasis of acute variceal bleeding: efficacy and safety. *Pan Afr Med J* 2013; 14: 95 [PMID: 23717711 DOI: 10.11604/pamj.2013.14.95.1847]

3 程留芳, 贾继东, 徐小元, 令狐恩强, 刘玉兰, 冷希圣, 王茂强. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治共识(2008, 杭州). 内科理论与实践 2009; 2: 152-158

4 李鹏, 张澍田, 于中麟, 于永征, 冀明, 俞力, 焦月, 李丽, 鄢鹏, 刘亚平, 潘锦敦. 内镜下食管静脉曲张结扎术后早期再出血的危险因素分析. 中华消化内镜杂志 2006; 1: 23-26

5 邓国孙. 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素分析. 海军医学杂志 2012; 5: 313-315

6 邓应江, 敖智容, 秦红, 刘伟. 影响内镜下食管静脉曲张套扎术疗效的危险因素分析. 西南国防医药 2012; 10: 1066-1068

7 邵晓冬, 郭晓钟, 邹德莉, 崔忠敏, 任丽楠, 赵佳钧, 梁振东. 非侵入性检测指标与食管静脉曲张套扎术后2周内再次出血的关系研究. 现代消化及介入诊疗 2012; 2: 74-77

8 Xu L, Ji F, Xu QW, Zhang MQ. Risk factors for predicting early variceal rebleeding after endoscopic variceal ligation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3347-3352 [PMID: 21876624 DOI: 10.3748/wjg.v17.i28.3347]

9 季峰, 徐勤伟, 张咩庆. 食管静脉曲张套扎术后早期再出血的危险因素探讨. 中国内镜杂志 2010; 4: 344-347

10 Yang MT, Chen HS, Lee HC, Lin CL. Risk factors and survival of early bleeding after esophageal variceal ligation. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1705-1709 [PMID: 18019699]

11 曾宪涛, 刘慧, 陈曦, 冷卫东. Meta分析系列之四: 观察性研究的质量评价工具. 中国循证心血管医学杂志 2012; 4: 297-299

12 Chen WT, Lin CY, Sheen IS, Huang CW, Lin TN, Lin CJ, Jeng WJ, Huang CH, Ho YP, Chiu CT. MELD score can predict early mortality in patients with rebleeding after band ligation for variceal bleeding. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2120-2125 [PMID: 21547132 DOI: 10.3748/wjg.v17.i16.2120]

13 杨艳, 樊艳华, 房龙, 高春, 杜时雨, 张明刚, 王远新, 张克俭. 内镜治疗食管胃静脉曲张早期再出血的影响因素分析. 临床肝胆病杂志 2013; 3: 178-183

14 慕海连, 高建飞. 肝功能Child-pugh分级影响套扎治疗食管静脉曲张出血疗效及其机制. 中国医药科学 2012; 14: 188-189, 191

15 刘建军, 李楠, 智红, 吴晓英. 对肝硬化腹水诊治中若干问题的认识与思考. 临床肝胆病杂志 2012; 09: 701-703

16 Lee SW, Lee TY, Chang CS. Independent factors associated with recurrent bleeding in cirrhotic patients with esophageal variceal hemorrhage. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1128-1134 [PMID: 19051032 DOI: 10.1007/s10620-008-0454-0]

17 Grothaus J, Petrasch F, Zeynalova S, Mössner J, Schiefke I, Hoffmeister A. Risk factors for bleeding complications after endoscopic variceal ligation therapy. *Z Gastroenterol* 2010; 48: 1200-1206 [PMID: 20886424 DOI: 10.1055/s-0029-1245435]

18 雷雅莉, 王莹, 王丽萍, 郭熙锋, 朱浪潮, 刘丽平. 肝硬化食管静脉曲张内镜下套扎治疗术后再出血的影响因素. 现代生物医学进展 2013; 12: 2318-2320

19 Lo GH. The role of endoscopy in secondary pro-

phylaxis of esophageal varices. *Clin Liver Dis* 2010; 14: 307-323 [PMID: 20682237 DOI: 10.1016/j.cld.2010.03.009]
20 常菲菲, 杜雅菊. 食管静脉曲张出血套扎术后再出血的预防及治疗. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2795-2799
21 Ayoub WS, Nguyen MH. Combination of pharmacologic and endoscopic therapy for the secondary prevention of esophageal variceal bleeding. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 665-667 [PMID: 19788982 DOI: 10.1016/j.gie.2009.05.035]

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10月8日; 21(28): 2994-2998
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

POEM治疗贲门失迟缓症7例

刘 琳, 段树全, 孟宪梅, 党 彤, 徐美东

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

刘琳, 孟宪梅, 党彤, 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院内蒙古消化病研究所 内蒙古包头市 014030
段树全, 包头肿瘤医院腹部外科 内蒙古包头市 014030
徐美东, 复旦大学附属中山医院普外科 上海市 200032
刘琳, 硕士, 主要从事消化内镜治疗方面的研究.
作者贡献分布: 刘琳与段树全对此文所作贡献均等; 部分手术由徐美东指导, 党彤、孟宪梅及刘琳共同完成; 数据分析及图片采集由刘琳与段树全完成; 本论文写作由刘琳与段树全完成.
通讯作者: 刘琳, 014030, 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院内蒙古消化病研究所. 41470317@qq.com
收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-26
接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Peroral endoscopic myotomy for treatment of achalasia cardia: Our experience with 7 cases

Lin Liu, Shu-Quan Duan, Xian-Mei Meng, Tong Dang, Mei-Dong Xu

Lin Liu, Xian-Mei Meng, Tong Dang, Institute of Gastroenterology of Inner Mongolia, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014030, Inner Mongolia, China
Shu-Quan Duan, Department of Abdominal Surgery, Baotou Tumor Hospital, Baotou 014030, Inner Mongolia, China
Mei-Dong Xu, Department of General Surgery, Zhongshan Hospital Fudan University, Shanghai 200032, China
Correspondence to: Lin Liu, Institute of Gastroenterology of Inner Mongolia, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014030, Inner Mongolia, China. 41470317@qq.com
Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-26
Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract
AIM: To evaluate the clinical efficacy of peroral endoscopic myotomy (POEM) in the treatment of achalasia cardia (AC).

METHODS: The clinical data for 7 patients who were diagnosed with AC and received POEM at our center from May 16, 2011 to May 30, 2013 were reviewed. They ranged in age from 20 to 48 years old, with a mean value of 30.4 years. The disease courses lasted for 2 to 15 years. Key procedures of POEM were esophageal mucosal incision, submucosal tunneling by endoscopic submucosal dissection, endoscopic myotomy of the circular muscle and closure of mucosal entry using hemostatic clips.

RESULTS: POEM was successful in all the patients. Mean operation time was 114 min (range, 55-180 min). Mean submucosal tunneling length was 11.7 cm (range, 10-13 cm). Mean length of endoscopic myotomy of the circular muscle was 9.2 cm (range, 8-11 cm). Two cases underwent full-thickness myotomy. Patients were followed for one year. Five cases of dysphagia were cured, and no obvious effect was observed in two cases.

CONCLUSION: POEM has good short-term efficacy in relieving dysphagia. Further observation is needed to evaluate long-term efficacy and complications.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Achalasia cardia; Myotomy; POEM

Liu L, Duan SQ, Meng XM, Dang T, Xu MD. Peroral endoscopic myotomy for treatment of achalasia cardia: Our experience with 7 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2994-2998 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2994.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2994

摘要
目的: 探讨经口内镜下肌切开术(peroral endoscopic myotomy, POEM)治疗贲门失弛缓症(achalasia of cardia, AC)的临床疗效.

方法: 研究2011-03-16/2013-05-30确诊为AC并接受POEM治疗的7例患者的临床资料, 患者男5例, 女2例, 年龄20-48岁, 平均30.4岁, 病程持续时间2-15年. POEM主要步骤: 食管黏膜层切开; 分离黏膜下层, 建立黏膜下隧道; 胃镜直视下切开环形肌; 金属夹关闭黏膜层切口.

结果: 7例患者均成功接受POEM手术, 手术时间55-180 min, 平均: 114 min, 环形肌切开长度8-11 cm, 平均9.2 cm, 2例行全层肌切开. 隧道切

■同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

开长度10-13 cm, 平均11.7 cm, 术后随访1年, 5例吞咽困难均明显得到解除, 2例效果不明显.

结论: POEM治疗AC短期疗效确切, 可以迅速缓解患者吞咽困难, 但其长期疗效及远期并发症仍有待随访观察.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 贲门失弛缓症; 肌切开术; POEM

核心提示: POEM以创伤小、恢复快、费用低被更多的内镜医师所推崇, 但普及却相对困难, 其原因主要是: 手术操作难度高不易掌握.

刘琳, 段树全, 孟宪梅, 党彤, 徐美东. POEM治疗贲门失迟缓7例临床体会. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2994-2998
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2994.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2994

0 引言

经口内镜下肌切开术(peroral endoscopic myotomy, POEM)伴随科技的进步及新产品、新技术的创新而应用于临床. 我院自2011-03-16/2013-05-30共开展POEM手术治疗7例贲门失迟缓症(achalasia of cardia, AC)患者. POEM以其损伤小、恢复快、疗效确切等优点得到广大医生及患者的一致认可[1]. 结合我院病例现就这一新技术的应用展开临床分析.

1 材料和方法

1.1 材料 确诊为AC的患者7例, 其中男性5例, 女性2例, 年龄20-48岁, 平均30.4岁. 均无高血压、糖尿病、心脏病病史, 无明显手术禁忌症. 排除因胃癌、食管旁迷走神经损伤等因素所致假性AC. 病程持续时间2-15年不等, 均未行球囊扩张及手术治疗, 5例患者部分因症状重曾接受过内科对症及中药治疗, 效果欠佳. 症状均为进食后呕吐, 非喷射状, 呕吐物为食团, 另有消瘦、反流、胸骨后疼痛及憋胀不适症状, 非持续性, 常因进食硬质食物、寒冷及情绪低落等诱因加重. 根据贲门失弛缓症临床症状评分系统(Eckardt评分), 7例患者中5例Ⅱ级症状, 2例Ⅲ级症状[2]; 影像学检查均具有上消化系造影的典型表现: 食管扩张, 食管蠕动减弱, 食管末端狭窄, 呈“鸟嘴”状, 狭窄部黏膜光滑. 另结合食管扩张程度依据Henderson分级: 食管扩张分为3级: I级(轻度), 食管直径<4 cm; II级(中度), 直径4-6 cm; III级(重度), 直径>6 cm. 本组为轻度3例, 中度4例. 器械: Olympus公司CV-260SL/CV-260主机, GIF -Q260胃镜, INJ1-A1-07.180注射针, FD-411QR /410LR热活检钳, KD-620LR Hook刀, KD-610L型IT刀, HX-610-135金属止血夹(小), BOSTON/SCIENTIFIC 2261金属止血夹(大), ERBE VIO200D高频电切装置, Olympus公司D-201-11802透明帽.

1.2 方法 手术程序: 术前禁食48 h并给予温水冲洗食管, 以消除水肿. 术前给予静脉营养和抗菌素预防感染治疗.

患者左侧卧位, 全麻满意后, 先行胃镜检查冲洗食管及胃内黏液, 观察发现食管中下段管腔扩张、扭曲; 齿状线清晰, 贲门口明显狭窄, 胃镜勉强通过(图1A). 内镜前端置透明帽, 应用内镜黏膜下剥离术(endoscopic submueosal dissection, ESD), 于齿状线上10 cm食管黏膜下注射靛胭脂盐水, 黏膜抬举良好, 应用hook刀纵行开窗后, 沿黏膜下层向下潜行分离至贲门下3 cm, 建立黏膜下层“隧道” (图1B), 翻转胃镜观察胃底黏膜颜色变化, 确定“隧道”建立长度(图1C), 应用hook刀自上(齿状线上7 cm)而下(贲门下2 cm)完全横断环状肌束, 食管胃结合部(esophagogastric junction, EGJ)全层肌切开(图1D). 反复冲洗隧道, 创面止血, 明确无出血吸净冲洗液及CO_2气, 应用止血夹夹闭“隧道”入口(图1E). 仔细检查黏膜有无破损. 术毕观察贲门开口明显扩大, 胃镜无阻力顺利通过(图1F). 手术结束, 内镜直视下放置胃肠减压管.

2 结果

手术时间55-180 min, 平均: 114 min, 环形肌切开长度8-11 cm, 平均9.2 cm, 2例行全层肌切开. 隧道切开长度10-13 cm, 平均11.7 cm. 术后禁食水72 h, 抗菌素应用1 d, 质子泵抑制剂抑酸治疗2 wk(静脉3 d, 口服11 d), 口服黏膜保护剂2 wk. 术后3例患者发热, 最高均温度<38.5 ℃, 考虑为吸收热. 术后均无出血、黑便, 1例患者出现颈部及前胸皮下气肿, 吸氧对症治疗好转. 均于术后1 wk恢复正常饮食出院, 出院后均无进食后呕吐及咽下困难症状, 治疗效果显著. 7例患者随访, 1例患者于术后2 wk后出现胃潴留, 间断呕吐, 复查胃镜: 食管黏膜恢复良好, 止血钛夹已脱落. 胃镜通过顺利贲门口, 无明显狭窄, 发现食管及胃蠕动差, 可见食物潴留. 考虑胃动力功能下降, 对症给以胃动力药物治疗后, 症状缓解; 另1例

■研发前沿
微创如今是外科医师推崇的目标与方向, 目前POEM是一种新的治疗方式, POEM作为创伤小、安全有效的方法治疗贲门失弛缓症应用于临床, 其长期疗效有待于观察.

■相关报道
许多国内外文献对贲门失弛缓症现有的主要治疗方式做了详细报道与对比研究, 分别从不同角度讲述各种治疗方式的优缺点, 随着内镜医师技术的熟练, POEM的研究文献逐渐增多.

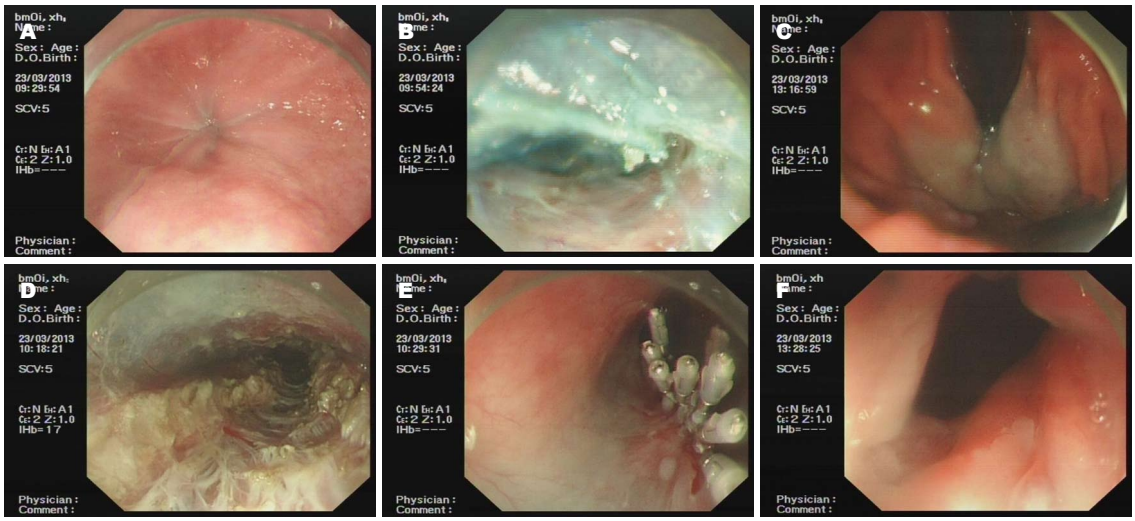


图 1 POEM手术过程. A: 术前贲门口狭窄情况; B: 分离黏膜下层, 建立黏膜下隧道; C: 胃底黏膜颜色改变; D: 肌切开情况; E: 黏膜口闭合; F: 术后贲门松弛效果.

患者于术后2 mo出现间断呕吐, 症状不明显, 复查胃镜: 食管扩张较前缓解, 贲门口仍狭窄, 胃镜通过尚可, 无食物潴留. 考虑术中肌层切开长度不够, 以及瘢痕挛缩致狭窄. 建议行球囊扩张或再行POEM治疗, 患者拒绝治疗, 因症状轻一直随诊. 其余5例患者随访至今, 均效果明显, 进食后呕吐、胸骨后疼痛及异物感消失, 咽下顺利, 并无明显反流现象.

3 讨论

贲门失弛缓症(AC)又被称为贲门痉挛、巨食管, 是由于EGJ神经肌肉功能障碍所致的功能性疾病, 病因认为是食管肌层内Auerbach神经节细胞变性、减少或缺乏以及副交感神经分布缺陷有关, 主要特征是食管缺乏蠕动, 食管下端括约肌(lower esophageal sphincter, LES)高压以及对吞咽动作的松弛反应减弱等[3]. AC在我国尚缺乏流行病学资料, 在欧美等西方国家的发病率每年约为1/10万人, 男女患病比例相似. 该病的疗法主要包括药物(钙通道阻滞剂、硝酸盐类制剂和抗胆碱能类药物、肉毒杆菌注射)、手术(Heller手术、胸腔镜及腹腔镜手术)和内镜(支架、气囊扩张、POEM)的治疗, 旨在降低LES压力, 使食管下段松弛, 从而解除功能性梗阻[4-6]. 2007年Pasricha等在猪体内成功实施了POEM手术[7], 2009年Perretta等首先进行了人体POEM手术的研究并取得成功[8]. 2010 Inoue等将POEM应用于临床[9], 其以创伤小、恢复快、费用低被更多的内镜医师所推崇, 但普及却相对困难, 其原因主要是: 手术操作难度高不易掌握[10].

3.1 手术经验及近期并发症处理 (1) “隧道”建立的成功取决于黏膜的完整性. 其要点主要是反复黏膜下注射, 让黏膜抬举良好, “隧道”建立可在黏膜下顺利进行, EGJ常因肌层增厚致狭窄使隧道建立十分困难, 术中注意hook刀的方向, 此处常可致黏膜损伤. 建议应用IT刀建立“隧道”; (2)术中出血常常是导致手术时间延长的主要原因. 术中一定要保证术野清晰, 仔细观察小血管电凝止血, 最大限度减少出血才能使手术加快. 我们常用高频电刀强力电凝模式, 功率为50 W. 如出血较多可以用透明帽压迫止血, 但手法要求精准、轻柔, 注意透明帽很容易戳穿纵形肌及外膜. EGJ处血管网丰富, 据统计其中有94.67%来自胃左动脉, 56%来自左膈动脉. 同时隧道内发现血管网丰富也证明已到达EGJ区. 狭窄EGJ通过后空间明显扩大, 标志进入胃底. 另一种方法就是胃镜下观察胃底黏膜颜色改变, 注射靛胭脂盐水后, 胃黏膜颜色改变显著. 手术中常以此作为解剖标志指导“隧道”深度; (3)近期并发症有气胸、气腹、皮下及纵膈气肿. 其发生的主要原因是穿孔造成, 与术中建立隧道的位置及EGJ肌层切开深度与长度均有关系. 有报道皮下气肿的发生率为63.9%, 气胸的发生率为19.3%[11]. 从食管解剖看, 食管管壁较薄, 成人厚约3-4 mm, 由4层组织组成, 分为黏膜层、黏膜下层、肌层及纤维层, 肌层的内层系环行肌肉纤维, 外层为纵行肌肉纤维, 有一定扩张和伸缩性, 肌层之外裹有薄层结缔组织, 形成食管的外膜, 但外层缺乏坚韧的浆膜层. 所以在EGJ部行全层肌切开时注意深度, 此区以上

全层肌切开穿孔几率会增大; EGJ解剖结构: 食管腹段前面和肝左叶后面邻接, 前有左迷走神经干走形. 后面虽没有腹膜覆盖, 但被左膈脚及腹主动脉将食管腹段分离出的一层疏松结缔组织包裹, 右侧有肝尾状叶, 左侧有胃底部, 只有前面及左侧面被腹膜(浆膜)覆盖, 左心室在前右方, 食管入食道裂孔移行为食管胃结合部(EGJ). 所以术中隧道建立点应选择食管右后壁7点钟方向, 位置固定, 穿孔发生纵膈气肿和气胸几率相对少. 有人选择EGJ前壁隧道开口报道, 认为前壁有完整的浆膜解剖层次清楚, 发生穿孔机会小, 不破坏贲门切迹, 有效防止反流. 本组患者6例行食管内超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)检查示食管下段肌层均有不同程度的增厚. 所以周教授提出“EGJ上下5 cm范围的全层肌切开[12]”的观点是安全的. 术前必须充分了解EGJ增厚的程度及长度, 以确保手术的安全性, 亦可加做术中内镜超声检查(EUS)明确切开足够的长度保证术后达到充分的缓解[13]. 本组有2例行全层肌切开, 未发生穿孔及气胸及气腹, 文献报道, 全层肌切开没有增加穿孔的几率[11]. 术中应用CO_2冲气, 并严密观察全层肌切开时有无外膜破损. CO_2在体内弥散快, 发生轻度皮下气肿一般1 wk内自行吸收. 本组患者有1例出现颈部及前胸皮下气肿, 间断吸氧治疗后好转. 发生气胸时要求手术加快, 检查外膜是否破损, “隧道”内应用血管夹夹毕外膜较困难, 要求“隧道”入口闭合严密. 轻度气胸不会引起血氧下降及肺萎陷, 患者亦无明显气短及紫绀症状, 无需特殊处理, 气胸可自行消失, 严重气胸需行胸腔闭式引流术及吸氧治疗.

3.2 远期并发症及处理 远期并发症主要为症状复发. 从生理学角度看, EGJ为控制食物流入胃腔的通道, 也是连接胸腹腔的门户, 在食管与胃连接处1-2 cm轻度增厚的环形肌被称为食管下括约肌(LES). 胃及食管内的压力差调节LES的舒张, 防止食物反流入食管, 此外, 胃底与食管之间有一锐性夹角, 被称之为贲门切迹(esophagogastric angle of His, His角). 研究证实, His角也具有防止胃内容物反流的作用. 与膈肌脚和膈食管韧带共同形成一道抗反流的屏障, 该区在手术切除或遭受肿瘤破坏时, 易出现食物反流症状. 本组患者, LES均被切断, 但随诊发现术后反流现象少见. Inoue报告: 17例AC患者行POEM术后反流为1例[9], 考虑与保护His角有关. 本组病例1例出现POEM术后胃动力下降, 外科近端胃癌根治手术后常因双侧迷走神经切断出现胃瘫或胃动力下降症状[14], 本例手术未伤及迷走神经, 至于是否因为胃食管结合部环形肌及纵形肌完全被切开所致, 目前暂无相关机制解释. 另1例患者与术后2 mo后出现呕吐, 复查胃镜提示贲门再次狭窄. 考虑术中肌层切开长度不够, 以及瘢痕挛缩所致. Costantini对71例接受腔镜Heller术治疗的贲门失弛缓患者进行了6年的随访观察, 13例患者术后复发, 其中50%患者在1年内复发, 复发的主要原因是肌切开特别是胃端肌层切开不完全[15,16]. 所以完全、有效、足够长度的肌切开是保证POEM疗效的关键. 同时一味的追求肌切开的长度增加疗效势必会增加穿孔的机会. 所以到目前为止对POEM的最佳肌切开长度仍有争议.

本组病例数较少, 随访时间相对较短. 目前我国复旦大学附属中山医院已成功完成500余例POEM手术, 已成为全世界完成此手术最多的国家, 鉴于中山大学经验认为POEM治疗贲门失弛缓症短期疗效肯定, 其远期疗效及并发症情况仍需长期随访及大样本病例证实.

■创新盘点
本文重点讨论了POEM治疗的手术过程及手术中的相关注意事项, 详细讨论术后近期和远期并发症的处理.

4 参考文献

1 周平红, 姚礼庆, 蔡明琰, 钟芸诗, 任重, 徐美东, 陈巍峰, 秦文政, 胡健卫, 李亮, 刘靖正, 王萍, 秦新裕. 经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症的初探. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 63-66
2 Eckardt AJ, Eckardt VF. Treatment and surveillance strategies in achalasia: an update. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 311-319 [PMID: 21522116 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.68]
3 Francis DL, Katzka DA. Achalasia: update on the disease and its treatment. *Gastroenterology* 2010; 139: 369-374 [PMID: 20600038 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.024]
4 王爽, 刘冰熔. 贲门失弛缓症的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 75-81
5 李柯蓓, 施瑞华. 贲门失弛缓症的治疗进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2333-2337
6 李惠凯, 令狐恩强. 经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症的新进展. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2012; 5: 399-401
7 Pasricha PJ, Hawari R, Ahmed I, Chen J, Cotton PB, Hawes RH, Kalloo AN, Kantsevoy SV, Gostout CJ. Submucosal endoscopic esophageal myotomy: a novel experimental approach for the treatment of achalasia. *Endoscopy* 2007; 39: 761-764 [PMID: 17703382]
8 Perretta S, Dallemagne B, Allemann P, Marescaux J. Multimedia manuscript. Heller myotomy and intraluminal fundoplication: a NOTES technique. *Surg Endosc* 2010; 24: 2903 [PMID: 20428893 DOI: 10.1007/s00464-010-1073-3]
9 Inoue H, Minami H, Kobayashi Y, Sato Y, Kaga M, Suzuki M, Satodate H, Odaka N, Itoh H, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Endoscopy* 2010; 42: 265-271 [PMID:

■同行评价
本文较详细的介绍了贲门失弛缓症的POEM治疗过程, 引用文献较新, 对临床工作有一定参考价值.

20354937 DOI: 10.1055/s-0029-1244080]
10 Eleftheriadis N, Inoue H, Ikeda H, Onimaru M, Yoshida A, Hosoya T, Maselli R, Kudo SE. Training in peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Ther Clin Risk Manag* 2012; 8: 329-342 [PMID: 22888256 DOI: 10.2147/TCRM.S32666]
11 任重, 钟芸诗, 周平红, 徐美东, 蔡明琰, 李亮, 时强, 姚礼庆. 经口内镜肌切开术治疗贲门失弛缓症并发症及其防治探讨. 中华消化内镜杂志 2011; 11: 615-618
12 周平红, 李全林, 姚礼庆. 开展经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症的要点. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 601-603
13 钟芸诗, 李亮, 周平红, 马丽黎, 时强, 徐美东, 任重朱, 博群, 刘靖正, 姚礼庆. 超声内镜在经口内镜下肌切开术治疗贲门失弛缓症中的应用价值. 中华消化杂志 2012; 11: 727-730
14 Gutschow CA, Hölscher AH. Myotomy for esophageal achalasia - laparoscopic versus peroral endoscopic approach. *Endoscopy* 2010; 42: 318-319 [PMID: 20354941 DOI: 10.1055/s-0029-1244071]
15 Costantini M, Zaninotto G, Guirroli E, Rizzetto C, Portale G, Ruol A, Nicoletti L, Ancona E. The laparoscopic Heller-Dor operation remains an effective treatment for esophageal achalasia at a minimum 6-year follow-up. *Surg Endosc* 2005; 19: 345-351 [PMID: 15645326 DOI: 10.1007/s00464-004-8941-7]
16 卜保国, 令狐恩强, 李惠凯, 王向东, 孟江云, 杜红, 王红斌. 经口内镜下肌切开术环形肌断端距离与贲门失弛缓症状缓解程度的关系. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2012; 5: 386-388

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 2999-3003
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肠内营养在肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期的应用

盛 博, 陈 炜, 赵 磊

盛博, 陈炜, 赵磊, 首都医科大学附属北京世纪坛医院重症医学科 北京市 100038
盛博, 主治医师, 主要从事危重症的抢救与治疗工作.
作者贡献分布: 病例的选择、临床资料的整理及文章的撰写由盛博完成; 数据的分析由赵磊完成; 研究设计、文章的修改及审阅由陈炜完成.
通讯作者: 盛博, 主治医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医院路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院重症医学科.
shengbo_bj@163.com
收稿日期: 2013-06-07 修回日期: 2013-07-09
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Efficacy of perioperative enteral nutrition in management of hepatocellular carcinomar with cirrhosis

Bo Sheng, Wei Chen, Lei Zhao

Bo Sheng, Wei Chen, Lei Zhao, Department of Critical Care Medicine, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China
Correspondence to: Bo Sheng, Attending Physician, Department of Critical Care Medicine, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China. shengbo_bj@163.com
Received: 2013-06-07 Revised: 2013-07-09
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical effect of perioperative enteral nutrition in improving perioperative liver function and postoperative complications in patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis.

METHODS: Sixty-four liver cancer patients with cirrhosis were randomly divided into either a study group or a control group. The control group received conventional treatment, and the study received additional enteral nutrition therapy on the basis of conventional treatment. The liver function, immune status and nutritional status were compared between the two groups to evaluate the clinical efficacy of enteral nutrition therapy.

RESULTS: The liver function indices on preoperative day 1 and postoperative days 1, 3 and 7 were significantly better in the study group than in the control group (ALT: 51.17 μmol/L ± 8.47 μmol/L *vs* 61.43 μmol/L ± 22.43 μmol/L, 104.42 μmol/L ± 48.25 μmol/L *vs* 167.43 μmol/L ± 78.35 μmol/L, 74.36 μmol/L ± 17.64 μmol/L vs 84.57 μmol/L ± 44.24 μmol/L, 63.93 μmol/L ± 7.32 μmol/L *vs* 79.28 μmol/L ± 11.73 μmol/L; AST: 31.36 μmol/L ± 18.37 μmol/L *vs* 47.48 μmol/L ± 11.57 μmol/L, 103.12 μmol/L ± 21.61 μmol/L *vs* 170.21 μmol/L ± 42.56 μmol/L, 84.26 μmol/L ± 11.53 μmol/L *vs* 127.25 μmol/L ± 31.14 μmol/L, 51.43 μmol/L ± 11.32 μmol/L *vs* 92.41 μmol/L ± 18.18 μmol/L, all $P < 0.05$). The immune indices and nutritional status indices s on preoperative day 1 and postoperative days 1, 7 and 10 day were also significantly better in the study group than in the control group (all $P < 0.05$). The incidence of complications in the study group was significantly lower than that in the control group, and no nutrition-related serious adverse reactions were observed.

CONCLUSION: Perioperative enteral nutrition can improve liver function and immunity and reduce the incidence of complications in patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Hepatectomy; Enteral nutrition; Function of liver

Sheng B, Chen W, Zhao L. Efficacy of perioperative enteral nutrition in management of hepatocellular carcinomar with cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 2999-3003 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2999.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2999

摘要

目的: 探讨肠内营养的对肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期肝脏功能及术后并发症的影响.

方法: 以64例肝癌患者为研究对象, 随机分为

■背景资料
发性肝癌患者大都伴有肝炎肝硬化, 所以在行肝癌切除术后常出现肝功能损害及增加术后并发症发生机率, 严重会导致肝切除术后肝功能的障碍. 因此, 如何在围手术期有效地保护肝脏功能, 提高肝脏功能储备, 增强患者对于手术耐受性, 并防止手术后并发症的发生, 是需要解决关键问题.

■同行评议者
郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室; 鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学院

■研发前沿
围手术期应用肠内营养混悬液，可明显减少肝癌术后并发症的发生.可以将肠腔内残余大便排空，术后防止大便囤积导致氨吸收导致血氨升高，引起肝性脑病，仇毓东及Dhaliwal等也明确指出围手术期口服营养液降低血氨也是纠正肝性脑病的治疗手段之一.

治疗组和对照组. 对照组给予常规治疗，治疗组增加围术期肠内营养治疗. 随后对术后两组患者的肝功指标、免疫状况、营养指标等进行对比分析，评价肠内营养治疗的临床疗效.

结果: 治疗组患者术前1 d、术后1、3、7 d的肝功指标均优于对照组，且差异具有统计学意义(ALT: 51.17 μmol/L±8.47 μmol/L *vs* 61.43 μmol/L±22.43 μmol/L, 104.42 μmol/L±48.25 μmol/L *vs* 167.43 μmol/L±78.35 μmol/L, 74.36 μmol/L±17.64 μmol/L *vs* 84.57 μmol/L±44.24 μmol/L, 63.93 μmol/L±7.32 μmol/L *vs* 79.28 μmol/L±11.73 μmol/L; AST: 31.36 μmol/L±18.37 μmol/L *vs* 47.48 μmol/L±11.57 μmol/L, 103.12 μmol/L±21.61 μmol/L *vs* 170.21 μmol/L±42.56 μmol/L, 84.26 μmol/L±11.53 μmol/L *vs* 127.25 μmol/L±31.14 μmol/L, 51.43 μmol/L±11.32 μmol/L *vs* 92.41 μmol/L±18.18 μmol/L, 均P<0.05). 治疗组术前1 d、术后7、10 d的免疫力指标和肝脏储备功能指标均优于对照组，且差异具有统计学意义. 治疗组患者的并发症发生率明显低于对照组，且未见与营养制剂相关的严重不良反应.

结论: 早期肠内营养对行手术治疗的伴有肝炎肝硬化肝癌患者具有提高肝脏功能储备、提高免疫力等作用，可促进术后肝脏功能恢复及减少术后并发症发生.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌; 肝切除术; 肠内营养; 肝功能

核心提示: 早期肠内营养对行手术治疗的肝癌合并肝炎后肝硬化患者具有提高肝脏功能储备作用，促进术后肝脏功能恢复及减少术后并发症发生.

盛博，陈炜，赵磊. 肠内营养在肝癌合并肝炎后肝硬化患者围手术期的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 2999-3003
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2999.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.2999

0 引言

临床研究证实原发性肝癌患者中约90%以上患者伴有肝硬化，对其行肝癌切除术后由于自身肝功能低下，肝功能损伤和相关术后并发症发生率偏高，临床多表现[1,2]为肝细胞损伤、肝功能指标显著异常，对于患者术后肝功能的恢复和预后较为不利. 此外，研究发现40%-80%的癌症患者伴有营养不良状况[3]，严重影响手术治疗、放疗和化疗的临床治疗效果，其原因主要是由于患者对上述手段的耐受性较差、自身营养状况持续下降. 因此对于肝癌患者而言，如何在围手术期有效地保护肝脏功能提高肝脏功能储备、改善患者自身的营养状况、增强患者对于手术耐受性等是提高患者术后存活率和降低并发症的关键环节. 在本次研究中，以64例肝癌患者为研究对象，在围手术期给予了肠内营养治疗，临床效果较为满意，现报告如下.

1 材料和方法

选取2011-01/2012-12在我院肝胆外科因原发性肝癌行肝癌切除术联合脾脏切除术贲门周围血管离断术的手术治疗患者64例，肝癌肿瘤直径: 2-11 cm，平均直径6.25 cm±0.96 cm; 肿瘤位于肝右后叶23例，肝右前叶18例，左外叶12例，左内叶9例，尾状叶2例; 术前肝功能评估为Child-Pugh A级30例，B级34例; 术前无心、肺、肾功能不全及其他全身性疾病. 采用随机数字法将患者分为2组，治疗组34例，其中男20例，女14例，平均年龄51.53岁±8.67岁; 对照组30例，其中男19例，女11例，平均年龄52.46岁±9.31岁. 两组患者的一般资料对比结果显示，两组患者在年龄、性别、体质量、肝功能等方面比较，差异均无统计学意义(P>0.05)，具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: (1)开展本项研究前，经医院道德伦理委员会批准，且所有入选患者均签订知情同意书; (2)术后胃肠功能良好，可经口进食的患者; (3)既往无康全甘或其他类似营养制剂过敏、不耐受史; (4)无严重胃溃疡、胃肠肿瘤或严重的肠道疾病; (5)无自身免疫性疾病或先天性免疫力低下; (6)凡不符合上述筛选条件之一者或拒绝配合研究者，不予入组接受研究.

1.2.2 治疗: 对照组给予维生素K1、血浆或者人血白蛋白等常规护肝治疗. 治疗组在对照组的基础上，术前3 d开始口服肠内营养混悬液500 mL(商品名: 康全甘，TP-MCT)，1瓶/d. 术中常规予以放置空肠营养管，术后第1天即予以500 mL生理盐水经加温输液泵持续滴入营养管，持续12 h. 如患者无不适症状，术后第2天连续肠内营养混悬液每日泵入1000 mL，持续4 d至肠道功能恢复.

1.2.3 观察指标与疗效评价方法: (1)于术前1 d和术后1、3、7 d晨起空腹测定对照组和治疗组患者的外周静脉血血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate ami-

■创新盘点
围手术期肝癌患者使用肠内营养液(康全甘)复方制剂进行肠内营养, 其对于患者术后恢复的观察.

表 1 肝癌患者术前术后肝脏功能比较

分组	丙氨酸转氨酶 (μmol/L)	谷草转氨酶 (μmol/L)	血清总胆红素 (mmol/L)	直接胆红素 (mmol/L)	血氨 (mmol/L)
对照组					
术前1 d	61.43 ± 22.43	47.48 ± 11.57	14.61 ± 3.15	12.50 ± 2.59	15.25 ± 19.63
术后1 d	167.43 ± 78.35	170.21 ± 42.56	83.61 ± 14.82	65.49 ± 18.66	66.38 ± 22.47
术后3 d	84.57 ± 44.24	127.25 ± 31.14	67.23 ± 18.19	56.87 ± 15.28	42.24 ± 15.81
术后7 d	79.28 ± 11.73	92.41 ± 18.18	12.22 ± 12.27	23.45 ± 9.29	32.28 ± 11.27
治疗组					
术前1 d	51.17 ± 8.47[a]	31.36 ± 18.37[c]	12.32 ± 1.69	11.62 ± 3.83	12.92 ± 11.56[a]
术后1 d	104.42 ± 48.25[a]	103.12 ± 21.61[c]	85.26 ± 17.82	64.37 ± 15.25	54.44 ± 21.09[a]
术后3 d	74.36 ± 17.64[a]	84.26 ± 11.53	65.18 ± 12.47	47.57 ± 12.85	29.18 ± 10.26[a]
术后7 d	63.93 ± 7.32[a]	51.43 ± 11.32[c]	14.75 ± 8.74	21.18 ± 8.44	16.44 ± 8.59[a]

[a]*P*<0.05, [c]*P*<0.05 *vs* 对照组相应时间点.

表 2 对照组与治疗组患者免疫功能对比

时间	分组	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	CD4(%)	CD8(%)
术前1d	治疗组	14.36 ± 4.17	2.16 ± 1.12	3.67 ± 1.43	39.87 ± 3.81	26.45 ± 2.37
	对照组	13.87 ± 5.03	2.31 ± 1.24	3.61 ± 1.59	40.94 ± 5.62	25.68 ± 3.07
术后7d	治疗组	13.28 ± 3.24[d]	2.13 ± 2.04	3.68 ± 1.74[d]	38.19 ± 4.15[c]	23.34 ± 4.13
	对照组	10.76 ± 4.81[b]	1.96 ± 3.16	2.81 ± 3.23[b]	30.28 ± 5.14[b]	27.51 ± 3.62
术后10d	治疗组	18.74 ± 5.18[d]	2.28 ± 3.15	4.26 ± 2.38[d]	43.26 ± 6.32[d]	20.09 ± 4.73[d]
	对照组	10.23 ± 3.65[a]	2.34 ± 2.71	2.89 ± 2.11[a]	34.49 ± 5.36[b]	31.21 ± 6.17

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 术前; [c]*P*<0.05, [d]*P*<0.01 *vs* 对照组.

notransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、血氨含量等肝功能指标; (2)于术前、术后7 d、术后10 d测定两组患者的血清白蛋白、转铁蛋白、氮平衡等肝脏储备功能和营养状况相关的指标; (3)于术前、术后7 d和术后10 d测定患者免疫功能相关的IgG、IgM、CD4、CD8等指标; (4)统计肠内营养支持治疗过程中的患者出现的不良反应事件.

统计学处理 数据采集后, 采用SPSS19.0进行统计分析, 计量资料以mean±SD表示, 组间对比采用*t*检验, 计数资料进行χ^2检查验, 以*P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 对照组与治疗组术后肝功能指标对比 2组各项指标术后与术前相比, 均有一定程度的升高,治疗组组术前1 d及术后1、3、7 d的血清ALT、AST值明显低于相应对照组, 有统计学差异(*P*<0.05); 2组术前1d及术后1、3、7 d血氨比较, 治疗组明显低于对照组(*P*<0.05); 2组术后血清TBIL、DBIL比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1).

2.2 对照组和治疗组患者的免疫功能指标对比 治疗组和对照组患者的免疫功能对比结果显示, 治疗组患者的IgG、IgA、IgM在术后7 d有所下降, 但并不显著(*P*>0.05), 10 d时除CD8以外其他指标较7 d时有所回升. 对照组患者术后7 d时各项免疫指标均有明显下降, 且具有统计学差异(*P*<0.05), 10 d时较术前下降更加明显. 对照组和治疗组相比, 术前、术后7和10 d时的免疫指标均有统计学差异, 患者的免疫状况以治疗组较为理想(表2).

2.3 治疗组和对照组患者营养状况对比 由表3可知, 治疗组患者的蛋白水平于术后7 d时即回复至术前水平附近, 且在术后10 d时较术前有所升高. 相对于治疗组而言, 对照组患者的蛋白水平在术后7 d时依然低于术前水平, 截止到时候10 d仍未完全回复至术前水平. 治疗组和对照组相比, 术前、术后7 d和术后10 d的蛋白水平均以治

■应用要点
围手术期早期应用肠内营养混悬液可增强患者术前肝脏储备能力，降低肝癌术后血清转氨酶，对恢复术后肝脏功能、减少并发症的发生具有积极的意义，适合对伴有肝炎肝硬化的肝癌患者在围手术期使用.

表 3 治疗组和对照组营养状况对比

时间	分组	白蛋白(g/L)	纤维连接蛋白(g/L)	转铁蛋白(g/L)	前清蛋白(g/L)	氮平衡
术前1d	治疗组	36.4±3.7	2.51±0.63	2.31±0.54	0.21±0.06	−7.3±2.2
	对照组	37.5±4.4	2.45±0.71	2.26±0.68	0.23±0.05	−7.9±2.4
术后7d	治疗组	36.1±3.4	2.47±0.79[c]	2.27±0.43[c]	0.19±0.08[d]	1.2±0.7[bd]
	对照组	34.1±4.5	1.91±0.53[a]	1.71±0.62[a]	0.15±0.04[b]	−4.3±1.6
术后10d	治疗组	37.2±4.1	2.74±0.47[c]	2.39±0.52[c]	0.26±0.07[d]	3.8±1.6[bd]
	对照组	35.6±3.6	2.33±0.65	2.13±0.58	0.19±0.07	−1.3±1.1[b]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 术前; [c]*P*<0.05, [d]*P*<0.01 *vs* 对照组.

疗组较为理想，即表明治疗组患者的营养状况较好，且两组间差异具有统计学意义(*P*<0.05).

2.4 不良反应与并发症发生率 对照组与治疗组术后并发症发生率分别为50%(15/30)和29.4%(10/34)，两组相比具有统计学差异(*P*<0.05). 并发症主要有：脾窝及胸腔积液、胆漏、肝脏功能衰竭、肺部感染、胰漏、术后再出血二次手术、门静脉或脾静脉血栓、肝性脑病、切口液化或感染. 其中对照组发生2例肝性脑病，治疗组则未出现. 在不良反应方面，接受肠内营养治疗的34例患者均未出现与营养制剂相关的过敏反应、严重电解质紊乱等不良反应. 有3例患者出现轻微不耐受症状，主要表现为腹胀、腹泻且程度较轻. 所有患者均顺利完成肠内营养支持治疗，总耐受率为96.77%，表明肠内营养支持治疗安全、有效.

3 讨论

恶性肿瘤，作为慢性消耗性疾病，几乎所有患者均伴有不同程度的营养不良[4]. 长期的病痛除使患者机体营养状况变差以外，患者的自身免疫力也呈逐渐下降趋势. 因肿瘤患者的机体素质较差，术后出现伤口感染、愈合缓慢的几率较症状患者显著增高[5]，且对术后的化疗、放疗等的临床效果均有较大影响. 为加速患者的康复、缩短住院时间以及降低医疗费用，术后尽早给予合理有效的营养支持显得愈加重要，肠内营养在肿瘤疾病中的临床效果也逐步得到了广大医师的肯定.

消化科肿瘤相对于其他肿瘤性疾病，除可对患者的营养状况造成直接影响以外，外科手术后常需禁食一段时间，给予营养支持治疗是保证患者康复、提高手术成功率的关键[6]. 本研究中的肝癌患者除接受肝癌切除术以外，还接受了贲门周围血管离断术，可严重影响患者食管及胃底收缩活动，对术后患者的进食和营养吸收有较大影响. 临床研究显示[7]，约80%的消化系肿瘤患者术后会出现进食后腹胀、吞咽有哽咽感等症状，为解决患者早期饮食不耐受、加速患者的康复，对其行肠内营养支持治疗比较可行. 故在本次研究中共计对治疗组中34例患者进行了肠内营养治疗，临床效果显示治疗组患者的肝功能指标、营养状况以及免疫情况均优于对照组，并且两组间的差异具有统计学差异(*P*<0.05). 目前在营养支持途径方面，分为肠内、肠外营养两种[8]. 肠外营养因不收制剂口感以及胃肠道功能和结构的限制，具有吸收快、疗效好的优点而一直被广泛应用于临床. 但由于肠外营养不经胃肠道吸收，仅适用于短期的营养支持，长期使用可导致胃肠道出现应激性溃疡、胃粘膜萎缩或出现严重的代谢并发症[9]. 为弥补肠外营养的不足，近些年来肠内营养的逐渐被广泛推广至临床.

目前肠内营养制剂主要有康全力、康全甘、百普力、百普素等[10]，并且根据应用成分的不同均有一定的适用人群. 因本次研究中的患者均为肝癌患者，为降低患者肝脏和胃肠道负担，选取了短肽类康全甘作为营养制剂为. 康全甘主要成份为水，麦芽糊精，乳清蛋白水解物，植物油，维生素，矿物质和微量元素等人体必需的营养要素，每瓶500 mL可以提供约500千卡热量. 因康全甘为短肽制剂[11]，口感稍差，临床多见饮用后腹胀或恶心，但较其他营养制剂更易吸收. 对34例患者行营养支持治疗后，其肝功能指标ALT、AST、TBIL、血氨以及免疫指标IgA、IgM等均较对照组和术前有明显改善，提示我们肠内营养可改善肝癌患者术后的肝脏功能和免疫功能，对肝脏功能的恢复具有促进作用. 在营养状况方面，治疗组患者的蛋白水平和回复至正常水平的速度均优于对照组，为患者

的康复和预后治疗提供了较好的营养基础. 对并发症和不良反应进行的统计结果显示, 治疗组的并发症发生率明显低于对照组, 且未发现与营养制剂明显相关的并发症. 其原因主要是由于营养治疗提高了患者自身的应激能力和免疫状况、降低了血氨、ALT、AST等肝功能损伤和肝脑病的危险因素[12-14].

总之, 围手术期早期应用肠内营养混悬液可增强患者术前肝脏储备能力, 改善肝癌术后的异常肝功指标、提高患者免疫力, 对恢复术后肝脏功能、减少并发症的发生具有积极的意义, 适合对伴有肝炎肝硬化的肝癌患者在围手术期使用.

4 参考文献

1 Roskams T, Kojiro M. Pathology of early hepatocellular carcinoma: conventional and molecular diagnosis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 17-25 [PMID: 20175030 DOI: 10.1055/s-0030-1247129]

2 Hidaka H, Kokubu S, Nakazawa T, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Shibuya A, Saigenji K. Therapeutic benefits of partial splenic embolization for thrombocytopenia in hepatocellular carcinoma patients treated with radiofrequency ablation. *Hepatol Res* 2009; 39: 772-778 [PMID: 19473438 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2009.00508.x]

3 Aiyama T, Kamiyama T, Nakanishi K, Yokoo H, Taniguchi M, Fukumori D, Tahara M, Kakisaka T, Kamachi H, Matsushita M, Todo S. [A study of cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma and huge splenomegaly who received treatment for hepatocellular carcinoma with concomitant splenectomy]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2010; 37: 2683-2686 [PMID: 21224679]

4 胡亮, 易永祥. 肝癌切除同时行脾脏切除加断流术的术后并发症的相关因素分析. 山东大学学报 2013; 51: 64-66

5 顾春林, 霍中华, 张洪海, 胡君, 尹鹏, 宋博, 候乐伟, 吕盛. 低热量营养支持对肝癌术后营养和免疫功能的影响. 肠外与肠内营养 2006; 13: 152-152

6 江志伟, 李宁, 黎介寿. 快速康复外科的概念及临床意义. 中国实用外科杂志 2009; 27: 131-133

7 Wang C, Li C, Wen TF, Yan LN, Li B, Liang GL, Li KW. Safety of synchronous hepatectomy and splenectomy for patients with hepatocellular carcinoma and hypersplenism. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 526-528 [PMID: 22353518]

8 仇毓东, 朱新华, 徐庆祥, 吴亚夫, 周建新, 丁义涛. 精准肝切除术治疗原发性肝癌的疗效评价. 中华消化外科杂志 2010; 9: 1-3

9 Liang P, Gao Y, Zhang H, Yu X, Wang Y, Duan Y, Shi W. Microwave ablation in the spleen for treatment of secondary hypersplenism: a preliminary study. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 692-696 [PMID: 21343515 DOI: 10.2214/AJR.10.4193]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 结论可信, 对临床医师有很好的参考价值.

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 3004-3007
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术中的应用

魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道

■背景资料
临床资料显示, 约10%-20%胆囊结石患者合并胆管结石. 目前处理胆管结石途径较多, 可腹腔镜胆囊切除术前后结合EST取石、腹腔镜胆道探查或开腹胆道探查术. 但EST取石费用较高, 而无论开腹还是腔镜胆道探查, 放置T管均可能导致相关并发症发生. 我们在LTCBDE中应用液电碎石来治疗胆囊结石合并较大胆管结石, 取得了较好的效果.

魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区 云南省昆明市 650101
魏晓平, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科的研究.
作者贡献分布: 本文由魏晓平设计; 治疗过程由魏晓平与田大广主要操作, 于恒海与王秋虹辅助操作完成; 病例收集、数据分析由于恒海与王秋虹完成; 本论文写作由魏晓平完成; 胡明道指导修改.
通讯作者: 胡明道, 主任医师, 650101, 昆明市滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区. humdao@163.com
电话: 0871-65351281-2680
收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-08-23
接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-08

Application of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration

Xiao-Ping Wei, Da-Guang Tian, Heng-Hai Yu, Qiu-Hong Wang, Ming-Dao Hu

Xiao-Ping Wei, Da-Guang Tian, Heng-Hai Yu, Qiu-Hong Wang, Ming-Dao Hu, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China
Correspondence to: Ming-Dao Hu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 374 Dianmian Avenue, Kunming 650101, Yunnan Province, China. humdao@163.com
Received: 2013-07-17 Revised: 2013-08-23
Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the application value of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscope in laparoscopic transcystic common bile duct exploration (LTCBDE).

METHODS: Twenty-four patients who were diagnosed with gallbladder stones with common bile duct stones by magnetic resonance cholangiopancreatography underwent LTCBDE. The minimal diameter of stones was 1.6 cm. The hospital stay, operative time and postoperative complications were recorded.

RESULTS: LTCBDE was successful in all the cases. The operative time and hospital stay were 75-210 min and 3-7 d, respectively. One of the patients had residual stones (4.2%) and recovered without treatment.

CONCLUSION: Electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in LTCBDE is an effective and safe way to treat greater stones.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Electrohydraulic lithotripsy; Choledochoscopy; Laparoscopic transcystic common bile duct exploration

Wei XP, Tian DG, Yu HH, Wang QH, Hu MD. Application of electrohydraulic lithotripsy combined with choledochoscopy in laparoscopic transcystic common bile duct exploration. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3004-3007 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3004.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3004

摘要

目的: 探讨液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE)中的应用技巧及效果.

方法: 回顾分析24例LTCBDE患者临床资料, 术前均经磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)确诊胆囊结石合并胆管结石, 胆管结石直径≥1.6 cm, 记录手术时间, 住院时间及术后并发症发生率.

结果: 手术均获成功, 无1例中转开腹. 手术时间75-210 min, 住院时间3-7 d, 1例(4.2%)发生胆管残余结石, 自行排出.

结论: 液电碎石联合胆道镜应用于LTCBDE可在具备适应症情况下安全有效处理较大胆管结石, 是治疗胆管结石较好方法之一.

■同行评议者
韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 液电碎石; 胆道镜; 经胆囊管腹腔镜胆道探查

核心提示: 针对胆囊管内径≥3 mm, 单纯肝外胆管结石, 无急性胆管炎、胰腺炎等并发症的胆囊结石合并胆管结石患者, 液电碎石联合胆道镜行LTCBDE可安全有效处理较大胆管结石, 是治疗胆管结石较好方法之一.

魏晓平, 田大广, 于恒海, 王秋虹, 胡明道. 液电碎石联合胆道镜在经胆囊管腹腔镜胆道探查术中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3004-3007 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3004.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3004

0 引言

在胆囊结石行择期腹腔镜胆囊切除术患者中, 约10%合并胆管结石, 而急性胆囊炎患者, 合并胆管结石发病率高达10%-20%[1]. 经胆囊管途径胆总管探查术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE), 避免了胆总管切开探查可能造成的不良后果, 术后不需放置T管, 保持了胆道的完整性和正常生理功能, 是近年来开展较多的术式. 但一般要求结石径线≤1 cm[2], 我院自2010年开始在LTCBDE中应用液电碎石治疗胆囊结石合并较大胆管结石24例, 效果满意, 现报告总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组病例男性11例, 女性13例, 年龄31-68岁, 平均47.5岁, 术前均经过磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)确诊为胆囊结石合并胆总管结石. 结石均位于胆总管, 大小1.6-2.7 cm, 平均1.9 cm. 结石单发17例, 多发7例.

1.2 方法 纤维胆道镜: Olympus XP-20型, 配备取石网篮; 液电碎石仪: 四川康迪医疗设备公司TNS-2003T型体内冲击波胆道液电碎石仪, 液电碎石电极为可弯曲金属导丝式电极.

手术方法: 全身麻醉, 患者取头高足低位, 右侧抬高15-20度. 常规四孔法放置Trocar. 胆囊动脉夹闭后离断, 胆囊管于近胆囊壶腹部金属钛夹夹毕或丝线结扎. 紧贴金属夹下方胆囊管两侧分别缝一牵引线, 从剑突下及肋缘下Trocar引出. 于缝线处沿胆囊管横轴切开胆囊管壁约1/3-1/2, 再沿胆囊管长轴稍作延长切开, 于剑突下戳孔处置入胆道镜, 行经胆囊管胆总管探查. 经胆道镜治疗孔插入液电碎石电极至结石中央部, 根据结石大小和硬度调节输出功率, 一般约0.6 mA, 若结石质地较硬可改为1.0 mA, 均采用连续激发模式. 用取石网篮取出碎石或推入十二指肠. 取尽结石后, 再次胆道镜检查有无残石. 根据情况采用直接夹闭或微荞线缝扎关闭胆囊管, 患者均温氏孔置管引流.

2 结果

24例手术均获成功. 手术时间75-210 min, 平均105 min. 住院时间3-7 d, 平均4.7 d. 无胆漏、术后黄疸、切口感染等并发症, 1例(4.2%)发生胆管残余结石, 未经处理后自行排出, 复查无残余结石.

3 讨论

LTCBDE近年来逐渐开展增多, 其具有的优势为: 避免了留置T管的并发症; 保护了Oddis括约肌功能; 降低了住院费用[3]. 大样本中心研究显示[4], 76.3%的患者仅需行LTCBDE就可有效治疗胆囊结石合并胆管结石, 国内外临床资料表明该技术取石成功率可分别达96.29%[5]及85%[6], 术后长期随访(168 mo)并发症发生率5.1%[7]. 甚至部分学者认为其应作为治疗胆囊结石合并胆管结石的首选方案[8].

虽然LTCBDE具有如上诸多优点, 但其应用仍有一定限制. 其中结石直径是限制开展LTCBDE的重要因素之一. 为解决这一问题, 临床工作中引入了碎石设备. 目前碎石辅助设备主要包括液电碎石、双频双脉冲激光(U-100)及钬激光等. 相比较于激光碎石而言, 液电碎石仪释放的为低量高频脉冲放电系统的高能震波, 可在结石表面产生微爆效应, 使结石崩解. 其工作能量一般为0.6-1.0 mA, 远低于U-100的1.2 W[9], 而钬激光则可能诱发胆管穿孔、胆漏等并发症[10], 因此液电碎石应用于胆道取石, 安全性较高. 本研究中, 24例结石>1.6 cm的患者均碎石并取石成功, 无1例出现胆道出血, 胆道穿孔等并发症.

除结石大小这一影响因素外, 合理掌握适应症仍是LTCBDE成功的先决条件. 总结其适应症为: (1)胆囊管内径≥3 mm. 90%以上的胆囊结石合并胆总管结石为继发性胆管结石[11], 因此, 胆囊管均有不同程度扩张. Olympus XP-20为超细

■研发前沿
如何提高LTCBDE手术成功率及取石率, 是目前研究热点与研究方向之一. 目前碎石辅助设备主要包括液电碎石、双频双脉冲激光(U-100)及钬激光等. 相比较于激光碎石而言, 液电碎石仪释放的为低量高频脉冲放电系统的高能震波, 可在结石表面产生微爆效应, 使结石崩解. 其工作能量较低, 术后并发症发生率低, 在胆道外科应用较广泛.

■相关报道
郭伟等在丰富手术例数基础上总结了LTCBDE的手术适应症及手术技巧. 王舟翀等检索了12年相关文献, 对LTCBDE适应症, 手术技术及并发症进行了总结.

■创新盘点
本研究创新点在于将液电碎石与经胆囊管途径胆总管探查术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE)相结合, 从而在一定程度上解决了制约LTCBDE开展的重要因素之一-结石直径. 既往有在LTCBDE中应用双频双脉冲激光(U-100)及钬激光的临床报道, 但液电碎石相较前两者而言, 发生胆道出血及胆瘘的几率降低. 同时, 本文总结了手术要点, 取石碎石的注意事项等问题.

胆道镜(工作外径3.7 mm), 一般情况下胆囊管内径≥3 mm就可顺利进入; (2)单纯肝外胆管结石. 肝总管结石可通过术中挤压等方法使其降入胆总管再行处理, 而肝内胆管结石治疗较复杂, 不易通过胆囊管取石一次治愈, 故一般作为该术式的禁忌症, 但国外资料显示, 肝内胆管结石行LTCBDE取石率仍可达40%[12]; (3)无急性胆管炎、胰腺炎等并发症, 否则会增加并发症发生风险[13]. 有研究认为, 结石数目也是影响手术成功率因素之一, 结石数>3个可增加术后复发风险[14].

符合适应症的情况下, 手术可获得较高的成功率. 归纳手术要点为: (1)胆囊游离后, 暂不切除, 紧贴胆囊壶腹金属夹夹闭, 弹簧钳向右上方牵拉胆囊. 胆囊可用作牵引, 又防止了胆囊内结石及胆汁流出而污染腹腔; (2)金属夹下方胆囊管两侧分别缝一牵引线, 从剑突下及肋缘下Trocar引出. 于缝线处沿胆囊管横轴切开胆囊管壁约1/3-1/2, 再沿纵轴视胆囊管长度向胆管延长切口3-6 mm. 这一切口位置的选择既切开了大多数Heist瓣, 又避免了切开胆总管. 而缝线和胆囊形成的两侧及后上方牵拉, 可保持胆囊管切口局部张力, 加上胆囊管长轴的切口, 可使胆道镜入口形成三角形, 利于胆道镜进入. 部分学者采用胆囊管汇入部微切开扩大开口[15], 由于该切口一般2-3 mm, 可能会未切开胆总管或胆囊管切口与胆总管切口不连续, 造成进镜困难; 同时, 缝合有时会遗漏胆管壁, 导致术后胆漏; (3)液电碎石仪通过水的高压脉冲波而作用于结石, 故术中应使胆管内充满生理盐水; 避免将电极头置于结石与管壁间激发而损伤胆管壁, 应尽量将电极压于结石中央, 采用“隧道式”挖掘, 从中心将结石击破; 送水应缓慢, 以免水流冲洗而致结石漂移; (4)取石结束, 应一边退镜一边观察, 以免部分小结石漂浮于镜周而遗漏或残留于螺旋瓣. 本组中1例发生残石并自行排出, 分析与碎石后结石过小有关; (5)胆管下端通过取石网篮即可, 不必强行通过胆道镜, 以避免术后Oddis括约肌水肿, 胆汁排泄障碍; 若术中发现胆管下端狭窄, 需及时判断是否中转开腹.

如遇碎石困难, 如含钙量较高的混合性结石, 可适当加大碎石机功率, 调至1 mA, 将电极头紧压于结石上方并延长碎石时间, 采用连续激发状态直至结石裂开, 多可成功碎石. 若胆管壁出血, 可暂停碎石, 将胆道镜置于出血处压迫或等待水流冲洗数2-5 min, 一般出血可停止. 碎石完毕, 取石时应根据结石类型及大小处理. 胆色素结石一般质地疏松, 取石时可反复扩开取石网篮, 搅碎较大碎块后部分细小残渣可经胆管下端排出; 而单纯胆固醇结石质地较脆, 取石时网篮不可收缩过紧, 以免拉碎结石, 再次掉入胆管. 结石碎块拉至胆囊管口若出石困难, 不可强行拉出而撕裂胆囊管, 应将结石返回胆管, 再次碎石后取石. 部分患者Oddis括约肌开口较大, 可顺利通过胆道镜, 此时可将较大结石碎块直接推入肠腔, 减少取石.

■应用要点
液电碎石联合胆道镜行LTCBDE既保持了胆管的完成性, 降低了手术并发症, 又可较好处理胆管较大结石, 减少残石, 从而拓宽了该术式的适应症, 是处理胆管结石的较好选择之一. 但本研究中要求胆囊管内径≥3 mm, 在一定程度上又限制该术式开展.

液电碎石联合胆道镜行LTCBDE既保持了胆管的完成性, 降低了手术并发症, 又可较好处理胆管较大结石, 减少残石, 从而拓宽了该术式的适应症, 是处理胆管结石的较好选择之一. 但本研究中要求胆囊管内径≥3 mm, 在一定程度上又限制了该术式的开展. 针对这一问题, 术中若胆囊管炎症增厚, 可采用球囊扩张[16], 若胆囊管纤细脆弱, 则可采用胆囊管汇入部微切开的方法. 但本组病例尚缺少相关研究, 同时本组病例数较少, 仍需进一步扩大样本, 就手术适应症及手术技巧等问题深入研究, 以更好评估该术式价值. 还应看到的是, 腔镜下取石、碎石对技术及设备要求较高, 需要一定的病例及经验积累, 推广仍需学习探讨.

4 参考文献

1 Chiarugi M, Galatioto C, Decanini L, Puglisi A, Lippolis P, Bagnato C, Panicucci S, Pelosini M, Iacconi P, Seccia M. Laparoscopic transcystic exploration for single-stage management of common duct stones and acute cholecystitis. *Surg Endosc* 2012; 26: 124-129 [PMID: 21792715 DOI: 10.1007/s00464-011-1837-4]
2 Santo MA, Domene CE, Riccioppo D, Barreira L, Takeda FR, Pinotti HW. Common bile duct stones: analysis of the videolaparoscopic surgical treatment. *Arq Gastroenterol* 2012; 49: 41-51 [PMID: 22481685 DOI: 10.1590/S0004-28032012000100008]
3 韩威, 蒋伟, 金岚, 李建设, 张忠涛. 两种微创治疗方案治疗继发性胆管结石的临床对照研究. 中华外科杂志 2009; 47: 353-355
4 Chiappetta-Porras LT, Nápoli ED, Canullán CM, Roff HE, Quesada BM, Hernández NA, Petracchi JE, Oría AS. [Single-stage management of common duct stones by video-assisted laparoscopy. Analysis of 10 years' experience]. *Cir Esp* 2007; 82: 231-234 [PMID: 17942049]
5 王舟翀, 罗浩. 腹腔镜下经胆囊管途径胆总管探查手术1186例文献分析. 中国普通外科杂志 2012; 21: 941-945
6 Strömberg C, Nilsson M, Leijonmarck CE. Stone clearance and risk factors for failure in laparoscopic transcystic exploration of the common bile duct. *Surg Endosc* 2008; 22: 1194-1199 [PMID: 18363068 DOI: 10.1007/s00464-007-9448-9]
7 Paganini AM, Guerrieri M, Sarnari J, De Sanctis A,

D'Ambrosio G, Lezoche G, Perretta S, Lezoche E. Thirteen years' experience with laparoscopic transcystic common bile duct exploration for stones. Effectiveness and long-term results. *Surg Endosc* 2007; 21: 34-40 [PMID: 17111284 DOI: 10.1007/s00464-005-0286-3]

8 Hanif F, Ahmed Z, Samie MA, Nassar AH. Laparoscopic transcystic bile duct exploration: the treatment of first choice for common bile duct stones. *Surg Endosc* 2010; 24: 1552-1556 [PMID: 20044767 DOI: 10.1007/s00464-009-0809-4]

9 Liu F, Jin ZD, Zou DW, Li ZS. Efficacy and safety of endoscopic biliary lithotripsy using FREDDY laser with a radiopaque mark under fluoroscopic guidance. *Endoscopy* 2011; 43: 918-921 [PMID: 21833900 DOI: 10.1055/s-0030-1256555]

10 Sauer BG, Cerefice M, Swartz DC, Gaidhane M, Jain A, Haider S, Kahaleh M. Safety and efficacy of laser lithotripsy for complicated biliary stones using direct choledochoscopy. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 253-256 [PMID: 22903184 DOI: 10.1007/s10620-012-2359-1]

11 张志强, 肖占军. 术中经胆囊管胆道镜检查214例体会. 腹部外科 2011; 24: 313

12 Gough V, Stephens N, Ahmed Z, Nassar AH. Intrahepatic choledochoscopy during trans-cystic common bile duct exploration; technique, feasibility and value. *Surg Endosc* 2012; 26: 3190-3194 [PMID: 22580881 DOI: 10.1007/s00464-012-2315-3]

13 雷衡阳, 马小明, 郭龙. 胆囊切除术中经胆囊管切开行胆总管取石26例. 中国普通外科杂志 2007; 16: 706-707

14 Bove A, Bongarzoni G, Palone G, Di Renzo RM, Calisesi EM, Corradetti L, Di Nicola M, Corbellini L. Why is there recurrence after transcystic laparoscopic bile duct clearance? Risk factor analysis. *Surg Endosc* 2009; 23: 1470-1475 [PMID: 19263129 DOI: 10.1007/s00464-009-0377-7]

15 陈剑, 谢东辉, 宋京海, 贺修文, 常志刚, 高戈, 韦军民. 胆囊管汇入部微切开的胆道探查. 山东大学学报(医学版) 2011; 49: 163-164

16 郭伟, 韩威, 金岚, 刘军, 赵晓牧, 李建设, 张忠涛, 王宇. 腹腔镜联合术中经胆囊管胆道镜辅助胆管探查取石术(附546例报告). 外科理论与实践 2011; 16: 359-361

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本文有一定价值, 但经验不多. 虽然临床有胆道镜的碎石处理, 与以往体外碎石有很大区别, 但腹腔镜采用碎石的经验尚需积累, 推广意义待考虑.

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 3008-3012
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

超声内镜治疗胆道远端炎性狭窄临床分析165例

郝 芳, 秦鸣放, 李 宁

■背景资料
胆管远端炎性狭窄的诊断与治疗仍是目前临床上的难题, 尽管有各种诊疗方法的介入治疗, 但其效果仍不理想, 病因的不确定性导致缺乏相应的临床指南, 从而延误病情.

郝芳, 天津医科大学 天津市 300070
秦鸣放, 李宁, 天津市南开医院微创外科中心 天津市 300100
郝芳, 主要从事腹腔镜内镜的研究.
作者贡献分布: 资料收集、总结、数据分析及论文撰写由郝芳完成; 超声内镜操作由秦鸣放与李宁完成; 秦鸣放负责全文理论指导.
通讯作者: 郝芳, 300070, 天津市气象台路22号, 天津医科大学.
xwp0122@126.com
电话: 022-27435268
收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-11
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-08

Endoscopic ultrasonography for inflammatory distal biliary stricture: Analysis of 165 cases

Fang Hao, Ming-Fang Qin, Ning Li

Fang Hao, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Ming-Fang Qin, Ning Li, Center for Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Fang Hao, Tianjin Medical University; Center for Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300070, China. xwp0122@126.com
Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-11
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-08

Abstract
AIM: To explore the value of endoscopic ultrasonography (EUS) in the treatment of inflammatory distal biliary stricture.

METHODS: The clinical data for 165 patients with inflammatory distal biliary stricture who underwent EUS from March 2010 to March 2013 were retrospectively analyzed.

RESULTS: A total of 256 EUS treatments were performed in 165 patients. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and EUS were selected based on the clinical condition. Endoscopic nasobiliary drainage and/or endoscopic retrograde biliary drainage were separately used. Clinical symptoms were relieved and hepatic function was improved in all patients. Bile duct pressure was reduced. The success rate of ERCP was 98.8%. The rate of complications was 4.84% (8/165). Three patients developed post-ERCP hyperamylasemia, 3 patients developed mild cholangeitis, and 2 patients developed acute pancreatitis. During a follow-up period of 1-37 mo (average, 17.8 mo ± 5.3 mo), no stricture recurrence was found. Stents were removed in 121 cases, but stent replacement was required in another 29 cases.

CONCLUSION: Endoscopic ultrasonography is a safe, effective and mini-invasive method for inflammatory distal biliary stricture.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Inflammatory distal biliary stricture; Biliary plastic stent

Hao F, Qin MF, Li N. Endoscopic ultrasonography for inflammatory distal biliary stricture: Analysis of 165 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3008-3012
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3008.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3008

摘要
目的: 探讨超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)在胆道远端炎性狭窄中的治疗价值.

方法: 回顾性分析我中心2010-03/2013-03 EUS在165例胆道远端炎性狭窄患者中的治疗效果.

结果: 165例患者行EUS及十二指肠镜检查及治疗共256次, 分别行鼻胆管引流和/或胆道塑料支架置入术, 治疗后患者临床症状均见缓解, 复查肝功能明显改善, 胆道压力较术前均见减轻. 内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)操作成功率98.8%, 术后高淀粉酶血症3例, 轻度胆管炎3例, 急性胰腺炎2例, 并发症发生率4.84%(8/165), 随访1-37 mo(平均17.8 mo±5.3 mo), 狭窄无复发, 121例患者拔除支架, 27例患者仍需定期更换支架.

结论: EUS治疗胆道远段炎性狭窄安全、微创、有效.

■同行评议者
徐辉雄, 教授, 主任医师, 博士生导师, 同济大学附属第十人民医院暨上海市第十人民医院超声科

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声内镜; 胆道远段炎性狭窄; 胆道塑料支架

核心提示: 应用超声内镜(endoscopic ultrasonography)诊断治疗胆管远端狭窄过程中, 可以直接判断胆管壁厚度, 胆道内的压力情况, 对不同情况针对性的制订相关内镜治疗方案, 并对是否拔出支架起到指导作用.

郝芳, 秦鸣放, 李宁. 超声内镜治疗胆道远端炎性狭窄临床分析165例. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3008-3012 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3008.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3008

0 引言

胆道远段炎性狭窄是因胆管远段组织结构受损后, 增生的肉芽组织经改建成熟后形成纤维结缔组织, 进而致胆道管腔炎性狭窄的一类疾病. 临床主要表现为反复出现的腹痛、恶心呕吐等消化系症状, 或发热、黄疸等胆管炎表现, 部分患者可无临床症状. 本文所研究的胆管远段炎性狭窄主要与胆管结石、急慢性胰腺炎所致受压性狭窄, 或者奥狄氏括约肌所致功能紊乱性狭窄有关. 传统主要考虑外科手术治疗, 而随着内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)及超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)技术的发展, 使内镜下治疗成为一个重要选择, 本文主要回顾性分析2010-03/2013-03于天津市南开医院微创外科中心治疗的165例胆道远段炎性狭窄患者, 分析报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组165例患者, 男73例, 女92例, 平均年龄57.2岁(23-81岁), 其中69例因上腹部胀痛就诊; 61例因黄疸就诊; 24例因急性胆管炎就诊; 11例体检发现, 病程3 d-16年. 所有患者内镜治疗前经B超检查, 计算机断层X线扫描术(computed tomography, CT)、磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)或术中EUS、腔内超声(intraductal ultrasonography, IDUS)提示胆管远段狭窄, 狭窄段长度>3 mm, 直径<2 mm, 壁厚>0.3 mm, 实验室检查提示不同程度胆红素、谷氨酰转移酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkline phosphatase, AKP)升高. 除外原发性硬化性胆管炎所致胆道远段狭窄患者.

1.2 方法

1.2.1 内镜检查及治疗: 常规行ERCP, 插镜过幽门进入十二指肠降段寻找乳头, 常规行内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincteropapillotomy, EST), 插管成功同时行胆管IDUS检查, 将微型超声探头插入胆管内自近端向远端多次扫查狭窄部位, 确诊胆管远段良性狭窄[1]并伴炎性改变: 管壁3层结构基本完整, 回声均匀, 边缘光滑, 或者呈高回声全层均匀性增厚, 未见明显低回声肿块及血管侵犯征象. 插管困难患者, 在EUS指导下插管并扫查狭窄部位, 并行胆道测压检查, 对有胆总管结石者行内镜下取石术, 结石过大过硬者(>1.0 cm)可行网篮碎石后取石, 对胆总管狭窄部位行球囊扩张术, 一般在X线监视下, 应用带压力表的注射器向球囊导管内注水或造影剂, 使压力达到8-10 Pa, 保持3-5 min, 间隔1 min后重复扩张可反复2-3次, 后行鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)和/或胆道塑料支架置入术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD), 一般根据患者胆管远端狭窄程度分别放置5、7、10 Fr胆道支架. 所有操作均在患者及家属知情同意后进行.

1.2.2 术后处理: 术后禁食水24 h, 监测血尿淀粉酶情况, 观察生命指征和腹部体征的变化, 对术前腹痛、发热、黄疸等症状改善情况进行评估, 记录内镜后1 wk肝功能变化[血清胆红素、谷氨酰转移酶(glutamyl transferase, ALT)、GGT、AKP], 进行统计学分析. 随访1-37 mo(平均17.8 mo±5.3 mo), 期间嘱患者口服优思弗(1粒/d)治疗, 观察症状改善情况, 术后3 mo复查IDUS+ERCP, 与术前胆管壁厚度、胆道测压结果进行比较, 并对发现支架堵塞、移位者及时更换支架.

统计学处理 应用SPSS11.0软件进行数据, 计量资料用mean±SD表示, 两组均数比较用*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

165例胆道远段炎性狭窄患者经EUS检查均提示胆管远段狭窄段长度>3 mm, 直径<2 mm, 壁厚>0.3 mm, 行胆道测压提示胆道内压力升高(>20 mmHg). 其中合并胆总管结石者59例, 合并慢性胰腺炎者28例, 合并急性胰腺炎者21例, Oddi括约肌狭窄者57例. 共行ERCP+IDUS检查256次, 平均1.6次/例. 其中22例患者ERCP插管困难, 经EUS引导下插管成功后行IDUS+ERCP检查及治

■研发前沿
胆管远端炎性狭窄传统多依赖手术治疗, 但因手术复杂, 创伤较大, 并发症多, 效果不十分理想. 随着超声内镜诊疗技术的发展, 极大地提高了诊断治疗成功率.

■相关报道
Kondo等报道超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对肝外胆管结石的敏感性和特异性可分别高达91%、100%, 但并未将EUS应用于治疗当中.

表 1 患者内镜治疗前后血清胆红素、谷氨酰转移酶、谷氨酰转移酶、碱性磷酸酶变化情况 (n = 163)

	术前	术后7 d
总胆红素(mmol/L)	63.2 ± 37.1	27.9 ± 23.3[a]
直接胆红素(mmol/L)	35.8 ± 28.9	18.3 ± 15.3[a]
谷丙转氨酶(U/L)	86.3 ± 43.2	52.7 ± 19.1[a]
谷氨酰转移酶(U/L)	76.2 ± 31.3	40.9 ± 21.5[a]
碱性磷酸酶(U/L)	712.5 ± 47.1	432.3 ± 27.2[a]

[a]P<0.05 *vs* 术前.

表 2 患者内镜治疗前后胆道测压及胆管壁厚度变化情况 (n = 159)

	术前	术后3 mo
胆道压力(mmHg)	65.2 ± 11.3	24.9 ± 12.2[a]
胆管壁厚度(mm)	0.3 ± 0.23	0.2 ± 0.15[a]

[a]P<0.05 *vs* 术前. 排除术后3 mo失访4例患者.

疗, 2例患者反复插管困难, 治疗失败, 操作成功率98.8%(163/165).

首次入院期间, 165例患者均行内镜检查, 除外2例插管困难者, 其余163例患者全部行ERCP+IDUS+EST检查及治疗, 其中22例行EUS引导下ERCP+IDUS+EST检查及治疗. 59例结石致炎性狭窄患者中39例行取石+ENBD治疗, 9例多次行取石+ENBD术, 11例因取石困难行ENBD+ERBD治疗. 28例慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)患者中11例行ENBD+ERBD治疗, 18例行ERBD治疗. 21例急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者中11例行ENBD+ERBD治疗, 8例行ERBD治疗, 2例行ENBD治疗, 57例Oddi括约肌狭窄患者均行EST治疗, 其中37例行ENBD治疗. 共行EUS检查及治疗256次. 均未行细胞学刷检及病理检查.

术后高淀粉酶血症3例, 急性胰腺炎2例, 轻度胆管炎3例, 均经非手术治疗后在24-72 h内恢复正常, 并发症发生率为4.84%(8/165), 其中无出血、穿孔等内镜相关并发症发生, 无死亡报道.

随访1-37 mo(平均17.8 mo±5.3 mo), 除29例患者随访期内失访, 其余患者临床症状均缓解, 内镜治疗后1 wk, 复查肝功能可见好转(表1). 3 mo后除外4例失访患者, 余复查胆道压力有下降趋势, 复查胆管壁厚度明显改善(表2). 随访期间共79例患者因支架堵塞、移位需更换支架, 至随访期结束121例患者经IDUS检查提示狭窄消除后予拔除支架.

3 讨论

胆道远段炎性狭窄是外科常见疾病, 主要因胆道远段炎性损伤后纤维结缔组织增生致管腔狭窄, 而出现反复发作的腹痛、发热、黄疸等相关临床表现的一类疾病. 传统多依赖外科手术治疗, 但手术方式较复杂, 术后并发症发生率高, 疗效不十分理想[2]. 近年来随着内镜技术的发展, 为临床治疗胆管远端炎性狭窄、解除胆管梗阻、通常引流胆汁、缓解临床症状提供了一种新思路. 同时EUS对部分插管困难患者在内镜治疗时可以起到一定指导作用, 提高临床成功率.

对胆管狭窄诊断常采用B超、CT、MRCP、ERCP等相关检查, 虽然可以比较明确的定位胆管狭窄的部位和程度, 但准确性并不高[3], 而将EUS联合应用于诊断过程中, 可以大大提高临床诊断的敏感性和特异性[4], 确定胆管远段炎性狭窄的原因、部位、程度以及狭窄病灶周围毗邻组织的情况, 是目前诊断胆道狭窄众多检查方法中最有价值的方法. 文献表明EUS对肝外胆管结石的敏感性和特异性可分别高达91%、100%[5].

引发良性胆道狭窄的病因[6]主要包括受压性炎性狭窄(如胆管结石、急慢性胰腺炎)、损伤性狭窄(胆囊切除等胆道手术)及功能紊乱性狭窄(如Oddi括约肌狭窄)等. 本文中涉及的胆道远段炎性狭窄主要包括奥狄氏括约肌狭窄, 胆管结石及急慢性胰腺炎所致狭窄. 胆管结石所致急性胆管炎者, 胆管黏膜存在不同程度充血、水肿、溃疡甚至出血, 结石刺激使胆管壁黏膜正常结构破坏, 致使“炎性胆栓”附着[7], 造成胆管不同程度的炎性狭窄. AP、CP合并胆道狭窄以肝外胆管胰腺段狭窄较为多见, 可能与胰头部炎症纤维化压迫及浸润经胰腺后方穿行的胆管壁而造成胆管狭窄有关[8], 而Oddi括约肌狭窄者[9], 胆道内压力明显较正常增高, 本组研究中均>40 mmHg, 造成胆道排空障碍, 出现相关临床症状.

治疗时先行EST术, 可有效解决括约肌狭窄造成的胆总管远端狭窄, 改善患者肝功能[10], 尤其适用于Oddi括约肌狭窄患者, EST联合ENBD外引流可有效缓解症状. 利用胆道压力[11]的情况, 可以指导内镜治疗下十二指肠乳头括约肌

切开范围, 大、中、小切开, 避免胆管压力大幅度下降, 甚至于十二指肠压力差为零时, 十二指肠液逆流入胆管继发的胆道感染[12], 有效的降低内镜后胰腺炎及高淀粉酶血症的风险. 本组163例患者均行EST术, 主要解决胆管括约肌狭窄, 为下一步治疗打下基础. 根据引发狭窄的原因决定内外引流治疗及治疗时间, 对胆道炎性狭窄患者, 单纯扩张狭窄容易复发, 需长期放置ERBD内引流巩固疗效, 其后每3 mo行EUS复查支架情况, 观察支架位置及所在位置胆管壁厚度、胆管内压力变化, 以防支架滑脱后形成瘢痕造成再狭窄. 文中涉及的急慢性胰腺炎引发胆管远段狭窄者, 行胆管内外引流即可有效缓解腹痛症状, 并未行胰管括约肌切开及胰管支架置入等治疗.当然,对于胰管狭窄患者行胰管支架置入术, 可以有效缓解胰管梗阻[13,14].

目前, 对于胆道塑料支架的留置时间仍没有明确规定, 有报道支架留置时间过长可能发生阻塞性黄疸等症状[15], 一般建议每2-3月复查B超、CT, 根据症状及胆管狭窄的改善情况决定移除或更换支架. 我们认为狭窄解除标准可暂定为: 胆管原狭窄段管径明显扩张, 直径打近端胆管直径80%以上; 内镜下应用8-10 mm球囊可顺利通过狭窄段或造影剂在5 min内顺畅排入十二指肠; 支架拔出后肝功能恢复正常; 临床症状未复发达3 mo以上. 狭窄复发标准: 支架拔出3 mo后再次出现相关临床症状, 并经影像学等相关检查证实胆道狭窄存在. 本文中随访结束时仍有27例患者需定期更换支架.

在内镜治疗方面, 首选十二指肠镜联合腔内超声检查及治疗, 163例患者全部行腔内超声检查, 对于部分插管困难患者, 可采用EUS指导下胆管插管, 进而行腔内超声, 明确狭窄段长度、狭窄部位, 尤其注意炎性狭窄致狭窄段壁厚度的变化. 相对传统内镜治疗而言, 手术操作时间相对延长, 但准确性明显提高. 其临床诊断治疗成功率均较高, 可以有效缓解患者腹痛、黄疸等症状, 改善肝功能情况, 同时, 术后3 mo对部分拔除支架患者再次复查EUS检查可发现胆大压力、胆管壁厚度明显较前改善, 临床成功率有大幅度提高. IDUS是将微超声探头置入胆管胰管内扫查以诊断胆胰管疾病的一种新技术[16], 可显示正常胆管壁由内而外呈高-低-高回声的3层结构, 从而鉴别胆管狭窄的良恶性, 明确胆管本身疾病抑或胆管外疾病并对胆管狭窄的程度作出判断. ERCP术中结合IDUS对胆管狭窄诊断的准确性及敏感性均高于EUS, 能更好地显示胆管周围组织与病变的关系, 但操作有一定难度, 并且仅能显示管壁本身及管腔附近病变, 显示病变与胆管、胰腺周围结构的关系则较为困难, EUS可以弥补此方面缺陷, 尤其对于反复插管困难的患者, 应用EUS可以更好地明确胆管胰腺周围病变, 指导插管, 避免内镜后胰腺炎发生, 减少术后并发症.

本组165例患者共行ERCP治疗256次, 术后高淀粉酶血症3例, 急性胰腺炎2例, 轻度胆管炎3例, 均经非手术治疗后在72 h内恢复正常, 无出血、穿孔、急性胰腺炎等内镜相关并发症发生, 亦无死亡病例, 并发症发生率4.84%(8/165).

总之, EUS治疗胆道远段炎性狭窄创伤小, 术后并发症少, 可重复操作, 是一种微创、安全、有效的办法, 集诊断与治疗于一身, 提高临床诊断准确与精确性, 目前仍需大样本、随机对照研究.

■创新盘点

对胆管远端狭窄患者治疗前行EUS检查观察胆管壁厚度变化, 并行胆道测压检查, 术后3 mo复查可见指标明显改善.

4 参考文献

1 Tamada K, Ueno N, Tomiyama T, Oohashi A, Wada S, Nishizono T, Tano S, Aizawa T, Ido K, Kimura K. Characterization of biliary strictures using intraductal ultrasonography: comparison with percutaneous cholangioscopic biopsy. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 341-349 [PMID: 9609424 DOI: 10.1016/S0016-5107(98)70216-0]

2 Tocchi A, Mazzoni G, Liotta G, Costa G, Lepre L, Miccini M, De Masi E, Lamazza MA, Fiori E. Management of benign biliary strictures: biliary enteric anastomosis vs endoscopic stenting. *Arch Surg* 2000; 135: 153-157 [PMID: 10668872]

3 Tantau M, Pop T, Badea R, Spirchez Z, Moşteanu O, Tantau A. Intraductal ultrasonography for the assessment of preoperative biliary and pancreatic strictures. *J Gastrointestin Liver Dis* 2008; 17: 217-222 [PMID: 18568147]

4 Meister T, Heinzow HS, Woestmeyer C, Lenz P, Menzel J, Kucharzik T, Domschke W, Domagk D. Intraductal ultrasound substantiates diagnostics of bile duct strictures of uncertain etiology. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 874-881 [PMID: 23430958]

5 Kondo S, Isayama H, Akahane M, Toda N, Sasahira N, Nakai Y, Yamamoto N, Hirano K, Komatsu Y, Tada M, Yoshida H, Kawabe T, Ohtomo K, Omata M. Detection of common bile duct stones: comparison between endoscopic ultrasonography, magnetic resonance cholangiography, and helical-computed-tomographic cholangiography. *Eur J Radiol* 2005; 54: 271-275 [PMID: 15837409]

6 Menzel J, Poremba C, Dietl KH, Domschke W. Preoperative diagnosis of bile duct strictures--comparison of intraductal ultrasonography with conventional endosonography. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 77-82 [PMID: 10672839]

7 Ieidler J. Squel of cholecystectomy. *Gastroentrel*

■同行评价

本文总结EUS治疗胆管远端狭窄的资料经验, 有一定临床参考价值.

1997; 35: 139

8 Catalano MF, Linder JD, George S, Alcocer E, Geenen JE. Treatment of symptomatic distal common bile duct stenosis secondary to chronic pancreatitis: comparison of single vs. multiple simultaneous stents. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 945-952 [PMID: 15605010]

9 Behar J, Corazziari E, Guelrud M, Hogan W, Sherman S, Toouli J. Functional gallbladder and sphincter of oddi disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1498-1509 [PMID: 16678563 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.063]

10 Ewald N, Marzeion AM, Bretzel RG, Kloer HU, Hardt PD. Endoscopic sphincterotomy in patients with stenosis of ampulla of Vater: three-year follow-up of exocrine pancreatic function and clinical symptoms. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 901-905 [PMID: 17352020]

11 Chen YK, Foliente RL, Santoro MJ, Walter MH, Collen MJ. Endoscopic sphincterotomy-induced pancreatitis: increased risk associated with nondilated bile ducts and sphincter of Oddi dysfunction. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 327-333 [PMID: 8122639]

12 Kelly E, Williams JD, Organ CH. A history of the dissolution of retained choledocholithiasis. *Am J Surg* 2000; 180: 86-98 [PMID: 11044519 DOI: 10.1016/S0002-9610(00)00428-1]

13 Vitale GC, Cothron K, Vitale EA, Rangnekar N, Zavaleta CM, Larson GM, Binford J, Hammond B. Role of pancreatic duct stenting in the treatment of chronic pancreatitis. *Surg Endosc* 2004; 18: 1431-1434 [PMID: 15791364 DOI: 10.1007/s00464-003-8933-z]

14 Vitale GC, Reed DN Jr, Nguyen CT, Lawhon JC, Larson GM. Endoscopic treatment of distal bile duct stricture from chronic pancreatitis. *Surg Endosc* 2000; 14: 227-231 [DOI: 10.1007/s004640030046]

15 Bergman JJ, Burgemeister L, Bruno MJ, Rauws EA, Gouma DJ, Tytgat GN, Huibregtse K. Long-term follow-up after biliary stent placement for postoperative bile duct stenosis. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 154-161 [PMID: 11474383 DOI: 10.1067/mge.2001.116455]

16 Stavropoulos S, Larghi A, Verna E, Battezzati P, Stevens P. Intraductal ultrasound for the evaluation of patients with biliary strictures and no abdominal mass on computed tomography. *Endoscopy* 2005; 37: 715-721 [PMID: 16032489 DOI: 10.1055/s-2005-870132]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 3013-3018
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

Hippo通路中Yes相关蛋白在胰腺癌中的表达及意义

李晓宇, 田字彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武 军, 赵文君, 李 丹

李晓宇, 田字彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003
李晓宇, 主治医师, 主要从事胰腺癌发病机制的研究.
作者贡献分布: 李晓宇与田字彬对此文所作贡献均等; 此课题由李晓宇、田字彬及张翠萍共同设计; 研究过程由李晓宇、单信芝、刘晓英、赵文君及李丹操作完成; 研究所用工具由田字彬、张翠萍及李新华提供; 数据分析由李晓宇、徐永红、李新华及武军操作完成; 论文写作由李晓宇、单信芝、张翠萍及田字彬完成.
通讯作者: 田字彬, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科. tianzb@qdumh.qd.sd.cn
电话: 0532-82911302
收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-09
接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-08

Significance of expression of Yes-associated protein in pancreatic cancer

Xiao-Yu Li, Zi-Bin Tian, Xin-Zhi Shan, Cui-Ping Zhang, Xiao-Ying Liu, Yong-Hong Xu, Xin-Hua Li, Jun Wu, Wen-Jun Zhao, Dan Li

Xiao-Yu Li, Zi-Bin Tian, Xin-Zhi Shan, Cui-Ping Zhang, Xiao-Ying Liu, Yong-Hong Xu, Xin-Hua Li, Jun Wu, Wen-Jun Zhao, Dan Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Correspondence to: Zi-Bin Tian, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College,16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdumh.qd.sd.cn
Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-09
Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To detect the expression of Yes-associated protein (YAP), a component of the Hippo signaling pathway, in human pancreatic cancer, and to explore the correlation between the expression of YAP and clinicopathologic features of pancreatic cancer.

METHODS: Immunohistochemistry was used to investigate the protein expression of YAP in 45 pancreatic cancer specimens and 15 normal pancreatic tissue specimens. The mRNA expression of YAP was detected by RT-PCR.

RESULTS: YAP was mainly expressed in pancreatic ductal epithelial cells. The positive rate of YAP expression was significantly higher in pancreatic cancer than in normal pancreatic tissue (93.33% *vs* 26.67%, $P < 0.05$). The mRNA expression of YAP in pancreatic cancer was significantly higher than that in normal pancreatic tissue (0.3682 ± 0.0783 *vs* 0.0394 ± 0.0091, $P < 0.05$). The expression of YAP was associated with degree of differentiation of pancreatic cancer but had no correlation with age, lymph node metastasis, clinical stage, smoking, drinking, or diabetes mellitus.

CONCLUSION: The expression of YAP may play an important role in the development of pancreatic cancer, and YAP may be a new target for therapy of pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: YAP; Hippo signaling pathway; Pancreatic cancer; Ductal epithelial cells

Li XY, Tian ZB, Shan XZ, Zhang CP, Liu XY, Xu YH, Li XH, Wu J, Zhao WJ, Li D. Significance of expression of Yes-associated protein in pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3013-3018 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3013.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3013

摘要

目的: 检测Hippo-YAP信号通路中主要效应蛋白Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其表达强度与临床病理因素之间的关系及意义.

方法: 应用免疫组织化学EnVision法测定Hippo信号通路中YAP蛋白在45例胰腺癌及15例正常胰腺组织中的表达, 应用RT-PCR方法检测YAP mRNA在45例胰腺癌及15例正常胰腺组织中的表达.

结果: 胰腺癌组织中YAP蛋白主要表达于胰腺导管上皮细胞, 45例胰腺癌组织中YAP的阳性表达率为93.33%(42/45), 15例正常胰腺组织中YAP阳性表达率为26.67%(4/15), 两组间的表达差异具有统计学意义($\chi^2 = 27.95$, $P<0.01$).

■背景资料
胰腺癌的致病因素包括长期大量吸烟、饮酒、饮咖啡者, 糖尿病患者, 慢性胰腺炎患者发病率较高. 也可能与内分泌有关, 以及炎性介质的参与, 癌基因的激活与抑癌基因的失活, 信号通路的异常等. Hippo通路是近年来新发现的信号通路, 近年来研究表明其在肿瘤的发生发展中也起到重要的作用.

■同行评议者
陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科; 吴泰璜, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■研发前沿
研究发现, Hippo信号通路作为近年来新的信号通路, 其与细胞的增殖与凋亡密切相关, 目前Hippo信号通路与肿瘤的相关研究正逐渐成为热点, 而Hippo信号通路与胰腺癌的关系也逐渐引起人们的重视.

在胰腺癌组织中YAP的表达与肿瘤分化程度密切相关(P = 0.048), 与年龄、性别、吸烟、饮酒、肥胖、糖耐量异常、糖尿病、慢性胰腺炎及临床分期等无关(P值分别是0.577、0.565、0.541、0.224、1.000、0.542、0.555、0.571、0.926). 胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP阳性程度呈正相关. YAP mRNA在胰腺癌组织中的表达较正常胰腺组织明显升高(0.3682±0.0783 *vs* 0.0394±0.0091, P<0.01).

结论: Hippo-YAP通路可能在胰腺癌的发生、发展中发挥重要作用. 并有可能成为胰腺癌治疗中新的靶点.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Yes相关蛋白; Hippo信号通路; 胰腺癌; 导管上皮细胞

核心提示: Hippo-Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)信号通路已被证实与胃癌、食管癌、结肠癌等多种肿瘤的发生和转移有关, 本实验通过探讨YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其在胰腺癌发生中的作用.

李晓宇, 田宇彬, 单信芝, 张翠萍, 刘晓英, 徐永红, 李新华, 武军, 赵文君, 李丹. Hippo通路中Yes相关蛋白在胰腺癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3013-3018 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3013.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3013

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的肿瘤之一, 位列消化系统肿瘤死亡原因的第2位, 发病率和死亡率在世界范围内呈逐年上升趋势[1]. Hippo-YAP通路为新近发现的一种调节器官发育的关键信号通路[2]. 他最先在果蝇体内被发现, 调控这条通路可以观察到果蝇眼睛和翅膀大小的变化. Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)是哺乳动物Hippo-YAP信号通路的主要效应因子. YAP的过度表达会造成组织器官的增大, 相反, YAP的失活会造成组织器官萎缩. Hippo-YAP信号通路已被证实与胃癌、食管癌、结肠癌等多种肿瘤的发生和转移有关, 但在胰腺癌中鲜有报道. 本实验通过探讨YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其在胰腺癌发生中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集青岛大学医学院附属医院肝胆外科2011-2012年胰腺癌手术切除标本45例. 胰腺癌患者术前均未行放化疗治疗, 术后经病理组织学检查确诊, 均为原发性胰腺导管腺癌. 其中男性20例, 女性25例. 年龄46-79岁, 平均年龄62.00岁±12.51岁. 胰头29例, 胰体尾16例. 低分化腺癌26例, 中分化腺癌14例, 高分化腺癌5例. TNM分期: Ⅰ期28例、Ⅱ期15例、Ⅲ期2例. 因其他原因切除的正常胰腺组织15例, 其中男性5例, 女性10例, 年龄27-59岁, 平均年龄40.00岁±13.01岁. 需行免疫组织化学检查的标本经4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm切片及苏木素-伊红(HE)染色. 同时取新鲜手术标本保存在液氮罐中供PCR检测用. 收集胰腺癌患者临床资料, 包括: 性别、年龄、吸烟、饮酒、体质量指数(body mass index, BMI)、是否有糖耐量异常、是否合并糖尿病或慢性胰腺炎、血清CA19-9水平等. 本研究方案获青岛大学医学院附属医院伦理委员会批准. 兔抗人YAP单克隆抗体购自美国Epitomics公司, 抗体稀释液及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色检测: 应用免疫组织化学染色法(EnVision法)检测. 石蜡标本以4 μm切片, 常规脱蜡、水化, 3%H_2O_2微波孵育2 min, 阻断内源性过氧化物酶. 以柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0)作为抗原修复液微波热修复3次×5 min. 分别滴加1-2滴兔抗人YAP抗体(EP1674Y, 1∶100稀释), 以PBS代替一抗作为阴性对照. 4 ℃湿盒内孵育过夜. PBS冲洗后, 滴加1-2滴EnVisionTM(Genetech公司, GK500705)孵育45 min. DAB显色15 min. 苏木素复染3 min. 以YAP表达阳性的肝癌组织切片作为阳性对照.

1.2.2 结果判定: YAP定位于细胞质或细胞核中, 阳性染色为胞质或胞核染成棕黄色. 染色强度(A)分为0分(无染色)、1分(弱染色)、2分(中度染色)、3分(强染色). 3个随机选取的视野中, 根据200个细胞中阳性细胞所占的比例数(B)分为0(<5%)、1(5%-25%)、2(26%-50%)、3(51%-75%)、4(>75%). A与B结果相乘, 结果分为0(-)、低表达1-4(+)、中度表达5-8(++)、高度表达9-12(+++).

1.2.3 荧光定量聚合酶链反应(Real-time PCR): TRIzol法提取胰腺癌组织和正常胰腺组织总RNA, 逆转录反应依照TaKaRa公司逆转录试剂盒说明书进行操作. 将逆转录产物进行PCR反

表 1 YAP在胰腺组织中的表达

胰腺组织	*n*	不表达(0分)	低表达(1–4分)	中表达(5–8分)	高表达(9–12分)	阳性率(%)	χ^2	*P*值
胰腺癌组织	45	3	5	15	22	93.33%	27.950	0.000
正常胰腺组织	15	11	3	1	0	26.67%		
合计	60	14	8	16	22			

■**创新盘点**
目前关于Hippo通路与胃癌、肝癌等均有研究, 而与胰腺癌关系的研究较少, 本实验通过探讨YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达, 探讨其在胰腺癌发生中的作用.

应, 体系如下: cDNA 2 μL, 2×SYBR Premix Ex Taq Ⅱ 10 μL, 上下游引物各2 μL, ddH_2O 4.8 μL. YAP上游引物: 5'-TGAACAAACGTCCAGCAA-GATAC-3', 下游引物5'-CAGCCCCCAAAAT-GAACAGTAG-3', 扩增长度134 bp; GAPDH上游引物: 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游引物: 5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 扩增长度121 bp. 反应条件为: 95 ℃预变性30 s, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s, 扩增40个循环. $2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算YAP基因和内参基因的相对含量.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据统计分析, 实验数据以mean±SD形式表示, 免疫组织化学数据各组之间的比较采用卡方检验(χ^2), 应用非参数统计中Spearman等级相关分析胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP免疫组织化学阳性程度的相关性, 应用非配对*t*检验检测胰腺癌组织和正常胰腺组织中YAP mRNA表达差异. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达情况 在正常胰腺组织中, YAP主要在胰腺导管上皮细胞的细胞质中呈低至中度表达, 在部分细胞核中有表达, 在胰腺腺泡和泡心细胞中无表达. 在胰腺癌组织中, YAP在导管上皮细胞中呈高度表达, 且主要是细胞质和细胞核表达(图1). 胰腺癌组织中YAP阳性表达率为93.33%, 正常胰腺组织中阳性表达率为26.67%, 差异具有显著统计学意义(χ^2 = 27.95, *P*<0.01, 表1).

2.2 YAP mRNA在正常胰腺组织和胰腺癌中的表达 RT-PCR结果显示, YAP mRNA在胰腺癌组中的相对表达量是正常胰腺组织的9.35倍, 表达差异具有高度统计学意义(0.0394+0.0091, *P*<0.01).

2.3 YAP表达与胰腺癌临床病理参数之间的关系 YAP在胰腺癌组织中的阳性表达差异与肿瘤的分化程度(χ^2 = 5.294, *P* = 0.048)有明显的统计学意义, 而与年龄、性别、吸烟、饮酒、肥胖、糖耐量异常、糖尿病、慢性胰腺炎、临床分期等无关(*P*>0.05, 表2).

2.4 胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP阳性程度相关 在胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP免疫组织化学的阳性程度呈正相关(*r* = 0.652, *P*<0.01), 即胰腺癌组织中YAP阳性程度越高对应CA19-9水平也越高.

3 讨论

Hippo-YAP通路为新近发现的一种调节器官大小发育的关键信号通路, 是一种细胞分裂和死亡的控制开关. 他最先在果蝇体内发现, 调控这条通路可以观察到果蝇的眼睛和翅膀大小的变化[2]. 在哺乳动物中同样是细胞增殖的负向调控通路, 核心分子组成为: Mst1/2、WW45、Lats、Mob1及YAP[3]. YAP是哺乳动物Hippo-YAP信号通路的主要效应因子. 其转录辅助活性取决于YAP在细胞内的位置: 磷酸化的YAP于胞浆中积聚, 通过磷酸化的ser127与14-3-3蛋白相结合而无法进入细胞核, 而非磷酸化的YAP可以进入细胞核, 与带有PDZ结合基序的转录增强因子TAZ形成复合体, 与TEA功能域转录因子(TEA domain transcription factor, TEAD)结合, 诱导下游转录因子细胞周期蛋白E(cyclinE)以及凋亡调控因子cIAP1等表达增加, 促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡[4]. 除此之外, Hippo-YAP信号通路还与细胞间接触抑制[5]、上皮细胞间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)[4]等密切相关, 参与多种肿瘤的发生、发展以及转移过程.

YAP通过与抑癌基因*p73*相互作用上调Bax的表达, 加速Aβ(25-35)介导的细胞凋亡[6]. YAP通过上调BIRC2/clAPl, 促进细胞增殖和抑制细胞凋亡, 同时他们还发现在肝癌中YAP可以诱导*c-myc*、*SOX4*、*H19*及*AFP*等与正常肝细胞增殖相关基因以及IAP(凋亡抑制因子)家族中*BIRC5/Survivin*等凋亡抑制基因的表达[7]. YAP的高表达和肝癌细胞的低分化、高血清AFP表达及再发肝癌的血管渗透呈强烈正相关[8]. 在肝细胞中过表达YAP可使肝脏过度生长并最终导

■应用要点
本实验通过免疫组织化学、RT-PCR等方法研究胰腺癌与Hippo通路的核心组件YAP的关系, 从分子方面研究了胰腺癌的发生发展机制, 为胰腺癌的靶向治疗提供了一定的理论依据.

表 2 胰腺癌组织中YAP阳性表达强度与临床病理因素的关系

	不表达(0分)	低表达(1-4分)	中表达(5-8分)	高表达(9-12分)	χ^2	*P*值
性别					0.643	0.577
男	2	3	5	10		
女	1	2	10	12		
年龄(岁)					0.787	0.565
>60	1	4	8	13		
<60	2	1	7	9		
吸烟					1.452	0.541
有	3	4	9	15		
无	0	1	6	7		
饮酒					1.896	0.224
有	1	3	11	16		
无	2	2	4	6		
肥胖BMI(kg/m^2)					0.000	1.000
>27	2	4	9	15		
<27	1	1	6	7		
糖耐量异常					1.773	0.542
有	3	3	9	14		
无	0	2	6	8		
糖尿病					0.952	0.555
有	1	2	8	16		
无	2	3	7	6		
慢性胰腺炎					0.643	0.577
有	2	2	6	10		
无	1	3	9	12		
分化程度					5.294	0.048
低分化	0	1	11	16		
中、高分化	3	4	4	6		
T分期					2.143	0.543
T1	2	1	3	9		
T2	1	2	6	6		
T3	0	2	5	6		
T4	0	0	1	1		
N分期					0.592	1.000
N0	3	3	13	19		
N1	0	2	2	3		
临床分期					0.153	0.926
Ⅰ	2	3	11	12		
Ⅱ	1	2	4	8		
Ⅲ	0	0	0	2		

BMI: 体质量指数.

致肝癌的发生[9,10]. YAP在肾透明细胞癌中也表达增加, 与肿瘤分化程度有关, 提示YAP在肾透明细胞癌发生发展过程中起重要作用[11].

我们课题组之前的研究证实, YAP在正常胃黏膜组织、肠上皮化生、不典型增生和胃癌组织中的表达依次升高, 且在胃癌组织中YAP的表达与胃癌分化程度及淋巴结转移密切相关, 提示其在胃癌的发生、发展、转移过程中发挥重要作用[12]. 在食管炎、Barrett食管、食管不典型增生、食管癌组织中也证实了YAP阳性表达率依次升高. 有研究发现Hippo-YAP通路在胰腺胚胎发育过程中起到重要作用, YAP可以维持胰腺腺泡细胞后天分化[13]. 但在胰腺癌组织中相关研究较少. 我们的研究发现, YAP蛋白在胰腺癌组

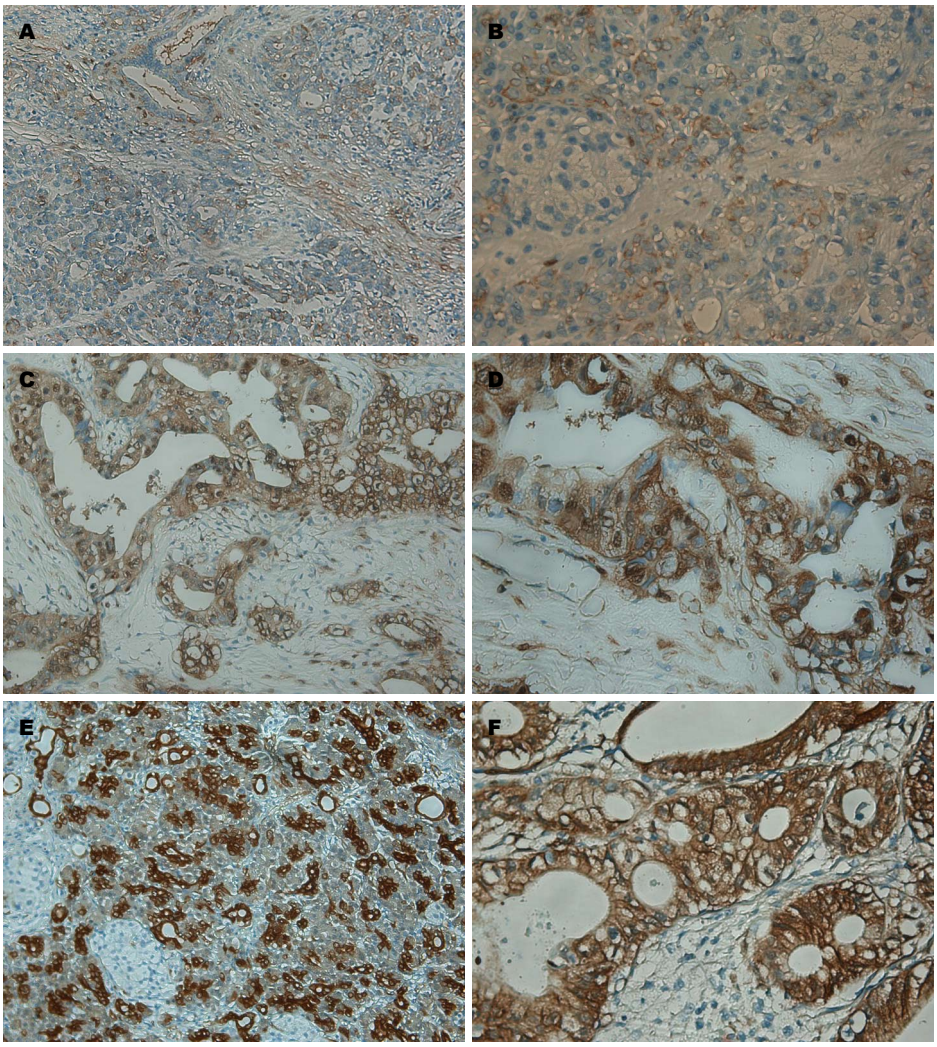


图 1 YAP在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达. A: 正常胰腺组织中YAP表达较弱, 主要表达与细胞质(×200); B: 正常胰腺组织中YAP表达(×400); C: 高中分化程度的胰腺癌中YAP表达较正常胰腺组织强, 并在细胞质和细胞核都有表达(×200); D: 高中分化程度的胰腺癌中YAP表达(×400); E: 低分化程度的胰腺癌中YAP表达较高中分化程度的胰腺癌表达强, 并在细胞质和细胞核都有表达(×200); F: 低分化程度的胰腺癌中YAP表达(×400).

织较正常胰腺组织中表达明显升高. 在正常胰腺组织中, YAP主要在胰腺导管上皮细胞的细胞质中呈低至中度表达, 在胰腺腺泡细胞和泡心细胞中无表达. 而在胰腺癌组织中, YAP在导管上皮细胞中呈高度表达, 主要是细胞质和细胞核表达, 与肿瘤分化程度密切相关: 肿瘤分化程度越低, YAP免疫组织化学的表达率越高, 这提示YAP在胰腺癌的发生、发展过程中发挥重要作用.

胰腺癌的发生是遗传和环境因素共同作用的结果, 流行病学、分子生物学和遗传学研究认为多个生物因素和社会因素可能导致胰腺癌发生的危险性增加. 吸烟是胰腺癌公认的危险因素[14], 大量的流行病学研究不断为此提供新证据. 肥胖者和糖尿病患者发生胰腺癌的风险也显著升高. 糖尿病可能是病因, 也可能是胰腺癌的临床表现. 有学者提出要重视非典型糖尿病(无糖尿病家族史、无肥胖和有胰岛素依赖)患者发生胰腺癌的危险性[15]. 新发糖尿病可能为胰腺癌的早期诊断提供线索[16]. 我们收集了45例胰腺癌患者的临床资料, 包括: 性别、年龄、吸烟、饮酒、肥胖BMI、是否有糖耐量异常、是否合并糖尿病或慢性胰腺炎等. 我们发现这些高危因素如吸烟、肥胖、合并糖尿病等与YAP在胰腺癌中的表达无明显关系, 这可能与我们收集的资料数较少有关.

CA19-9为唾液酸化的乳-N-岩藻戊糖Ⅱ, 是一种类粘蛋白的糖蛋白成分, 是目前公认的对胰腺癌有诊断价值的肿瘤标志物. CA19-9升高对于良恶性肿瘤鉴别、诊断、手术疗效评估有重要意义[17]. 有研究显示, CA19-9水平与胰腺癌的TNM分期呈正相关, 与生存期呈负相关, 为反

■同行评价
本研究内容比较重要, 有新颖性.

映预后和复发的重要指标[17,18]. 高频超声治疗后能明显下调胰腺癌血清CA19-9水平[19]. 我们的研究发现胰腺癌患者血清CA19-9水平与胰腺癌组织中YAP阳性程度正相关, 提示YAP对于胰腺癌的进展和预后有提示意义.

总之, 本研究表明YAP在胰腺癌组织中表达较正常胰腺组织增加, 并与胰腺癌分化程度有关, 并且胰腺癌组织中YAP阳性程度与患者血清CA19-9水平呈正相关. 这些结果提示Hippo-YAP通路可能在胰腺癌的发生、发展中发挥重要作用, 并有可能成为胰腺癌治疗中新的靶点.

4 参考文献

1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]

2 Badouel C, Garg A, McNeill H. Herding Hippos: regulating growth in flies and man. *Curr Opin Cell Biol* 2009; 21: 837-843 [PMID: 19846288 DOI: 10.1016/j.bbr.2011]

3 Zeng Q, Hong W. The emerging role of the hippo pathway in cell contact inhibition, organ size control, and cancer development in mammals. *Cancer Cell* 2008; 13: 188-192 [PMID: 18328423 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.02.011]

4 Li Z, Zhao B, Wang P, Chen F, Dong Z, Yang H, Guan KL, Xu Y. Structural insights into the YAP and TEAD complex. *Genes Dev* 2010; 24: 235-240 [PMID: 20123905 DOI: 10.1101/gad.1865810]

5 Zhao B, Wei X, Li W, Udan RS, Yang Q, Kim J, Xie J, Ikenoue T, Yu J, Li L, Zheng P, Ye K, Chinnaiyan A, Halder G, Lai ZC, Guan KL. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev* 2007; 21: 2747-2761 [PMID: 17974916 DOI: 10.1101/gad.1602907]

6 Zhang H, Wu S, Xing D. YAP accelerates Aβ(25-35)-induced apoptosis through upregulation of Bax expression by interaction with p73. *Apoptosis* 2011; 16: 808-821 [PMID: 21562856 DOI: 10.1007/s10495-011-0608-y]

7 Zender L, Spector MS, Xue W, Flemming P, Cordon-Cardo C, Silke J, Fan ST, Luk JM, Wigler M, Hannon GJ, Mu D, Lucito R, Powers S, Lowe SW. Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenomic approach. *Cell* 2006; 125: 1253-1267 [PMID: 16814713 DOI: 10.1016/j.cell.2006.05.030]

8 Xu MZ, Yao TJ, Lee NP, Ng IO, Chan YT, Zender L, Lowe SW, Poon RT, Luk JM. Yes-associated protein is an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 4576-4585 [PMID: 19551889 DOI: 10.1002/cncr.24495]

9 Dong J, Feldmann G, Huang J, Wu S, Zhang N, Comerford SA, Gayyed MF, Anders RA, Maitra A, Pan D. Elucidation of a universal size-control mechanism in Drosophila and mammals. *Cell* 2007; 130: 1120-1133 [PMID: 17889654]

10 Zhou D, Conrad C, Xia F, Park JS, Payer B, Yin Y, Lauwers GY, Thasler W, Lee JT, Avruch J, Bardeesy N. Mst1 and Mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the Yap1 oncogene. *Cancer Cell* 2009; 16: 425-438 [PMID: 19878874 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.09.026]

11 赵修民, 王德林, 马强. Yes-相关蛋白和大肿瘤抑制基因1在肾透明细胞癌中的表达及意义. 中华泌尿外科杂志 2012; 33: 171-175

12 魏文超, 张翠萍, 张琪, 王小玮, 张红珠, 赵坤, 田字彬. Hippo信号通路在胃黏膜癌变过程中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3027-3032

13 Gao T, Zhou D, Yang C, Singh T, Penzo-Méndez A, Maddipati R, Tzatsos A, Bardeesy N, Avruch J, Stanger BZ. Hippo signaling regulates differentiation and maintenance in the exocrine pancreas. *Gastroenterology* 2013; 144: 1543-153, 1553. e1 [PMID: 23454691 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.037]

14 Momi N, Kaur S, Ponnusamy MP, Kumar S, Wittel UA, Batra SK. Interplay between smoking-induced genotoxicity and altered signaling in pancreatic carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1617-1628 [PMID: 22623649]

15 Bonelli L, Aste H, Bovo P, Cavallini G, Felder M, Gusmaroli R, Morandini E, Ravelli P, Briglia R, Lombardo L, De Micheli A, Pugliese V. Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking, and diabetes mellitus: a case-control study in northern Italy. *Pancreas* 2003; 27: 143-149 [PMID: 12883263 DOI: 10.1097/00006676-200308000-00007]

16 Pannala R, Basu A, Petersen GM, Chari ST. New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. *Lancet Oncol* 2009; 10: 88-95 [PMID: 19111249 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70337-1]

17 曾勇, 宁立芬, 方江, 冯茂辉, 袁先厚. 联合应用肿瘤标记物在胰腺癌诊断中的意义. 中华实验外科杂志 2010; 27: 526-527

18 李兆申, 蔡振寨. 胰腺癌早期诊断最新进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1175-1178

19 王缨, 史兵伟, 葛信国. 高能聚焦超声治疗前、后胰腺癌患者血清CEA、CA19-9的变化. 中华物理医学与康复杂志 2006; 28: 775-777

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): 3019-3023
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比

金晓维, 张 静, 朱 鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐 杰, 李彦飞

金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142
金晓维, 主治医师, 主要从事消化内镜诊断和治疗的研究.
作者贡献分布: 此课题由金晓维与朱鸣设计; 研究过程由金晓维、张静、朱鸣、毛高平、宁守斌、唐杰及李彦飞操作完成; 数据分析由金晓维与朱鸣完成; 本论文写作由金晓维完成.
通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 空军总医院消化内科. zhuming20121226@sina.cn
收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-08-08
接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-08

Clinical comparison of single- versus double-balloon enteroscopy

Xiao-Wei Jin, Jing Zhang, Ming Zhu, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jie Tang, Yan-Fei Li

Xiao-Wei Jin, Jing Zhang, Ming Zhu, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Jie Tang, Yan-Fei Li, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China
Correspondence to: Ming Zhu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhuming20121226@sina.cn
Received: 2013-06-13 Revised: 2013-08-08
Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To compare the clinical application value of single balloon enteroscopy (SBE) and double balloon enteroscopy (DBE).

METHODS: Clinical data for 720 subjects who underwent enteroscopy (510 cases of SBE and 210 cases of DBE) from January 2007 to September 2012 were retrospectively analyzed. Procedure duration, intubation depth, diagnostic yield and endoscopic treatment rate were compared between the two groups.

RESULTS: No significant difference was found between the two groups in procedure duration (SBE 54.41 min ± 11.742 min *vs* DBE 54.94 min ± 12.315 min for the oral approach, SBE 64.71 min ± 12.359 min *vs* DBE 65.81 min ± 13.995 min for the anal approach), intubation depth (SBE 235.12 cm ± 87.831 cm *vs* DBE 219.94 cm ± 68.226 cm for the oral approach, SBE 187.75 cm ± 67.037 cm *vs* DBE 172.37 cm ± 81.808 cm for the anal approach), diagnostic yield (SBE 77.05% *vs* DBE 75.67% for the oral approach, SBE 70.18% *vs* DBE 76.77% for the anal approach) or endoscopic treatment rate (SBE 46.58% *vs* DBE 48.85% for the oral approach, SBE 35.32% *vs* DBE 33.33% for the anal approach).

CONCLUSION: SBE and DBE have comparable performance and diagnostic yield in the evaluation of the small bowel. SBE is an effective method for the diagnosis and treatment of small bowel diseases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Single balloon endoscopy; Double balloon endoscopy; Clinical data

Jin XW, Zhang J, Zhu M, Mao GP, Ning SB, Tang J, Li YF. Clinical comparison of single- versus double-balloon enteroscopy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3019-3023 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3019.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3019

摘要

目的: 比较单气囊小肠镜(single balloon endoscopy, SBE)及双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)的临床应用价值.

方法: 回顾性分析2007-01/2012-09在我院消化内镜室检查的720例次患者的临床资料(SBE组510例次, DBE组210例次). 记录小肠镜检查的检查时间、插镜深度、病变发现率、镜下治疗率.

结果: SBE与DBE比较, 检查时间(经口SBE 54.41 min±11.742 min *vs* DBE 54.94 min±12.315 min, 经肛SBE 64.71 min±12.359 min *vs* DBE 65.81 min±13.995 min)及插镜深度(经口SBE 235.12 cm±87.831 cm *vs* DBE 219.94 cm±68.226 cm, 经肛SBE 187.75 cm±67.037 cm *vs* DBE 172.37 cm±81.808 cm)无统计学差异(P>0.05), 检出阳性率(经口SBE

■背景资料
目前临床应用的小肠镜主要是双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)和单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE), SBE与DBE相比, 操作更加简便.

■同行评议者
万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

■研发前沿
2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出SBE, 与DBE相比, SBE镜身前端少了一个气囊, 其镜端的可曲度及视角范围明显增加, 操作更加简便, 目前关于SBE与DBE的临床对比研究还不是很多.

77.05% *vs* DBE 75.67%, 经肛SBE 70.18% *vs* DBE 76.77%)及镜下治疗率(经口SBE 46.58% *vs* DBE 48.85%, 经肛SBE 35.32% *vs* DBE 33.33%)也未见明显差异(P>0.05).

结论: SBE与DBE的性能及疾病诊断率相当, 是一种可靠的小肠检查方法.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 单气囊小肠镜; 双气囊小肠镜; 临床资料

核心内容: 本研究总结了720例次气囊辅助小肠镜检查病例, 单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)511例次、双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)210例,结果表明, SBE与DBE比较, 检查时间、插镜深度、检出阳性率及镜下治疗率未见明显差异. 但SBE的镜端灵活、视角大, 操作上更具有优势.

金晓维, 张静, 朱鸣, 毛高平, 宁守斌, 唐杰, 李彦飞. 单气囊小肠镜与双气囊小肠镜的临床对比. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3019-3023 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3019.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3019

0 引言

小肠是人体最长的器官, 其疾病的临床诊断仍比较困难, 小肠镜技术是诊治小肠疾病的重要手段, 目前临床应用的小肠镜主要是双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)和单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE), 二者均通过带气囊的外套管辅助进行, 故将其统称为“气囊辅助小肠镜”. 2001年日本学者Yamamoto等[1]率先报道了DBE进行全小肠检查的研究[2], DBE除了能全肠段检查外, 还能进行活检和镜下治疗. 2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出SBE, 与DBE相比, SBE只有外套管一个气囊, 镜身前端少了一个气囊, 其镜端的可曲度及视角范围明显增加, 操作更加简便[3]. 为对比SBE及DBE的临床应用价值, 我们回顾性分析了在我院接受SBE及DBE检查的患者的临床资料.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2007-01/2012-09在我院消化内镜室检查的720例次患者的临床资料(DBE 210例次、SBE 510例次). 器械: Olympus SIF-Q260单气囊小肠镜及FUJINONEN 450P5/28型双气囊小肠镜.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者术前均签署小肠镜检查知情同意书及麻醉同意书. 常规检查血常规、凝血功能、肝肾功能、心电图等, 无胃肠镜检查及静脉麻醉的禁忌症. 患者术前1 d 进食流质饮食, 晚餐后禁食, 并口服蓖麻油40 mL, 饮水500 mL, 第2天上午服复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水中清洁肠道, 检查结束前不能进食. 行小肠镜检查患者均给予丙泊酚静脉麻醉辅助内镜检查. 检查前10 min肌肉注射山莨菪碱10 mg, 并全程行心电监护及氧饱和度监测. 分别记录每例次小肠镜检查时间、插镜深度、病变发现率以及是否做镜下治疗及有无并发症. 检查时间为进镜时间至退出内镜结束, 其中如有镜下治疗, 则扣除镜下治疗时间.

1.2.2 小肠镜检查: (1)SBE检查 采用Olympus SIF-Q260型单气囊小肠镜. 由内镜主机EVIS Lucera系统、奥林巴斯SIF-Q260单气囊小肠镜及外套管、小肠镜专用气囊控制系统及相关附件组成. 内镜工作长度200 cm, 外径9.2 mm, 钳道直径2.8 mm, 带气囊的外套管有效长度140 cm, 外径13.2 mm, 内径11 mm, 视角140度. 外套管前端装有1个可充气、放气的气囊, 连接于可自动调整充气量的气泵. 检查前应先观察外套管头端的气囊有无漏气, 然后将外套管套在小肠镜镜身上, 并注入润滑剂, 将气泵的注气管道与气囊相连, 给气囊充气和放气, 确认气泵工作正常. 由两名内镜医师(一名为主要检查者, 另一名为辅助检查者)进行检查及一名麻醉医师配合检查. 通过调整镜身角度和外套管反复充气、放气、钩拉、滑行等动作, 将肠管不断地套在SBE镜身上, 直至到达病灶. 1个气囊注气及抽气均由气泵自动控制, 抽气时压力为-6.0--6.5 kPa; 注气时压力为7.0-7.5 kPa. 经一端进镜未发现病变者, 内镜抵达相应部位后, 以注射针黏膜下注射美蓝多点标记, 继续另一侧进镜检查; (2)DBE检查: 采用FUJINONEN 450P5/28型双气囊小肠镜. 整套内镜操作系统由内镜、主机、外套管和气泵4部分组成. 小肠镜镜身长2 m, 外径8.5 mm, 视角120度, 外套管长1.4 m, 气囊压力5.6-8.2 kPa, 工作钳道2.2 mm, 通过工作钳道可完成注气、注水、吸引和活检、注射等操作. 估计病变在中上段小肠者选择经口腔途径进镜, 怀疑在中下段小肠病变者选择经肛门途径进镜. 由两名内镜医师(一名为主要检查者, 另一名为辅助检查者)及一名麻醉医师配合检查, 共同完成小肠

表 1 单气囊小肠镜和双气囊小肠镜的检查时间、插镜深度、检出阳性率及镜下治疗率

	单气囊小肠镜经口	双气囊小肠镜经口	单气囊小肠镜经肛	双气囊小肠镜经肛
检查时间(min)	54.41 ± 11.742	54.94 ± 12.315	64.71 ± 12.359	65.81 ± 13.995
插镜深度(cm)	235.12 ± 87.831	219.94 ± 68.226	187.75 ± 67.037	172.37 ± 81.808
检出阳性率	225/292	84/111	153/218	76/99
镜下治疗率	136/292	52/111	77/218	33/99

■应用要点

相对于DBE, SBE在进镜时间、深度及疾病检出率等方面, 并不处于劣势, 而SBE在准备时间、操作性能方面明显优于DBE, 具有较好的临床应用价值, 是一种安全、可靠的小肠检查手段.

镜检查. 通过镜身和外套管依次反复充气、放气、钩拉、滑行等动作, 将肠管不断地套在双气囊电子小肠镜镜身上, 直至到达病灶. 2个气囊注气及抽气均由气泵自动控制,抽气时压力为-6.0--6.5 kPa; 注气时压力为7.0-7.5 kPa. 经一端进镜未发现病变者, 内镜抵达相应部位后,以注射针黏膜下注射美蓝多点标记, 继续另一侧进镜检查.

1.2.3 *耐受性与安全性*: 患者均能耐受检查, 未发生麻醉意外. 少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状, 无需特殊处理均可自行缓解, 未发生麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症. DBE检查时, 1例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现出血, 另1例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔; SBE检查时, 2例P-J综合征患者在行息肉摘除术时出现肠穿孔; 以上4例患者均及时予以外科手术治疗后治愈.

统计学处理 采用*t*检验比较经口侧及经肛侧检查时SBE组与DBE组的检查时间、插镜深度, 采用χ^2检验比较经口侧及经肛侧检查时SBE组与DBE组的检出阳性率(检出阳性率 = 检出病变例数/检查例数×100%)及镜下治疗率(镜下治疗率 = 镜下治疗例数/检查例数×100%), $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

720例次小肠镜中, SBE510例次、DBE210例次; 男425例次、女295例. 有298例次行镜下治疗, 主要为镜下息肉圈套摘除及电凝灼除, 病灶钛夹定位, 部分出血患者行镜下注射或电凝止血或以钛夹夹闭出血点, 有2例患者行SBE下异物取出术(1例为假牙、1例为滞留的胶囊), 有2例患者行SBE扩张及支架植入术. 部分小肠镜检查中插镜深度较短是因为存在肠梗阻, 无法进镜. 单气囊及双气囊小肠镜组常见疾病均为: P-J综合征、小肠炎性改变、克罗恩病、小肠溃疡、小肠肿瘤等.

经口侧小肠镜检查403例, 男235例、女168例, 年龄10-80岁(37.50岁±16.644岁), SBE292例次, DBE 111例次. 插镜深度: 单气囊10-400 cm, 双气囊5-350 cm. 进镜时间: 单气囊30-90 min, 双气囊28-90 min. 有52例次双气囊小肠镜行镜下治疗, 136例次双气囊小肠镜行镜下治疗.

经肛侧小肠镜317例, 男180例、女137例, 年龄10-78岁(37.63岁±16.749岁), 其中SBE 218例次、DBE 99例次. 插镜深度: SBE 10-400 cm, DBE 5-350 cm, 进镜时间: SBE 39-98 min、DBE 36-99 min. 有33例次DBE行镜下治疗, 77例次SBE行镜下治疗.

SBE和DBE经口及经肛侧组患者性别及年龄无统计学差异. 分别比较SBE和DBE经口及经肛侧的检查时间、插镜深度、检出阳性率及镜下治疗率, 均为$P>0.05$, 无统计学差异(表1).

3 讨论

小肠长久以来被认为是内镜检查的盲区, 通过传统的内镜检查方法无法观察到大部分小肠, 胶囊内镜和气囊辅助小肠镜的出现填补了内镜检查小肠的空白. 气囊辅助小肠镜包括DBE和SBE.

胶囊内镜可以观察全小肠, 是一种无痛苦的检查法, 但在体内不能定位、定向, 不能做活检及治疗, 不能保证被排出体外而且图像不够清晰, 限制了他的临床应用[4]. DBE图像清晰, 操作精确, 发现病变可以取活检、做标记, 并且可以行治疗, 是一种可靠的诊治手段. SBE是在DBE的基础上改进而来的, 同样具有图像清晰、操作精确, 可镜下治疗等优点, 从操作原理上看, DBE通过气囊固定肠腔, 而SBE通过镜身前端成角勾住肠管, 仅需1个气囊交替充放气, 镜端灵活、视角大, 具有操作上的优势[5]. DBE因为有反复注气和放气的操作, 有操作者出错的可能[6], 而SBE则一般不会出错, 这使得其操作更简便. 由于SBE无需安装内镜前端的充气囊, 因此准备时间平均约5 min, 明显短于DBE的准备时间[7].

本研究总结了720例次气囊辅助小肠镜检查

■同行评价
本文具有一定的新颖性, 且样本量较大, 与以往文献相比, 对SBE的评价更加全面, 提高了其可信度.

病例(SBE 511例次、DBE 210例次)的结果表明, SBE与DBE比较, 检查时间及插镜深度无统计学差异, 检出阳性率及镜下治疗率也未见明显差异. DBE下可开展的治疗种类, 如息肉圈套摘除及电凝灼除、钛夹定位、电凝止血或以钛夹夹闭出血点、异物取出术、狭窄肠腔的扩张及支架植入术等, 在SBE下也可进行, 且镜端灵活、视角大, 操作上更具有优势.

目前国内外关于SBE的研究报道还不是很多, 得出了与我们相似的结论. 马丽黎等[8]在35例次SBE检查中, 经口进镜检查平均用时49.7 min, 经肛48.6 min, 疾病检出率为86.7%. 陈白莉等[9]回顾分析83例SBE检查患者的临床资料, 经口进镜检查平均操作时间为29.6 min, 经肛进镜为57.1 min, 病变检出率为68.7%. 任玮等[7]将50例患者随机分组进行60例次小肠镜检查, 对比SBE与DBE的临床资料, 得出结论, SBE在准备时间、操作方面明显优于DBE, 但在检查时间、插镜深度、病变发现率方面无明显差异. 李运红等[10]应用SBE对72例不明原因消化系出血的患者进行检查, 62.5%的患者发现足以解释患者出血原因的小肠病变, 认为SBE对于不明原因消化道出血的检查是安全、有效的. Gong等[11]对怀疑小肠疾病而接受SBE共67例患者进行回顾性分析, 经口侧的平均进镜时间为68.1 min, 经肛侧为77.5 min, 进镜深度经口侧为247.6 cm, 经肛侧为131.1 cm, 疾病诊断率为68.7%.

多中心前瞻性研究比较DBE和SBE技术在小肠疾病患者100例中的应用, 结果显示在检查前准备时间和经口操作时间上SBE占优, 而全小肠检查完成率上则DBE占优势[12]. Efthymiou等[13]对53例次SBE及66例次DBE进行分析, 认为在插镜深度及进镜时间上二者并无统计学差异. Manno等[14]在111例患者的SBE检查中, 平均手术时间为经口侧61 min±33 min, 经肛侧78 min±41 min, 平均插入深度为经口侧超过屈氏韧带223 cm±93 cm, 经肛侧超过回盲瓣96 cm±56 cm. Kushnir等[15]对147例行SBE 的不明原因的消化道出血患者进行回顾性分析, 疾病诊断率为64.6%. Lenz等[16]对904例患者进行分析, 其中1052例次行 DBE、515 例次行SBE, 数据显示SBE相对于DBE, 其插入深度较低, 但诊断率比较高.

总之, 以上研究与我们的研究结论相似, 均认为SBE是一种安全、可靠的小肠检查手段. 且大部分研究认为, 相对于DBE, SBE在进镜时间、深度及疾病检出率等方面, 并不处于劣势, 而SBE在准备时间、操作性能方面明显优于DBE, 具有较好的临床应用价值.

4 参考文献

1 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]

2 May A, Nachbar L, Pohl J, Ell C. Endoscopic interventions in the small bowel using double balloon enteroscopy: feasibility and limitations. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 527-535 [PMID: 17222315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01063.x]

3 Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy* 2008; 40: 11-15 [PMID: 18058613]

4 Ell C, May A. Capsule status 2004: what is the outcome in bleeding? Are there really additional indications? *Endoscopy* 2004; 36: 1107-1108 [PMID: 15578304 DOI: 10.1055/s-2004-826082]

5 Manno M, Barbera C, Bertani H, Manta R, Mirante VG, Dabizzi E, Caruso A, Pigo F, Olivetti G, Conigliaro R. Single balloon enteroscopy: Technical aspects and clinical applications. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 28-32 [PMID: 22347529 DOI: 10.4253/wjge.v4.i2.28]

6 Kawamura T, Yasuda K, Tanaka K, Uno K, Ueda M, Sanada K, Nakajima M. Clinical evaluation of a newly developed single-balloon enteroscope. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1112-1116 [PMID: 18599052 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1063]

7 任玮, 王雷, 宁琳洪, 李宜辉, 赵晓晏. 单气囊及双气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用比较. 中国基层医药 2011; 18: 1653-1655

8 马丽黎, 陈世耀, 秦文政, 胡健卫, 徐关东, 钟芸诗, 张轶群, 陈巍峰, 姚礼庆. 单气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 399-401

9 陈白莉, 熊理守, 高翔, 王锦辉, 张宁, 崔毅. 单气囊小肠镜诊治疗小肠疾病的安全性及其临床价值观察. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 134-137

10 李运红, 吕瑛, 张晓琦, 刘明东, 姚玉玲, 于成功, 吴毓麟, 邹晓平. 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2012; 9: 510-512

11 Gong W, Zhi FC, Bai Y, Xiao B, De Liu S, Xu ZM, Jiang B. Single-balloon enteroscopy for small bowel diseases: results from an initial experience at a single Chinese center. *J Dig Dis* 2012; 13: 609-613 [PMID: 23134075 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00642.x]

12 May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönkemüller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]

13 Efthymiou M, Desmond PV, Brown G, La Nauze R, Kaffes A, Chua TJ, Taylor AC. SINGLE-01: a randomized, controlled trial comparing the efficacy

and depth of insertion of single- and double-balloon enteroscopy by using a novel method to determine insertion depth. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 972-980 [PMID: 22980289 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.033]
14 Manno M, Riccioni ME, Cannizzaro R, Andreoli A, Marmo R, Pennazio M. Diagnostic and therapeutic yield of single balloon enteroscopy in patients with suspected small-bowel disease: results of the Italian multicentre study. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 211-215 [PMID: 23157975]
15 Kushnir VM, Tang M, Goodwin J, Hollander TG, Hovis CE, Murad FM, Mullady DK, Azar RR, Jonnalagadda SS, Early DS, Edmundowiz SA, Chen CH. Long-term outcomes after single-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 2572-2579 [PMID: 23430372 DOI: 10.1007/s10620-013-2588-y]
16 Lenz P, Roggel M, Domagk D. Double- vs. single-balloon enteroscopy: single center experience with emphasis on procedural performance. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1239-1246 [PMID: 23503664 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181e85b3d]

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10月8日; 21(28): 3024-3029
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

应用经脐单孔腹腔镜探查对ALVARADO评分系统诊断急性阑尾炎的再评估

李 铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶 博, 张 鹏, 刘庆良

■背景资料
急腹症是外科最常见也是最复杂容易引起误诊的疾病. ALVARADO评分系统在欧美曾广泛应用于外科急腹症和急性阑尾炎的鉴别诊断, 但其准确性和特异性目前国内外同行的文章中仍然有争议. 腹腔镜技术和影像学技术的进步对急腹症的诊断的影响, 尚未有太多文献报道.

李铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶博, 张鹏, 刘庆良, 航天中心医院, 北京大学航天临床医学院微创胃肠外科 北京市 100049
李铎, 主要从事普通外科的临床工作.
作者贡献分布: 此课题由李铎与康春博设计; 研究过程由刘金洪与康春博负责具体入组患者管理; 论文撰写由李铎完成; 康春博校阅; 陈秀峰、李旭斌、林大鹏、李小伟、叶博、张鹏及刘庆良参与临床研究表格填写、患者的管理、术后随访和病例统计.
通讯作者: 康春博, 副教授, 100049, 北京市海淀区玉泉路15号, 航天中心医院, 北京大学航天临床医学院微创胃肠外科.
chunbokang@163.com
电话: 010-59972007 传真: 010-59972008
收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-07-15
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-08

Re-evaluation of Alvarado score in diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration

Duo Li, Jin-Hong Liu, Chun-Bo Kang, Xiu-Feng Chen, Xu-Bin Li, Da-Peng Lin, Xiao-Wei Li, Bo Ye, Peng Zhang, Qing-Liang Liu

Duo Li, Jin-Hong Liu, Chun-Bo Kang, Xiu-Feng Chen, Xu-Bin Li, Da-Peng Lin, Xiao-Wei Li, Bo Ye, Peng Zhang, Qing-Liang Liu, Department of Surgery, Aerospace Center Hospital, Peking University, Beijing 100049, China
Correspondence to: Chun-Bo Kang, Associate Professor, Department of Surgery, Aerospace Center Hospital, Peking University, 15 Yuquan Road, Haidian District, Beijing 100049, China. chunbokang@163.com
Received: 2013-06-23 Revised: 2013-07-15
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To re-evaluate the Alvarado score in the diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration.

METHODS: Clinical data for 210 patients with acute appendicitis who underwent transumbilical single-port laparoscopic exploration and Alvarado scoring were retrospectively reviewed. The correlation between Alvarado score and operative outcome was analyzed.

RESULTS: 101 had an Alvarado score above 9, of whom appendicitis was excluded by exploration in only 2 cases, and the diagnostic accuracy of Alvarado score was 98.1% in these patients. 85 patients had an Alvarado score between 7 and 8, of whom 74 were confirmed to have acute appendicitis by exploration, and the diagnostic accuracy of Alvarado score was 87.1% in these patients. Of 24 patients who had a positive CT or ultrasound finding and an Alvarado score between 5 and 6, 23 were confirmed to have acute appendicitis, and the diagnostic accuracy of Alvarado score was 95.8% in these patients. No port-site hernia or constipation was found during a follow-up period of 1 year.

CONCLUSION: Alvarado score is useful in the diagnosis of acute appendicitis, especially when the score is above 9. When the score is between 7 and 8, there is a false positive rate as high as 13% if the Alvarado system is used alone. Alvarado scoring combined with imaging examination is associated with a higher accuracy in the diagnosis of acute appendicitis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Transumbilical endoscopic surgery; Acute appendicitis; Alvarado score

Li D, Liu JH, Kang CB, Chen XF, Li XB, Lin DP, Li XW, Ye B, Zhang P, Liu QL. Re-evaluation of Alvarado score in diagnosis of acute appendicitis using transumbilical single-port laparoscopic exploration. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3024-3029 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3024.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3024

摘要

目的: 通过经脐单孔腹腔镜探查, 再进行评估ALVARADO评分系统在急腹症诊疗中的价值.

方法: 对210例急腹症患者应用ALVARADO评分系统评估后进行经脐单孔腹腔镜探查术, 根据探查结果与ALVARADO评分系统对应分析, 术后追踪随访1年.

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

结果: 101例ALVARADO评分9分以上, 只有2例为非阑尾炎急腹症, 准确率为98.1%, 85例评分7-8分, 74例为阑尾炎, 准确率为87.1%; 24例5-6分加阳性的超声或CT结果的患者, 23例为急性阑尾炎, 诊断准确率为95.8%.

结论: ALVARADO评分系统对于急性阑尾炎的诊断有一定参考价值. 但7分以下仍然有一定的假阳性率. 应结合超声和CT检查进一步提高准确性和特异性; 对急腹症患者应用经脐单孔腹腔镜技术早期探查, 可减少诊断和治疗的延误, 对于非阑尾炎急腹症不影响后续的外科治疗, 安全可行.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: ALVARADO评分; 急性阑尾炎; 经脐单孔腹腔镜

核心提示: 本研究是通过经脐单孔腹腔镜探查, 所有病例均获得最终的准确诊断. 从而与能够获得精确的ALVARADO评分结果. 本组病例中包含低于7分以下的病例, 最终通过经脐单孔腹腔镜探查确诊为急性阑尾炎. 提醒同道对于不典型病例结合影像学检查的重要性和必要性.

李铎, 刘金洪, 康春博, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 李小伟, 叶博, 张鹏, 刘庆良. 应用经脐单孔腹腔镜探查对ALVARADO评分系统诊断急性阑尾炎的再评估. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3024-3029 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3024.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3024

0 引言

急腹症是外科最常见也是最复杂容易引起误诊的疾病. 据统计, 因急性腹痛就诊的患者约占急诊患者的7%[1]. 由于发病急, 早期的腹痛很难与内科疾病鉴别; 急性腹痛引起的误诊约占医疗纠纷的10%左右[2]. 及时准确的诊断和外科手术治疗非常重要. 急性阑尾炎是外科常见的急腹症之一. 文献报道, 在临床诊断急性阑尾炎而行阑尾切除的病例中, 有15%-40%病例切除的是正常阑尾(阴性阑尾切除), ALVARADO评分系统在欧美曾广泛应用于外科急腹症和急性阑尾炎的鉴别诊断[3], 但很多单位报导其准确性和特异性有很大差异[4,5]. 随着微创外科技术的成熟和发展, 诊断性的腹腔镜探查对于提高确诊率, 减少病情延误有重要价值[6]. 通过人体自然腔道手术近一步将切口置于人体隐蔽部位, 基本可以做到“无瘢痕”, 更容易为患者接受. 我院微创胃肠外科从2011-01开展了成人经脐单孔腹腔镜急腹症诊断性探查术[7], 现结合ALVARADO评分系统, 以再评估ALVARADO评分系统对于成人急性阑尾炎诊断的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 对2011-01/2012-04以急性腹痛就诊的患者, 应用ALVARADO评分系统评估, 评分方法如表1, 所有评分中的体征和症状经3位不同级别医师确定, 7分或7分以上以上或者5-6分患者有阳性的超声或CT报告行经脐单孔腹腔镜探查, 共探查210例.

1.2 方法 探查方法详见参考文献[7], 为非气腹针入腹, 经脐纵行切口15 mm, 置入硅胶切口保护套后送入腹腔镜Trocar并开始注气, 探查腹腔. 若为阑尾病变, 系膜较长时, 直接用抓钳经切口保护套提出, 体外结扎切除阑尾. 若为其他病变, 采用相应的其他治疗措施. 根据术后病检结果, 将所有病例分为急性单纯性阑尾炎、急性化脓性阑尾炎和急性坏疽穿孔性阑尾炎, 分别计算3种类型患者的评分, 对评分结果和病理分型进行相关分析. 并通过术后病理结果比较评分9分或9分以上, 7分或7分以上, 5-6分患者的阴性阑尾切除率; 计算评分的准确率、特异性及阳性预测率; 并于术后6 mo追踪调查美容指数和自身感知指数, 了解单孔腹腔镜探查对患者生活质量的影响[8]. 评分4分或4分以下患者, 未入组行单孔腹腔镜探查, 这部分患者均在门诊治疗.

2 结果

本组210例, 男60例, 女40例. 平均年龄为36.40岁±16.13岁(中位年龄33岁, 范围16-75岁)体质量指数(body mass index, BMI)平均为24.40 kg/m^2±6.45 kg/m^2(中位数24 kg/m^2, 范围17-36 kg/m^2). 入院前腹疼时间平均为34.59 h±27.80 h(中位数24 h, 范围8-120 h), 术前83/100例白细胞升高, WBC计数平均为12.57×10^9/L±3.75×10^9/L(中位数12.87×10^9/L, 范围3.94×10^9-20.27×10^9/L, 正常值4-10×10^9/L)、术前中性白细胞分类(正常值50%-70%)为78.78%±10.81%(中位数80.65%, 范围43.7%-92.5%. 100例均超过正常值, 正常值50%-70%)(表2).

101例ALVARADO评分9分以上, 只有2例为非阑尾炎急腹症, 阳性预测值即准确率为98.1%, 85例评分7-8分, 74例为阑尾炎, 阳性预测值为87.1%; 5-6分加阳性的超声或CT结果的患者24例, 其中23例为急性阑尾炎, 诊断准确率为

■创新盘点

经脐单孔腹腔镜探查技术, 基本不留可视的瘢痕, 探查的指针可以适度放宽. 也使我们获得了低ALVARADO评分的临床最终诊断结果. 通过评估210例单孔腹腔镜探查获得最终确定诊断的患者的结果表明: ALVARADO评分系统对于急性阑尾炎的诊断有一定参考价值; 但7分以下仍然有一定的假阳性率, 应结合超声和CT检查进一步提高准确性和特异性.

■应用要点
经脐单孔腹腔镜技术早期探查, 减少了诊断和治疗的延误, 对于非阑尾炎急腹症不影响后续的外科治疗, 相信能够提高急腹症的准确诊断率和治愈率, 并将极大提高外科急腹症患者术后的生存质量.

表 1 改良Alvarado评分系统 (*n*)

项目/ 分值	有	无
转移性(右下腹)疼痛	1	0
纳差	1	0
呕吐	1	0
(右下腹)压痛	2	0
反跳痛	1	0
发热	1	0
白细胞增多	2	0
核左移	1	0
合计	10	0

Alvarado推荐: 总分: 3–4分 = 不能诊断阑尾炎; 5–6分 = 疑诊阑尾炎; ≥7分 = 确诊阑尾炎.

表 2 入组210患者的临床资料

项目	mean ± SD	中位数 (范围)
男/女比例	60∶40	
年龄(岁)	36.40 ± 16.13	33(16–75)
身体代谢指数(kg/m^2)	24.40 ± 6.45	24/(17–36)
入院前腹疼时间(h)	34.59 ± 27.80	24(8–120)
术前 WBC 计数(× 10E9/L, 正常值4–10)	12.57 ± 3.75	12.87(3.94–20.27)
术前 中性白细胞分类(%, 正常值50–70)	78.78 ± 10. 81	80.65(43.7–92.5)

95.8%(表3). 同期在急诊科就诊腹痛患者评分4分或4分以下有89例患者, 未入组行单孔腹腔镜探查, 这部分患者均在门诊治疗, 失访13例, 76 随访, 12 mo未有腹痛再次发作, 视为非阑尾炎患者.

196例急性阑尾炎, 其中170例经脐提出阑尾切除, 8例因阑尾系膜短行单孔腹腔内切除; 15例因为阑尾坏疽, 局部炎症重或腹膜后位阑尾, 需要耻骨上置入5 mm Trocar完成手术. 2例中转开腹. 手术时间平均为38.13 min±14.77 min, 术中出血平均为3.26 mL±6.18 mL, 病理: 急性化脓性阑尾炎79例, 单纯性阑尾炎54例, 阑尾穿孔15例, 坏疽性阑尾炎9例. 术后6 mo随访患者生活质量良好, 无腹疼、发热, 脐部伤口美容效果良好. ALVARADO评分与阑尾炎症的严重程度无关(表4).

14例非阑尾炎病例中, 3例女性盆腔感染经脐单孔行盆腹腔灌洗术后治愈出院, 2例为炎性肠病, 2例术中发现腹腔内有乳糜样积液, 其中1例为自发性乳糜腹膜炎, 经钛夹夹闭渗漏淋巴管和腹腔冲洗后治愈, 另1例为空肠系膜淋巴管

表 3 入组患者不同Alvarado评分与术后诊断结果 (*n*)

Alvarado评分	急性阑尾炎	非急性阑尾炎
9分或9分以上	99	2
7–8分	74	11
5–6分加阳性超声或CT结果	23	1
4分或4分以下	0[1]	76[1]

[1]4分或4分以下病例未行进一步的影像学检查和单孔腹腔镜探查, 76例随访12 mo无腹痛再发作, 视为非阑尾炎病例.

瘤, 中转开腹切除; 2例上消化道穿孔, 其中1例经脐单孔行修补术, 1例从右上腹置入5 mm Trocar完成修补术; 1例出血性小肠炎, 经脐提出行回肠切除空肠造瘘术; 1例卵巢囊肿蒂扭转, 经脐单孔行卵巢囊肿切除术, 1例阑尾黏液瘤, 1例回盲部癌分别行经脐单孔腹腔镜回盲部及右半结肠切除术. 1例因下腹局部肠粘连, 行经脐单孔行粘连松解术.

术后并发症: 有6例合并脐部浆液性溢液, 经7-14 d换药后愈合, 2例合并术后肠麻痹, 经胃肠减压和延迟进食1 wk内恢复. 术后随访12 mo, 所有患者均无脐切口疝(表5).

术后6 mo调查身体自我感知指数和美容指数分别为6.89±2.24和20.25±2.51(表6).

3 讨论

急性腹痛一直是临床常见的病症, 如阑尾炎、消化系穿孔、肠梗阻等, 其发病急, 病情变化快, 要求医生在短期内做出准确诊断和判断. 延误手术治疗将造成严重的后果. 但短期内准确定位病变器官非常困难. 过去行开腹手术, 需要很大的探查切口. 即使这样, 如果病灶远离切口的部位, 将造成手术的极大困难, 往往需要再做一个切口或做一个与该病极不相符的手术切口. 这也是临床医生决定急腹症手术时机困难的原因之一. 腹腔镜技术近年来发展很快, 电视清晰度的增高及越来越多专用器械得到发明, 使其在腹部外科领域的应用愈加广泛. 从循证医学和Meta分析表明, 对于有丰富经验的外科医师, 腹腔镜急腹症探查技术上是安全可行的[9]. 通过经脐单孔腹腔镜诊断性探查, 也使我们有机会进一步评价临床上的评分系统在诊断急性阑尾炎中的价值.

临床上有许多评分系统用来帮助临床医师诊断急性阑尾炎. 其中, Alvarado在1986年设计

■同行评价
文章研究内容切合临床, 资料翔实, 方法科学, 具有一定指导意义.

表 4 入组210例患者的术后诊断结果与Alvarado评分

	发病率*n*(%)	Alvarado评分	
		mean ± SD	中位数(范围)
单纯性阑尾炎	62(30)	7.17 ± 2.20	7(5–10)
化脓性阑尾炎	85(38)	8.10 ± 3.10	8(5–10)
阑尾穿孔	28(11)	8.85 ± 3.08	9(5–10)
坏疽性阑尾炎	21(10)	8.50 ± 3.40	8(5–10)
其他急腹症	14(6.6)		
盆腔感染	3	8、8、7	
溃疡病穿孔	2	8、7	
克罗恩氏病	2	8、7	
局限小肠粘连, 肠梗阻	1	7	
出血性小肠炎	1	7	
卵巢囊肿蒂扭转	1	7	
原发性乳糜性腹膜炎	1	8	
空肠系膜淋巴管瘤	1	7	
阑尾粘液瘤	1	9	
回盲部癌	1	9	
合计	210		

表 5 210例入组患者的手术结果

	mean ± SD	中位数(范围)
手术时间(min)	38.13 ± 14.77	35(15–95)
住院时间(d)	54.80 ± 31.99	42(24–144)
术后疼痛时间	3.17 ± 1.20	3(1–6)
术后并发症		
脐部浆液性溢液	3	
术后肠麻痹	2	

表 6 术后6 mo患者身体自我感知指数和美容指数

	经脐单孔腹腔镜探查
n	210
身体自我感知指数	
mean ± SD	6.89 ± 2.24
中位数(范围)	6(5–13)
美容指数	
mean ± SD	20.25 ± 2.51
中位数 (范围)	21(15–24)

了ALVARADO评分系统[3], 后来由Kalan等予以改良. 改良后的ALVARADO评分基于病史、体检及几个常用实验室检查设计的从0到10分的评分系统, 以便急腹症和急性阑尾炎的鉴别诊断. 理论上讲, 越高的ALVARADO评分, 阑尾炎的可能性越大, 越低的评分, 阑尾炎的可能性越小. 国内徐林等统计1637例阑尾切除患者[10], 评分>7分患者阴性阑尾切除率为6.2%, 远低于评分<7分患者(15.5%), 拟诊为急性阑尾炎同时评分≥7分的患者, 阳性预测率为93.8%. 我们结合经脐单孔腹腔镜探查技术, 再评估ALVARADO评分系统的价值.

在我们的病例中, ALVARADO评分9分以上, 准确率为98.1%, 但 7-8分的病例中, 有11例为其他疾病, 准确率为87.1%; 24例5-6分加阳性的超声或CT结果的患者, 23例为急性阑尾炎, 诊断准确率为95.8%. McKay和 Shepherd行 Meta分析了150篇文献[11], 其中ALVARADO评分3分以下的患者中, 约有5% CT检查证实为急性阑尾炎, 约有36%的患者ALVARADO评分4-6分, 最终证实为急性阑尾炎. ALVARADO评分7分或7分以上的患者中, 78%证实为急性阑尾炎, 仍然有22%的假阴性率. 作者的结论为ALVARADO评分3分以下, 可以不用进一步影像学检查; 评分4-6分之间推荐进一步影像学检查. 7分或7分以上的患者直接推荐外科手术治疗. Chan等另外一组患者的分析, ALVARADO评分5分以下者, 基本没有阑尾炎的患者[12]. 但Yildrim等报告ALVARADO评分1-4分而CT结果为阳性的患者中, 约72%最终被证实为阑尾炎. 因此, 推荐即使ALVARADO评分低的患者, 也应该再次行CT检查排除[13]. Gwynn报导143例最终确诊为阑尾炎的患者中, 12(8.4%) ALVARADO评分<5分[14]. 表明术前影像学检查的重要价值, 最近有多家报

导前瞻性研究中，CT检查可以将阴性阑尾切除率降低4%-8%[15,16].

我们的临床资料也表明, 对于ALVARADO评分低于9分的患者, 如果能够结合CT和B超等影像学检查, 将极大提高诊断准确率.

本组病例均为ALVARADO评分系统超过4分以上拟诊为阑尾炎的病例, 其中有14例术前无法确定、排除急性阑尾炎的病例, 通过腹腔镜探查得以明确诊断并得到及时治疗, 分别有: 上消化道穿孔、右侧卵巢囊肿蒂扭转、局限性小肠粘连、出血坏死性小肠炎, 并发现2例罕见的乳糜性腹膜炎. 对于盆腔感染, 通过腹腔镜引导下行腹腔灌洗和引流, 明显缩短病程, 减少术后不孕的机率. 我们的资料显示, 86%(12/14)的非阑尾炎外科急腹症可以通过经脐的单孔腹腔镜完成外科操作, 其余的病例也仅需要从其他部位加1-2个5 mm Trocar. 所有病例均得到及时的治疗而无严重并发症. 这些患者均未出现手术并发症, 全部治愈后康复出院. 证实经脐单孔腹腔镜探查的安全性和可行性. 经脐单孔腹腔镜下阑尾切除术, 在一组儿童病例中, 也被证明无论是在安全还是在经济角度, 优于常规腹腔镜下阑尾切除术[17].

诊断性腹腔镜探查是能够最终确证阑尾病变的手段, 最近的文献报道阴性切除率高达12%-18%[18], 本组患者中经脐单孔腹腔镜探查非阑尾病变为6.6%, 表明结合ALVARADO评分系统可以显著降低阴性探查率.

总之, ALVARADO评分系统对于急性阑尾炎的诊断有一定参考价值. 但仍然有一定的假阳性率. 应结合超声和CT检查进一步提高准确性和特异性. 必要时结合经脐单孔腹腔镜技术进行早期探查, 减少了诊断和治疗的延误, 即使非阑尾炎急腹症, 也不影响后续的外科治疗. 从本单位的经验和以上临床资料, 我们推荐ALVARADO评分9分以上者, 可以直接手术探查; 对于7-8分的患者行单孔腹腔镜探查, 4-6分的患者应结合B超和CT检查并动态观察.

4 参考文献

1 Macaluso CR, McNamara RM. Evaluation and management of acute abdominal pain in the emergency department. *Int J Gen Med* 2012; 5: 789-797 [PMID: 23055768 DOI: 10.2147/IJGM.S25936]

2 Howell JM, Eddy OL, Lukens TW, Thiessen ME, Weingart SD, Decker WW. Clinical policy: Critical issues in the evaluation and management of emergency department patients with suspected appendicitis. *Ann Emerg Med* 2010; 55: 71-116 [PMID: 20116016 DOI: 10.1016/j.annemergmed.2009.10.004]

3 Alvarado A. A practical score for the early diagnosis of acute appendicitis. *Ann Emerg Med* 1986; 15: 557-564 [PMID: 3963537 DOI: 10.1016/S0196-0644(86)80993-3]

4 Talwar S, Talwar R, Prasad P. Continuing diagnostic challenge of acute appendicitis: evaluation through modified alvarado score: comment. *Aust N Z J Surg* 1999; 69: 821-822 [PMID: 10553974 DOI: 10.1046/j.1440-1622.1999.01703.x]

5 Kalan M, Talbot D, Cunliffe WJ, Rich AJ. Evaluation of the modified Alvarado score in the diagnosis of acute appendicitis: a prospective study. *Ann R Coll Surg Engl* 1994; 76: 418-419 [PMID: 7702329]

6 Sauerland S, Agresta F, Bergamaschi R, Borzellino G, Budzynski A, Champault G, Fingerhut A, Isla A, Johansson M, Lundorff P, Navez B, Saad S, Neugebauer EA. Laparoscopy for abdominal emergencies: evidence-based guidelines of the European Association for Endoscopic Surgery. *Surg Endosc* 2006; 20: 14-29 [PMID: 16247571 DOI: 10.1007/s00464-005-0564-0]

7 李铎, 刘金洪, 康春博, 李爱民, 陈秀峰, 李旭斌, 林大鹏, 王立敏, 王佳慧. 经脐单孔腹腔镜急腹症探查术的单一中心回顾性分析. 中国微创外科杂志 2013, 13: 127-130

8 Dunker MS, Bemelman WA, Slors JF, van Duijvendijk P, Gouma DJ. Functional outcome, quality of life, body image, and cosmesis in patients after laparoscopic-assisted and conventional restorative proctocolectomy: a comparative study. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1800-1807 [PMID: 11742165 DOI: 10.1007/BF02234458]

9 Stefanidis D, Richardson WS, Chang L, Earle DB, Fanelli RD. The role of diagnostic laparoscopy for acute abdominal conditions: an evidence-based review. *Surg Endosc* 2009; 23: 16-23 [PMID: 18814014 DOI: 10.1007/s00464-008-0103-x]

10 徐林, 邵永胜, 彭开勤, 许涛, 张应天. 改良ALVARADO评分对急性阑尾炎的诊断价值分析. 临床外科杂志 2011; 19: 244-245

11 McKay R, Shepherd J. The use of the clinical scoring system by Alvarado in the decision to perform computed tomography for acute appendicitis in the ED. *Am J Emerg Med* 2007; 25: 489-493 [PMID: 17543650 DOI: 10.1016/j.ajem.2006.08.020]

12 Chan MY, Tan C, Chiu MT, Ng YY. Alvarado score: an admission criterion in patients with right iliac fossa pain. *Surgeon* 2003; 1: 39-41 [PMID: 15568423 DOI: 10.1016/S1479-666X(03)80007-0]

13 Yildirim E, Karagülle E, Kirbaş I, Türk E, Hasdoğan B, Tekşam M, Coşkun M. Alvarado scores and pain onset in relation to multislice CT findings in acute appendicitis. *Diagn Interv Radiol* 2008; 14: 14-18 [PMID: 18306139]

14 Gwynn LK. The diagnosis of acute appendicitis: clinical assessment versus computed tomography evaluation. *J Emerg Med* 2001; 21: 119-123 [PMID: 11489398]

15 Pickhardt PJ, Lawrence EM, Pooler BD, Bruce RJ. Diagnostic performance of multidetector computed tomography for suspected acute appendicitis. *Ann Intern Med* 2011; 154: 789-796, W-291 [PMID: 21690593 DOI: 10.7326/0003-4819-154-12-201106210-00006]

16 Kim K, Kim YH, Kim SY, Kim S, Lee YJ, Kim KP,

Lee HS, Ahn S, Kim T, Hwang SS, Song KJ, Kang SB, Kim DW, Park SH, Lee KH. Low-dose abdominal CT for evaluating suspected appendicitis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1596-1605 [PMID: 22533576 DOI: 10.1056/NEJMoa1110734]

17 Visnjic S. Transumbilical laparoscopically assisted appendectomy in children: high-tech low-budget surgery. *Surg Endosc* 2008; 22: 1667-1671 [PMID: 18074182]

18 Hamminga JT, Hofker HS, Broens PM, Kluin PM, Heineman E, Haveman JW. Evaluation of the appendix during diagnostic laparoscopy, the laparoscopic appendicitis score: a pilot study. *Surg Endosc* 2013; 27: 1594-1600 [PMID: 23073690]

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10月8日; 21(28): 3030-3036
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的Meta分析

叶春翠, 谭诗云, 王 军, 李 明, 张 军, 孙 朋

■背景资料
结直肠癌是人类常见的恶性肿瘤, 目前其病因及发病机制尚不明确, 其发生可能与环境及饮食习惯、感染等多种因素相关. 脂联素的功能基因多态性可能影响脂类代谢、肥胖等, 最终改变其罹患结直肠癌的风险.

叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
叶春翠, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
叶春翠, 主要从事消化系肿瘤的防治.
作者贡献分布: 此课题由谭诗云设计; 叶春翠与孙朋负责资料收集、分析研究; 数据分析由李明与张军完成; 本论文写作由叶春翠与王军完成; 谭诗云审阅.
通讯作者: 谭诗云, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路238号, 武汉大学人民医院消化内科. tanshiyun@medmail.com.cn
收稿日期: 2013-06-08 修回日期: 2013-08-10
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-08

Association between adiponectin gene polymorphisms and risk of colorectal cancer: A Meta-analysis

Chun-Cui Ye, Shi-Yun Tan, Jun Wang, Ming Li, Jun Zhang, Peng Sun

Chun-Cui Ye, Shi-Yun Tan, Jun Wang, Ming Li, Jun Zhang, Peng Sun, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Correspondence to: Shi-Yun Tan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, 238 Jiefang Road, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. tanshiyun@medmail.com.cn
Received: 2013-06-08 Revised: 2013-08-10
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To investigate the association between adiponectin (ADIPOQ) gene polymorphisms and risk of colorectal cancer (CRC).

METHODS: All eligible case-control studies published up to March 2013 were identified by searching PubMed, Web of Science, CNKI, Wanfang and VIP. Effect sizes of odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95%CI) were calculated by using a fixed- or random-effect model.

RESULTS: A total of 9 case-control studies were included. There were eight studies (2024 cases and 2777 controls) for rs1501299G/T polymorphism, five studies (1401 cases and 1691 controls) for rs2241766T/G polymorphism and five studies (2945 cases and 3361 controls) for rs266729C/G polymorphism. Overall, a significant association was observed for rs2241766T/G polymorphism under heterozygote comparison (TG *vs* TT: OR = 1.22, 95%CI: 1.05-1.43), while there was no significant association for rs2241766 polymorphism under other genetic models, and for other two polymorphisms under all genetic models.

CONCLUSION: Our meta-analysis indicates that adiponectin rs2241766T/G polymorphism, rather than rs1501299G/T and rs266729C/G polymorphisms, is associated with the risk of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Adiponectin; Colorectal cancer; Polymorphism; Meta-analysis

Ye CC, Tan SY, Wang J, Li M, Zhang J, Sun P. Association between adiponectin gene polymorphisms and risk of colorectal cancer: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3030-3036 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3030.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3030

摘要

目的: 探讨脂联素rs1501299G/T、rs2241766T/G、rs266729C/G基因多态性与结直肠癌风险的相关性.

方法: 计算机检索PubMed、Web of Science、中国知网(CNKI)、万方、维普数据库, 检索时间建库截至2013-03, 收集关于脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的病例对照研究. 由2名评价者按照纳入和排除标准独立选择文献、提取资料、评价质量, 采用RevMan5.1和Stata12.0软件进行Meta分析.

结果: 最终纳入9个病例-对照研究, 其中rs1501299G/T基因多态性相关文献7篇(包括8项研究), 共有2024例结肠癌患者, 2777

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

名对照组; rs2241766T/G基因多态性相关文献5篇, 共有1401例结肠癌患者, 1691例对照组; rs266729C/G基因多态性相关文献5篇, 共有2945例结肠癌患者, 3361例对照组. rs2241766T/G基因多态性与结直肠癌关联性的研究中, 在TG *vs* TT遗传模型, 该位点的基因多态性与结直肠癌的易感性有关联(OR = 1.22, 95%CI: 1.05-1.43). 而在其他两种基因多态性的研究中, 四种遗传模型均未发现存在相关性.

结论: 脂联素rs2241766T/G基因多态性与结直肠癌发病的风险有关, 而rs1501299G/T, rs266729C/G基因多态性与结直肠癌易感性无明显关联.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 脂联素; 结直肠癌; 基因多态性; Meta分析

核心提示: 相同的基因位点, 不同的研究结论可能与样本量大小、环境因素及种族遗传变异有关. 本文将脂联素3个常见位点(rs1501299G/T, rs2241766T/G, rs266729C/G)与结直肠癌的功能基因多态性文章进行荟萃分析,为以后的科研和临床研究提供一定的思路.

叶春翠, 谭诗云, 王军, 李明, 张军, 孙朋. 脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3030-3036 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3030.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3030

0 引言

结直肠癌是常见的消化系肿瘤之一, 全球范围内, 分别居男性发病率和死亡率的第3和第4位; 居女性的第2和第3位, 且呈逐年上升趋势[1]. 流行病学研究发现, 肥胖、胰岛素抵抗等因素及遗传和环境因素的交互作用在结直肠癌发病机制中起重要作用[2,3].

脂联素是脂肪组织特异性细胞因子, 在调节胰岛素敏感性、葡萄糖平衡和脂类代谢等起重要作用[4], 血浆脂联素下降水平与肥胖、2型糖尿病和冠状动脉疾病有关[5]. 此外, 在结直肠癌患者中也发现脂联素水平降低, 提示脂联素与结直肠癌的发病有关. 编码脂联素的基因(ADIPOQ), *Adiponectin*位于染色体3q27上, 包含3个外显子和2个内含子[6]. 脂联素基因基因多态性与结直肠癌风险的相关性已被大量研究, 其中3个多态性位点研究较多: 位于内含子区的rs1501299(+276G>T), 位于外显子区的rs2241766(+45T>G)和位于5'末端的rs266729(-11365C>G), 然而结论不尽相同[7-15]. 本研究综合评价不同人群脂联素基因中3个基因多态性与结直肠癌风险性的关系.

■研究前沿
脂联素作为脂肪组织特异性的细胞因子, 在调节胰岛素敏感性、脂类代谢等方面起重要作用, 研究证实其与肥胖、2型糖尿病等疾病密切相关.

1 材料和方法

1.1 材料 文献检索英文以adiponectin、ADIPOQ、APM1、genetic polymorphism、polymorphisms、variant、colorectal cancer、carcinoma为搜索关键词, 搜索Pubmed、Web of Science等数据库; 中文以脂联素、ADIPOQ、APM1、基因多态性、结直肠癌为搜索关键词, 搜索中国知网(CNKI)、万方、维普等数据库, 检索时间均为建库至2013-03, 无语种限制. 同时辅以文献追溯.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)关于脂联素基因多态性与结直肠癌易感性关系的研究; (2)为病例-对照研究; (3)文献中数据完整, 或者能直接或间接提供统计指标OR及95%CI.

1.2.2 排除标准: (1)单纯病例研究、病例报道、综述、评论等文献; (2)重复发表且信息不全的文献; (3)研究对象不是人类.

1.2.3 资料提取: 由两位研究者独立进行文献筛选和资料提取, 意见不一致时通过讨论解决或由第三位研究者协助解决. 资料提取内容包括: 作者、发表年份、国家、种族、调查组和对照组总数及各基因型分布情况、以及对照组H-W平衡检验值(*P*值)(*P*<0.05认为不符合H-W平衡规律), 如表1.

统计学处理 采用Cochrane协作网的RevMan5.1和Stata12.0软件进行分析. 合并效应量选用比值比(OR)及其95%CI. 对纳入研究进行异质性检验(采用Q检验和I^2统计量)[16], 如*P*>0.1或I^2<50%提示各研究间无异质性, 采用固定效应模型进行合并分析[17], 反之则采用随机效应模型[18]. 敏感性分析为依次排除单个文献后重新进行Meta分析, 估计综合效应大小. 发表偏倚通过Begg秩相关法[19]、Egger回归法[20]进行量化检测(*P*<0.05认为存在发表偏倚). 利用在线软件(http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl)进行Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡的计算, 检验水准 0.05.

2 结果

2.1 文献检索结果 通过检索共找到相关文献71

■相关报道

An等的1篇关于脂联素水平与结直肠癌及腺瘤风险Meta分析, 纳入了2632例结肠癌患者和2753例对照, 结果显示在结肠癌患者中脂联素水平较对照组低, 提示脂联素可能是结直肠癌的一个保护因素.

表 1 纳入文献的基本情况(*n*)

文献	年份	国家	种族	病例组			对照组			P_{HWE}
				野生纯合子	杂合子	突变纯合子	野生纯合子	杂合子	突变纯合子	
rs1501299G/T				GG	GT	TT	GG	GT	TT	
Al-Harithy等[7]	2012	沙特阿拉伯	亚洲人	55	5[a]		58	2[a]		NA
He等[9]	2011	中国	亚洲人	220	160	40	265	224	66	0.08
Kaklamani等[10]	2008	美国	白种人	208	180	45	285	293	58	0.16
Keku等[11]	2012	美国	白种人	122	106	27	223	204	36	0.25
Keku等[11]	2012	美国	非裔美国人	78	94	19	116	119	41	0.25
Partida-Perez等[12]	2010	墨西哥	白种人	51	40	3	30	25	3	0.44
Tsilidis等[14]	2009	美国	白种人	96	86	19	198	134	27	0.51
张颖等[15]	2012	中国	亚洲人	196	139	35	174	152	44	0.23
rs2241766T/G				TT	TG	GG	TT	TG	GG	
Al-Harithy等[7]	2012	沙特阿拉伯	亚洲人	40	20[a]		27	33[a]		NA
He等[9]	2011	中国	亚洲人	190	193	37	278	238	39	0.21
Kaklamani等[10]	2008	美国	白种人	279	141	20	435	172	41	<0.01
Partida-Perez等[12]	2010	墨西哥	白种人	74	34	3	42	16	0	0.22
张颖等[15]	2012	中国	亚洲人	167	172	31	186	158	26	0.33
rs266729C/G				CC	CG	GG	CC	CG	GG	
Gornick等[8]	2011	以色列	亚洲人	576	486[a]		588	474[a]		NA
He等[9]	2011	中国	亚洲人	173	205	42	243	261	51	0.11
Kaklamani等[10]	2008	美国	白种人	244	163	27	340	271	47	0.48
Pechlivanis等[13]	2009	捷克	白种人	366	238	55	373	278	65	0.21
张颖等[15]	2012	中国	亚洲人	146	185	39	162	172	36	0.32

P_{HWE}: H-W平衡检验值; [a]杂合子和突变纯合子频数之和; NA: 无法获取.

篇. 经仔细阅读文题和摘要, 排除62篇, 初纳入9篇文献, 其中Keku等[11]研究包含两个独立的研究, 合并分析时视为2个研究. 有7篇文献(包括8项研究)[7,9-12,14,15]涉及rs1501299G/T基因多态性, 包括2024例患者和2777例对照; 5篇文献[7,9,10,12,15]涉及rs2241766T/G基因多态性, 包括1401例患者和1691例对照; 5篇文献[8-10,13,15]涉及rs266729C/G基因多态性, 包括2945例患者和3361例对照. 除3篇文献[7,8,10]外其余均符合H-W平衡.

2.2 Meta分析结果

2.2.1 rs1501299G/T多态性: 8项研究合并结果显示, 在4种遗传模型中, rs1501299G/T基因多态性与结直肠癌易感性均无明显关联(显性模型: OR = 0.94, 95%CI: 0.83-1.05, *P* = 0.27; 隐性模型: OR = 0.94, 95%CI: 0.77-1.15, *P* = 0.26; GT *vs* GG: OR = 0.94, 95%CI: 0.83-1.06, *P* = 0.36; TT *vs* GG: OR = 0.92, 95%CI: 0.75-1.12, *P* = 0.25)(图1, 表2).

2.2.2 rs2241766T/G多态性: 5项研究结果显示, 在TG/TT模型中, 与结直肠癌风险性有显著关系(TG *vs* TT: OR = 1.22, 95%CI: 1.05-1.43, *P* = 0.98)(图2), 而在其他基因模型中未发现有关系, (显性模型: OR = 1.12, 95%CI: 0.89-1.40, *P* = 0.09; 隐性模型: OR = 1.07, 95%CI: 0.80-1.43, *P* = 0.30; GG *vs* TT: OR = 1.16, 95%CI: 0.86-1.56, *P* = 0.31)(图1, 表2).

2.2.3 rs266729C/G多态性: 5项研究合并结果发现, 该位点基因多态性与结直肠癌风险性无明显关联(显性模型: OR = 0.99, 95%CI: 0.90-1.09, *P* = 0.19; 隐性模型: OR = 0.98, 95%CI: 0.79-1.22, *P* = 0.83; CG *vs* CC: OR = 0.96, 95%CI: 0.85-1.10, *P* = 0.19; GG *vs* CC: OR = 0.98, 95%CI: 0.78-1.22, *P* = 0.53)(图1, 表2).

2.3 敏感性分析 依次剔除1篇文献后, 评估结果的稳定性, 对rs2241766T/G多态性, 剔除Al-Harithy等[7]文献后, 研究间异质性消失; 而对其他2个基因多态性, 依次剔除1篇文献后, OR值无明显改变, 证明我们的结果是可靠的(图2).

2.4 发表偏倚分析 用Begg漏斗图和Egger's检验文献潜在发表偏倚. Begg漏斗图结果显示未见发表偏倚, Egger's检验在显性模型中也未发现有偏倚(rs1501299G/T: *P* = 0.095, rs2241766T/G: *P* = 0.316, rs266729C/G: *P* = 0.952)(图3).

表 2 脂联素基因多态性与结直肠癌关联研究的Meta分析结果

单核苷酸多态性	文献数量	显性遗传		隐性遗传		杂合子vs野生纯合子		突变纯合子vs野生纯合子	
		OR(95%CI)	P_h	OR(95%CI)	P_h	OR(95%CI)	P_h	OR(95%CI)	P_h
rs1501299G/T	8	0.94[0.83–1.05]	0.27	0.94[0.77–1.15]	0.26	0.94[0.83–1.06]	0.36	0.92[0.75–1.12]	0.25
rs2241766T/G	5	1.12[0.89–1.40]	0.09[a]	1.07[0.80–1.43]	0.30	1.22[1.05–1.43]	0.98	1.16[0.86–1.56]	0.31
rs266729C/G	5	0.99[0.90–1.09]	0.19	0.98[0.79–1.22]	0.83	0.96[0.85–1.10]	0.19	0.98[0.78–1.22]	0.53

P_h: 异质性检验; [a]P_h<0.1选用随机效应模型, 否则选用固定效应模型.

■创新盘点

近年来, 有大量关于脂联素基因多态性与结直肠癌患者易感性的关系的研究, 但结论不一, 所以本文就此进行研究, 分析脂联素基因多态性与结直肠癌易感性的关系.

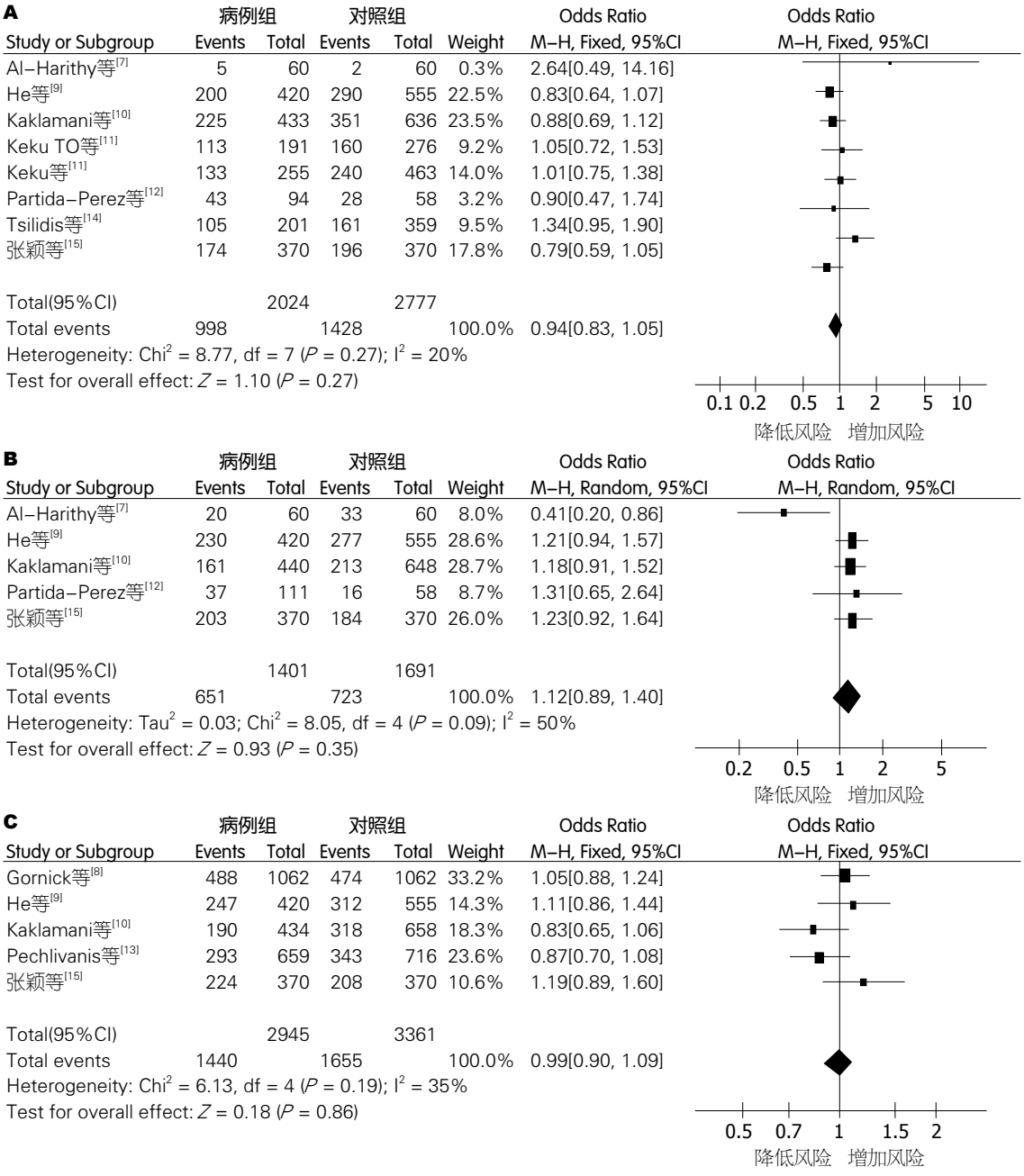


图 1 脂联素基因多态性与结直肠癌风险相关性的Meta分析(显性模型). A: rs1501299G/T; B: rs2241766T/G; C: rs266729C/G.

3 讨论

脂联素是脂肪组织特异性分泌的一种内源性蛋白质. 1995年, 由Scherer等[21]首次发现. 近年来, 大量研究发现脂联素水平降低可能参与结直肠癌的发生, 发展过程. 然而其具体作用机制尚不明确, 目前多数学者认为可能通过直接(抑制

■同行评价
本文设计科学合理，分析客观，统计合理，结论可靠，有一定的临床指导意义.

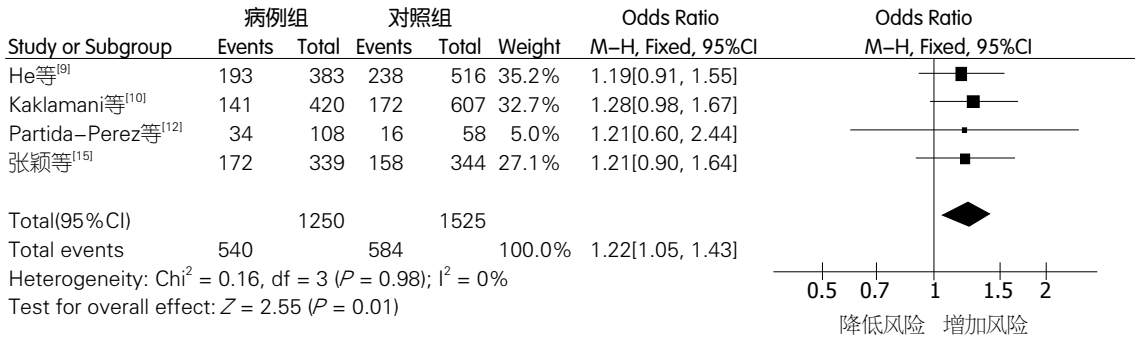


图 2 脂联素rs2241766T/G基因多态性与结直肠癌风险相关性的Meta分析. TG *vs* TT遗传模型.

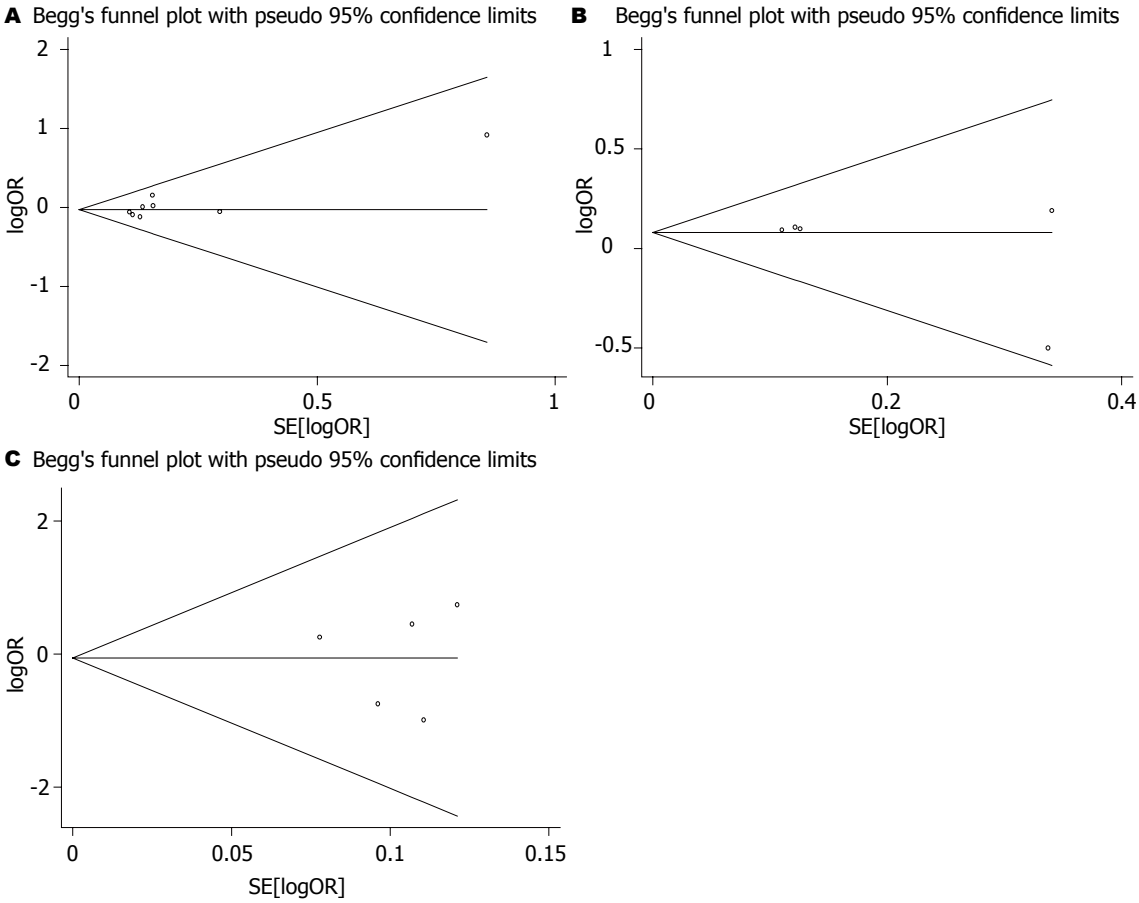


图 3 Egger's线性回归模型漏斗图(显性模型). A: rs1501299G/T; B: rs2241766T/G; C: rs266729C/G.

肿瘤细胞增殖)[22]和间接作用(调节胰岛素抵抗，肥胖、抑制肿瘤血管生成等)[23,24]来发挥作用. 2012年, An等[25]发表的一篇关于脂联素水平与结直肠癌及腺瘤风险Meta分析显示, 在肿瘤患者中脂联素水平较对照组低, 也提示脂联素可能是结直肠癌的一个保护因素.

本研究共纳入9篇文献, 选取了脂联素基因3个常见位点(rs1501299G/T, rs2241766T/G, rs266729C/G)进行评估, 合并结果显示, 仅在TG *vs* TT遗传模型中, rs2241766T/G多态性与结直肠癌风险性显著相关, 而其他两个位点基因多态性与结直肠癌易感性之间无明显关联. 这种现象可能与不同基因位点所起的作用不同有关. 另外, 结肠癌的发生是个多因素、多步骤发展的过程, 其中可能涉及基因-基因, 基因-环境相互作用等多种因素的作用, 而这些因素可能会影响脂联素基因多态性与结直肠癌的发病风险. 异质性在基因相关的Meta分析中比较常见, 其也是影响结果可靠性的重要因素之一[26], 本研究中, 在显性模型rs2241766T/G 多态性发现存在

异质性, 当剔除Al-Harithy等文献后, 研究间异质性消失, 提示该研究可能是异质性的来源. 而对其他2个基因多态性, OR值变化微乎其微, 通过Begg漏斗图和Egger检验评估发表偏倚, 未发现有发表偏倚, 说明结论较可靠.

本文存在一定的局限性: (1)纳入的文献较少, 且有3篇文献不满足H-W平衡, 结论的可靠性有待进一步验证; (2)纳入的文献均为正式发表的文献, 仍有发表偏倚的可能. (3)未考虑年龄、性别、体重及其他基因相互因素.

总之, 脂联素 rs2241766T/G与结直肠癌发生风险性存在相关性, 然而, 受研究数量的限制, 以上结论尚需更多设计严谨、样本量大的高质量研究加以证实.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997; 278: 1043-1050 [PMID: 9353177 DOI: 10.1126/science.278.5340.1043]

3 Risch N. The genetic epidemiology of cancer: interpreting family and twin studies and their implications for molecular genetic approaches. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 733-741 [PMID: 11440958]

4 Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46: 459-469 [PMID: 12687327]

5 Yang WS, Chuang LM. Human genetics of adiponectin in the metabolic syndrome. *J Mol Med* (Berl) 2006; 84: 112-121 [PMID: 16389553 DOI: 10.1007/s00109-005-0011-7]

6 Gialamas SP, Petridou ET, Tseleni-Balafouta S, Spyridopoulos TN, Matsoukis IL, Kondi-Pafiti A, Zografos G, Mantzoros CS. Serum adiponectin levels and tissue expression of adiponectin receptors are associated with risk, stage, and grade of colorectal cancer. *Metabolism* 2011; 60: 1530-1538 [PMID: 21632074 DOI: 10.1016/j.metabol.2011.03.020]

7 Al Khaldi RM, Al Mulla F, Al Awadhi S, Kapila K, Mojiminiyi OA. Associations of single nucleotide polymorphisms in the adiponectin gene with adiponectin levels and cardio-metabolic risk factors in patients with cancer. *Dis Markers* 2011; 30: 197-212 [PMID: 21694446 DOI: 10.1155/2011/832165]

8 Gornick MC, Rennert G, Moreno V, Gruber SB. Adiponectin gene and risk of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 562-564 [PMID: 21829206 DOI: 10.1038/bjc.2011.259]

9 He B, Pan Y, Zhang Y, Bao Q, Chen L, Nie Z, Gu L, Xu Y, Wang S. Effects of genetic variations in the adiponectin pathway genes on the risk of colorectal cancer in the Chinese population. *BMC Med Genet* 2011; 12: 94 [PMID: 21749709 DOI: 10.1186/1471-2350-12-94]

10 Kaklamani VG, Wisinski KB, Sadim M, Gulden C, Do A, Offit K, Baron JA, Ahsan H, Mantzoros C, Pasche B. Variants of the adiponectin (ADIPOQ) and adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) genes and colorectal cancer risk. *JAMA* 2008; 300: 1523-1531 [PMID: 18827209 DOI: 10.1001/jama.300.13.1523]

11 Keku TO, Vidal A, Oliver S, Hoyo C, Hall IJ, Omofoye O, McDoom M, Worley K, Galanko J, Sandler RS, Millikan R. Genetic variants in IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, and adiponectin genes and colon cancer risk in African Americans and Whites. *Cancer Causes Control* 2012; 23: 1127-1138 [PMID: 22565227 DOI: 10.1007/s10552-012-9981-2]

12 Partida-Pérez M, de la Luz Ayala-Madrigal M, Peregrina-Sandoval J, Macías-Gómez N, Moreno-Ortiz J, Leal-Ugarte E, Cárdenas-Meza M, Centeno-Flores M, Maciel-Gutiérrez V, Cabrales E, Cervantes-Ortiz S, Gutiérrez-Angulo M. Association of LEP and ADIPOQ common variants with colorectal cancer in Mexican patients. *Cancer Biomark* 2010; 7: 117-121 [PMID: 21263187]

13 Pechlivanis S, Bermejo JL, Pardini B, Naccarati A, Vodickova L, Novotny J, Hemminki K, Vodicka P, Försti A. Genetic variation in adipokine genes and risk of colorectal cancer. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 933-940 [PMID: 19273568 DOI: 10.1530/EJE-09-0039]

14 Tsilidis KK, Helzlsouer KJ, Smith MW, Grinberg V, Hoffman-Bolton J, Clipp SL, Visvanathan K, Platz EA. Association of common polymorphisms in IL10, and in other genes related to inflammatory response and obesity with colorectal cancer. *Cancer Causes Control* 2009; 20: 1739-1751 [PMID: 19760027 DOI: 10.1007/s10552-009-9427-7]

15 张颖, 冯全林, 刘长明, 狄荣科. 脂联素及其受体基因多态性与结直肠癌发生的相关性研究. 江苏大学学报(医学版) 2012; 22: 336-341

16 Lau J, Ioannidis JP, Schmid CH. Quantitative synthesis in systematic reviews. *Ann Intern Med* 1997; 127: 820-826 [PMID: 9382404 DOI: 10.7326/0003-4819-127-9-199711010-00008]

17 Mantel N, Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst* 1959; 22: 719-748 [PMID: 13655060]

18 DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-188 [PMID: 3802833 DOI: 10.1016/0197-2456(86)90046-2]

19 Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990 DOI: 10.2307/2533446]

20 Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563 DOI: 10.1136/bmj.315.7109.629]

21 Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 26746-26749 [PMID: 7592907 DOI: 10.1074/jbc.270.45.26746]

22 Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS. Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: s858-s866 [PMID: 18265479]

23 Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki

H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8: 1288-1295 [PMID: 12368907 DOI: 10.1038/nm788]

24 Bråkenhielm E, Veitonmäki N, Cao R, Kihara S, Matsuzawa Y, Zhivotovsky B, Funahashi T, Cao Y. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2476-2481 [PMID: 14983034 DOI: 10.1073/pnas.0308671100]

25 An W, Bai Y, Deng SX, Gao J, Ben QW, Cai QC, Zhang HG, Li ZS. Adiponectin levels in patients with colorectal cancer and adenoma: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev* 2012; 21: 126-133 [PMID: 21960184 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e32834c9b55]

26 Boccia S, De Feo E, Gallì P, Gianfagna F, Amore R, Ricciardi G. A systematic review evaluating the methodological aspects of meta-analyses of genetic association studies in cancer research. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 765-775 [PMID: 20830507]

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10月8日; 21(28): 3037-3040
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

不同疗程益生菌根除幽门螺杆菌的疗效

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕

罗宜辉, 刘代华, 潘美云, 练海燕, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006
罗宜辉, 主治医师, 主要从事消化内镜及幽门螺杆菌防治工作.
作者贡献分布: 此课题由罗宜辉设计; 病例收集由罗宜辉、潘美云及练海燕操作完成; 数据分析和论文修改由刘代华完成; 本论文写作由罗宜辉完成.
通讯作者: 罗宜辉, 主治医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科2病区.
lyh145@aliyun.com
电话: 0772-2662769
收稿日期: 2013-06-22 修回日期: 2013-07-18
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-08

Efficacy of different durations of probiotic therapy in *Helicobacter pylori* eradication

Yi-Hui Luo, Dai-Hua Liu, Mei-Yun Pan, Hai-Yan Lian

Yi-Hui Luo, Dai-Hua Liu, Mei-Yun Pan, Hai-Yan Lian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: Yi-Hui Luo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, 8 Wengchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyh145@aliyun.com
Received: 2013-06-22 Revised: 2013-07-18
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-08

Abstract

AIM: To observe the clinical efficacy of different durations of therapy with composite lactobacillus capsules in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication.

METHODS: Two hundred *H. pylori*-positive patients with chronic gastritis or peptic ulcer were randomly divided into a control group, a short course group, a middle course group and a long course group. The control group underwent standard triple therapy (raberazole, clarithromycin and amoxicillin for 7 d). Composite lactobacillus capsules were additionally given to the short course group, middle course group and long course group for 1, 2, and 4 wk on the basis of standard triple therapy, respectively. The ^{14}C urea breath test was performed 4 wk after all drugs were stopped. The rate of *H. pylori* eradication and safety were evaluated.

RESULTS: In total, 195 patients completed the treatment and follow-up according to the experimental design. There was no difference in the rate of *H. pylori* eradication between the short course group and control group (64.0% *vs* 62.5%, $P > 0.05$). The eradication rate was significantly higher in the middle course group and long course group than in the control group (83.7%, 85.4% *vs* 62.5%, both $P < 0.05$), but there was no significant difference between the middle course group and long course group. Adverse reactions were slight in all the groups, and there was no significant difference in the rate of adverse reactions between different groups.

CONCLUSION: Composite lactobacillus capsules with triple therapy can improve the rate of *H. pylori* eradication. Two weeks is the best course of treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Composite lactobacillus capsules; Raberazole; Clarithromycin; Amoxicillin; *Helicobacter pylori*

Luo YH, Liu DH, Pan MY, Lian HY. Efficacy of different durations of probiotic therapy in *Helicobacter pylori* eradication. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(28): 3037-3040 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3037.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3037

摘要

目的: 探讨不同疗程复合乳酸菌胶囊对根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)疗效的影响.

方法: *H. pylori*阳性的慢性胃炎、消化性溃疡患者200例, 分为对照组、短疗程组、中疗程组、长疗程组, 每组50例. 对照组予雷贝拉唑、克拉霉素、阿莫西林三联治疗7 d; 短疗程组、中疗程组、长疗程组在上述标准三联、7 d疗法开始治疗的同时分别加用复合乳酸菌胶囊, 分别服用1、2、4 wk. 停用复合乳酸菌胶囊4 wk后复查*H. pylori*, 比较各组的*H. pylori*根除率、药物不良反应发生率.

■背景资料
目前标准幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)根除疗法的根除率不断下降, 寻找新的治疗药物及方案是目前研究的热点. 益生菌在*H. pylori*根除治疗中的作用备受关注, 本研究采用复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法根除*H. pylori*, 初步探讨复合乳酸菌胶囊在根除*H. pylori*中疗效及最佳疗程.

■同行评议者
杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

■研发前沿
益生菌在*H. pylori*根除治疗中的应用尚存在诸多疑问，选择何种益生菌、何时开始给药、最佳疗程等问题均待进一步研究.

结果：共195例按试验设计完成治疗和随访. 短疗程组*H. pylori*根除率(64.0%)与对照组(62.5%)无显著差异(P>0.05)，中疗程组(83.7%)、长疗程组(85.4%)根除率均高于对照组，差异有统计学意义(P<0.05). 中疗程组根除率略低于长疗程组，但差异无统计学意义. 各组不良反应发生率均较低且差异无显著性.

结论：联用复合乳酸菌胶囊能显著提高*H. pylori*根除率，2 wk左右的疗程为最佳的选择.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：复合乳酸菌胶囊；雷贝拉唑；克林霉素；阿莫西林；幽门螺杆菌

核心提示：复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法能显著提高幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)根除率，而2 wk左右的疗程可能是复合乳酸菌胶囊的最佳选择，进一步延长疗程无助于提高根除率，但可能对减少药物不良反应有一定价值.

罗宜辉，刘代华，潘美云，练海燕. 不同疗程益生菌根除幽门螺杆菌的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(28): 3037-3040 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3037.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i28.3037

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*，*H. pylori*)感染是慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤和胃癌等疾病的主要致病因素[1]，彻底根除*H. pylori*对上述疾病的治疗有重要价值. 目前标准根除疗法的根除率不断下降，且标准根除疗法中包含的抗生素长期使用可引起胃肠功能紊乱及胃肠道菌群失调等不良反应[2]，寻找新的治疗药物及方案是目前研究的热点. 近年益生菌在*H. pylori*根除治疗中的作用日益受到关注，关于益生菌在*H. pylori*根除治疗中的疗程选择未见有文献报道，本研究采用不同疗程的复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法根除*H. pylori*，初步探讨复合乳酸菌胶囊在根除*H. pylori*中疗效及最佳疗程.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究经我院伦理会员会讨论同意，所有患者签署知情同意书. 选取2011-06/2013-01在我院门诊就诊的、*H. pylori*阳性的慢性胃炎、消化性溃疡患者共计200例. 按年龄、性别和诊断分组，每组50例，分为对照组、短疗程组、中疗程组、长疗程组.

1.2 方法

1.2.1 入选标准：经胃镜证实为活动性胃、十二指肠溃疡、慢性非萎缩性胃炎伴糜烂；年龄为18-60岁；快速尿素酶试验、^{14}C尿素呼气试验两项检查均为阳性者；无*H. pylori*根除治疗史.

1.2.2 病例剔除标准：恶性溃疡或疑为恶性溃疡者；4 wk内用过抗生素、铋剂，2 wk内用过质子泵抑制剂或H2受体拮抗剂；有严重心、肝、肾疾病及恶性肿瘤者；妊娠或哺乳期妇女；出现溃疡并发症者如幽门梗阻、出血、穿孔；合并其他疾病目前正服药治疗患者.

1.2.3 终止试验标准：患者病情恶化改变治疗方案；治疗期间出现其他严重疾病无法坚持治疗或需要服用其他药物患者；未在随访窗内(复查需在停用所有药物后4 wk±1 wk内)接受随访患者；自动退出试验患者.

1.2.4 治疗及疗效评价：对照组予雷贝拉唑20 mg/d、克拉霉素1 g/d、阿莫西林2 g/d，上述药物均分2次/d口服，疗程1 wk；短疗程组、中疗程组、长疗程组在给予上述标准三联、7 d疗法的基础上，分别从治疗的第1天起开始加用复合乳酸菌胶囊，疗程分别为1、2、4 wk，复合乳酸菌胶囊(0.33 g/粒，批号：130407，商品名：聚克，江苏美通制药有限公司生产. 每粒含活乳酸菌总数不少于2万个，主要包含乳酸乳杆菌、嗜酸乳杆菌和乳酸链球菌)0.66 g/次，口服，3次/d，与抗生素间隔3 h服用. 用药期间每周随访1次，记录药物不良反应. 各组均在复合乳酸菌胶囊停药4 wk后，做^{14}C尿素呼气试验，^{14}C尿素呼气试验阴性判定为*H. pylori*根除成功.

1.2.5 ^{14}C尿素呼气试验：采用尿素^{14}C呼气试验药盒、HUBT-01型*H. pylori*测试仪(均由深圳市中核海得威生物科技有限公司生产)，受试者禁食6 h以上，受试前漱口，用约20 mL凉饮用水送服尿素^{14}C胶囊一粒后，静坐25 min后，开启CO_2集气剂，插入洁净的有防倒流装置的气体导管，导管下端浸入集气剂液内，受试者通过导管吹气. 当CO_2集气剂由紫红色变为无色时停止吹气(约1-3 min)，若超过3 min褪色不全，亦停止吹气.经HUBT-01型*H. pylori*测试仪检测，≥150 dpm为阳性.

1.2.6 快速尿素酶试验：采用*H. pylori*快速检测试剂盒(尿素酶试剂盒)(福建三明市安信生物技术有限公司，批号：20110801). 取出微孔药条，滴加1-2滴反应液至药膜完全溶解(呈黄或亮黄色)，用已灭菌的牙签挑取胃镜取出的胃黏膜置于药

表 1 基本人口学资料 (*n*)

基本资料	对照组	短疗程组	中疗程组	长疗程组
性别				
男	24	25	25	25
女	24	25	24	23
年龄(岁)				
18–34	15	17	15	14
35–44	15	16	17	17
45–60	18	17	17	17
吸烟史(年)				
≥10	7	6	5	5
1–9	4	2	3	5
无吸烟史	37	42	41	38
胃镜诊断				
活动性胃溃疡	7	8	10	12
活动性十二指肠溃疡	10	8	9	8
慢性非萎缩性胃炎伴糜烂	31	34	30	28
合计	48	50	49	48

表 2 各组*H. pylori*根除率比较 *n*(%)

分组	*n*	根除率
对照组	48	29(62.5)
短疗程组	50	32(64.0)
中疗程组	49	39(83.7)[a]
长疗程组	48	41(85.4)[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组.

表 3 各组不良反应的比较

分组	*n*	不良反应类型					合计*n*(%)
		恶心	呕吐	腹泻	便秘	腹胀	
对照组	48	2	0	1	0	1	4(8.3)
短疗程组	50	0	1	2	1	0	4(8.0)
中疗程组	49	1	0	1	0	0	2(4.1)
长疗程组	48	0	0	0	1	2	3(6.3)

液中, 在25 ℃条件下孵育, 5 min后观察结果: 红色或紫色-阳性; 黄色或亮黄色-阴性.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件, 计数资料用%表示, 各组*H. pylori*根除率、药物不良反应发生率的组间比较采用χ^2检验. *P*<0.05认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 基本人口学资料 各组性别、年龄、吸烟史和疾病类型的差异无统计学意义(表1).

2.2 *H. pylori*根除率的比较 短疗程组*H. pylori*根除率与对照组无显著差异, 中疗程组、长疗程组根除率均高于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05). 中疗程组根除率略低于长疗程组, 但无显著差异(表2).

2.3 不良反应的比较 对照组有2例患者因腹泻、腹胀要求退出试验, 中疗程组有1例失访退出试验, 长疗程组因2例出现便秘、腹胀退出试验. 各组不良反应多较轻微, 组间不良反应发生率无显著差异(表3).

3 讨论

理想的*H. pylori*根除方案包括根除率>90%、不良反应少等条件[3], 但近年来*H. pylori*的根除率不断下降, 国外的文献报导标准三联疗法的根除率已低于或远低于80%[4], 我国多中心的研究提示含质子泵抑制剂的三联疗法根除率分别仅68.6%-82.7%[3], 我们的前期研究发现, 我院三联疗法对*H. pylori*根除率仅为72%左右, 寻找新的治疗药物及方案是目前急需解决的问题.

益生菌用于根除*H. pylori*治疗日益受到国内外学者的关注, 益生菌是指能促进肠道内菌群平衡、对宿主起到有益作用的活的微生态制剂, 很早就有学者发现, 喜欢喝酸奶的人*H. pylori*的感染率较低[5], Sheu等[6]研究证实含乳酸菌和双歧杆菌的AB-酸奶联合三联疗法能显著提高*H. pylori*的根除率. 目前发现益生菌抗*H. pylori*的机制包括: 抑制*H. pylori*黏附于胃上皮、影响*H. pylori*的定植, 通过稳定黏膜屏障、分泌黏蛋白、调整宿主免疫反应等减轻胃黏膜组织的炎症反应、分泌某些抗菌物质抑制或直接杀死*H. pylori*等[7-10].

研究表明并非所有的益生菌均有抗*H. pylori*作用, 目前一致认为乳酸菌属如乳酸杆菌、双歧杆菌等均有较好的治疗效果, 而且多种益生菌的混合制剂较单一制剂效果更好[11]. 复合乳酸菌胶囊是乳酸杆菌、嗜乳酸杆菌和乳酸链球菌三种活乳酸菌的复方制剂, 临床常用于腹泻, 疗效确切. 采用复合乳酸菌胶囊联合标准疗法根除*H. pylori*的疗效评价少见有文献报导, 我们的研究观察到复合乳酸菌胶囊联合标准三联疗法能显著提高*H. pylori*根除率(*P*<0.05).

关于益生菌根除*H. pylori*治疗的疗程选择未见有文献报导, Du等[12]提出“益生菌的最佳疗程尚未确定”, 目前大多数的临床试验多采

■相关报道

很早就有学者发现喜欢喝酸奶的人*H. pylori*的感染率较低, 研究表明益生菌抗*H. pylori*的机制包括: 抑制*H. pylori*黏附于胃上皮、影响*H. pylori*的定植、调节宿主免疫反应、分泌某些抗菌物质抑制或直接杀死*H. pylori*等.

■同行评价
本研究针对益生菌联合根除*H. pylori*的方案开展分组对照临床研究, 因为对于益生菌的疗程目前没有确定, 因此本研究有较强的创新性和临床意义.

用与标准疗法疗程相同的给药疗程, 即7-14 d, 目前能检索到的文献中最长疗程为4 wk[13], 本研究首次评价了不同疗程复合乳酸菌胶囊对根除*H. pylori*的疗效差异, 纳入研究的复合乳酸菌胶囊疗程为1、2及4 wk, 最终我们的研究显示, 标准三联7 d疗法联用复合乳酸菌胶囊1 wk, 其根除率并无显著提高(P<0.05), 而联用复合乳酸菌胶囊2和4 wk后, 其根除率均有显著的提高(P<0.05), 而有意义的是, 虽然联用复合乳酸菌胶囊4 wk的根除率较联用2 wk的根除率有所提高(85.4% *vs* 83.7%), 但差异并无统计学意义(P>0.05), 提示复合乳酸菌胶囊可能在达到一定疗程之后, 再依靠延长使用时间已无助于提高*H. pylori*根除率, 未能进一步探讨其机制是本研究的缺陷所在, 同时此结果尚待多中心、大样本的临床试验验证, 而其他益生菌制剂是否也存在这一现象也需进一步的研究证实.

药物不良反应是导致患者中断治疗从而引起*H. pylori*根除率下降的原因之一, 研究发现联用益生菌还能显著减少在根除*H. pylori*治疗中的药物不良反应, 这可能与其减轻根除*H. pylori*治疗导致的肠道微生态失衡有关[14], 但与Scaccianoce等[15]的结论相同, 我们的研究结果也未能支持此观点, 这可能与我们观察的标准三联7 d疗法本身不良反应发生率较低及本研究较少的样本量有关.

总之, 我们的研究证实在标准三联疗法的基础上联用复合乳酸菌胶囊能显著提高*H. pylori*根除率, 而2 wk左右的疗程可能为最佳的选择, 进一步延长疗程无助于提高根除率, 但可能对减少药物不良反应有一定价值.

4 参考文献

1 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染诊疗指南. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 20-35
2 Dajani AI, Abu Hammour AM, Yang DH, Chung PC, Nounou MA, Yuan KY, Zakaria MA, Schi HS. Do probiotics improve eradication response to Helicobacter pylori on standard triple or sequential therapy? *Saudi J Gastroenterol* 2013; 19: 113-120 [PMID: 23680708]
3 Kasap E, Ayhan S, Yüceyar H. Does Helicobacter pylori treatment improve the symptoms of globus hystericus? *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 681-685 [PMID: 23794305]
4 Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. A report card to grade Helicobacter pylori therapy. *Helicobacter* 2007; 12: 275-278 [PMID: 17669098 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00518.x]
5 Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC, Jan CM, Lai CH, Wang TN, Wang WM. Effects of ingesting Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized Helicobacter pylori. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 737-741 [PMID: 15321816]
6 Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD. Impact of supplement with Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt on triple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1669-1675 [PMID: 12197847 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01335.x]
7 Yang YJ, Sheu BS. Probiotics-containing yogurts suppress Helicobacter pylori load and modify immune response and intestinal microbiota in the Helicobacter pylori-infected children. *Helicobacter* 2012; 17: 297-304 [PMID: 22759330]
8 de Vrese M, Kristen H, Rautenberg P, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and Helicobacter pylori activity. *J Dairy Res* 2011; 78: 396-403 [PMID: 21871144]
9 胡伏莲, 周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 第3版. 北京: 中国科技出版社, 2009: 635-636
10 Deguchi R, Nakaminami H, Rimbara E, Noguchi N, Sasatsu M, Suzuki T, Matsushima M, Koike J, Igarashi M, Ozawa H, Fukuda R, Takagi A. Effect of pretreatment with Lactobacillus gasseri OLL2716 on first-line Helicobacter pylori eradication therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 888-892 [PMID: 22098133]
11 Chapman CM, Gibson GR, Rowland I. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr* 2011; 50: 1-17 [PMID: 21229254]
12 Du YQ, Su T, Fan JG, Lu YX, Zheng P, Li XH, Guo CY, Xu P, Gong YF, Li ZS. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6302-6307 [PMID: 23180952]
13 Song MJ, Park DI, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2010; 15: 206-213 [PMID: 20557362]
14 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499]
15 Scaccianoce G, Zullo A, Hassan C, Gentili F, Cristofari F, Cardinale V, Gigliotti F, Piglionica D, Morini S. Triple therapies plus different probiotics for Helicobacter pylori eradication. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008; 12: 251-256 [PMID: 18727457]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年10月8日; 21(28): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(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 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.

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$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$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, E-mail: 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10月8日; 21(28): 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9月28日; 21(28): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

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!

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

陈其奎 教授
中山大学附属第二医院消化内科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

董蕾 教授
西安交通大学第二附属医院消化内科

高凌 副教授
武汉大学人民医院内分泌科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭晓钟 教授
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

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

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

黄晓东 主任医师
武汉市中心医院消化内科

英卫东 教授
安徽省立院肝脏外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

江学良 教授
中国人民解放军济南军区总医院消化科

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李华 副教授
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李焱 副研究员
中山大学肿瘤防治中心实验研究部

李勇 副教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

刘改芳 主任医师
河北医科大学第三医院消化内科

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

宁钧宇 副研究员
北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邵华 副主任药师
东南大学附属中大医院药剂科

谭晓冬 教授
中国医科大学附属盛京医院

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

吴泰璜 教授
山东省立医院肝胆外科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨建民 教授
浙江省人民医院消化内科

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

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.