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

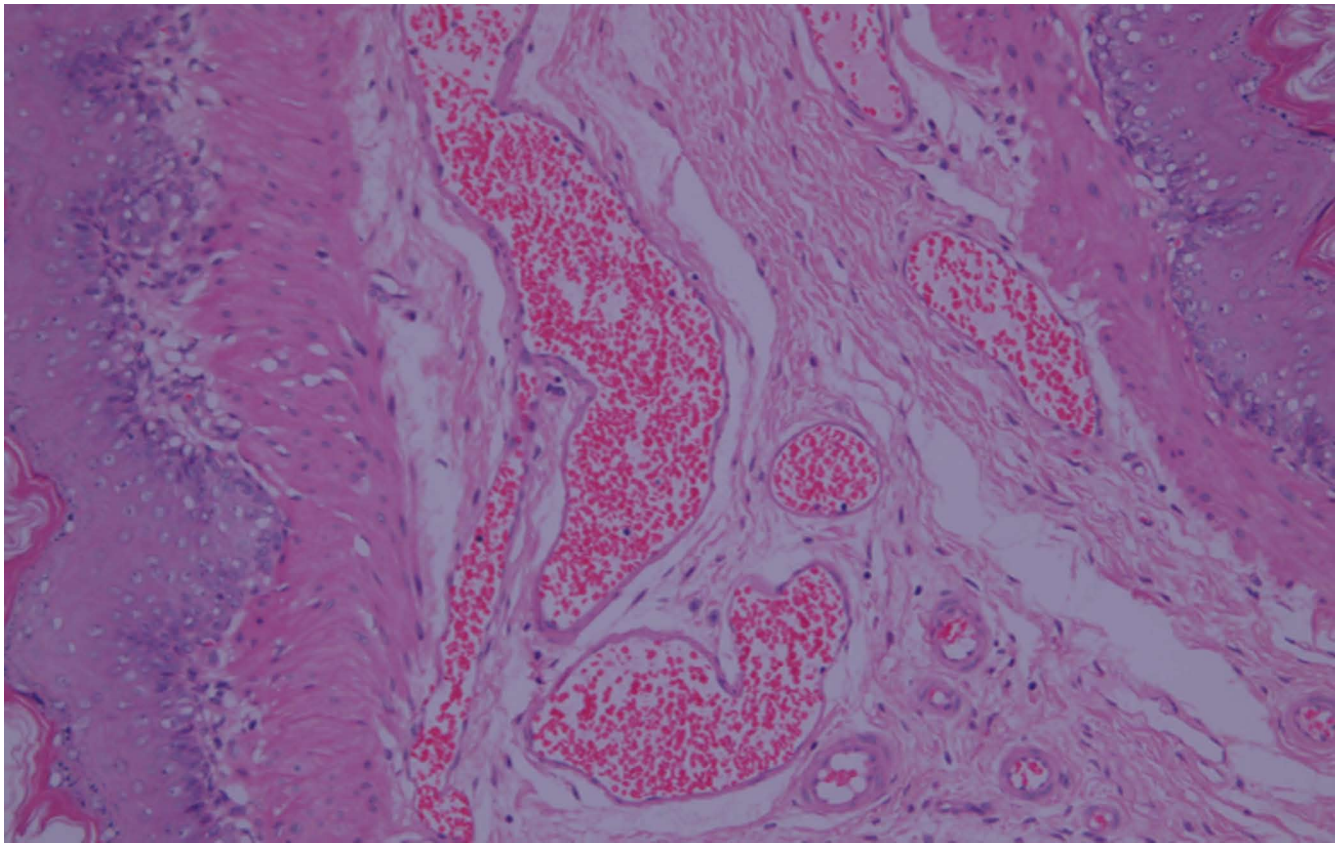
世界华人消化杂志

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 1 月 8 日　　第 22 卷　　第 1 期　　(Volume 22 Number 1)



1/2014

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

ISSN 1009-3079
01>
9 771009 307056

www.wjgnet.com
二零一四年一月八日
第二十二卷
第一期

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
庹必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
英卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
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
阴赖宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 1 月 8 日　第 22 卷　第 1 期　(总第441期)

述　评

1 HIF-1在肝癌中作用的研究进展
罗东君, 吴俊华

基础研究

9 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF-β1/Smad信号传导通路的影响
黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥

17 过表达FAF1对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响
袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英

临床研究

24 ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与术后辅助化疗预后的关系
王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎

文献综述

31 HER2在胃癌靶向治疗中的作用及意义
毛必静, 张志敏, 陈川, 王东, 王阁

39 促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用
王冬青, 丁西平, 殷实

46 树突状细胞疫苗在胃癌免疫治疗中的研究进展
吴凤丽, 李国华

53 胃癌遗传易感性基因的研究进展
于国伟, 梁会

59 肝细胞性肝癌相关分子信号通路的研究进展
刘强, 刘静

67 特异性核基质结合区结合蛋白1在消化系肿瘤中的研究进展
毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 琚坚

研究快报

74 四氯化碳法制备肝硬化大鼠模型中重要脏器的病理改变
张云巍, 胡亚卓, 徐丽娟, 潘美妍, 阎丽

80 HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系
王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏

86 Sirtinol对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU敏感性的影响
张军港, 石英, 王知非, 洪德飞

临床经验

91 进展期胃癌应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂3周方案新辅助化疗的临床效果
李涛, 梁美霞, 冯道夫, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凛

96 HIF-1α表达在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性
周晓刚, 陈宁波, 沈小钢

101 声辐射力脉冲成像对非酒精性脂肪性肝病诊断价值的Meta分析
李曼蓉, 王跃, 宋雯, 陆伦根, 卜平

107 慢性乙型肝炎湿热中阻证的血浆代谢组学
刘友平, 李波, 张光海, 米绍平, 李洪, 魏嵋

114 肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系
刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋

119 PIWIL1在肝细胞癌中的表达及临床意义
范正军, 杨飞龙, 孙涛, 程波

125 外周血端粒酶检测对肝细胞癌诊断价值的Meta分析
郑倩, 姜政, 赵亚楠

133 血清及胆汁中NGAL对于区分良恶性胆道狭窄的临床意义
韩美玲, 吕志武

140 胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术
陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义

144 黄术灌肠液对肠易激综合征患者TNF-α表达的影响
庄李磊, 胡团敏, 黄思付, 黄更新

149 奥沙利铂联合氟尿密啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效
姚彪, 徐润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬

153 清热活血法在痔病术后的用药规律
赵红波, 吴晓晶, 杨云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁

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

23 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
30 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
38 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
52 《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)
58 《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
85 《世界华人消化杂志》外文字符标准
100 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
106 《世界华人消化杂志》栏目设置
124 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

封面故事

黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥. 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF-β1/Smad信号传导通路的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 9-16
http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp
http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9

本期责任人

编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界華人消化雜志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)
创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-01-08
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90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

January 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 1

EDITORIAL

1 Roles of HIF-1 in hepatocellular carcinoma
Luo DJ, Wu JH

BASIC RESEARCH

9 Valsartan improves portal hypertensive gastropathy in rats possibly *via* TGF-β1/Smad signaling pathway
Huang W, Qian JR, Chen YX

17 Effects of FAF1 overexpression on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma HGC-27 cells
Yuan YL, Liu AQ, Feng J, Chen JW, Ge LY

CLINICAL RESEARCH

24 ERCC1 and TS expression and prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy
Wang WM, Deng JL, Gu XC, Tang YH, Zhang GQ, Zhou Y

REVIEW

31 Significance and role of HER2 in targeted therapy of gastric cancer
Mao BJ, Zhang ZM, Chen C, Wang D, Wang G

39 Roles of proinflammatory cytokines in precancerous lesions of gastric cancer
Wang DQ, Ding XP, Yin S

46 Dendritic cell vaccines in gastric cancer immunotherapy
Wu FL, Li GH

53 Gastric cancer susceptibility genes
Yu GW, Liang H

59 Signaling pathways in hepatocellular carcinoma
Liu Q, Liu J

67 Role of special AT rich sequence binding protein 1 in digestive system neoplasms
Bi HZ, Wang W, Hu MM, Ju J

RAPID COMMUNICATION

74 Pathological changes in major organs of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis
Zhang YW, Hu YZ, Xu LJ, Pan MY, Yan L

80 Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein
Wang J, He SS, Liu YN, Zhang P, Yao JH

86 Effects of Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells
Zhang JG, Shi Y, Wang ZF, Hong DF

CLINICAL PRACTICE

91 Efficacy of S-1 and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer
Li T, Liang MX, Feng DF, Yuan J, Guo X, Li T, Chen L

96 Correlation between gastric HIF-1α expression and gastric cancer recurrence
Zhou XG, Chen NB, Shen XG

101 Diagnostic value of acoustic radiation force impulse imaging for non-alcoholic fatty liver disease: A Meta-analysis
Li MR, Wang Y, Song W, Lu LG, Bu P

107 Metabonomic analysis of plasma samples from chronic hepatitis B patients with damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome
Liu YP, Li B, Zhang GH, Mi SP, Li H, Wei M

114 Relationship between liver ultrasonography and immunohistochemistry indicators in patients with hepatocellular carcinoma
Liu YL, Jin Y, Fu XD, Han Q

119 Clinical significance of expression of PIWIL1 protein in hepatocellular carcinoma
Fan ZJ, Yang FL, Sun T, Cheng B

125 Diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis
Zheng Q, Jiang Z, Zhao YN

133 Serum and bile NGAL for clinically distinguishing malignant biliary strictures from benign biliary strictures
Han ML, Lv ZW

140 Pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas
Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Lu WL, Qin RY

144 Effects of Huangshu enema on serum levels of TNF-α in patients with irritable bowel syndrome
Zhuang LL, Hu TM, Huang SF, Huang GX

149 Qxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate for metastatic colorectal cancer
Yao B, Xu R, Wei WG, Shang NY, Yang LF

153 Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery
Zhao HB, Wu XJ, Yang Y, Liang TY, Ge ZM, Wu XN

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

Huang W, Qian JR, Chen YX. Valsartan improves portal hypertensive gastropathy in rats possibly *via* TGF-β1/Smad signaling pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 9-16
http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp
http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9

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 January 8, 2014

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 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 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 2014年1月8日; 22(1): 1-8
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

HIF-1在肝癌中作用的研究进展

罗东君, 吴俊华

罗东君, 南京医科大学附属鼓楼临床医学院肝胆外科 江苏省南京市 210008
吴俊华, 南京大学医学院 江苏省南京市 210093
罗东君, 在读硕士, 主要从事新型抗肝癌化合物的发现与作用机制的研究.
作者贡献分布: 本文综述由罗东君完成; 吴俊华审校.
通讯作者: 吴俊华, 副教授, 210093, 江苏省南京市鼓楼区汉口路22号, 南京大学医学院. wujunhua@nju.edu.cn
电话: 025-83593374
收稿日期: 2013-09-17 修回日期: 2013-10-24
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-08

Roles of HIF-1 in hepatocellular carcinoma

Dong-Jun Luo, Jun-Hua Wu

Dong-Jun Luo, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China
Jun-Hua Wu, School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210093, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Jun-Hua Wu, Associate Professor, School of Medicine, Nanjing University, 22 Hankou Road, Gulou District, Nanjing 210093, Jiangsu Province, China. wujunhua@nju.edu.cn
Received: 2013-09-17 Revised: 2013-10-24
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-08

Abstract
Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) is a key regulator of the cellular response to hypoxia. Since cell growth is out of control in hepatocellular carcinoma (HCC), HIF-1 activity is significantly enhanced in HCC to help cells adapt to the hypoxic microenvironment. HIF-1 plays a critical role in the occurrence and development of HCC through activating the target genes that participate in the regulation of cell proliferation and apoptosis, energy metabolism, angiogenesis, invasion and metastasis, resistance to chemotherapy and radiotherapy. Given the specific expression and regulation of HIF-1 in HCC growth, HIF-1 may become a new target for drug therapy and gene therapy, which provides a new avenue for neoadjuvant therapy of HCC in the future.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hypoxia inducible factor-1; Hepatocellular carcinoma; Targeted therapy

Luo DJ, Wu JH. Roles of HIF-1 in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 1-8 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.1

摘要
低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)是细胞在低氧环境下调控的关键因子. 当肝癌的失控生长导致细胞缺氧时, HIF-1的活性显著增强. 为了使肝癌细胞适应低氧微环境, HIF-1通过激活多种与肿瘤生长相关的靶基因, 参与调节了细胞增殖和凋亡、能量代谢、血管生成、侵袭转移以及耐受放疗和化疗等过程, 最终促进了肝癌的发生和发展. 由于HIF-1在肝癌细胞中的特异性表达以及介导肿瘤生长的特性, 以HIF-1为新靶点的药物治疗和基因治疗已经成为目前的热门研究. 这也为今后研发出肝癌的新辅助治疗技术提供了更广阔的思路.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 低氧诱导因子; 肝癌; 靶向治疗

核心提示: 低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)在肝癌细胞的增殖凋亡、血管生成、侵袭转移和放化疗耐受性等方面都发挥了重要作用, 因此以HIF-1为新靶点的肝癌辅助治疗得到了人们的广泛关注.

罗东君, 吴俊华. HIF-1在肝癌中作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 1-8 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.1

0 引言
原发性肝癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在我国均排名前3位. 与其他很多恶性肿瘤一样, 肝癌细胞由于增殖失控, 导致供氧不足, 使细胞处于低氧的微环境中. 而低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)

■背景资料
低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)作为细胞在低氧条件下调控的关键因子, 通过转录激活多种与肿瘤生长相关的靶基因, 参与调节了肿瘤发生发展的多个环节. 研究HIF-1与肝癌的关系, 一直是被人们所关注. 而HIF-1作为肝癌治疗靶点的可能性使得这方面研究更具临床意义.

■同行评议者
杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

■研发前沿
目前，除了进一步探讨HIF-1的调节转录机制外，针对HIF-1的肿瘤靶向治疗一直是研究的重点和热点. 而以HIF-1为靶点的药物治疗和基因治疗有望成为肝癌辅助治疗的新策略.

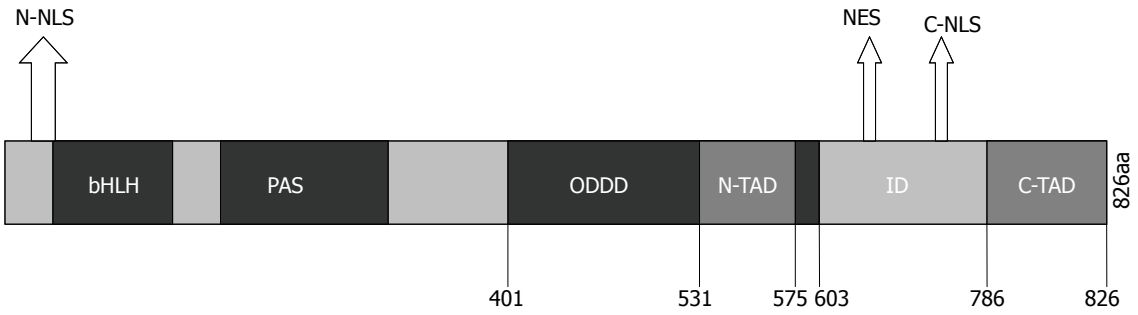


图 1 HIF-1α的结构分布. NLS: 核定位信号; bHLH: 碱性螺旋-环-螺旋结构域; ODDD: 氧依赖性降解结构域; TAD: 反式激活区; ID: 抑制结构域; NES: 细胞核输出信号.

是低氧条件下最为重要的转录调节因子. 目前，针对HIF-1的研究主要集中在两方面: 一方面是HIF-1的转录调节机制; 另一方面是以HIF-1为靶点的肿瘤治疗. 而研究HIF-1与肝癌发生发展的关系在肝癌治疗中就具有了重要的意义. 已有临床实验发现，肝癌患者血清中检测出的HIF-1明显高于其他肝病，而HIF-1的表达对肝癌的诊断和预后都存在价值[1]. 近几年来，很多研究显示HIF-1参与了肝癌的细胞增殖、血管生成、侵袭转移等过程，并且针对HIF-1的肝癌靶向治疗也获得了进展. 因此，本文综述了HIF-1的调节激活过程，着重探讨了其在肝癌领域的研究进展.

1 HIF-1概述

1.1 HIF-1的蛋白结构 HIF-1是生物细胞为适应低氧条件而产生的一种关键转录因子，在生理和病理过程中都发挥着重要作用. HIF-1作为一个异源二聚体，是由功能型α亚基和构成型β亚基共同组成的，而其生物效应主要是由HIF-1α来完成实现的. HIF-1α由826个氨基酸组成，N端具有一个碱性螺旋-环-螺旋结构域(basic-helix-loop-helix domain, bHLH)和一个PAS(Per-ARNT-Sim)结构域，这两个结构域共同参与了HIF-1α和HIF-1β的异二聚化以及与靶基因上的低氧反应元件(hypoxia response element, HRE)结合. HIF-1的C端包括两个反式激活区(transactivation domain, TAD)，即N-TAD和C-TAD，研究表明N-TAD在特异性调节*HIF-1*靶基因上起主要作用[2]，而C-TAD的主要功能是富集p300/CBP[3]等多种辅助转录因子. 这两个TAD之间的区域称为抑制结构域(inhibitory domain, ID)，在常氧情况下明显抑制HIF-1α的蛋白活性. 此外，在结构中还存在氧依赖性降解结构域(oxygen-dependent-degradation domain, ODDD)，主要负责常氧下的蛋白降解. 而与介导HIF-1α进出细胞核相关的结构则是两个核定位信号(nuclear localization signal, NLS)及一个细胞核输出信号(nuclear export signal, NES)，其结构分布详如图1. HIF-1β亚基又称芳香烃受体核转运蛋白(ary1 hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)，在细胞核内不受氧浓度的影响，表达稳定.

1.2 HIF-1α的合成 在常氧条件下，HIF-1α蛋白的合成主要受磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)及促分裂源活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路调节. 两条通路分别通过Akt(protein kinase B)mTOR[4](mammalian target of rapamycin)和细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)来介导和启动HIF-1α的翻译. 而在缺氧情况下，大部分蛋白质的合成会受到明显抑制，但是HIF-1α mRNA的翻译仍可以连续进行，其机制尚不清楚. 有研究发现，miRNAs可以调节HIF-1α mRNA的翻译过程，这些小的RNA分子通过与靶基因mRNA碱基配对，来降解mRNA并阻碍其翻译[5].

1.3 HIF-1α的降解及稳定性 合成后的HIF-1α在常氧状态下迅速在细胞质中降解. HIF-1α主要是在脯氨酸羟化酶(proly1 hydroxylases domain-containing protein, PHD)的作用下，ODDD区中第402位和第564位的脯氨酸残基发生羟基化，羟基化的HIF-1α与肿瘤抑制蛋白VHL(von Hippel-Lindau tumour suppressor protein, pVHL)结合，后者募集elonginB、elonginC、cullin-2和RBX1(ring-box 1)形成E3泛素连接酶复合体，使HIF-1α泛素化，最终被26S蛋白酶体介导降解. 在这个降解过程中，PHD是起关键作用的酶. 经研究，PHD2在调节HIF-1α方面，比其他3种PHD成员(PHD1、PHD2、P4H-TM)更占优势[6]. PHD2具有氧依赖性，在缺氧条件下不具有活性，最终导致了HIF-1α在细胞质中的稳定聚集.

HIF-1α的降解除了受氧依赖性通路的调节外, 其他一些调节因子也影响着HIF-1α的稳定性. 乙酰基转移酶可以使HIF-1α 532位的赖氨酸残基乙酰化, 从而加强pVHL与HIF-1α的结合能力, 使其最终降解. 此外, 接头蛋白RACK1(receptor for activated protein C kinase 1)和热休克蛋白90(heat shock protein 90, Hsp90)通过竞争结合HIF-1α的PAS区域, RACK1增强了HIF-1α与E3连接酶的结合从而促进降解的发生, 而Hsp90则阻止其降解, 起到了稳定HIF-1α的作用. 总之, HIF-1α的稳定性受多方面因素的影响, 目前还有待进一步的研究以完善其调节机制.

1.4 HIF-1α的转录活性及相关靶基因 HIF-1α可以通过经典的C-NLS-importin α/β通路进入细胞核[7], 此外importin 4和7也可以介导HIF-1α的细胞核输入[8]. 在p42/p44 MAPK的作用下, HIF-1α发生磷酸化, 使其在细胞核中积累, 并增强了转录活性. 磷酸化的HIF-1α与HIF-1β异二聚化形成HIF-1, 然后通过其活化结构域N-TAD和C-TAD与p300/CBP等辅助激活因子结合, 最后形成能识别靶基因的转录复合物.

在常氧状态下, 低氧诱导因子-1抑制因子(factor-inhibiting HIF-1α, FIH-1)可以催化C-TAD上的803位天冬酰胺(Asn803)羟基化, 使HIF-1α不能与CBP/p300相互作用, 抑制其转录活性. 然而, FIH-1的催化作用同PHD类似, 也需要氧气和2-酮戊二酸作为底物. 因此, 在缺氧状态下, FIH-1活性明显下降, 进而允许HIF-1α与辅助因子的结合, 从而发挥转录活性. Lim等[9]研究发现Sirtuin1是一种组蛋白去乙酰酶, 可以抑制HIF-1α的乙酰化水平. 缺氧时细胞内NAD^+的减少导致Sirt1活性降低, 间接升高HIF-1α的乙酰化水平, 最终增强HIF-1α对靶基因的转录激活.

HIF-1通过与低氧反应元件结合, 激活一百多种下游靶基因的转录表达, 目前大致可以分为5个方面(表1). 这些靶基因除参与缺氧时细胞稳态的维持、胚胎发育和细胞分化外, 他们在肿瘤生长中发挥的作用成为目前研究的重点.

2 HIF-1与肝癌的关系

2.1 HIF-1与肝癌细胞的增殖和凋亡 肿瘤细胞的快速增殖, 需要消耗大量的能量和氧, 从而导致肿瘤组织处于低氧环境. 在低氧条件下, 肿瘤细胞发生从有氧代谢到无氧代谢的转变. 研究表明, 这种细胞通过无氧糖酵解产生ATP以提供能量的过程, 主要是由HIF-1来调控的[10,11]. HIF-1通过激活相关靶基因, 转录表达出的产物加快肿瘤细胞的糖酵解途径, 大致可分为3个方面: (1)HIF-1激活转录与葡萄糖代谢和糖酵解相关的关键酶类, 如磷酸甘油酸酯激酶1(phosphoglycerate kinase 1, PGK1)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)、己糖激酶2、醛缩酶A等; (2)低氧环境下, HIF-1的高表达会上调其下游靶基因葡萄糖转运蛋白GLUT1和GLUT3, 从而增加肝癌细胞对葡萄糖的摄入量; (3)HIF-1转录表达线粒体相关的酶类, 如丙酮酸脱氢酶激酶1(pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1)可以抑制丙酮酸转化为乙酰辅酶A, 使线粒体氧化磷酸化的水平降低, 减少对氧气的消耗[12]. HIF-1除了能调控肿瘤细胞的糖代谢以外, 还可以上调诸如EPO、胰岛素样生长因子2、转化生长因子α、细胞周期素D1等多种生长因子, 使肝癌细胞得以增殖分化, 适应低氧微环境.

HIF-1对肿瘤细胞的凋亡存在双重的作用. 一方面, 凋亡前体蛋白BNIP3可被HIF-1激活表达, 前者作为促凋亡因子, 诱导细胞的凋亡[13]. 经研究, *p53*作为一种抑癌基因, 可以直接与HIF-1的ODDD区相结合, 从而诱导细胞程序性死亡[14]. 另一方面, 目前也有很多的报道认为, HIF-1具有抗肝癌细胞凋亡作用. Xu等[15,16]研究发现, Omi/HtrA2在参与肝癌细胞凋亡过程中发挥重要作用, 可能成为肝细胞癌的一个预后指标. 而HIF-1通过阻止Omi/HtrA2从线粒体中释放, 抑制了Omi/HtrA2的表达, 达到抗肝癌细胞凋亡的作用. 研究发现, 针对在低氧条件下培养的HepG2肝癌细胞, HIF-1通过影响细胞周期素A、D的表达, 可促进细胞增殖和阻滞细胞周期, 同时HIF-1也通过诱导生存素和Bcl-2的表达, 抑制了细胞凋亡[17]. Jeon等[18]发现萝卜硫酸可以诱导包括肝癌在内的一些肿瘤细胞发生凋亡, 其作用机制是下调了HIF-1的表达, 从而间接说明了HIF-1具有抗肝癌细胞凋亡能力. 总之, HIF-1对于细胞凋亡的影响, 到底是促凋亡还是抗凋亡, 可能与肿瘤类型, 细胞分化水平以及细胞缺氧程度有关, 目前尚不清楚, 还需要做更多的研究来证实.

2.2 HIF-1与肝癌血管生成 肿瘤的迅速生长需要通过新生的血管来运输并获取氧气和营养物质, 而新血管的生成是一个复杂的过程[19], 包括细胞外基质的降解, 血管内皮细胞的激活、增殖、迁移, 重建形成新的血管网. 在血管生成的各个阶段中, 最重要的调节因子是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) , 其

■相关报道
HIF-1在恶性肿瘤发病机制中的研究是近几年来研究的热点, 目前有大量文献报道了HIF-1与消化系肿瘤的关系, 特别是肝癌、结直肠癌的研究较多, 而胃癌、胰腺癌的研究相对较少.

■创新盘点
本文系统的介绍了HIF-1的蛋白结构, 合成及降解过程, 转录活性的调节, 并且着重探讨了其在肝癌发生发展各个环节中的作用, 最后提出了研发靶向HIF-1的肝癌药物治疗和基因治疗具有广阔的前景和临床价值.

表 1 HIF-1的相关靶基因或其产物

相关类型	靶基因或其产物(举例)
血管发生	血管内皮生长因子、一氧化氮合酶-2、血小板衍生生长因子B
红细胞生成	促红细胞生成素、铁传递蛋白、血浆铜蓝蛋白、亚铁氧化酶
糖代谢	糖酵解酶-1、醛缩酶A、葡萄糖载体1和3
细胞增殖、分化	胰岛素样生长因子-2、转化生长因子、成纤维细胞生长因子
细胞凋亡	细胞凋亡蛋白酶-3、p53、BNIP3

特异性地促进了血管内皮细胞分裂、增殖和迁移. 在肿瘤低氧条件下, 大量累积的HIF-1上调了一系列以VEGF为代表的促血管生成因子的表达, 并且增强了VEGF mRNA的稳定性, 最终实现其对肿瘤血管生成的调控. Lee等[20]用吖啶黄素抑制HIF-1α与HIF-1β的异二聚化结合, 发现肿瘤细胞VEGF表达量明显下降, 再次证明了HIF-1对VEGF的激活调控作用. Wang等[21]通过小鼠模型实验发现, 在肝癌发生20 wk后检测出的HIF-1α、VEGF蛋白及mRNA水平比20 wk前明显增高, 提示了HIF-1和VEGF在肝癌发展中发挥了重要作用. 索拉菲尼作为一种多重激酶的抑制剂, 在肝癌临床试验上发挥了明显的抗癌能力, 其作用机制也被证实与抗肿瘤血管生成密切相关. Liu等[22]研究发现, 索拉菲尼通过有效抑制HIF-1α的表达, 从而降低了VEGF蛋白的表达, 最终导致了肿瘤血管生成的减少.

除了VEGF外, 如血管生成素2(angiopoietin 2)、胎盘生长因子(placental growth factor)、血小板衍生生长因子B(platelet derived growth factor B)和基质衍生因子1(stromal derived factor 1)等许多促血管生成因子也会在低氧条件下, 通过HIF信号通路呈现高表达, 促进肿瘤新血管的生成[23]. Li等[24]研究发现血管生成素相关蛋白4是HIF-1的一个目的靶基因产物, 其通过血管细胞黏附分子和整合素β1, 在肝癌的血管生成和转移方面都发挥了重要作用.

2.3 HIF-1与肝癌的侵袭转移 肝癌细胞发生肝内和肝外转移是肝癌患者预后不佳的主要原因. 肿瘤的侵袭转移是一个复杂的过程, 首先要经历的就是一个从上皮细胞向间充质细胞的转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 在EMT过程中, 具有极性的上皮细胞转化成为具有移动性的间质细胞, 从而获得了可以向远处转移的能力. 在低氧状态下, HIF-1对EMT的进程发挥了关键性作用, 其主要是通过表达调控一系列的相关基因来实现的[25]. 钙黏蛋白E作为一种细胞黏附因子, 一旦失活, 细胞间的黏附性减弱, 移动性增强, 从而导致EMT的发生. HIF-1通过上调钙黏蛋白E的转录抑制因子SNAI1和SIP1, 二者抑制钙黏蛋白E的表达, 使肿瘤细胞易于发生侵袭转移[26]. 针对肝癌, Zhang等[27]最新研究表明, HIF-1可以通过与*SNAI1*基因启动子上的两个低氧反应元件(hypoxia response elements, HREs)相结合, 来调控SNAI1, 影响着钙黏蛋白E、钙黏蛋白N以及波形蛋白的表达水平, 使肝癌细胞发生EMT, 促进肝癌的转移和侵袭.

细胞基质的降解也是肿瘤转移的重要环节. 低氧条件下, HIF-1会诱导细胞分泌很多的基质金属蛋白酶(matrix metallopreteinases, MMPs), 其通过降解细胞外基质分子, 使肿瘤细胞向基底层浸润[28,29]. 赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)存在于细胞外基质中, 也影响着基质的结构以促进EMT, 而LOX同样是直接由HIF-1来调节的[30]. Xiang等[31]通过临床分组实验, 分别对36例肝癌淋巴结转移阳性和阴性的患者进行基因检测, 结果发现阳性组中瘤内的HIF-1α、VEGF和MMP-2蛋白水平明显高于阴性组, 从而推测出这3个基因可能是肝癌淋巴结转移的生物学标志物. 研究证明腺病毒介导的短发夹RNA可以抑制肝癌的生长和转移, 其机制也是通过抑制HIF-1来减少血管生成因子和MMP蛋白的表达[32].

最新研究发现PROX1是一个促进肝癌转移的重要因子, 而其促转移活性是由于上调了HIF-1α转录, 并通过招募组蛋白脱乙酰基酶1(histone deacetylase 1, HDAC1)阻止HIF-1α乙酰化, 从而稳定了HIF-1α蛋白, 最终诱导肝癌细胞EMT发生所致[33]. Zhang等[34]最近发现Wnt/β-catenin信号通路可以提高HIF-1α转录活性和阻止肝癌细胞凋亡, 诱导肝癌细胞发生EMT, 参与肝癌转移. 这些研究不仅为我们提供了有潜力的肝癌预后标记物及治疗新靶点, 也再次验证了HIF-1在肝癌侵袭转移方面不可替代的作用.

2.4 HIF-1与肝癌放化疗的耐受性

2.4.1 放疗耐受性: 低氧与肿瘤的研究最初是在肿瘤放射治疗方面获得进展的. 在放疗过程中氧气被激发产生氧自由基, 通过杀伤肿瘤靶细胞来达到放疗的效果. 然而在肿瘤低氧区, 细胞因缺氧产生较少的氧自由基, 从而对放疗产生耐受. 研究表明, 低氧状态下的关键因子HIF-1在肿瘤细胞放疗耐受方面起到了重要作用, 其机制可能与HIF-1促进VEGF及其他血管因子的大量表达, 使血管内皮细胞免受放射线的损伤有关[35]. 而在肝癌方面, 也有研究显示, 用RNA干扰技术抑制HIF-1的表达后, 肝癌细胞对放射的敏感性明显增强[36]. 这也启示我们, 在肝癌临床治疗中, 放疗合并抑制HIF-1的方法可能会起到一个更好的抗癌效果.

2.4.2 化疗耐受性: 实体肿瘤细胞由于处在缺血缺氧的微环境中, 对多种化学药物产生了耐药抵抗作用. 在这个耐药机制中, HIF-1的活性影响了肿瘤细胞的微环境, 并且调控着与耐药相关的因子. Comerford等[37]在10年前就发现HIF-1可以与多药耐药基因(multiple drug resistance 1, *MDR1*)启动子上的HRE相结合, 从而转录激活MDR1, 最终用来抵抗化疗药物对肿瘤细胞的损伤. Zhu等[38]最近也证实在肝癌细胞中, HIF-1α由ERK/MAPK通路调节, 并且调控表达了多种MDR相关基因, 而后者参与了耐药反应. 三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO)作为肝癌的化疗药, 可以起到诱导细胞凋亡, 抑制转移的作用. 然而研究表明, HIF-1参与了肝癌对ATO的耐药, 这一结果也为今后如何克服ATO耐药提供了分子靶点[39].

3 以HIF-1为靶点的肝癌治疗

HIF-1在低氧条件下肝癌细胞发生发展的各个环节中都起到了非常重要的作用. 因此以HIF-1作为分子靶点的抗癌药物和基因治疗成为目前研究的两个热点.

3.1 HIF-1抑制剂的应用 现今, 我们已经筛选出了很多能够有效抑制HIF-1的化学物质. 这些药物有的已经进入临床试验阶段, 而更多的还在实验室阶段. 他们的作用机制包括了抑制HIF-1α蛋白的合成、降解水平、与DNA的结合能力以及转录活性等各个方面[40]. 此外, 有些药物则是阻止诸如PI3K/Akt通路、MAPK通路等HIF-1信号通路的抑制剂[41]. 3-(5'-羟甲基-2'-呋喃基)-1-苯甲基吲唑[3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole, YC-1]作为这类抑制剂的代表, 近年来成为研究的重点. Shin等[42]发现YC-1可以降低肝癌细胞中HIF-1α蛋白及其多种下游靶基因的表达, 从而有效抑制了肝癌的侵袭和转移.

近几年来, 研究者把肝癌细胞作为实验对象, 研制出了不少的HIF-1抑制剂. 最近, 有研究发现EF24作为一种与姜黄素相似的分子, 通过上调pVHL来降解HIF-1α, 从而克服肝癌对索拉菲尼的耐药作用. 这表明了EF24与索拉菲尼联合用药可以增强抗癌效果[43]. Yamasaki等[44]利用HepG2人类肝癌细胞, 首次提出了共轭亚油酸可以抑制HIF-1α的稳定性, 从而为今后研发出这类药物提供了思路. Tanaka等[45]发现LS081是促进铁摄入的小分子, 他能够通过增强PHD的活性, 来降解HIF-1α蛋白以达到抗肝癌的作用. 经导管动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)是一种肝癌非手术的姑息治疗, Liang等[46]通过动物模型, 对白兔VX2肝癌细胞进行了分组试验, 结果发现肝癌细胞在TAE术后其HIF-1α蛋白水平有明显升高. 而羟基喜树碱(hydroxycamptothecin, HCPT)作为HIF-1的抑制剂, 能有效抑制HIF-1的表达, 并且抵抗TAE术后肝癌的血管生成, 增强TAE的治疗效果[47].

3.2 基因靶向治疗 随着生物分子学技术的迅速发展, 以各种功能基因作为靶点的肿瘤治疗方法成为目前研究的一个热点. 针对HIF-1与肝癌的关系, 研究者把*HIF-1α*作为目的基因, 抑制其过表达以及对下游靶基因的激活, 使得以*HIF-1α*为靶点的基因治疗成为肝癌治疗的一种新辅助手段.

RNA干扰(RNA interfering, RNAi)技术是一种基因沉寂新技术, 其通过构建HIF-1编码基因的小干扰RNA(siRNA)并转染到肿瘤细胞中, 与目的基因mRNA结合使其降解, 以此来抑制HIF-1α的表达. Xu等[48]最近用HIF-1α的siRNA转染小鼠的CBRH-7919肝癌细胞, 结果显示HIF-1α失去活性, 抑制了肝癌细胞的增殖生长. 有研究表明, 靶向HIF-1α和VEGF的siRNA共转染入Hep3B肝癌细胞, 可以起到抗血管生成的作用, 阻止肝癌的转移[49]. 在动物模型实验中, Chen等[50]利用RNAi技术灭活HIF-1α, 发现可以增强TAE术治疗肝癌的效果. MicroRNA(miRNA)是内源性大小与siRNA相似的非编码RNAs, 关于miRNA负性调节肝癌细胞中的HIF-1α, Wang等[51]在临床实验中发现体内呈高水平miRNA-199b的肝癌患者, 存活

■应用要点
随着HIF-1抑制剂的不断研发, 以及针对HIF-1的基因疗法如RNA干扰、反义寡核苷酸技术的不断成熟,HIF-1将成为肝癌防治研究的一个新靶点, 这对肝癌的辅助治疗具有新应用前景.

■同行评价
本文选题新颖，有一定的临床价值. 内容阐述明确，将HIF-1与肝癌的相关性联系起来，并引用最新文献，具有一定的前瞻性.

率较高. 而且miRNA-199b能抵抗肿瘤细胞生长，提高放疗的敏感性. 这些作用机制都是通过抑制HIF-1α蛋白来实现的.

反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)技术也是目前研究的重点. ASO是和mRNA完全互补的一个寡聚核苷酸片段，能够特异性阻断目的mRNA的翻译. 研究发现，HIF-1α的ASO技术可以抑制肝癌细胞增殖，而且降低了HIF-1α的mRNA表达和蛋白质合成，这一发现也证明了ASO技术在肝癌治疗中的发展前景[52]. 此外，也有研究证实，在小鼠体内反义*HIF-1α*基因疗法可增强化疗药阿霉素对抗肝癌的疗效，两者结合可以更加有效地下调VEGF的表达，抑制肿瘤血管生成和细胞增殖，促进细胞凋亡[53].

4 结论

HIF-1作为肝癌细胞适应低氧微环境的重要调节因子，通过调控下游多个靶基因，在肝癌细胞的增殖凋亡、血管生成、侵袭转移和放化疗耐受性等方面都起到了重要作用. 而HIF-1作为肝癌治疗的一个新靶点，也得到了广泛关注. 但是目前针对HIF-1的药物治疗尚处在实验室或临床前研究阶段，要想真正应用到临床中去，仍有不少现实问题亟待解决. 如很多研发出的HIF-1抑制剂特异性不高，对肿瘤的杀伤作用不明显，尚需要开发或筛选出特异性更高的抑制剂，方能在临床上应用. 而对于YC-1等研究较为成熟的抑制剂来说，仍需进一步研究他们的药理和毒理作用，探讨对正常细胞的不良反应，以及临床疗效的评估. 以HIF-1为靶点的基因治疗虽然给肝癌治疗带来了新的希望，但是寻找目的基因只是第一步，接下来如何去构建安全高效的载体，如何寻找肝癌的特异性转录调控元件，如何合理应用多基因联合治疗，只有真正解决了这些问题，才能使肝癌的基因治疗从动物实验转向临床应用. 因此，HIF-1在肝癌中的作用仍需进一步深入研究，而HIF-1的肝癌靶向治疗依然任重道远.

5 参考文献

1 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 DOI: 10.5812/kowsar.1735143X.771]

2 Hu CJ, Sataur A, Wang L, Chen H, Simon MC. The N-terminal transactivation domain confers target gene specificity of hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 4528-4542 [PMID: 17804822 DOI: 10.1091/mbc.E06-05-0419]

3 Arany Z, Huang LE, Eckner R, Bhattacharya S, Jiang C, Goldberg MA, Bunn HF, Livingston DM. An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 12969-12973 [PMID: 8917528 DOI: 10.1073/pnas.93.23.12969]

4 Jiang BH, Liu LZ. Role of mTOR in anticancer drug resistance: perspectives for improved drug treatment. *Drug Resist Updat* 2008; 11: 63-76 [PMID: 18440854 DOI: 10.1016/j.drup.2008.03.001]

5 Cha ST, Chen PS, Johansson G, Chu CY, Wang MY, Jeng YM, Yu SL, Chen JS, Chang KJ, Jee SH, Tan CT, Lin MT, Kuo ML. MicroRNA-519c suppresses hypoxia-inducible factor-1alpha expression and tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2010; 70: 2675-2685 [PMID: 20233879 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2448]

6 Berra E, Benizri E, Ginouvès A, Volmat V, Roux D, Pouysségur J. HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1alpha in normoxia. *EMBO J* 2003; 22: 4082-4090 [PMID: 12912907 DOI: 10.1093/emboj/cdg392]

7 Depping R, Steinhoff A, Schindler SG, Friedrich B, Fagerlund R, Metzen E, Hartmann E, Köhler M. Nuclear translocation of hypoxia-inducible factors (HIFs): involvement of the classical importin alpha/beta pathway. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1783: 394-404 [PMID: 18187047 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2007.12.006]

8 Chachami G, Paraskeva E, Mingot JM, Braliou GG, Görlich D, Simos G. Transport of hypoxia-inducible factor HIF-1alpha into the nucleus involves importins 4 and 7. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390: 235-240 [PMID: 19788888 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.09.093]

9 Lim JH, Lee YM, Chun YS, Chen J, Kim JE, Park JW. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1alpha. *Mol Cell* 2010; 38: 864-878 [PMID: 20620956 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.05.023]

10 Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 51-56 [PMID: 19942427 DOI: 10.1016/j.gde.2009.10.009]

11 Semenza GL. Regulation of cancer cell metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Semin Cancer Biol* 2009; 19: 12-16 [PMID: 19114105 DOI: 10.1016/j.semcancer.2008.11.009]

12 Denko NC. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 705-713 [PMID: 19143055 DOI: 10.1038/nrc2468]

13 Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, Tan YS, Baek JH, Wesley JB, Gonzalez FJ, Semenza GL. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. *J Biol Chem* 2008; 283: 10892-10903 [PMID: 18281291 DOI: 10.1074/jbc.M800102200]

14 Sermeus A, Michiels C. Reciprocal influence of the p53 and the hypoxic pathways. *Cell Death Dis* 2011; 2: e164 [PMID: 21614094 DOI: 10.1038/cddis.2011.48]

15 Xu ZQ, Chen XP, Niu J, Liu EY, Li CH, Peng C. [The prognostic significance of Omi/HtrA2 expression, and correlation between Omi/HtrA2 and hypoxia-inducible factor-1α in primary hepatocellular car-

cinoma cells]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2012; 50: 49-52 [PMID: 22490291]
16 Xu Z, Chen X, Peng C, Liu E, Li Y, Li C, Niu J. Hypoxia-inducible factor-1alpha suppressed hepatocellular carcinoma cell apoptosis through influencing on Omi/HtrA2 expression and its releasing from the mitochondrion. *Oncol Res* 2012; 20: 213-220 [PMID: 23581228 DOI: 10.3727/096504013X13589503482815]
17 Xu Z, Liu E, Peng C, Li Y, He Z, Zhao C, Niu J. Role of hypoxia-inducible-1α in hepatocellular carcinoma cells using a Tet-on inducible system to regulate its expression in vitro. *Oncol Rep* 2012; 27: 573-578 [PMID: 22075557 DOI: 10.3892/or.2011.1533]
18 Jeon YK, Yoo DR, Jang YH, Jang SY, Nam MJ. Sulforaphane induces apoptosis in human hepatic cancer cells through inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase4, mediated by hypoxia inducible factor-1-dependent pathway. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1814: 1340-1348 [PMID: 21640852 DOI: 10.1016/j.bbapap.2011.05.015]
19 Payne SJ, Jones L. Influence of the tumor microenvironment on angiogenesis. *Future Oncol* 2011; 7: 395-408 [PMID: 21417903 DOI: 10.2217/fon.11.13]
20 Lee K, Zhang H, Qian DZ, Rey S, Liu JO, Semenza GL. Acriflavine inhibits HIF-1 dimerization, tumor growth, and vascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 17910-17915 [PMID: 19805192 DOI: 10.1073/pnas.0909353106]
21 Wang W, Xu GL, Jia WD, Wang ZH, Li JS, Ma JL, Ge YS, Xie SX, Yu JH. Expression and correlation of hypoxia-inducible factor-1alpha, vascular endothelial growth factor and microvessel density in experimental rat hepatocarcinogenesis. *J Int Med Res* 2009; 37: 417-425 [PMID: 19383236 DOI: 10.1177/147323000903700217]
22 Liu LP, Ho RL, Chen GG, Lai PB. Sorafenib inhibits hypoxia-inducible factor-1α synthesis: implications for antiangiogenic activity in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5662-5671 [PMID: 22929805 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0552]
23 Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010; 29: 625-634 [PMID: 19946328 DOI: 10.1038/onc.2009.441]
24 Li H, Ge C, Zhao F, Yan M, Hu C, Jia D, Tian H, Zhu M, Chen T, Jiang G, Xie H, Cui Y, Gu J, Tu H, He X, Yao M, Liu Y, Li J. Hypoxia-inducible factor 1 alpha-activated angiopoietin-like protein 4 contributes to tumor metastasis via vascular cell adhesion molecule-1/integrin β1 signaling in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 910-919 [PMID: 21674552 DOI: 10.1002/hep.24479]
25 Lu X, Kang Y. Hypoxia and hypoxia-inducible factors: master regulators of metastasis. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5928-5935 [PMID: 20962028 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1360]
26 Evans AJ, Russell RC, Roche O, Burry TN, Fish JE, Chow VW, Kim WY, Saravanan A, Maynard MA, Gervais ML, Sufan RI, Roberts AM, Wilson LA, Betten M, Vandewalle C, Berx G, Marsden PA, Irwin MS, Teh BT, Jewett MA, Ohh M. VHL promotes E2 box-dependent E-cadherin transcription by HIF-mediated regulation of SIP1 and snail. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 157-169 [PMID: 17060462 DOI: 10.1128/MCB.00892-06]
27 Zhang L, Huang G, Li X, Zhang Y, Jiang Y, Shen J, Liu J, Wang Q, Zhu J, Feng X, Dong J, Qian C. Hypoxia induces epithelial-mesenchymal transition via activation of SNAI1 by hypoxia-inducible factor-1α in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2013; 13: 108 [PMID: 23496980 DOI: 10.1186/1471-2407-13-108]
28 Erdozain OJ, Pegrum S, Winrow VR, Horrocks M, Stevens CR. Hypoxia in abdominal aortic aneurysm supports a role for HIF-1α and Ets-1 as drivers of matrix metalloproteinase upregulation in human aortic smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2011; 48: 163-170 [PMID: 20938207 DOI: 10.1159/000318806]
29 Du R, Lu KV, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passegué E, Song H, Vandenberg S, Johnson RS, Werb Z, Bergers G. HIF1alpha induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell* 2008; 13: 206-220 [PMID: 18328425 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.01.034]
30 Erler JT, Giaccia AJ. Lysyl oxidase mediates hypoxic control of metastasis. *Cancer Res* 2006; 66: 10238-10241 [PMID: 17079439 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3197]
31 Xiang ZL, Zeng ZC, Fan J, Tang ZY, Zeng HY, Gao DM. Gene expression profiling of fixed tissues identified hypoxia-inducible factor-1α, VEGF, and matrix metalloproteinase-2 as biomarkers of lymph node metastasis in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5463-5472 [PMID: 21712445 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3096]
32 Choi SH, Shin HW, Park JY, Yoo JY, Kim do Y, Ro WS, Yun CO, Han KH. Effects of the knockdown of hypoxia inducible factor-1α expression by adenovirus-mediated shRNA on angiogenesis and tumor growth in hepatocellular carcinoma cell lines. *Korean J Hepatol* 2010; 16: 280-287 [PMID: 20924210 DOI: 10.3350/kjhep.2010.16.3.280]
33 Liu Y, Zhang JB, Qin Y, Wang W, Wei L, Teng Y, Guo L, Zhang B, Lin Z, Liu J, Ren ZG, Ye QH, Xie Y. PROX1 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by way of up-regulating hypoxia-inducible factor 1α expression and protein stability. *Hepatology* 2013; 58: 692-705 [PMID: 23505027 DOI: 10.1002/hep.26398]
34 Zhang Q, Bai X, Chen W, Ma T, Hu Q, Liang C, Xie S, Chen C, Hu L, Xu S, Liang T. Wnt/β-catenin signaling enhances hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via crosstalk with hif-1α signaling. *Carcinogenesis* 2013; 34: 962-973 [PMID: 23358852 DOI: 10.1093/carcin/bgt027]
35 Schwartz DL, Bankson J, Bidaut L, He Y, Williams R, Lemos R, Thitai AK, Oh J, Volgin A, Soghomonyan S, Yeh HH, Nishii R, Mukhopadhay U, Alauddin M, Mushkudiani I, Kuno N, Krishnan S, Bornman W, Lai SY, Powis G, Hazle J, Gelovani J. HIF-1-dependent stromal adaptation to ischemia mediates in vivo tumor radiation resistance. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 259-270 [PMID: 21364021 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0469]
36 Yang W, Sun T, Cao J, Fan S. Hypoxia-inducible factor-1α downregulation by small interfering RNA inhibits proliferation, induces apoptosis, and enhances radiosensitivity in chemical hypoxic human hepatoma SMMC-7721 cells. *Cancer Biother Radiopharm* 2011; 26: 565-571 [PMID: 21950556 DOI: 10.1089/cbr.2011.0955]

37 Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, Louis NA, Montalto MC, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002; 62: 3387-3394 [PMID: 12067980]
38 Zhu H, Luo SF, Wang J, Li X, Wang H, Pu WY, Zhang H, Zhuang ZX. Effect of environmental factors on chemoresistance of HepG2 cells by regulating hypoxia-inducible factor-1α. *Chin Med J* (Engl) 2012; 125: 1095-1103 [PMID: 22613537 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2012.06.024]
39 Tung JN, Cheng YW, Hsu CH, Liu TZ, Hsieh PY, Ting LL, Ko HL, Chang YJ, Chiou JF, Wu AT. Normoxically overexpressed hypoxia inducible factor 1-alpha is involved in arsenic trioxide resistance acquisition in hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1492-1500 [PMID: 21181559 DOI: 10.1245/s10434-010-1444-y]
40 Onnis B, Rapisarda A, Melillo G. Development of HIF-1 inhibitors for cancer therapy. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 2780-2786 [PMID: 19674190 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00876.x]
41 Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 393-410 [PMID: 21606941 DOI: 10.1038/nrc3064]
42 Shin DH, Kim JH, Jung YJ, Kim KE, Jeong JM, Chun YS, Park JW. Preclinical evaluation of YC-1, a HIF inhibitor, for the prevention of tumor spreading. *Cancer Lett* 2007; 255: 107-116 [PMID: 17502124 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.03.026]
43 Liang Y, Zheng T, Song R, Wang J, Yin D, Wang L, Liu H, Tian L, Fang X, Meng X, Jiang H, Liu J, Liu L. Hypoxia-mediated sorafenib resistance can be overcome by EF24 through Von Hippel-Lindau tumor suppressor-dependent HIF-1α inhibition in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1847-1857 [PMID: 23299930 DOI: 10.1002/hep.26224]
44 Yamasaki M, Nagatomo T, Matsuyama T, Ikeho Y, Kato E, Nishiyama K, Sakakibara Y, Suiko M, Nishiyama K. Conjugated linoleic acids inhibit hypoxia inducible factor-1α stabilization under hypoxic condition in human hepatocellular carcinoma cells. *J Oleo Sci* 2012; 61: 491-496 [PMID: 22975783]
45 Tanaka H, Li Z, Ikuta K, Addo L, Akutsu H, Nakamura M, Sasaki K, Ohtake T, Fujiya M, Torimoto Y, Glass J, Kohgo Y. Iron facilitator LS081 reduces hypoxia-inducible factor-1α protein and functions as anticancer agent in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2012; 103: 767-774 [PMID: 22181812 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02192.x]
46 Liang B, Zheng C, Feng G, Wang Y, Zhao H, Liang H, Xiao E. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha in liver tumors after transcatheter arterial embolization in an animal model. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2009; 29: 776-781 [PMID: 20037826 DOI: 10.1007/s11596-009-0621-3]
47 Liang B, Zheng C, Feng G, Wu H, Wang Y, Zhao H, Li X, Qian J, Liang H. Experimental evaluation of inhibitory effect of 10-hydroxycamptothecin on hypoxia-inducible factor-1α expression and angiogenesis in liver tumors after transcatheter arterial embolization. *J Vasc Interv Radiol* 2010; 21: 1565-1572 [PMID: 20810290 DOI: 10.1016/j.jvir.2010.05.028]
48 Xu LF, Ni JY, Sun HL, Chen YT, Wu YD. Effects of hypoxia-inducible factor-1α silencing on the proliferation of CBRH-7919 hepatoma cells. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1749-1759 [PMID: 23555163 DOI: 10.3748/wjg.v19.i11.1749]
49 Forooghian F, Das B. Anti-angiogenic effects of ribonucleic acid interference targeting vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1alpha. *Am J Ophthalmol* 2007; 144: 761-768 [PMID: 17869204 DOI: 10.1016/j.ajo.2007.07.022]
50 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]
51 Wang C, Song B, Song W, Liu J, Sun A, Wu D, Yu H, Lian J, Chen L, Han J. Underexpressed microRNA-199b-5p targets hypoxia-inducible factor-1α in hepatocellular carcinoma and predicts prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1630-1637 [PMID: 21557766 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06758.x]
52 WeiXing C, Tiantian H, Qun N, Chaohui Y, Ping X. Inhibitory effect of hypoxia inducible factor-1 antisense oligonucleotide on growth of human hepatocellular carcinoma cells. *Med Oncol* 2008; 25: 88-92 [PMID: 18188720 DOI: 10.1007/s12032-007-0050-8]
53 Liu F, Wang P, Jiang X, Tan G, Qiao H, Jiang H, Krissansen GW, Sun X. Antisense hypoxia-inducible factor 1alpha gene therapy enhances the therapeutic efficacy of doxorubicin to combat hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 2055-2061 [PMID: 19016766 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00905.x]

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 2014年1月8日; 22(1): 9-16
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF-β1/Smad信号传导通路的影响

黄 蔚, 钱静蓉, 陈岳祥

黄蔚, 钱静蓉, 上海市普陀区利群医院消化科 上海市 200333
陈岳祥, 上海市长征医院消化科 上海市 200003
黄蔚, 副主任医师, 主要从事肝硬化门脉高压临床和基础研究.
上海市普陀区卫生系统自主创新科研基金资助项目, No. 普科委[2010]33号
作者贡献分布: 黄蔚与钱静蓉对此文所作贡献均等; 此课题由黄蔚设计, 并得到长征医院消化科陈岳祥教授的精心指导; 研究过程由黄蔚与钱静蓉负责操作完成; 研究所用试剂及分析工具由黄蔚提供; 数据分析由钱静蓉完成; 本论文写作由黄蔚与钱静蓉完成.
通讯作者: 黄蔚, 副主任医师, 200333, 上海市普陀区桃浦路910号, 上海市普陀区利群医院. huangwei_71_0502@126.com
电话: 021-52780030 传真: 021-52766654
收稿日期: 2013-09-28 接受日期: 2013-11-05
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Valsartan improves portal hypertensive gastropathy in rats possibly *via* TGF-β1/Smad signaling pathway

Wei Huang, Jing-Rong Qian, Yue-Xiang Chen

Wei Huang, Jing-Rong Qian, Department of Gastroenterology, Liqun Hospital, Shanghai 200333, China
Yue-Xiang Chen, Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China
Supported by: the Independent Innovation Scientific Research Project of Shanghai Putuo District Health System, No. [2010]33
Correspondence to: Wei Huang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Li Qun Hospital, 910 Taopu Road, Shanghai 200333, China. huangwei_71_0502@126.com
Received: 2013-09-28 Revised: 2013-11-05
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To investigate the efficacy and mechanisms of action of valsartan on portal hypertensive gastropathy in rats with gastric mucosa lesions.

METHODS: Forty-eight SD rats were randomly divided into a sham-operated group, a portal hypertension gastropathy group, a valsartan prevention group, a normal dose valsartan group and a high dose valsartan group. Portal hypertensive gastropathy was induced by the partial portal vein ligation method. Gastric mucosa TGF-β1 expression and microvessel density (MVD) were detected by immunohistochemical staining method. Gastric mucosa Smad2 and Smad7 protein expression was detected by Western blot. Plasma levels of rennin activity (PRA), angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ), alanine aminotransferase (ALT), and albumin (ALB) were determined by ELISA.

RESULTS: Compared with the model group, gastric mucosa TGF-β1 (11.58 ± 2.27, 13.29 ± 2.82, 13.15 ± 3.36 *vs* 24.25 ± 3.48, all $P < 0.05$) and Smad2 (0.86 ± 0.59, 0.82 ± 0.36, 0.83 ± 0.49 *vs* 1.60 ± 0.77, $P < 0.05$) protein expression was significantly decreased in the valsartan prevention group, normal dose valsartan group and high dose valsartan group. Smad7 protein expression in the valsartan prevention group, normal dose valsartan group and high dose valsartan group was significantly higher than that in the model group (1.59 ± 0.72, 1.65 ± 0.80, 1.69 ± 0.85 *vs* 0.58 ± 0.35, all $P < 0.05$). Plasma PRA (16.49 ng/mL ± 2.77 ng/mL, 15.92 ng/mL ± 4.30 ng/mL, 16.72 ng/mL ± 5.48 ng/mL *vs* 11.49 ng/mL ± 2.12 ng/mL, all $P < 0.05$) and Ang Ⅱ (1664.44 pg/mL ± 285.47 pg/mL, 1686.82 pg/mL ± 499.16 pg/mL, 1734.07 pg/mL ± 326.66 pg/mL *vs* 1110.38 pg/mL ± 193.85 pg/mL, all $P < 0.01$) were also significantly higher in the valsartan prevention group, normal dose valsartan group and high dose valsartan group than in the model group.

CONCLUSION: Valsartan can improve portal hypertensive gastropathy probably by down-regulating TGF-β1 and Smad2 expression and up-regulating Smad7 expression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Valsartan; Portal hypertensive gastropathy; Transforming growth factor-beta 1; Signal transduction

Huang W, Qian JR, Chen YX. Valsartan improves

■**背景资料**
肝硬化门脉高压性胃病是肝功能失代偿期的表现, 其所致的上消化道出血仅次于食管胃底静脉曲张破裂出血. 加之此类患者凝血功能差, 常导致肝脏功能进一步恶化, 加速肝性脑病、肝肾综合征等并发症出现, 影响患者预后. 选择既能平稳降低门脉压力, 又能改善肝脏功能药物已经成为人们关注的热点.

■**同行评议者**
陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科

■研发前沿
肝硬化门脉高压症是导致门脉高压性胃病的重要发病机制之一，有效降低门脉高压理论上可以阻止和改善胃黏膜病变. 目前治疗方法包括手术、介入和药物. 肝移植手术费用高，肝源少；TIPS短期内能够降低门脉高压，但远期并发症较多；药物治疗是目前研究热点.

portal hypertensive gastropathy in rats possibly *via* TGF-β1/Smad signaling pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 9-16 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9

摘要

目的: 探讨缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜病变的疗效和作用机制.

方法: 48只♂SD大鼠随机分为假手术组、门静脉高压性胃病模型组、缬沙坦预防组、缬沙坦常规剂量组和缬沙坦加倍剂量组. 采用部分门静脉主干缩窄法制备门静脉高压性胃病模型. 免疫组织化学染色法检测各组大鼠胃黏膜组织转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)表达、微血管密度(microvessel density, MVD), Western blot分析胃黏膜组织Smad2、Smad7蛋白表达. ELISA法检测各组血清肾素(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)、谷氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)水平.

结果: 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜组织中TGF-β1(11.58±2.27, 13.29±2.82, 13.15±3.36)明显低于造模组(24.25±3.48)(P<0.05); 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜微血管密度值(12.08±2.34; 13.13±1.42; 12.04±1.02)亦明显低于造模组(17.09±5.52)(P<0.05); 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜组织中Smad2蛋白表达(0.86±0.59, 0.82±0.36, 0.83±0.49)较造模组(1.60±0.77)明显下降(P<0.05), 但高于假手术组; Smad7蛋白表达(1.59±0.72, 1.65±0.80, 1.69±0.85)较模型组(0.58±0.35)明显升高(P<0.05), 但低于假手术组. 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组血PRA(16.49 ng/mL±2.77 ng/mL; 15.92 ng/mL±4.30 ng/mL; 16.72 ng/mL±5.48 ng/mL)、AngⅡ(1664.44 pg/mL±285.47 pg/mL, 1686.82 pg/mL±499.16 pg/mL, 1734.07 pg/mL±326.66 pg/mL)水平较模型组(11.49 ng/mL±2.12 ng/mL, 1110.38 pg/mL±193.85 pg/mL)比较明显升高(P<0.05, P<0.01).

结论: 缬沙坦能够改善门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜微血管病变,可能是通过下调TGF-β1、Smad2表达, 上调Smad7表达发挥作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 缬沙坦; 门静脉高压性胃病; 转化生长因子-β1; 信号传导

核心提示: 门脉高压性胃病时胃黏膜微血管内膜受损、管腔扩张、扭曲, 微血管密度增加, 转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)和Smad2表达明显升高, Smad7表达明显降低, 提示胃黏膜血管病变形成. 缬沙坦能够通过抑制胃黏膜TGF-β1和Smad2表达, 增加Smad7蛋白表达, 对胃黏膜血管病变具有一定治疗作用.

黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥. 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF-β1/Smad信号传导通路的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 9-16 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9

0 引言

门静脉高压性胃病(portal hypertension gastropathy, PHG)主要见于肝硬化门脉高压症(portal hypertention, PHT)患者. 其主要病理机制[1]是一种累及胃黏膜的血管性病变, 组织学特征为黏膜和黏膜下水肿, 小血管扩张, 而炎症细胞浸润不明显. 胃镜下表现为胃底和胃体黏膜充血水肿、糜烂甚至溃疡, 是上消化道出血的常见原因之一. PHT是PHG发生的始动因素, 任何能够降低门静脉压力的因素都能改善PHG[2]. 近年来研究发现缬沙坦作为一种血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, AngⅡ)1型受体拮抗剂有降低门静脉压力、抗肝纤维化和改善胃黏膜血供的作用, 其作用机制可能与抑制转化生长因子β1(transforming growth factor beta 1, TGF-β1)的合成和激活有关[3,4]. 大量研究证实TGF-β1在肝脏纤维化的发生和发展过程中发挥重要作用, 缬沙坦直接或间接抑制TGF-β1与TGF-β1Ⅱ型受体的合成和表达减轻肝纤维化程度[4-6]. 本课题组前期研究发现缬沙坦通过抑制门静脉TGF-β1的表达, 降低胶原纤维的合成, 改善门静脉血管病变的程度, 提示缬沙坦对PHG大鼠门静脉血管病变具有一定治疗作用[7], 但关于其对胃黏膜血管病变的影响, 国内报道甚少. 本实验拟观察缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜微血管构型的影响及其作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物为成年健康♂Sprague-Dawley (SD)大鼠48只, 体质量200-220 g, 由上

海第二军医大学实验动物中心提供[许可证号scxk(沪)2008-0016]. 缬沙坦(商品名代文, 北京诺华制药有限公司馈赠, 批号X0830); TGF-β1抗体(Santa Cruz公司, 货号为sc-146); Smad抗体(Santa Cruz公司, Smad2货号sc-135644; Smad7货号sc-11392); CD34抗体(福州迈新生物技术开发有限公司); SABC试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司); 蛋白提取试剂盒(碧云天生物技术研究所提供).

1.2 方法

1.2.1 动物分组和模型建立: 大鼠随机分成5组, 假手术组即对照组(n = 6)、模型组(n = 6)、缬沙坦预防组(n = 12)、缬沙坦常规剂量组(n = 12)、缬沙坦加倍剂量组(n = 12). 各组大鼠体质量、年龄相比无显著性差异. 本实验参照国内段进东等[8]的造模方法, 该方法可造成大鼠门静脉横截面积缩窄90%, 2 wk就能形成PHG模型. 具体方法如下: 模型组大鼠实验前24 h禁食, 自由饮水, 3%戊巴比妥钠溶液0.11-0.13 mL/100 g体质量腹腔内注射麻醉; 开腹后暴露并游离门静脉, 沿其纵轴外置一20 G钝性针头, 于近肝门处用3-0丝线结扎门静脉主干及外置针头后拔针, 形成肝前性门静脉狭窄. 假手术组仅游离门静脉主干而不结扎, 4 wk后与药物干预组一起进行指标检测. 缬沙坦预防组于造模开始每天清晨缬沙坦20 mg/kg体质量灌胃, 1次/d, 连续4 wk. 缬沙坦常规剂量组和加倍剂量组在造模术后第3周给药, 前者每天清晨20 mg/kg体质量灌胃, 1次/d; 后者40 mg/kg体质量灌胃, 1次/d, 连续2 wk. 造模组和假手术组于术后第3周予等量0.9%NaCl溶液灌胃, 连续2 wk.

1.2.2 胃黏膜大体标本制备: 造模4 wk后大鼠禁食12 h, 饮水, 3%戊巴比妥0.1 mL/100 g腹腔内麻醉后暴露腹腔取出全胃, 以0.9%NaCl溶液冲洗胃内容物, 剪取胃底部2 mm×4 mm大小的组织2块, 1块放入4%多聚甲醛固定石蜡包埋, 4 μm厚连续切片, 行HE染色. 另一块胃底组织-80 ℃保存.

1.2.3 血清肾素(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, AngⅡ)、谷氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)检测: 处死大鼠后腹腔静脉采血3 mL, 按照ELISA方法测定PRA、Ang Ⅱ、ALT、ALB浓度, 具体步骤按照试剂盒说明书操作.

1.2.4 免疫组织化学染色检测胃黏膜组织TGF-β1表达: 采用SABC法. 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, 严格按说明书操作. 免疫组织化学染色后先在光镜下做定性观察, 200倍高倍镜下每张切片测定3个视野, 通过显微摄像系统摄取图像, 在图像分析仪上应用免疫组织化学计算面积软件做定量分析代表阳性面积率, 取其平均值.

1.2.5 免疫组织化学染色检测胃黏膜微血管密度: 采用SABC法, 试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司产品, 严格按说明书进行操作. MVD检测方法如下: (1)CD34阳性以血管内皮细胞呈棕色或棕褐色染色为标准. 微血管计数以被染棕色或棕褐色的单个内皮细胞或内皮细胞簇作为一个血管计数. 只要结构不相连, 其分支结构也计作一个血管计数; (2)切片先在光镜下挑选微血管分布最高密度区域, 再在200倍光镜下计数3个不重复热点区域中被CD34染成棕色或棕褐色的微血管数, 取其平均值.

1.2.6 Western印迹分析胃黏膜Smad2、Smad7蛋白表达: 将胃底组织粉碎后加入裂解液, 蛋白提取过程按说明书操作进行. 在提取的蛋白中加入5%SDS煮沸10 min, 离心10 min, 提取上清液, BCA法测定蛋白含量. 取等量蛋白样本加入10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶中, 电转至硝酸纤维素膜, 室温下5%脱脂奶粉封闭2 h, 以封闭非特异性蛋白结合位点. 将膜放入用5%脱脂奶粉稀释的一抗稀释液中, 4 ℃摇床过夜, TBST洗3次, 每次20 min, 之后将膜放入用5%脱脂奶粉稀释的二抗稀释液中, 4 ℃摇床摇4 h, 然后用TBST洗3次, 每次20 min. 采用ECL化学发光法检测蛋白含量, 于暗室中用胶片显影、定影, 并用扫描仪进行扫描. 使用GENE公司图像处理软件分析, 计算目的基因与β-actin的吸光度比值.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 所得数据以mean±SD表示. 多组间比较采用单因素方差分析; 若方差齐性, 两两比较采用LSD法, 若方差不齐, 采用Dunnett T3检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 造模情况 缬沙坦加倍剂量组大鼠死亡3只, 其中2只由于灌胃后呛咳、窒息死亡, 1只为腹水伴腹腔感染, 缬沙坦预防组和常规剂量组分别有2只大鼠死亡, 死因为灌胃后呛咳、窒息. 造模组和假手术组无大鼠死亡.

2.2 胃组织病理学改变 造模后1 wk大鼠开始厌食、懒动, 2 wk后腹腔增大, 厌食加剧. HE染色

■相关报道

研究报道肝硬化门脉高压性胃病是一种血管性疾病, 血管紧张素Ⅱ与肝硬化门脉高压症的形成密切相关. 血管紧张素Ⅱ1型受体拮抗剂沙坦类药物能够降低门静脉压力, 改善胃黏膜微循环, 且不良反应少, 不引起明显的血压、心率的改变.

■创新盘点
缬沙坦改善肝硬化门脉高压性胃黏膜病变的作用机制目前不十分清楚. 本课题发现缬沙坦能够抑制胃黏膜组织TGF-β1的合成和分泌, 通过上调Smad2表达、下调Smad7表达来调控TGF-β1发挥作用, 从而减少胃黏膜血管损伤, 减轻血管病变程度.

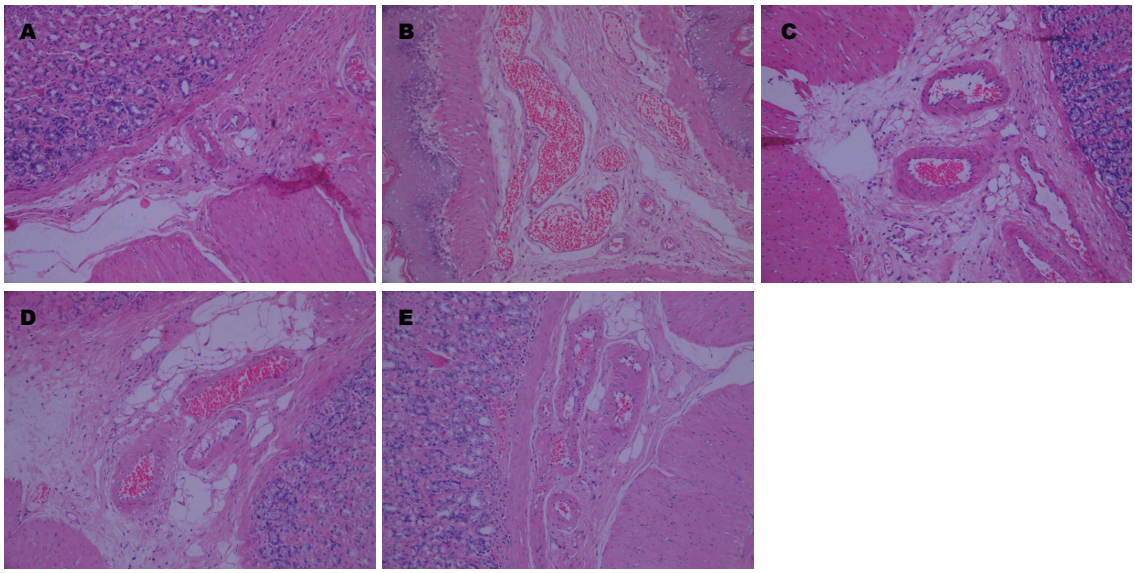


图 1 胃黏膜HE染色结果(×200). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦常规剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组.

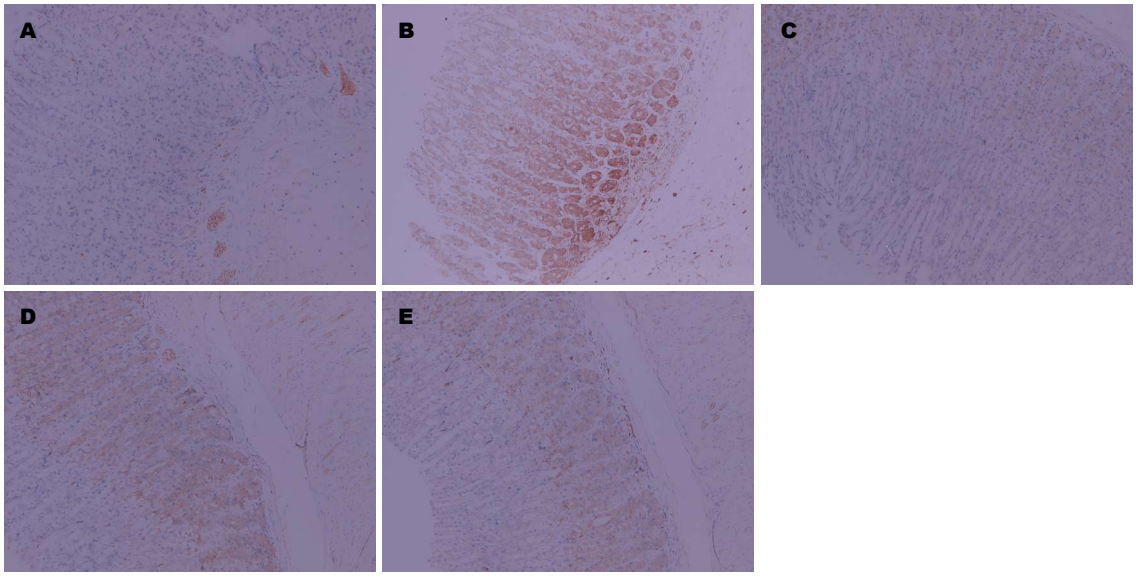


图 2 免疫组织化学检测胃黏膜组织TGF-β1表达情况(SABC×200). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦常规剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组.

结果显示, 假手术组大鼠胃黏膜和黏膜下层微动静脉结构完整, 腺体排列规整, 管壁光滑; 造模组大鼠胃黏膜腺体排列不整齐, 黏膜下层间隙增宽, 黏膜下微动静脉明显充血, 管壁变薄, 管腔内可见大量血细胞黏附, 胃黏膜毛细血管重度扩张、膨胀. 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜腺体排列较整齐, 黏膜下层稍增宽, 微动静脉轻度充血, 毛细血管轻度扩张(图1).

2.3 胃黏膜组织TGF-β1表达和MVD的变化 免疫组织化学结果显示, TGF-β1表达主要在胃黏膜上皮细胞的细胞浆和细胞膜, 阳性结果为细胞质染成棕黄色, 细胞核染成淡蓝色. 造模组大鼠胃黏膜组织TGF-β1表达量明显增加, 与假手术组大鼠比较差异有统计学意义($P<0.01$), 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜组织TGF-β1阳性表达率较造模组降低, 差异均有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$)(图2, 表1). CD34阳性表达主要见于血管内皮细胞胞浆中, 呈棕色或棕褐色染色. 微血管一般呈管腔样结构, 有些只见血管内皮细胞呈点状或线状不均匀分布. 造模组大鼠胃黏膜组织微血管密度值明显增加, 与假手术组大鼠比较差异有统计学意义($P<0.01$), 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂

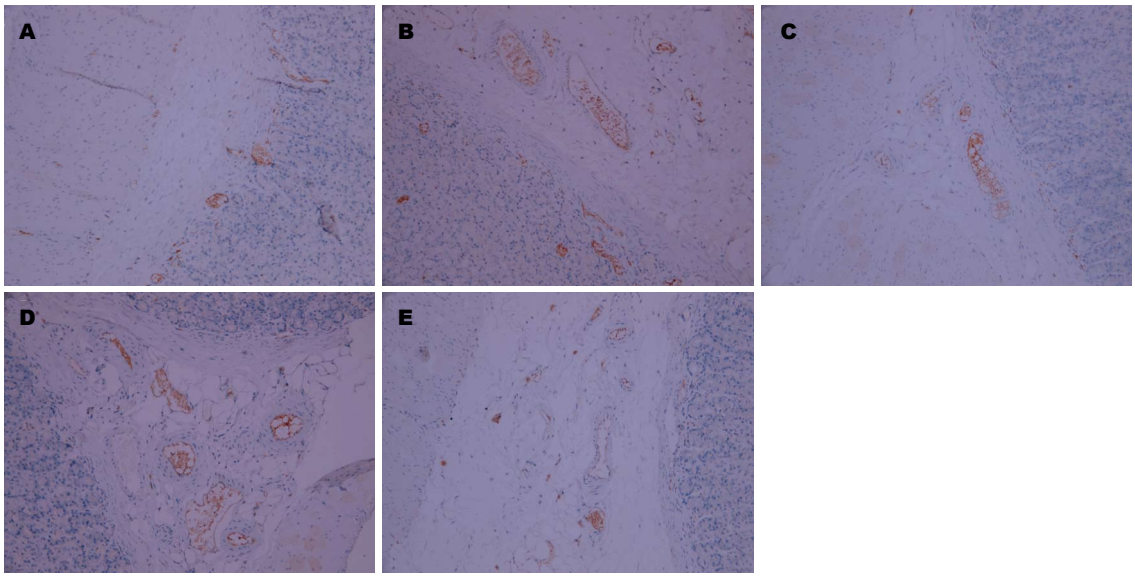


图 3 免疫组织化学检测胃黏膜微血管密度情况(SABC × 200). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦常规剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组.

■应用要点
肝硬化门脉高压性胃病及其并发症是肝硬化患者的主要威胁. 缬沙坦能够减少PHG大鼠胃黏膜血管损伤, 减轻血管病变程度; 并有降低血清丙氨酸转氨酶、升高白蛋白趋势, 对肝脏功能具有一定保护作用, 为临床使用缬沙坦提供了理论依据.

表 1 各组大鼠胃组织TGF-β1、Smad2、Smad7表达和MVD变化 (mean ± SD)

分组	*n*	TGF-β1	MVD	Smad2	Smad7
假手术组	6	8.59 ± 1.10[b]	8.54 ± 1.32[b]	0.62 ± 0.33[b]	2.02 ± 0.93[b]
造模组	6	24.25 ± 3.48	17.09 ± 5.52	1.60 ± 0.77	0.58 ± 0.35
缬沙坦预防组	10	11.58 ± 2.27[b]	12.08 ± 2.34[a]	0.86 ± 0.59[a]	1.59 ± 0.72[a]
缬沙坦常规剂量组	10	13.29 ± 2.82[a]	13.13 ± 1.42[a]	0.82 ± 0.36[a]	1.65 ± 0.80[a]
缬沙坦加倍剂量组	9	13.15 ± 3.36[a]	12.04 ± 1.02[a]	0.83 ± 0.49[a]	1.69 ± 0.85[a]

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 造模组. MVD: 微血管密度; TGF-β1: 转化生长因子-β1.

表 2 各组大鼠血清PRA、Ang-II、ALT、ALB含量比较 (mean ± SD)

分组	*n*	PRA(ng/mL)	Ang II (pg/mL)	ALT(U/L)	ALB(g/L)
假手术组	6	12.06 ± 1.93	955.99 ± 112.91	65.50 ± 16.80	27.37 ± 0.95
造模组	6	11.49 ± 2.12	1110.38 ± 193.85	79.00 ± 42.69	24.00 ± 1.89
缬沙坦预防组	10	16.49 ± 2.77[a]	1664.44 ± 285.47[b]	57.00 ± 10.00	25.48 ± 1.89
缬沙坦常规剂量组	10	15.92 ± 4.30[a]	1686.82 ± 499.16[b]	68.90 ± 29.48	27.86 ± 0.75
缬沙坦加倍剂量组	9	16.72 ± 5.48[a]	1734.07 ± 326.66[b]	67.22 ± 22.61	26.24 ± 0.92

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 造模组. PRA: 血清肾素; Ang II : 血管紧张素 II ; ALT: 谷氨酸转氨酶; ALB: 白蛋白.

量组大鼠胃黏膜组织微血管密度值与造模组相比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$)(图3).

2.4 胃黏膜组织Smad2、Smad7蛋白表达情况 Western blot结果显示, 与假手术组相比, 造模组大鼠胃黏膜组织Smad2蛋白表达明显升高($P<0.01$), 而Smad7蛋白表达明显降低($P<0.01$). 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜组织Smad2蛋白表达均低于造模组($P<0.05$), Smad7蛋白表达均高于造模组($P<0.05$)(表1, 图4).

2.5 血清PRA、Ang-Ⅱ、ALT、ALB含量 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠血清PRA水平明显高于造模组($P<0.05$); Ang-Ⅱ含量均高于造模组($P<0.01$); 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组血清ALT水平低于造模组、ALB含量高于造模组, 但与造模组比较差异无统计学意义(表2).

■同行评价
本文具有较好的学术价值, 具有一定指导意义.

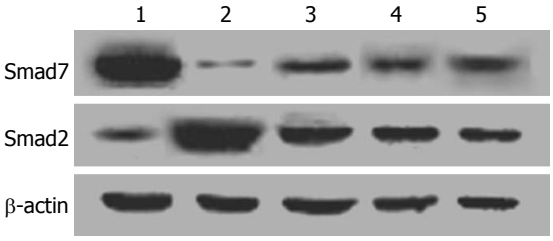


图 4 Western blot分析胃黏膜组织Smad2、Smad7蛋白表达的电泳图. 1: 假手术组; 2: 造模组; 3: 缬沙坦预防组; 4: 缬沙坦常规剂量组; 5: 缬沙坦加倍剂量组.

3 讨论

目前多数学者认为, PHG是一种独立的血管性疾病[1,9]. 门静脉高压导致胃的静脉回流受阻, 使胃壁静脉淤血, 加上胃的动脉血供增多, 更加剧胃壁淤血. 在长期的高压力血流作用下, 胃壁的血管发生适应性代偿反应, 胃黏膜毛细血管和小静脉形态和结构异常, 表现为血管扩张, 管壁增厚. 血管内皮的增厚扩大了损伤因子作用的靶点, 使得胃黏膜对损伤因子的易感性增强, 导致黏膜下水肿, 影响营养物质的弥散[1]. 此外, 门脉高压时胃黏膜血管再生能力减弱, 直接影响胃黏膜损伤后修复, 可能是引发胃黏膜出血的重要因素之一[10,11].

本研究发现, 假手术组大鼠4 wk后胃黏膜微血管结构完整, 管壁光滑. 造模组胃黏膜下微血管显著扩张, 管壁变薄; 毛细血管数量增加, 管腔扩张、淤血, 与文献报道一致[1,12]. 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜下微血管扩张扭曲减轻, 毛细血管数量减少, 管腔扩张减轻. 由CD34标记的微血管密度值在造模组和缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组均明显高于假手术组, 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组微血管密度值与造模组比较有显著性差异($P<0.05$), 提示缬沙坦干预后胃黏膜水肿减轻, 血管结构改变好转, 扩张淤血减轻, 胃黏膜的微循环得到改善, 起到了一定治疗作用[12].

降低门静脉压力是治疗PHG的关键, 目前已有多种药物通过减少门静脉血流量或降低肝内血管阻力来降低门静脉压力[13-15], 但尚无一种药物即能降低门静脉压力, 又能抗肝纤维化并无明显副作用. 缬沙坦是一种口服有活性的强力特异性血管紧张素(AngⅡ)Ⅰ型受体拮抗剂, 他选择性作用于AngⅡ1型受体发挥降低血压作用, 具有平稳降压和保护心、脑、肾等靶器官作用. 研究证实, 缬沙坦能够较好地降低肝硬化患者门静脉压力, 并具有一定的抗肝纤维化作用[16-18]; 其抗纤维化作用可能是通过消除AngⅡ对TGF-β1自分泌的正调控作用, 抑制TGF-β1及其受体(TRⅡ mRNA)的合成和表达, 抑制肝星状细胞活化、增殖和转化, 减少细胞外基质的合成, 从而发挥抗肝纤维化的作用, 间接促进门静脉压力的降低[19-21].

TGF-β1在调节细胞增殖、分化、血管形成和组织纤维化等方面起重要作用[22,23]. TGF-β1通过Smad信号转导通路发挥其生物学效应[24-27], 当TGF-β1与TGF-β1Ⅱ型受体(TGF-β1RⅡ)结合后, 继而活化TGF-β1Ⅰ型受体(TGF-β1RⅠ), 活性TGF-β1RⅠ的激酶区直接使Smad2、3自动磷酸化, 与共同介质型Smad4形成异源寡聚体复合物, 该复合物随即转移到细胞核, 介导TGF-β1的生物学效应. 而抑制型Smad6、7是细胞中TGF-β1RⅠ拮抗蛋白, 能牢固的与TGF-β1RⅠ结合, 使之无法将Smad2、3磷酸化而阻断信号转导过程. 已有研究证实, 肝脏纤维化发生发展中, 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)大量表达TGF-β1和Smad2、4, 而Smad7表达被抑制[28,29]. 本实验发现造模组大鼠胃黏膜组织TGF-β1和Smad2蛋白表达明显增强, 而Smad7蛋白表达明显降低, 与假手术组比较差异有统计学意义($P<0.01$). 实验结果表明, 正常胃黏膜组织内有大量Smad7表达而TGF-β1、Smad2较少, PHG大鼠胃黏膜组织内Smad7表达明显减少而TGF-β1、Smad2显著增多. 应用缬沙坦干预后各组大鼠胃黏膜TGF-β1、Smad2和Smad7蛋白水平出现相应变化, 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜组织中TGF-β1和Smad2蛋白表达均低于模型组; Smad7蛋白表达高于模型组, 提示缬沙坦能够作用于TGF-β1下游信号通道蛋白Smad, 提升PHG大鼠胃黏膜组织内Smad7, 同时抑制Smad2蛋白表达, 作用于TGF-β1的正负反馈环路, 在各阶段阻断TGF-β1发挥病理作用.

本实验结果还显示, 缬沙坦干预后大鼠血清PRA、AngⅡ水平明显升高($P<0.05$), 与缬沙坦拮抗AngⅡ受体, 减少AngⅡ的消耗, 并且减少对肾上腺皮质球状带的刺激, 从而减少醛固酮的分泌, 减轻水钠潴留有关. 此外, 缬沙坦干预各组大鼠血清白蛋白水平与造模组比较有所升高, 丙氨酸转氨酶水平有所降低, 虽然差异无统计学意义($P>0.05$), 可能与样本数量较少有关, 但提示其具有一定的保护肝脏功能作用[13,30].

总之, 缬沙坦具有降低门脉压力作用, 并可能通过抑制TGF-β1/Smad信号通路来改善门静脉高压性胃黏膜血管病变, 但长期疗效和药物的不良反应仍有待进一步研究证实.

4 参考文献

1 Khomeriki SG, Zhukov AG. [Morphological features of the gastric mucosa capillary network in patients with portal hypertension]. *Arkh Patol* 2011; 73: 43-47 [PMID: 22164432]

2 Al-Busafi SA, McNabb-Baltar J, Farag A, Hilzenrat N. Clinical manifestations of portal hypertension. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 203794 [PMID: 23024865]

3 Hidaka H, Nakazawa T, Shibuya A, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Koizumi W. Effects of 1-year administration of olmesartan on portal pressure and TGF-beta1 in selected patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1316-1323 [PMID: 21850387 DOI: 10.1007/s00535-011-0449-z]

4 霍丽娟, 刘莹, 张锁娟. 缬沙坦对肝硬化患者门静脉压力和肝纤维化指标的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1139-1142

5 Jia D, Duan F, Peng P, Sun L, Liu X, Wang L, Wu W, Ruan Y, Gu J. Up-regulation of RACK1 by TGF-β1 promotes hepatic fibrosis in mice. *PLoS One* 2013; 8: e60115 [PMID: 23555900 DOI: 10.1371/journal.pone.0060115]

6 Sun YC, Liang Q, Qian KL, Xiao L, Liu Q, Shi XF. [Effect of TGF-b1 siRNA-mediated silencing on Smad proteins in hepatic fibrosis rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 289-293 [PMID: 22964151]

7 黄蔚, 钱静蓉. 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF-β1和胶原纤维的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2765-2771

8 段进东, 管洪庚, 陈易人, 钱海鑫, 汪良. 一期门静脉缩窄法复制大鼠门脉高压性胃病模型. 中华实验外科杂志 2000; 17: 356-357

9 Perini RF, Camara PR, Ferraz JG. Pathogenesis of portal hypertensive gastropathy: translating basic research into clinical practice. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 150-158 [PMID: 19190600 DOI: 10.1038/ncpgasthep1356]

10 Pan WD, Liu Y, Lin N, Xu R. The expression of PEDF and VEGF in the gastric wall of prehepatic portal hypertensive rats. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 2152-2155 [PMID: 22024088 DOI: 10.5754/hge11227]

11 Kalafateli M, Triantos CK, Nikolopoulou V, Burroughs A. Non-variceal gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: a review. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2743-2754 [PMID: 22661272 DOI: 10.1007/s10620-012-2229-x]

12 黄会芳, 霍丽娟, 杨保元. 缬沙坦对肝硬化门静脉高压大鼠胃黏膜微循环及超微结构的影响. 山西医科大学学报 2007; 38: 121-123

13 Biecker E. Portal hypertension and gastrointestinal bleeding: diagnosis, prevention and management. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5035-5050 [PMID: 23964137 DOI: 10.3748/wjg.v19.i31.5035]

14 Agasti AK, Mahajan AU, Phadke AY, Nathani PJ, Sawant P. Comparative randomized study on efficacy of losartan versus propranolol in lowering portal pressure in decompensated chronic liver disease. *J Dig Dis* 2013; 14: 266-271 [PMID: 23280243 DOI: 10.1111/1751-2980.12025]

15 Tang SH, Zhang MM, Wu XJ, Wang KJ. [A meta-analysis of the effect and safety of angiotensin II receptor blockers in treatment of portal hypertension in cirrhotic patients]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2011; 50: 1013-1018 [PMID: 22333168]

16 Huo LJ, Zhang SJ, Liu Y. [Clinical evaluation of valsartan on portal hypertension in patients with hepatic cirrhosis]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 622-623 [PMID: 20825720 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.08.017]

17 Fierbinteanu-Braticevici C, Dragomir P, Tribus L, Negreanu L, Bengus A, Usvat R, Andronescu D. The effect of valsartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal and systemic hemodynamics and on renal function in liver cirrhosis. *J Gastrointestin Liver Dis* 2006; 15: 337-342 [PMID: 17205144]

18 Moreno M, Gonzalo T, Kok RJ, Sancho-Bru P, van Beuge M, Swart J, Prakash J, Temming K, Fondevila C, Beljaars L, Lacombe M, van der Hoeven P, Arroyo V, Poelstra K, Brenner DA, Ginès P, Bataller R. Reduction of advanced liver fibrosis by short-term targeted delivery of an angiotensin receptor blocker to hepatic stellate cells in rats. *Hepatology* 2010; 51: 942-952 [PMID: 20044807 DOI: 10.1002/hep.23419]

19 Subeq YM, Ke CY, Lin NT, Lee CJ, Chiu YH, Hsu BG. Valsartan decreases TGF-β1 production and protects against chlorhexidine digluconate-induced liver peritoneal fibrosis in rats. *Cytokine* 2011; 53: 223-230 [PMID: 21129996 DOI: 10.1016/j.cyto.2010.11.004]

20 Qiang G, Zhang L, Yang X, Xuan Q, Shi L, Zhang H, Chen B, Li X, Zu M, Zhou D, Guo J, Yang H, Du G. Effect of valsartan on the pathological progression of hepatic fibrosis in rats with type 2 diabetes. *Eur J Pharmacol* 2012; 685: 156-164 [PMID: 22546234 DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.04.028]

21 Peng J, Li X, Feng Q, Chen L, Xu L, Hu Y. Antifibrotic effect of Cordyceps sinensis polysaccharide: Inhibiting HSC activation, TGF-β1/Smad signalling, MMPs and TIMPs. *Exp Biol Med* (Maywood) 2013; 238: 668-677 [PMID: 23918878 DOI: 10.1177/1535370213480741]

22 Huo LJ, Huang HF, Yang BY. [The effect of angiotensin II type 1 receptor blocker valsartan in rats with portal hypertensive gastropathy]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2006; 14: 611-613 [PMID: 16938177]

23 Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins PJ. TGF-β signaling in tissue fibrosis: redox controls, target genes and therapeutic opportunities. *Cell Signal* 2013; 25: 264-268 [PMID: 23063463 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.10.003]

24 Zhang L, Li Y, Chen M, Su X, Yi D, Lu P, Zhu D. 15-LO/15-HETE Mediated Vascular Adventitia Fibrosis via p38 MAPK-Dependent TGF-β. *J Cell Physiol* 2014; 229: 245-257 [PMID: 23982954 DOI: 10.1002/jcp.24443]

25 Kitao A, Sato Y, Sawada-Kitamura S, Harada K, Sasaki M, Morikawa H, Shiomi S, Honda M, Matsui O, Nakanuma Y. Endothelial to mesenchymal transition via transforming growth factor-beta1/Smad activation is associated with portal venous stenosis in idiopathic portal hypertension. *Am J Pathol* 2009; 175: 616-626 [PMID: 19608867 DOI: 10.2353/ajpath.2009.081061]

26 任韫卓, 王晨, 史永红, 段惠军. 缬沙坦对人肾近端小管上皮细胞TGF-β1/Smad信号途径的影响. 中国药理学通报2008; 24: 960-964
27 Deng YL, Xiong XZ, Cheng NS. Organ fibrosis inhibited by blocking transforming growth factor-β signaling via peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 467-478 [PMID: 23060391]
28 Xu W, Song S, Huang Y, Gong Z. Effects of perindopril and valsartan on expression of transforming growth factor-beta-Smads in experimental hepatic fibrosis in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1250-1256 [PMID: 16872305]
29 Bi WR, Yang CQ, Shi Q. Transforming growth factor-β1 induced epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1960-1963 [PMID: 22369740 DOI: 10.5754/hge11750]
30 Sipal S, Halici Z, Kiki I, Polat B, Albayrak A, Albayrak F, Karakus E, Aksak S, Ozturk B, Gundogdu C. Comparative study of three angiotensin II type 1 receptor antagonists in preventing liver fibrosis in diabetic rats: stereology, histopathology, and electron microscopy. *J Mol Histol* 2012; 43: 723-735 [PMID: 22922994 DOI: 10.1007/s10735-012-9441-z]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 17-23
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

过表达FAF1对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响

袁燕玲, 刘爱群, 冯 洁, 陈佳玮, 葛莲英

袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英, 广西医科大学附属肿瘤医院内镜室 广西壮族自治区南宁市 530021
袁燕玲, 2011级广西医科大学肿瘤学在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的基础和临床研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFDA053021
广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 重2012092
作者贡献分布: 此课题由葛莲英与刘爱群设计; 实验由袁燕玲、冯洁及陈佳玮共同完成; 论文写作由袁燕玲与刘爱群完成.
通讯作者: 葛莲英, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院内镜室.
gelianying@hotmail.com
电话: 0771-5310521
收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-11-05
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Effects of FAF1 overexpression on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma HGC-27 cells

Yan-Ling Yuan, Ai-Qun Liu, Jie Feng, Jia-Wei Chen, Lian-Ying Ge

Yan-Ling Yuan, Jie Feng, Ai-Qun Liu, Jia-Wei Chen, Lian-Ying Ge, Department of Endoscopy, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2012GXNSFDA053021; and the Guangxi Key Medical Research Project, No. 2012092
Correspondence to: Lian-Ying Ge, Professor, Chief Physician, Department of Endoscopy, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. gelianying@hotmail.com
Received: 2013-09-26 Revised: 2013-11-05
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To investigate the influence of the overexpression of Fas-associated factor 1 (FAF1) on cell proliferation and apoptosis in human gastric cancer cell line HGC-27 to explore the relationship between FAF1 and gastric cancer.

METHODS: HGC-27 cells were divided into three groups: a negative control group, an empty vector transfection group (those transfected with empty vector particles 1.0 × 10^8 TU/mL), and a FAF1 overexpression group (those transfected with recombinant FAF1 lentiviral particles 1.0 × 10^8 TU/mL). Transfection efficiency was detected by laser scanning confocal microscopy. Protein expression level of FAF1 was detected by Western blot. Changes of cell ultrastructure were detected by transmission electron microscopy. Cell cycle distribution and apoptosis were observed by flow cytometry. Cell proliferation was detected by MTT assay.

RESULTS: The transfection efficiency was greater than 95% according to the green fluorescence. The expression of FAF1 protein was significantly higher in the FAF1 overexpression group than in the two control groups. The cell ultrastructure was normal in the two control groups; however, in the FAF1 overexpression group, cell nuclei split into pieces and apoptotic bodies and vacuoles formed. Overexpression of FAF1 inhibited HGC-27 cell growth, induced cell apoptosis, and changed the cell cycle progression. Compared to the negative control group and empty vector transfection group, cell doubling time was significantly extended, cell apoptosis was significantly increased (84.66% ± 5.92% *vs* 4.60% ± 3.80%, 7.32% ± 3.82%, both $P < 0.05$), the percentage of cells in G0/G1 phase was significantly decreased (46.43% ± 2.43% *vs* 54.93% ± 3.5%, 54%±0.3%, both $P < 0.05$), and the percentage of cells in G2/M phase was significantly increased (29.78% ± 3.91% *vs* 19.33% ± 3.82%, 20.93% ± 2.46%, both $P < 0.05$) in the FAF1 overexpression group.

CONCLUSION: FAF1 overexpression could inhibit cell growth, induce cell apoptosis, and change cell cycle progression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Fas-associated factor 1; Proliferation; Apoptosis

Yuan YL, Liu AQ, Feng J, Chen JW, Ge LY. Effects of FAF1 overexpression on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma HGC-27 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 17-23 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/17.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.17

■背景资料
胃癌是人类第4大恶性肿瘤, 其死亡率居世界第2位, Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)能够增强Fas介导的细胞凋亡, 并且在胃癌组织中特异性低表达. FAF1 mRNA在癌组织中的表达水平明显低于正常组织, 并与肿瘤的分化程度、有无远处转移等临床病程特征有着明显的关联, 说明FAF1与胃癌细胞的分化及生存预后具有重要的关系, 他可能作为一个抑癌基因参与胃癌的发生发展过程.

■同行评议者
潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

■研发前沿
目前的研究尚未见Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)在细胞水平调控的报告，本研究通过观察过表达FAF1后胃癌细胞增殖，凋亡的变化，进一步在细胞水平上探讨FAF1与胃癌发生发展的关系.

摘要

目的: 检测过表达Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响, 探讨FAF1与胃癌发生发展的相关性.

方法: 实验分为阴性对照组(未转染组)、空载转染组(感染空载体慢病毒颗粒1.0×10^8 TU/mL)、过表达FAF1组(感染FAF1过表达慢病毒颗粒1.0×10^8 TU/mL). 激光共聚焦显微镜观察转染效率, Western blot检测FAF1蛋白的表达情况, 透射电镜观察细胞超微结构变化, 流式细胞仪检测细胞周期分布及凋亡情况, MTT检测细胞生长情况.

结果: 依据GFP绿色荧光可测定细胞转染效率达95%以上; 与阴性对照组和空载转染组相比, 过表达FAF1组FAF1蛋白明显高表达; 阴性对照组和空载转染组均细胞膜完整, 细胞核正常, 两者超微结构无明显差异, 而过表达FAF1组胞核裂解成碎片状, 可见凋亡小体形成; FAF1过表达能够抑制人胃癌细胞HGC-27的增殖, 诱导细胞凋亡, 改变细胞周期的分布, 与阴性对照组和空载转染组相比, 过表达FAF1组细胞的倍增时间显著延长, 细胞凋亡率显著提高(84.66%±5.92% *vs* 4.60%±3.80%和7.32%±3.82%, $P<0.05$), G_0/G_1期细胞显著降低(46.43%±2.43% *vs* 54.93%±3.5%和54%±0.3%, $P<0.05$), G_2/M期细胞显著增多(29.78%±3.91% *vs* 19.33%±3.82%和20.93%±2.46%, $P<0.05$), 差异均有统计学意义.

结论: 构建的过表达FAF1慢病毒可以抑制胃癌细胞的生长, 改变细胞周期的分布, 促进胃癌细胞的凋亡.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌细胞; Fas相关蛋白1; 增殖; 凋亡

核心提示: Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)是新近发现的凋亡相关蛋白, 在胃癌中特异性低表达. 本课题组前期从组织学研究表明FAF1与胃癌的分化及生存预后具有重要的关系, 但在细胞水平的作用尚不清楚, 我们用慢病毒介导*FAF1*基因过表达转染人胃癌细胞HGC-27后, 发现其能够改变胃癌细胞的周期分布, 明显的促进细胞的凋亡及抑制细胞的增殖.

袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英. 过表达FAF1对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 17-23 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/17.asp

DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.17

0 引言

胃癌是人类第4大恶性肿瘤, 其死亡率居世界第2位[1]. 其中50%的胃癌发生在东南亚国家尤其是中国、韩国、日本[2]. 2008年我国有35.2万例死于胃癌[3]. 研究胃癌发生发展的分子机制, 对指导其预防和治疗十分重要. Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)是Fas死亡信号结合体(Fas-associated death domain protein, FADD)的成员之一[4], 能够增强Fas介导的细胞凋亡[5], 并且在胃癌组织中特异性低表达[6], 有可能是胃癌发生发展中的一个抑癌基因[7]. 本课题组前期从组织学研究表明FAF1 mRNA在胃癌组织中的表达水平明显低于正常组织, FAF1蛋白的阳性表达率随着肿瘤分化程度的降低, 浸润深度的增加, 伴有淋巴结转移和远处转移及TNM分期晚者明显减少, 说明FAF1与胃癌细胞的分化及生存预后具有重要的关系, 他可能作为一个抑癌基因参与胃癌的发生发展过程[8,9]. 目前的研究尚未见FAF1在胃癌细胞水平调控的报告, 本研究通过观察过表达FAF1后胃癌细胞增殖、凋亡的变化, 进一步在细胞水平上探讨FAF1与胃癌发生发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 HGC-27购自中南大学湘雅中心实验室, 胎牛血清、RPMI 1640完全培养基为Hyclone公司产品, BCA蛋白检测试剂盒购自碧云天公司, FAF1抗体购自Abnova公司, 小鼠抗人β-actin抗体购自CST公司, 细胞周期检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司, 凋亡试剂盒购自eBioscienc公司, 四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自Amresco公司, FAF1过表达慢病毒颗粒和空载体慢病毒颗粒由上海吉凯基因化学技术有限公司负责设计、合成.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及慢病毒颗粒转染: HGC-27细胞常规培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640完全培养基中, 在37 ℃、5%CO_2培养箱中常规培养.取对数生长期HGC-27细胞按2000/孔接种于96孔板中, 用无抗生素的含10%胎牛血清的RPMI 1640完全培养基培养24 h后细胞融合度约30%, 然后按照慢病毒使用说明书进行转染, 慢病毒颗粒用量为10 μL/孔, 转染后12 h将培养液更换为含2.5 μg/mL Polybrene的10%胎牛血清的

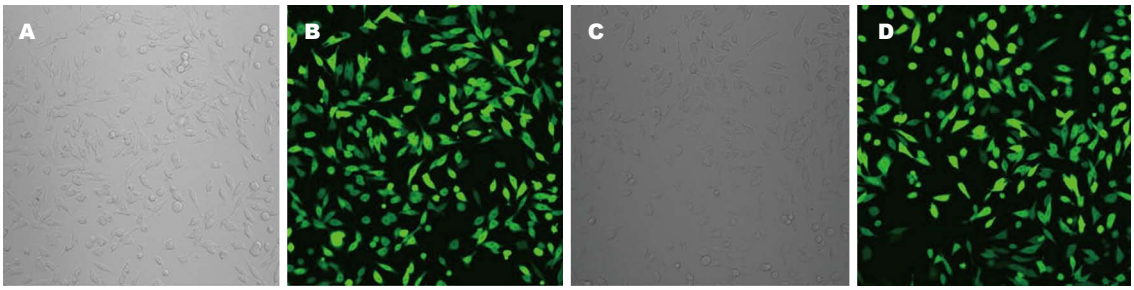


图 1 细胞转染效率分析(×200). A: 空载转染组明视野; B: 空载转染组荧光视野; C: FAF1过表达组明视野; D: FAF1过表达组荧光视野. FAF1: Fas相关蛋白1.

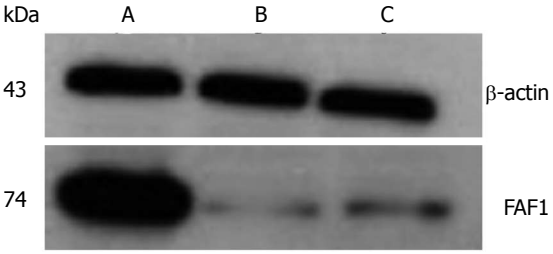


图 2 Western blot检测转染后FAF1蛋白. A: 过表达FAF1组; B: 空载体转染组; C: 阴性对照组. FAF1: Fas相关蛋白1.

RPMI 1640完全培养基继续培养, 96 h后倒置显微镜下可见细胞出现绿色荧光, 扩大培养进行后续试验.

1.2.2 激光共聚焦检测细胞转染效率: 取对数生长期细胞, 制成单细胞悬液, 铺于35 mm^2培养皿, 培养24 h后激光共聚焦显微镜观察细胞绿色荧光蛋白表达情况, 计算转染效率.

1.2.3 Western blot检测FAF1蛋白的表达: RIPA细胞裂解液抽提各组细胞总蛋白, BCA法定量. 作SDS-PAGE电泳, 分离胶浓度为10%, 电压100 V, 电泳90 min. 用电转仪将产物转移到PVDF膜上, 分别加入FAF1抗体(1∶1000)及单克隆抗体β-actin(1∶1000), 4 ℃孵育过夜, TBST充分洗膜后相应二抗(1∶2000)室温孵育1 h, TBST洗膜后ECL化学发光检测蛋白质印迹, 将暗夹夹紧压片, 显影、定影、水冲洗胶片晾干后保存.

1.2.4 透射电镜观察细胞超微结构改变: 取对数生长期细胞, 用4 ℃预冷的PBS洗涤细胞2次后用2.5%戊二醛4 ℃固定过夜, 次日将固定的细胞团块送入电镜室制作成细胞切片, 在透射电镜下观察细胞超微结构.

1.2.5 流式细胞术测细胞周期: 收集对数生长期细胞, 用磷酸盐缓冲液洗涤细胞2次, 70%冰乙醇固定, 4 ℃过夜. 离心洗涤后, 加入100 μL RNase A 37 ℃水浴30 min, 再加入400 μL PI染色混匀, 4 ℃避光30 min. 流式细胞仪检测细胞周期分布, 记录激发波长488处红色荧光.

1.2.6 流式细胞仪检测细胞的凋亡: 取对数生长期细胞, 用不含EDTA的胰酶消化, 离心清洗3次后制成单细胞悬液, 取1×10^6个细胞, 采用Annexin V/7-ADD法检测细胞凋亡.

1.2.7 MTT法检测细胞增殖活性: 将细胞以2×10^3/孔密度接种于96孔培养板, 每组8孔, 于37 ℃、5%CO_2培养箱培养箱培养. 到达观测时段时, 每孔加入5 mg/mL MTT 20 μL, 继续孵育4 h后, 弃上清液, 加DMSO 150 μL, 振荡10 min, 用酶标仪在492 nm波长下检测每孔的吸光度(A)值, 记录结果, 绘制生长曲线, 并且依据公式TD = t×lg2/lg(Nt/N0)(Nt为t时间的细胞数, N0为初种细胞数)[10]计算细胞倍增时间.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计分析. 计量资料用mean±SD表示, 各组均数与标准差比较用独立样本t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞转染效率测定 根据镜下带绿色荧光的细胞数占细胞总数百分比, 计算转染效率均达到95%以上, 说明转染成功, 可进行后续试验(图1).

2.2 FAF1蛋白水平测定 在各组内参β-actin蛋白表达水平一致的同时, 过表达FAF1组FAF1蛋白表达量明显高于阴性对照组与空载体组, 而阴性对照组与空载体组之间FAF1蛋白表达无明显差异. 由此说明, 经慢病毒颗粒感染后, 细胞FAF1蛋白明显的过表达, 并且空载慢病毒对蛋白表达基本不影响(图2).

2.3 细胞超微结构改变观察 与两对照组相比, 实验组细胞体积变小, 细胞质固缩, 胞质电子致密度增高, 胞核裂解成碎片状, 沿核膜排列, 并且产生了数量不等, 体积不同的凋亡小体, 两对照

■相关报道
FAF1已经被证实在几种癌症中表达缺失或下调, 在胃癌组织中的低表达尤为明显, 其功能的缺失可以为某些肿瘤提供生存信号.

■创新盘点

通过慢病毒载体感染胃癌细胞成功过表达Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)后, 验证了FAF1对胃癌细胞具有促凋亡作用, 并且创新性的发现FAF1能够抑制细胞的生长, 改变细胞周期的分布, 但其具体机制尚不明确. 我们将会在未来的研究中进一步探讨其可能的作用机制.

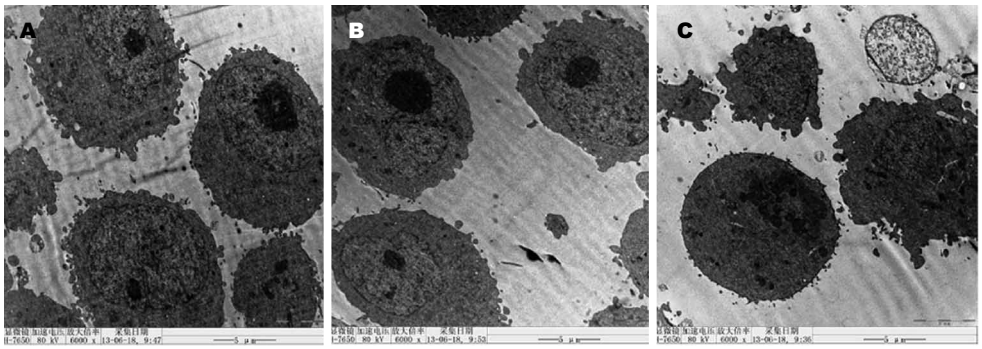


图 3 **细胞超微结构观察(×6000)**. A: 阴性对照组; B: 空载转染组; C: 过表达FAF1组. FAF1: Fas相关蛋白1.

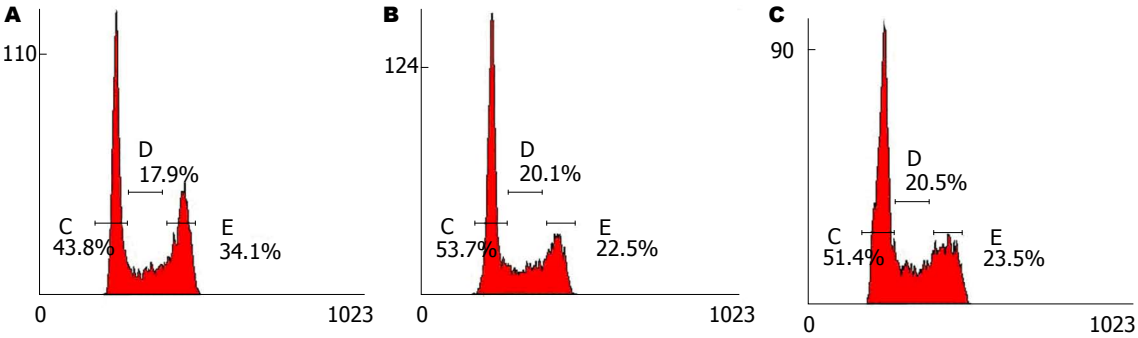


图 4 **细胞周期分析**. A: 过表达FAF1组; B: 阴性对照组; C: 空载转染组. FAF1: Fas相关蛋白1.

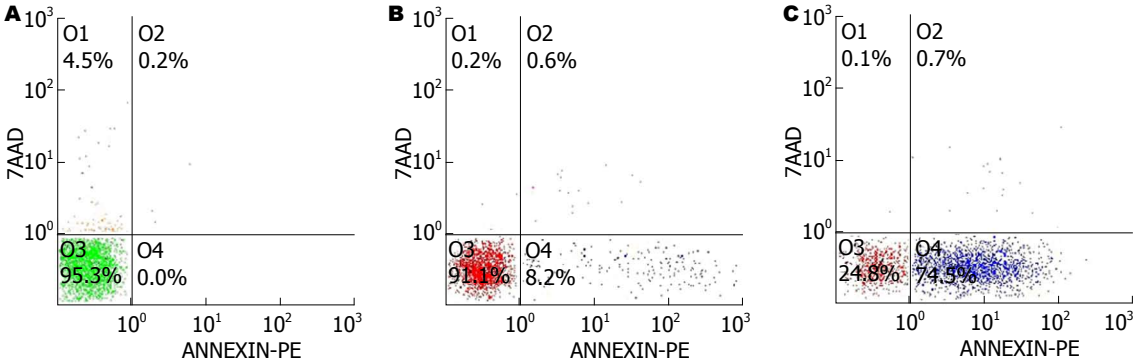


图 5 **细胞凋亡率分析**. A: 阴性对照组; B: 空载转染组; C: 过表达FAF1组. FAF1: Fas相关蛋白1.

组超微结构无明显差异, 细胞膜完整, 细胞核正常(图3).

2.4 细胞周期分布测定 流式细胞仪检测阴性对照组、空载转染组及过表达FAF1组细胞周期发现(图4), 各组G_0/G_1期比例分别为54.93%±3.5%、54%±0.3%、46.43%±2.43%, G_2/M期比例分别为19.33%±3.82%、20.93%±2.46%、29.78%±3.91%. 经统计学分析, 过表达FAF1组G_0/G_1期比例较其余两组下降(P<0.05), G_2/M期比例较其余两组升高(P<0.05), 而阴性对照组与空载转染组相比差异无显著性, 说明FAF1过表达后可阻滞胃癌细胞于G_2/M期.

2.5 细胞凋亡率的检测 过表达FAF1组细胞凋亡率明显高于阴性对照组与空载转染组(P<0.05), 空载体转染与阴性对照组无明显差异(图5, 图6), 提示过表达FAF1能够促进细胞的凋亡.

2.6 细胞生长速度的测定 根据细胞培养5 d测得的吸光度值绘制生长曲线如图7所示, 与阴性对照组和空载转染组相比; 过表达FAF1组生长速度较慢, 从第2天开始, 每天的活细胞数目均少于另外两组(P<0.05), 阴性对照组、空载转染组, 过表达FAF1组细胞倍增时间分别为26.64、23.52、45.12 h, 表明FAF1表达升高后, 细胞倍增时间明显延长, 从而细胞生长速度减慢.

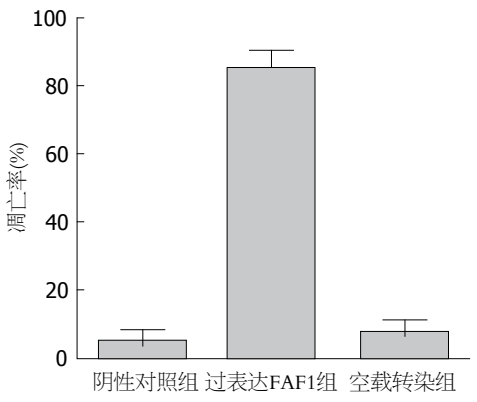


图 6 凋亡率. FAF1: Fas相关蛋白1.

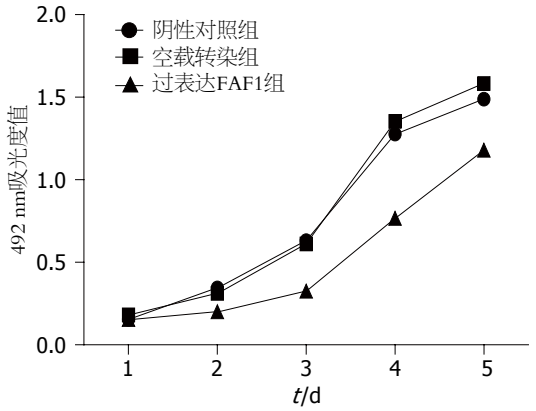


图 7 细胞生长曲线. FAF1: Fas相关蛋白1.

■应用要点

用慢病毒颗粒感染HGC-27细胞, 空载体组Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)表达无明显改变, FAF1过表达组FAF1蛋白明显高表达, 说明HGC-27过表达FAF1成功, 同时也证明慢病毒作为基因研究的载体具有低毒、高效的优势.

3 讨论

慢病毒载体是一种复制缺陷型逆转录病毒载体, 对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力, 能够将肿瘤治疗基因安全高效地整合到人体内, 使治疗基因长期、稳定、高效地表达, 而不易诱发宿主免疫反应, 是目前进行转基因和RNAi研究最好的工具之一[11].

细胞增殖和凋亡的异常在胃癌的发病中起重要作用, 已有大量相关研究的报道[12,13]. 并且有研究表明, 细胞的增殖, 分化、衰老和凋亡均是细胞周期依赖性的, 抑制肿瘤细胞周期蛋白的表达[14]. 可以说细胞周期调节紊乱是恶性肿瘤细胞凋亡和增殖异常的重要原因, 细胞周期的调控实际上就是对细胞周期调控点G_0/G_1期、S期和G_2/M期的调控, 是以细胞周期蛋白的合成和降解为主的多因素参与过程[15]. FAF1已经被证实在几种癌症中表达缺失或下调, 在胃癌组织中的低表达尤为明显, 其功能的缺失可以为某些肿瘤提供生存信号[6,16]. 目前研究表明, FAF1可以促进细胞的凋亡, 其机制可能为: (1)作为Fas死亡信号结合体的成员之一, 增强Fas介导的细胞凋亡[5,17]; (2)FAF1氨基酸序列1到201为FAS死亡结构域绑定区域, 181到381为类DED(death effect domains)区域, 其作为Fas死亡诱导信号复合物的组成部分与FADD和Caspase8的DED相互作用，通过活化Caspase8后, 随后出现Caspase家族的连锁反应(如Caspase3的活化), 从而分解DNA促进细胞凋亡[4]; (3)FAF是细胞凋亡抑制剂CK2的调节亚单位之一, 当受到DNA损伤时, FAF1与CK2全酶在细胞内形成复合物, 抑制CK2从而诱导细胞的凋亡[18]; (4)FAF1的过表达会促进核浓缩, 在缺乏外源信号的情况下, 可以直接启动细胞凋亡[19].

本研究中, 我们成功用慢病毒颗粒感染HGC-27细胞, 空载体组FAF1蛋白表达无明显改变, FAF1过表达组FAF1蛋白明显高表达, 说明HGC-27过表达FAF1成功. 结果表明, 过表达FAF1后, 胃癌细胞在形态学上呈现凋亡改变, 凋亡率也明显的增加, 进一步证实了FAF1促凋亡的作用, 并且发现在没有FasL结合的情况下, FAF1过表达也能引起较为强烈的细胞凋亡, 这可能与其过表达后活化Caspase8从而引起Caspase家族的级联反应有关[20]. MTT结果显示过表达FAF1后, 细胞倍增时间延长, 细胞增殖周期延长, 生长速度减慢, 说明FAF1能够抑制细胞的生长; FAF1过表达后, 细胞周期的分布也发生改变, G_0/G_1期细胞比例明显下降, G_2/M期细胞比例明显增加, 提示*FAF1*基因可使细胞周期重新分布, 产生G_2/M期阻滞. NF-κB是*C-myc*启动子的重要调节因子, 他的激活有刺激细胞增殖的作用[21], 并且在多种肿瘤中活性是增强的[22,23]. 有研究表明NF-κB活化后可以调节胃癌细胞产生一些促进细胞增殖的因子如粒细胞集落刺激因子等[24], 而FAF1能够抑制Iκκ复合物的激活和NF-κB P65亚基异位入核, 从而抑制NF-κB活性[25], 我们猜想其能够抑制肿瘤细胞的增殖可能与此作用有关. G_2/M期是细胞周期的两个检查点之一, 是细胞增殖的重要阶段, G_2/M期阻滞也是损伤DNA的修复期, DNA损伤在染色体分离前得不到修复, 则退出增殖周期进入凋亡途径. 因此, 我们猜测FAF1产生G_2/M期阻滞, 抑制细胞增殖, 可能与其促凋亡作用有关[26]. 当然, FAF1参与G_2/M期阻滞并与凋亡是否产生耦联及其机制, 还需要进一步的研究.

Fas/FasL信号途径是细胞凋亡的核心途径之一[27]. 而胃癌中FasL的表达是上调的, 并且通过杀死Fas敏感的抗肿瘤免疫效应细胞来实现免

■同行评价
本文探讨了FAF1转染胃癌细胞系后发生的表型变化，发现FAF1可显著抑制细胞增殖、促进凋亡，对胃癌的恶性生物表型的机制研究有一定借鉴意义.

疫逃逸，同时抑制Fas介导的细胞凋亡[28,29]. Ohno等[30]的研究表明胃癌中自发性凋亡可作为独立的预后因素，而Fas表达阳性者较表达阴性者预后佳. FAF1作为Fas死亡信号结合体成员之一，能够通过多种途径促进细胞的凋亡，并且能够抑制细胞的增殖，深入研究其机制极有为胃癌的药物靶向治疗提供新的方向.

总之，本研究通过慢病毒载体感染胃癌细胞成功过表达FAF1后，验证了FAF1对胃癌细胞具有促凋亡作用，并且创新性的发现FAF1能够抑制细胞的生长，改变细胞周期的分布，但其具体机制尚不明确. 我们将会在未来的研究中进一步探讨其可能的作用机制.

志谢：感谢冯艳、沈筱芸等在实验过程中给予的帮助，谢谢！

4 参考文献

1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078]

2 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]

3 代敏, 任建松, 李霓. 中国2008年肿瘤发病和死亡情况估计及预测. 中华流行病学杂志 2012; 33: 57-61

4 Ryu SW, Lee SJ, Park MY, Jun JI, Jung YK, Kim E. Fas-associated factor 1, FAF1, is a member of Fas death-inducing signaling complex. *J Biol Chem* 2003; 278: 24003-24010 [PMID: 12702723 DOI: 10.1074/jbc.M302200200]

5 Chu K, Niu X, Williams LT. A Fas-associated protein factor, FAF1, potentiates Fas-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 11894-11898 [PMID: 8524870]

6 Bjørling-Poulsen M, Seitz G, Guerra B, Issinger OG. The pro-apoptotic FAS-associated factor 1 is specifically reduced in human gastric carcinomas. *Int J Oncol* 2003; 23: 1015-1023 [PMID: 12963981]

7 Menges CW, Altomare DA, Testa JR. FAS-associated factor 1 (FAF1): diverse functions and implications for oncogenesis. *Cell Cycle* 2009; 8: 2528-2534 [PMID: 19597341 DOI: 10.4161/cc.8.16.9280]

8 刘爱群, 葛莲英, 罗小玲, 罗元, 林思彤. FAF1 mRNA在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2422-2426

9 刘爱群, 葛莲英, 邵红, 罗元, 林思彤. Fas相关因子1和Survivin在胃癌中的表达及其与患者预后的关系. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 21: 18

10 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋. 二烯丙基二硫对人胃癌MGC803细胞生长的影响. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1290-1293

11 Cockrell AS, Kafri T. Gene delivery by lentivirus vectors. *Mol Biotechnol* 2007; 36: 184-204 [PMID: 17873406]

12 Konturek PC, Kania J, Konturek JW, Nikiforuk A, Konturek SJ, Hahn EG. H. pylori infection, atrophic gastritis, cytokines, gastrin, COX-2, PPAR gamma and impaired apoptosis in gastric carcinogenesis. *Med Sci Monit* 2003; 9: SR53-SR66 [PMID: 12883469]

13 Shiotani A, Iishi H, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Merchant JL. Epithelial cell turnover in relation to ongoing damage of the gastric mucosa in patients with early gastric cancer: increase of cell proliferation in paramalignant lesions. *J Gastroenterol* 2005; 40: 337-344 [PMID: 15870969 DOI: 10.1007/s00535-004-1549-9]

14 Yu Q, Geng Y, Sicinski P. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation. *Nature* 2001; 411: 1017-1021 [PMID: 11429595 DOI: 10.1038/35082500]

15 Obaya AJ, Sedivy JM. Regulation of cyclin-Cdk activity in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 126-142 [PMID: 11846025]

16 MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17: 9-26 [PMID: 19619488 DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.016]

17 Kim HJ, Song EJ, Lee YS, Kim E, Lee KJ. Human Fas-associated factor 1 interacts with heat shock protein 70 and negatively regulates chaperone activity. *J Biol Chem* 2005; 280: 8125-8133 [PMID: 15596450 DOI: 10.1074/jbc.M406297200]

18 Park MY, Ryu SW, Kim KD, Lim JS, Lee ZW, Kim E. Fas-associated factor-1 mediates chemotherapeutic-induced apoptosis via death effector filament formation. *Int J Cancer* 2005; 115: 412-418 [PMID: 15688372 DOI: 10.1002/ijc.20857]

19 Fraser AG, Kamath RS, Zipperlen P, Martinez-Campos M, Sohrmann M, Ahringer J. Functional genomic analysis of C. elegans chromosome I by systematic RNA interference. *Nature* 2000; 408: 325-330 [PMID: 11099033 DOI: 10.1038/35042517]

20 赵瑞杰, 李引乾, 王会, 王广彬, 娜日苏, 金大鹏, 关伟军, 马月辉. Caspase家族与细胞凋亡的关系. 中国畜牧杂志 2010; 17: 73-78

21 崔嵩, 刘学锋, 吴斌. NF-κB在肿瘤中的研究进展. 现代肿瘤医学 2009; 17: 134-137

22 Dolcet X, Llobet D, Pallares J, Matias-Guiu X. NF-kB in development and progression of human cancer. *Virchows Arch* 2005; 446: 475-482 [PMID: 15856292 DOI: 10.1007/s00428-005-1264-9]

23 Shin SR, Sánchez-Velar N, Sherr DH, Sonenshein GE. 7,12-dimethylbenz(a)anthracene treatment of a c-rel mouse mammary tumor cell line induces epithelial to mesenchymal transition via activation of nuclear factor-kappaB. *Cancer Res* 2006; 66: 2570-2575 [PMID: 16510574 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3056]

24 刘静, 刘冰熔, 刘婷, 刘静, 刘婷. NF-κB与胃癌的靶向治疗研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 181-186

25 Park MY, Jang HD, Lee SY, Lee KJ, Kim E. Fas-associated factor-1 inhibits nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) activity by interfering with nuclear translocation of the RelA (p65) subunit of NF-kappaB. *J Biol Chem* 2004; 279: 2544-2549 [PMID: 14600157 DOI: 10.1074/jbc.M304565200]

26 赵卫红, 寿好长. G2-M期阻滞与肿瘤. 国外医学: 肿瘤学分册 1999; 26: 76-78

27 魏芳, 汪森明. 凋亡与自噬分子机制在肿瘤方面的研究进展. 实用医学杂志 2012; 28: 850-852

28 Bennett MW, O'connell J, O'sullivan GC, Roche D, Brady C, Kelly J, Collins JK, Shanahan F. Expression of Fas ligand by human gastric adenocarcinomas: a potential mechanism of immune escape in stomach

cancer. *Gut* 1999; 44: 156-162 [PMID: 9895372 DOI: 10.1136/gut.44.2.156]
29 Osaki M, Kase S, Kodani I, Watanabe M, Adachi H, Ito H. Expression of Fas and Fas ligand in human gastric adenomas and intestinal-type carcinomas: correlation with proliferation and apoptosis. *Gastric Cancer* 2001; 4: 198-205 [PMID: 11846063]
30 Ohno S, Tachibana M, Shibakita M, Dhar DK, Yoshimura H, Kinugasa S, Kubota H, Masunaga R, Nagasue N. Prognostic significance of Fas and Fas ligand system-associated apoptosis in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 750-757 [PMID: 11129423]

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 2014年1月8日; 22(1): 24-30
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与术后辅助化疗预后的关系

王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周 炎

■背景资料
结肠癌的治疗上首选手术. 但因其存在高转移、高复发的风险. 故术后辅助化疗起至关重要作用. 通过对76例结肠癌组织标本中ERCC1、TS蛋白表达的检测, 探讨分子标志物联合检测在预测结肠癌术后辅助化疗疗效及预后中作用.

王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤科 江苏省宜兴市 214200
王维民, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤的综合治疗.
作者贡献分布: 主要数据分析与文章起草由王维民完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理由王维民、邓建良、顾贤成、汤月华及张国强完成; 免疫组织化学分析与评分由王维民与邓建良完成; 课题设计、文章修改及审阅由周炎完成.
通讯作者: 周炎, 主任医师, 214200, 江苏省宜兴市通贞观路75号, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤科. dryzhou@163.com
电话: 0510-87921000 传真: 0510- 87921110
收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-11-08
接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2014-01-08

ERCC1 and TS expression and prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy

Wei-Min Wang, Jian-Liang Deng, Xian-Cheng Gu, Yue-Hua Tang, Guo-Qiang Zhang, Yan Zhou

Wei-Min Wang, Jian-Liang Deng, Xian-Cheng Gu, Yue-Hua Tang, Guo-Qiang Zhang, Yan Zhou, Department of Oncology, Yixing Hospital Affiliated to Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Yan Zhou, Chief Physician, Department of Oncology, Yixing Hospital Affiliated to Jiangsu University, 75 Tongzhenguan Road, Yixing 214200, Jiangsu Province, China. dryzhou@163.com
Received: 2013-10-14 Revised: 2013-11-08
Accepted: 2013-11-20 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To explore the relationship between excision repair cross-complementing group 1 (ERCC1) expression, thymidylate synthase (TS) expression and the prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy.

METHODS: Seventy-six patients who were diagnosed with colon cancer for the first time were enrolled in our study. All the patients received radical operation, were pathologically diagnosed with stage Ⅱ or Ⅲ disease, accepted FOLFOX4 (L-OHP+5-Fu+CF) chemotherapy and were followed at least 3 years. Immunohistochemistry was used to detect ERCC1 and TS expression levels in colon cancer. The relationship between the expression of ERCC1 and TS and postoperative survival was analyzed retrospectively.

RESULTS: The positive expression rates of ERCC1 and TS in colon cancer were 36.8% and 43.4%, respectively. There were a negative correlation between the positive expression of ERCC1 and TS and tumor differentiation (P = 0.019 and 0.024). The median survival time was significantly longer in patients with negative ERCC1 expression than in those with positive expression ($P < 0.05$), and in patients with negative TS expression than in those with positive expression ($P < 0.05$). Cox multivariate regression analysis revealed that patients with positive ERCC1 and TS expression did not benefit from chemotherapy (HR = 3.50, 95%CI: 1.59-7.73, P = 0.002; HR = 0.52, 95%CI: 0.35-0.87, P = 0.010).

CONCLUSION: ERCC1 and TS may be biomarkers for predicting the prognosis of colon cancer patients receiving chemotherapy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; ERCC1; TS; Adjuvant chemotherapy; Prognosis

Wang WM, Deng JL, Gu XC, Tang YH, Zhang GQ, Zhou Y. ERCC1 and TS expression and prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 24-30 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/24.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.24

摘要

目的: 探讨结肠癌术后患者切除修复交叉互补基因1(exsicion repair cross-complementing group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)表达与术后辅助化疗预后的关系.

方法: 选取76例初次诊断为结肠癌、行结肠癌根治术、术后病理诊断为Ⅱ、Ⅲ期的患者;

■同行评议者
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

所有患者术后均采用FOLFOX4(L-OHP+5-Fu+CF)辅助化疗方案. 并进行3年以上随访. 运用免疫组织化学方法检测患者癌组织中核苷酸ERCCl、TS蛋白表达. 回顾性分析结肠癌患者组织中ERCC1、TS表达与术后辅助化疗预后的关系.

结果: 76例结肠癌患者组织中ERCC1和TS的阳性表达率分别为36.8%和43.4%. ERCC1和TS阳性表达率与患者肿瘤的分化程度存在负相关. *P*值分别为0.019和0.024. ERCC1阴性表达者中位无病生存期(33.08 mo)明显长于阳性表达者(27.86 mo), 两组比较差异有统计学意义($P<0.05$). TS阴性表达者中位无病生存期(32.74 mo)明显长于阳性表达者(29.09 mo), 两组比较差异有统计学意义($P<0.05$). 多因素Cox回归分析表明, ERCC1、TS阳性患者术后辅助化疗预后差(HR = 3.50, 95%CI: 1.59-7.73, P = 0.002; HR = 0.52, 95%CI: 0.35-0.87, P = 0.010).

结论: ERCC1与TS表达水平可以作为预测结肠癌术后辅助化疗预测的分子标志物.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠癌; ERCC1; TS; 辅助化疗; 预后

核心提示: 分析结肠癌患者组织中切除修复交叉互补基因1(exsicion repair cross-complementing group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)表达与FOLFOX4术后辅助化疗预后的关系. ERCC1阴性表达者中位生存期(33.08 mo)明显长于阳性表达者(27.86 mo). TS阴性表达者中位生存期(32.74 mo)明显长于阳性表达者(29.09 mo), 比较差异均有统计学意义($P<0.05$). 多因素Cox回归分析表明, ERCC1、TS阳性患者术后辅助化疗预后差.

王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎. ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与术后辅助化疗预后的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 24-30 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/24.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.24

0 引言

结肠癌是最常见的消化系肿瘤之一[1]. 其发病情况有显著的地区性差异. 高发区主要集中在北美等发达国家[2,3]. 我国尚处于低发区[4,5]. 但是近几年来, 随着经济的发展. 人们的生活方式尤其是饮食结构的变化. 结肠癌已经成为我国发病率上升最快的恶性肿瘤之一. 严重威胁着国人的生命和健康[6-8].

结肠癌的治疗上首选根治性手术[9]. 但因其存在高转移、高复发的风险. 故术后辅助化疗在肠癌的综合治疗中起至关重要作用[10-12]. 根据NCCN指南, 奥沙利铂(L-OHP)与氟脲嘧啶类联合的FOLFOX6(L-OHP+5-Fu+CF)方案已成为结肠癌术后的标准化疗方案. 其疗效亦得到肯定. 但仍存在相当一部分患者术后易复发或转移[13-15]. 为了能更有效的提高术后辅助化疗疗效. 我们通过对76例结肠癌术后患者的组织标本中核苷酸切除修复交叉互补基因1(exsicion repair cross-complementing group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)蛋白表达的检测. 分析他们与临床病理特征的关系. 并探讨分子标志物联合检测在预测结肠癌术后辅助化疗疗效及预后中的作用. 为结肠癌的个体化治疗提供临床依据.

1 材料和方法

1.1 材料 76例标本取自江苏大学附属宜兴医院2006-01/2009-12手术治疗的结肠癌患者. 均经病理证实为结肠癌患者. 其中男45例, 女31例, 年龄31-72岁. 中位年龄52岁. 按1997年国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)TNM标准进行分期: Ⅱ期36例, Ⅲ期40例. 术后患者均应用FOLFOX4方案(奥沙利铂130 mg/m^2, 静脉滴注d1; 亚叶酸钙200 mg/m^2, 静脉滴注d1-d2; 5-氟尿嘧啶400 mg/m^2, 静脉推注d1-d2; 5-氟尿嘧啶600 mg/m^2, 静脉持续滴注d1-d2). 每2周重复, 至少完成6个周期的化疗. 化疗后通过上门或电话的方式进行随访. 直至患者死亡. 若末次随访仍然存活则定为截尾值. 随访截止时间2012-12. 鼠抗人ERCC1、TS单克隆抗体购自Santa Cruz生物工程公司. 二步法免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司. 石蜡切片机及漂片处理仪、图文分析系统为日本莱卡公司产品.

1.2 方法

1.2.1 实验: 标本用4%甲醛固定, 石蜡包埋, 常规切片, 厚度4 μm. 采用二步法免疫组织化学检测结肠癌组织ERCCl、TS蛋白的表达. 常规脱蜡、水化后进行预处理. 3%H_2O_2室温培育10 min. 蒸馏水洗3次. 每次2 min. 分别滴加1∶100稀释的抗ERCCl、TS单克隆抗体. 室温培育20 min, DAB显色, 苏木精对比染色、脱水, 二甲苯透明,

■研发前沿
探讨结肠癌术后患者ERCC1、TS表达与术后辅助化疗预后的关系.

■相关报道
陈建等研究发现ERCC1-C8092A位点为A/A或A/C型, TS-5'UTR位点为2R2R、2R3C或3C3C型的晚期食管癌患者对顺铂联合5-氟尿嘧啶治疗方案更为敏感.

表 1 ERCC1蛋白表达与临床特征的关系 *n*(%)

临床病理特征	*n*	ERCC1		*P*值
		阴性表达	阳性表达	
性别				0.235
男	45	31(68.89)	14(31.11)	
女	31	17(54.84)	14(45.16)	
年龄(岁)				0.348
≥52	41	28(68.29)	13(31.71)	
<52	35	20(57.14)	15(42.86)	
病理类型				1.000
管状腺癌	40	25(62.5)	15(37.50)	
粘液腺癌/印戒细胞癌	15	10(66.67)	5(33.33)	
乳头状腺癌	21	13(61.90)	8(38.10)	
分化程度				0.019
高分化	23	5(21.8)	18(78.3)	
中分化	19	8(42.1)	11(57.9)	
低分化	34	20(58.8)	14(41.2)	
浸润程度				1.000
T1+T2	17	11(64.71)	6(35.29)	
T3+T4	59	37(62.71)	22(37.29)	
淋巴结转移				0.887
N0	26	17(65.38)	9(34.62)	
N1	30	19(63.33)	11(36.67)	
N2	20	14(70.00)	6(30.00)	
TNM分期				0.808
Ⅱ期	26	17(65.38)	9(34.62)	
Ⅲ期	50	31(62.00)	19(38.00)	

ERCC1: 切除修复交叉互补基因1.

中性树脂封固, 显微镜下观察.

1.2.2 免疫组织化学结果判断标准: ERCC1、TS蛋白阳性染色者均在细胞核和/或细胞浆呈棕黄色沉着. 在光镜下(400倍视野)计算1000个肿瘤细胞中阳性细胞数. 阴性: 不表达或阳性细胞数<10%; 阳性: 视野中阳性细胞数≥10%. 病理结果由2位病理科医生在无法获知临床资料及预后的情况下独立阅片判定.

统计学处理 采用STATA10.0统计软件进行统计学分析. 定性资料比较采用Fisher确切概率法. 总体生存分析采用Kaplan-Meier生存曲线表示. 生存率的比较采用Log-rank检验. 影响因素分析采用Cox多因素回归模型. 检验水准α = 0.05双侧, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与临床特征的关系 76例结肠癌患者中, ERCC1蛋白阳性28例(36.8%). 阴性48例(63.2%); TS蛋白阳性33例(43.4%). 阴性43例(56.6%). ERCC1、TS蛋白表达与患者临床分期、年龄、性别均无明显相关性(P>0.05, 表1, 2). 但两者表达均随着肿瘤的分化程度降低而明显增高(P<0.05).

2.2 ERCC1蛋白表达与生存期之间的关系 ERCC1阴性表达者中位无病生存期(median disease-free survival, DFS)为33.08 mo(95%CI: 31.39-34.78). 而ERCC1阳性表达者DFS为27.86 mo(95%CI: 24.26-31.45). 两组间的差异有统计学意义. Kaplan-Meier生存曲线显示: ERCC1阴性表达者3年生存期优于阳性表达者, 差异有统计学意义(P = 0.0009<0.01, 图1A). 多因素Cox回归模型分析表明, ERCC1阳性肠癌患者预后较差(HR = 3.50, 95%CI: 1.59-7.73). 且分化程度越高的患者, 预后越好(HR = 0.42, 95%CI: 0.23-0.76)(表3).

2.3 TS蛋白表达与生存期之间的关系 TS阴性表达者中位无病生存期(DFS)为32.74 mo(95%CI: 30.77-34.71). 而TS阳性表达者DFS为29.09 mo(95%CI: 25.99-32.19), 两组间的差异有统

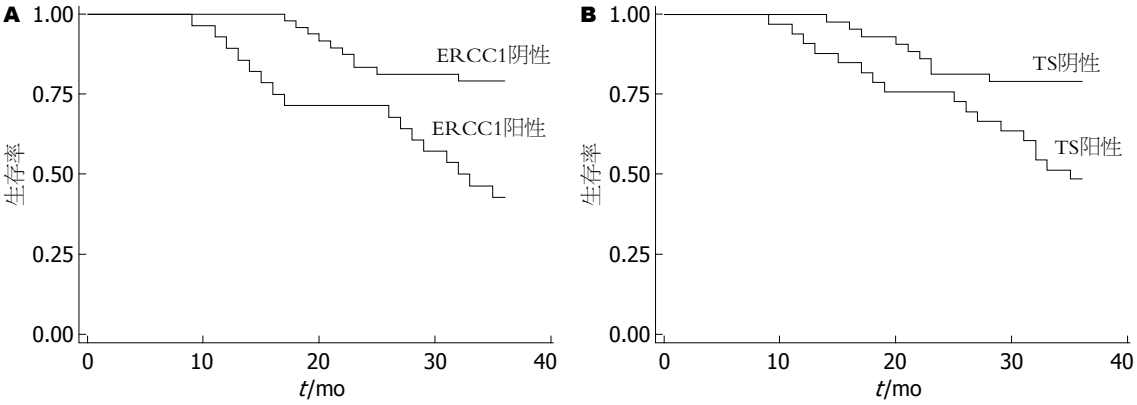


图 1 ERCC1、TS蛋白表达与生存期之间的关系. A: ERCC1蛋白表达与生存期之间的关系; B: TS蛋白表达与生存期之间的关系. ERCC1: 切除修复交叉互补基因1; TS: 胸苷酸合成酶.

■创新盘点
首次提出ERCC1、TS表达水平与结肠癌术后化疗方案-FOLFOX4疗效的关系, 提高结肠癌术后化疗的有效率, 延长其总生存期.

表 2 TS蛋白表达与临床特征的关系 *n*(%)

临床病理特征	*n*	TS		*P*值
		阴性表达	阳性表达	
性别				0.250
男	45	28(62.22)	17(37.78)	
女	31	15(48.39)	16(51.61)	
年龄(岁)				1.000
≥52	41	23(56.10)	18(43.90)	
<52	35	20(57.14)	15(42.86)	
病理类型				0.266
管状腺癌	40	20(50.00)	20(50.00)	
粘液腺癌/印戒细胞癌	15	8(53.33)	7(46.67)	
乳头状腺癌	21	15(71.43)	6(28.57)	
分化程度				0.024
高分化	23	4(17.4)	19(82.6)	
中分化	19	6(31.6)	13(68.4)	
低分化	34	18(52.9)	16(47.1)	
浸润程度				0.786
T1+T2	17	9(52.94)	8(47.06)	
T3+T4	59	34(57.63)	24(42.37)	
淋巴结转移				0.940
N0	26	15(57.69)	11(42.31)	
N1	30	18(60.00)	12(40.00)	
N2	20	11(55.00)	9(45.00)	
TNM分期				0.841
Ⅱ期	26	15(57.69)	11(42.31)	
Ⅲ期	50	36(60.00)	24(40.00)	

TS: 胸苷酸合成酶.

计学意义. Kaplan-Meier生存曲线显示: TS蛋白阴性表达者3年生存期优于阳性表达者, 差异有统计学意义(P = 0.0070<0.01, 图1B). 多因素Cox回归模型分析表明, TS阳性肠癌患者预后较差(HR = 2.89, 95%CI: 1.29-6.50). 且分化程度越高的患者, 预后越好(HR = 0.52, 95%CI: 0.35-0.87)(表3).

3 讨论

ERCC1定位于19号染色体上, 是核苷酸切除修复(nucleotidc excision repair, NER)活性的标志性基因[16,17]. NER是修复DNA损伤的最

■应用要点
ERCC1与TS表达水平可以作为预测结肠癌术后辅助化疗预测的分子标志物.

表 3 结肠癌患者癌组织中ERCC1、TS表达与临床病理资料变量单因素Cox回归分析 (n = 76)

变量	ERCC1		TS	
	HR (95%CI)	P值	HR (95%CI)	P值
年龄 (≤52 *vs* >52)	0.90(0.41–1.94)	0.780	0.99(0.46–2.15)	0.987
性别 (男 *vs* 女)	1.68(0.74–3.80)	0.216	1.59(0.71–3.60)	0.263
浸润深度(T1/T2 *vs* T3/T4)	1.40(0.59–3.32)	0.451	1.42(0.60–3.38)	0.431
淋巴结转移(N0 *vs* N1/N2/N3)	1.05(0.47–2.33)	0.906	1.37(0.58–3.27)	0.476
TNM 分期 (III *vs* II)	2.10(0.93–4.77)	0.076	1.34(0.59–3.03)	0.479
组织类型	0.81(0.46–1.43)	0.475	0.94(0.52–1.69)	0.835
分化程度	0.42(0.23–0.76)	0.004	0.52(0.35–0.87)	0.032
ERCC1(阳性 *vs* 阴性)	3.50(1.59–7.73)	0.002	2.89(1.29–6.50)	0.010

ERCC1: 切除修复交叉互补基因1; TS: 胸苷酸合成酶.

主要途径, 也是修复草酸铂所致的DNA伤的最主要途径. ERCC1与XPF/ERCC4形成异二聚体而发挥功能, 参与DNA链的切割和损伤识别, 能修复紫外线、多种化学物质所造成的损伤. 是细胞存活必须的DNA修复基因[17,18].

已有临床试验证实ERCC1在细胞水平和临床上, 是一个好的奥沙利铂敏感性的标志物[19]. Kim等[20]通过免疫组织化学法检测64例进展期胃癌患者组织中ERCC1、TS和GSTP1的表达, 发现ERCC1阳性对FOLFOX方案化疗的敏感性显著低于阴性患者(P = 0.045). ERCC1是标志肿瘤患者预后和铂类化疗的重要指标, 在肿瘤治疗中具有重要作用[21,22].

TS是胸苷酸合成的限速酶, 他的功能是催化尿嘧啶脱氧核苷(dUMP)甲基化为胸腺嘧啶脱氧核苷(dTMP). 在dTMP生成过程中, TS先与dUMP及5,10-甲酰四氢叶酸(CH2FH4)形成三联复合物, 然后通过甲基化、解离、释放TS、dTMP及FH2等步骤, 最终合成DNA. 5-FU进入体内被活化成氟尿嘧啶脱氧核苷酸(FdUMP), FdUMP替代dUMP与TS及CH2FH4形成之三联复合物不易解离, 则抑制TS, 不能合成dTMP, 也就不能合成肿瘤细胞DNA, 从而发挥抗肿瘤作用[22]. TS蛋白过表达将使FdUMP不能完全抑制TS的作用, 诱发肿瘤细胞对5-FU产生耐药[23-26], 因此, *TS*是5-FU化疗敏感性的标志基因[23,27,28].

Yeh等[29]发现胃癌TS表达水平与5-Fu的疗效呈负相关. Temmink等[30]对几种对5-Fu继发性耐药的人类H630结肠癌细胞株H630-RI、H630-R10和H630-R与其父系H630细胞株进行对比研究, 发现各耐药细胞株对5-FU的耐药性明显增加, 细胞中TS水平也明显增加, 不但说明TS水平高的肿瘤对5-FU的敏感性差, 而且说明细胞持续暴露于5-FU也可以使细胞内*TS*基因突变导致基因扩增及蛋白的过度表达, 从而引起对5-Fu的继发性耐药.

我们课题组应用免疫组织化学技术检测结肠癌术后患者的ERCC1、TS蛋白表达水平. 结果显示: ERCC1蛋白在结肠癌组织中的阳性表达率高达36.8%, TS蛋白在结肠癌组织中的阳性表达率高达43.4%, 两者随肿瘤的分化程度降低而明显增高(P<0.05). ERCC1、TS蛋白低表达较高表达的结肠癌术后患者应用FOLFOX4方案化疗可获得生存受益(P<0.01).

本研究初步表明, ERCC1蛋白表达可以预测结肠癌患者对铂类化疗的敏感性; TS蛋白表达可以预测5-FU化疗药物的敏感性; 两者联合运用可以预测FOLFOX4方案的有效率, 可为结肠癌术后患者的个体化治疗提供临床理论依据.

4 参考文献

1 Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 739-750 [PMID: 19240699 DOI: 10.1038/ajg.2009.104]

2 Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1688-1694 [PMID: 19505900 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0090]

3 Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, Meade TW. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* 2010; 376: 1741-1750 [PMID: 20970847 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61543-7]

4 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]
5 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]
6 Xiong F, Wu C, Bi X, Yu D, Huang L, Xu J, Zhang T, Zhai K, Chang J, Tan W, Cai J, Lin D. Risk of genome-wide association study-identified genetic variants for colorectal cancer in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1855-1861 [PMID: 20530476 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0210]
7 Xu AG, Yu ZJ, Jiang B, Wang XY, Zhong XH, Liu JH, Lou QY, Gan AH. Colorectal cancer in Guangdong Province of China: a demographic and anatomic survey. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 960-965 [PMID: 20180234]
8 Yang G, Zheng W, Xiang YB, Gao J, Li HL, Zhang X, Gao YT, Shu XO. Green tea consumption and colorectal cancer risk: a report from the Shanghai Men's Health Study. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1684-1688 [PMID: 21856996 DOI: 10.1093/carcin/bgr186]
9 Jayne DG, Thorpe HC, Copeland J, Quirke P, Brown JM, Guillou PJ. Five-year follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of laparoscopically assisted versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg* 2010; 97: 1638-1645 [PMID: 20629110 DOI: 10.1002/bjs.7160]
10 Lombardi L, Morelli F, Cinieri S, Santini D, Silvestris N, Fazio N, Orlando L, Tonini G, Colucci G, Maiello E. Adjuvant colon cancer chemotherapy: where we are and where we'll go. *Cancer Treat Rev* 2010; 36 Suppl 3: S34-S41 [PMID: 21129608 DOI: 10.1016/S0305-7372(10)70018-9]
11 Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, D'Haens G, Pintér T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C, Tejpar S, Schlichting M, Nippgen J, Rougier P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408-1417 [PMID: 19339720 DOI: 10.1056/NEJMoa0805019]
12 Tol J, Koopman M, Cats A, Rodenburg CJ, Creemers GJ, Schrama JG, Erdkamp FL, Vos AH, van Groeningen CJ, Sinnige HA, Richel DJ, Voest EE, Dijkstra JR, Vink-Börger ME, Antonini NF, Mol L, van Krieken JH, Dalesio O, Punt CJ. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 563-572 [PMID: 19196673 DOI: 10.1056/NEJMoa0808268]
13 Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocákova I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Wolf M, Gansert J. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4697-4705 [PMID: 20921465 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.4860]
14 Bertolini F, Malavasi N, Scarabelli L, Fiocchi F, Bagni B, Del Giovane C, Colucci G, Gerunda GE, Depenni R, Zironi S, Fontana A, Pettorelli E, Luppi G, Conte PF. FOLFOX6 and bevacizumab in non-optimally resectable liver metastases from colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 104: 1079-1084 [PMID: 21386839 DOI: 10.1038/bjc.2011.43]
15 Peeters M, Price TJ, Cervantes A, Sobrero AF, Ducreux M, Hotko Y, André T, Chan E, Lordick F, Punt CJ, Strickland AH, Wilson G, Ciuleanu TE, Roman L, Van Cutsem E, Tzekova V, Collins S, Oliner KS, Rong A, Gansert J. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4706-4713 [PMID: 20921462 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.6055]
16 Sertic S, Pizzi S, Lazzaro F, Plevani P, Muzi-Falconi M. NER and DDR: classical music with new instruments. *Cell Cycle* 2012; 11: 668-674 [PMID: 22373527 DOI: 10.4161/cc.11.4.19117]
17 Bohanes P, Labonte MJ, Lenz HJ. A review of excision repair cross-complementation group 1 in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2011; 10: 157-164 [PMID: 21855036 DOI: 10.1016/j.clcc.2011.03.024]
18 Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell* 2010; 40: 179-204 [PMID: 20965415 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.09.019]
19 Li P, Fang YJ, Li F, Ou QJ, Chen G, Ma G. ERCC1, defective mismatch repair status as predictive biomarkers of survival for stage III colon cancer patients receiving oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 2013; 108: 1238-1244 [PMID: 23481186 DOI: 10.1038/bjc.2013.83]
20 Kim KH, Kwon HC, Oh SY, Kim SH, Lee S, Kwon KA, Jang JS, Kim MC, Kim SJ, Kim HJ. Clinicopathologic significance of ERCC1, thymidylate synthase and glutathione S-transferase P1 expression for advanced gastric cancer patients receiving adjuvant 5-FU and cisplatin chemotherapy. *Biomarkers* 2011; 16: 74-82 [PMID: 21133646 DOI: 10.3109/1354750X.2010.533284]
21 Li HY, Ge X, Huang GM, Li KY, Zhao JQ, Yu XM, Bi WS, Wang YL. GSTP1, ERCC1 and ERCC2 polymorphisms, expression and clinical outcome of oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer in Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3465-3469 [PMID: 22994779]
22 Kim SH, Kwon HC, Oh SY, Lee DM, Lee S, Lee JH, Roh MS, Kim DC, Park KJ, Choi HJ, Kim HJ. Prognostic value of ERCC1, thymidylate synthase, and glutathione S-transferase pi for 5-FU/oxaliplatin chemotherapy in advanced colorectal cancer. Am *J Clin Oncol* 2009; 32: 38-43 [PMID: 19194123 DOI: 10.1097/COC.0b013e31817be58e]
23 Subbarayan PR, Lee K, Ardalan B. Arsenic trioxide suppresses thymidylate synthase in 5-FU-resistant colorectal cancer cell line HT29 In Vitro re-sensitizing cells to 5-FU. *Anticancer Res* 2010; 30: 1157-1162 [PMID: 20530422]
24 Ozasa H, Oguri T, Uemura T, Miyazaki M, Maeno K, Sato S, Ueda R. Significance of thymidylate synthase for resistance to pemetrexed in lung cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 161-166 [PMID: 19811498 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01358.x]
25 Ceppi P, Rapa I, Lo Iacono M, Righi L, Giorcelli J, Pautasso M, Billè A, Ardissone F, Papotti M, Scagliotti GV. Expression and pharmacological

■同行评价
文章的内容对结肠癌术后个体化化疗方案选择提供了充足的有意义的信息. 研究具有一定的新颖性.

inhibition of thymidylate synthase and Src kinase in nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2012; 130: 1777-1786 [PMID: 21618517 DOI: 10.1002/ijc.26188]

26 Lee KH, Hur HS, Im SA, Lee J, Kim HP, Yoon YK, Han SW, Song SH, Oh DY, Kim TY, Bang YJ. RAD001 shows activity against gastric cancer cells and overcomes 5-FU resistance by downregulating thymidylate synthase. *Cancer Lett* 2010; 299: 22-28 [PMID: 20727673 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.07.020]

27 Liu G, Hu X, Chakrabarty S. Vitamin D mediates its action in human colon carcinoma cells in a calcium-sensing receptor-dependent manner: downregulates malignant cell behavior and the expression of thymidylate synthase and survivin and promotes cellular sensitivity to 5-FU. *Int J Cancer* 2010; 126: 631-639 [PMID: 19621386 DOI: 10.1002/ijc.24762]

28 Kadota K, Huang CL, Liu D, Yokomise H, Haba R, Wada H. Combined therapy with a thymidylate synthase-inhibiting vector and S-1 has effective antitumor activity against 5-FU-resistant tumors. *Int J Oncol* 2011; 38: 355-363 [PMID: 21174056 DOI: 10.3892/ijo.2010.880]

29 Yeh CN, Jung SM, Chen TW, Hwang TL, Jan YY, Chen MF. Expression of thymidylate synthase determines the response of gastric cancer patients undergoing gastrectomy to 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy. *Langenbecks Arch Surg* 2010; 395: 217-225 [PMID: 20012317 DOI: 10.1007/s00423-009-0573-x]

30 Temmink OH, Bijnsdorp IV, Prins HJ, Losekoot N, Adema AD, Smid K, Honeywell RJ, Ylstra B, Eijk PP, Fukushima M, Peters GJ. Trifluorothymidine resistance is associated with decreased thymidine kinase and equilibrative nucleoside transporter expression or increased secretory phospholipase A2. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 1047-1057 [PMID: 20371715 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0932]

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》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®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 31-38
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

HER2在胃癌靶向治疗中的作用及意义

毛必静, 张志敏, 陈 川, 王 东, 王 阁

毛必静, 张志敏, 陈川, 王阁, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院野战外科研究所大坪医院放疗中心 重庆市 400042
王东, 中国人民解放军第三军医大学第三附属野战外科研究所大坪医院肿瘤中心 重庆市 400042
毛必静, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 本文综述由毛必静完成; 张志敏、陈川及王东完善相关文献查阅; 王阁审校.
通讯作者: 王阁, 教授, 主任医师, 400042, 重庆市渝中区大坪长江支路10号, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院野战外科研究所大坪医院放疗中心. wangge70@hotmail.com
电话: 023-68757171
收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-11-10
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Significance and role of HER2 in targeted therapy of gastric cancer

Bi-Jing Mao, Zhi-Min Zhang, Chuan Chen, Dong Wang, Ge Wang

Bi-Jing Mao, Zhi-Min Zhang, Chuan Chen, Ge Wang, Department of Radiotherapy, Research Institute of Surgery & Daping Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China
Dong Wang, Department of Oncology, Research Institute of Surgery & Daping Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China
Correspondence to: Ge Wang, Professor, Chief Physician, Department of Radiotherapy, Research Institute of Surgery & Daping Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Third Military Medical University, 10 Daping Changjiang Zhilu, Yuzhong District, Chongqing 400042, China. wangge70@hotmail.com
Received: 2013-09-23 Revised: 2013-11-10
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract
With the development of tumor molecular biology, the mechanisms responsible for metastasis and the proliferation and growth of tumor cells have become unmasking, which makes cancer treatment enter into a new era. HER2 is overexpressed or mutated in many kinds of tumors and have been associated with many malignant tumors, typically including advanced gastric and gastroesophageal junction cancer. The ToGA study is a milestone in the treatment of gastric cancer, which established the position of trastuzumab in the treatment of HER2-positive gastric cancer. In this review, we discuss the biological characteristics of HER2 and its role in the treatment of gastric cancer, the application prospects of trastuzumab in the treatment of gastric cancer, and the Chinese experts' consensus statement on targeted therapies for advanced gastric cancer. We also summarize the latest advances in basic and clinical research of HER2 positive gastric cancer. All in all, HER2 has nothing to do with the prognosis of gastric cancer. The combination of target-therapies may become a promising weapon for treatment of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric carcinoma; Human epidermal growth factor receptor 2; Trastuzumab; Targeted therapy; Pathogenesis

Mao BJ, Zhang ZM, Chen C, Wang D, Wang G. Significance and role of HER2 in targeted therapy of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 31-38 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/31.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.31

摘要
随着肿瘤分子生物学的发展, 肿瘤细胞增殖和转移过程中信号通路作用机制研究的不断深入, 使肿瘤治疗进入全新的时代. 表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)过表达和/或突变与许多肿瘤相关, 其中典型的就是晚期胃癌及胃食管交界癌. ToGA研究是胃癌治疗的一个里程碑, 他确立了曲妥珠单抗在胃癌HER2阳性患者的治疗地位. 本文总结HER2的生物学特性及在胃癌组织和血清中的表达和意义; 归纳曲妥珠单抗在HER2阳性胃癌的应用前景及晚期胃癌靶向治疗的中国专家共识; 概述关于HER2阳性胃癌最新的基础和临床研究状况. 总之, HER2与胃癌的预后无关, 各靶向治疗的有效联合很可能成为今后治疗的方向.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 人类表皮生长因子受2; 曲妥珠单抗;

■背景资料
随着胃癌的分子生物学的发展、分子病理学研究的深入发展, 胃癌的靶向治疗、化疗联合靶向治疗以及各靶向的有效联合治疗已逐渐成为今后主要的发展方向.

■同行评议者
俞继卫, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

■研发前沿
研究的热点转为发现新的胃癌预后靶标；以及曲妥珠单抗耐药的机制和如何解决其耐药的问题. 同时，对于治疗后疾病进展是否仍继续使用分子靶向药以及术前予曲妥珠单抗化疗是否获益也亟待解决.

靶向治疗; 发病机制

核心提示: 本文提出表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2)不能作为胃癌预后的因子，今后研究的热点将转为发现新的胃癌预后靶标以及曲妥珠单抗耐药的机制和如何解决其耐药的问题. 同时指出胃癌未来的靶向治疗方向更倾向于多元化.

毛必静，张志敏，陈川，王东，王阁. HER2在胃癌靶向治疗中的作用及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 31-38 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/31.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.31

0 引言

胃癌是世界上癌症相关性死亡的第2大因素，极大地危害人类的健康. 全球胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第2位[1]. 对于早期胃癌，手术切除是主要治疗手段；但大多数患者在确诊时分期偏晚，则失去了手术机会，生存率极低. 但随着对肿瘤发生机制的不断研究以及对肿瘤的信号转导通路研究的不断深入，肿瘤的治疗进入了一个崭新的靶向治疗时代. 表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)胃癌中高表达，与胃癌的发生发展关系密切，可能成为胃癌预后不良的一个标志物，同时也为胃癌的治疗提供一个新靶点，使部分进展期患者有了新的希望；临床上希望通过该基因的检测，能从分子靶向治疗中有所获益，这对于实现胃癌个体化治疗具有良好的应用前景. 现就HER2和一些重大的基础及临床试验在HER2阳性胃癌中的应用前景进行综述，以便更好地指导晚期胃癌未来的治疗方向.

1 HER2的生物学特性、在胃癌中的表达及预后关系

HER2是表皮生长因子受体家族的成员，表皮生长因子及其受体分别于1962年与1978年被发现[2]，该家族由4个不同受体组成：HER1(表皮生长因子或ErbB-1)、HER2(ErbB-2或HER-2/neu)、HER3(ErbB-3)和HER4(ErbB-4). 他们都具有相同的功能结构，有一个胞外配体结合域，一个螺旋型的跨膜部分和一个胞内酪氨酸激酶域. 当配体和受体相互作用后会导致二聚体和异二聚体的形成，可以激活其下游的两个主要信号转导途径：丝裂原活化蛋白激酶和磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶途径[3]. 前者主要参与细胞的有丝分裂，后者主要影响细胞的存活和凋亡. HER2是表皮生长因子受体家族的成员之一，定位于人染色体17q21，编码一种相对分子质量为185的跨膜糖蛋白，早期研究表明[4-6]，HER2在多种组织中都有表达，如：乳腺、胃肠、肾脏和心脏. 他在这些组织中的主要作用就是促进细胞的增殖和抑制凋亡，在正常情况下处于非激活状态，当受到体内外某些因素作用后被激活，具有肿瘤转化活性[7-10]，最终导致肿瘤的复发和转移.

HER2在很多种肿瘤中都有表达，例如：乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和非小细胞肺癌[11,12]. 而HER2在胃癌中表达具有其自身特异性. 在1986年，Sakai等[13]就首次报道了HER2在胃癌患者中有高表达；后又有文献报道，胃癌存在*HER2*基因扩增或过表达的比例为7%-34%[14-16]. 并且，HER2的表达与胃癌组织学类型及原发部位也有密切关系，肠型胃癌的HER2阳性表达率明显高于弥漫型胃癌；而且，原发于胃食管连接部的胃癌，其HER2的阳性表达率比原发于胃部的胃癌高. 寸英丽等[17]研究发现，HER2在胃癌组织中的表达最高，其次为癌周围组织. 以上大多数研究均关注于HER2在胃癌组织中的表达，而未对HER2在血清中的表达做相关研究. 其实，早在2007年，Kushlinskii等[18]就得出结论，HER2在乳腺癌组织中的表达与血清中的表达具有相关性. Narita等[19]对日本的胃癌患者其HER2在血清中的表达做了相关研究，研究共纳入105例胃癌患者，于手术前采集血清，结果显示：血清中HER2表达较高的见于分期较早的胃癌，这一结果与之前在乳腺癌中的研究结果相反，表明在胃癌中，T分期能影响HER2的血清学表达，而N分期则对其未产生影响. 研究还指出，在入组的患者中，HER2的组织表达阳性率为6.7%，且所有HER2阳性的肿瘤组织均为高分化；血清HER2水平在高分化肿瘤中明显升高，与HER2在组织中的表达具有一致性. 这一研究虽然表明了HER2在组织中与血清中表达的关系，但为了进一步评价其可能的临床意义，进行一些更大规模的临床实验是必不可少的.

HER2在胃癌的研究如火如荼，其根本原因是关注HER2的状态与患者预后的关系. 很多的研究致力于评估HER2状态与胃癌患者的预后关系[20-30]. 一些研究表明HER2阳性与预后不良有关；而一些研究则表明HER2状态与预后没有关系. Park等[28]研究入组了182例胃癌术后患

者, 结果显示, HER2状态为过表达和扩增者的患者, 其5年生存率明显低于阴性者. 而复旦大学上海癌症中心的研究者们对中国胃癌患者的HER2状态做了一个回顾性的分析以及与预后的评价研究[31]. 该研究是一个涉及上海、北京、广东和四川的多中心研究, 实验共纳入726例患者, HER2阳性率为13%(91/726), 且无论其运用的检测方法[免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)或荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)和双色银染原位杂交(dual chromogen visualization with silver *in situ* hybridization, DSISH)], 在4个不同地区, HER2的检测状态没有统计学上得差异. 同时, IHC和FISH检测以及FISH和DSISH检测的一致性较高. 研究表明, 与之前研究结果[14,32,33]相似, HER2阳性多见于肠型、高-中分化、胃食管连接部胃癌以及男性; 与年龄、淋巴结转移情况、病理分期没有统计学上的差异. HER2阳性患者与阴性患者3年生存期无统计学差异. 结果表明, HER2不是胃癌的一个预后指标, 其过表达并不影响预后. Barros-Silva等[34]也报道了HER2基因扩增与性别、年龄、淋巴结转移、临床分期和手术类型无明显关联. 另外, 关于HER2状态对于放化疗是否有影响也进行了一些临床实验. 在SWOG9008临床实验中[35], 通过FISH检测, *HER2*基因扩增率为10.9%, 研究显示, *HER2*基因扩增的患者不能从放化疗中得到生存获益, 反之, *HER2*基因无扩增或无过表达的患者能从放化疗中获益. MAGIC[36]临床实验研究表明, 对于术前行ECF方案化疗是否获益, HER2不是一个临床有用的生物指标; 同时, 他也不是早期胃食管连接部胃癌的预测指标. 可见, 目前HER2过度表达或扩增能否作为独立的预后判断因素仍有争议. 这一争议存在的原因可能在于检查方法及客观标准的不一致. 在ToGA试验中, 研究者评价了用IHC和FISH检测胃癌组织中HER2的状态. HER2阳性定义为IHC3$^+$或者FISH阳性[21], 值得注意的是HER2的表达不同主要是在原发肿瘤的部位和组织类型[37]. 基于此结果, 美国和日本曲妥珠单抗被授予运用于HER2阳性的胃癌的标准是IHC3$^+$或者FISH阳性; 在欧洲则是IHC3$^+$或者IHC2$^+$和FISH阳性[38]. 在中国, 其专家共识指出: 对拟接受益妥珠单抗治疗的胃癌患者, 必须进行HER2表达状态的检查. 当IHC结果为2(+)时, 需行FISH检测明确*HER2*基因扩增情况, 以辅助判断HER2状态. 即首选IHC进行检测, 当IHC结果为2(+)时, 再予FISH检测; 当IHC结果为0或3(+)时均不需要再行FISH检测.

2 靶向药物-曲妥珠单抗对胃癌的治疗

曲妥珠单抗(trastuzumab, herceptin, 赫赛汀)是1998年美国FDA批准上市的第一种重组DNA衍生的人源化mAb(单克隆抗体), 通过与HER2受体特异性结合影响生长信号的传递, 他还可以下调血管内皮生长因子和其他血管生长因子活性, 其抗肿瘤机制主要为两方面: (1)通过阻断信号通路直接抑制肿瘤细胞增殖, 并激活肿瘤细胞凋亡信号; (2)通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒活性(ADCC效应)杀灭肿瘤细胞[39]. ToGA为一项前瞻性的III期临床实验研究[15], 他是第一个证明靶向治疗能延长晚期胃癌患者生存期的国际多中心随机对照III期临床研究. 其目的是评价曲妥珠单抗联合标准的氟尿嘧啶或希罗达+顺铂一线治疗HER2阳性晚期胃癌的疗效, 其主要的观测终点是总生存期, 次要终点是无进展生存期、进展时间、有效率和生活质量. 该临床实验共纳入3803例晚期胃癌患者, 从中筛选594例随机接受共计6个周期的曲妥珠单抗(首剂8 mg/kg, 维持剂量6 mg/kg, 3 wk/1次), 联合标准化疗方案(卡培他滨加顺铂或静脉注射氟尿嘧啶+顺铂)或标准化疗. 与单纯化疗组相比, 曲妥珠单抗联合化疗降低了HER2阳性晚期胃癌患者26%的死亡风险, 总生存期延长了2.7 mo, 客观有效率从35%提高到47%(P = 0.0017). 在2009年和2010年ASCO GI[40,41]会议上, 分别报告了曲妥珠单抗联合化疗治疗晚期胃癌患者其疗效及生活质量评估的结果. ToGA研究的意义在于第1次证实曲妥珠单抗联合化疗可改善HER2阳性晚期胃癌患者的生存, 使患者的生存时间达到13.5 mo, 因通常晚期胃癌的平均生存时间仅10-12 mo; 同时使客观有效率提高了12%, 故该研究是胃癌治疗的一项里程碑, 其确立了曲妥珠单抗在胃癌中的治疗地位, 使其成为HER2阳性患者的重要治疗药物. 中国也参与了此项国际多中心研究, 沈琳等我国研究学者针对中国患者人群进行了亚组分析. 结果显示与ToGA研究总分析结果一致; 但与日本亚组数据比较其中位生存时间有较大差异, 分析其原因为患者的疾病特征和后续治疗的不同.

针对HER2阳性晚期胃癌分子靶向治疗, 中国专家也提出了共识: 曲妥珠单抗用于晚期胃癌二线治疗尚无明确的临床依据, 但鉴于在一

■相关报道

西班牙和德国正进行曲妥珠单抗作为HER2阳性胃癌术前化疗的临床实验; 日本对治疗后是否继续使用曲妥珠单抗的研究也在进行. 目前评估帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗和化疗治疗HER2阳性转移性胃癌或胃食管连接部癌的研究也在进行中.

■创新盘点
HER2不能作为胃癌预后的因子, 但仍是胃癌靶向治疗的一个靶点. 同时该综述将目前最新的基础研究与临床研究进行分析、讨论及总结. 提出未来胃癌的靶向治疗更倾向于多元化.

线治疗中的证据及晚期胃癌二线治疗的获益, 且NCCN胃癌指南也推荐了该方案用于胃癌二线的治疗. 目前, 可尝试将曲妥珠单抗用于HER2过表达且既往未接受过抗HER2分子靶向治疗的晚期胃癌患者的二线治疗, 但需与患者充分沟通,并获取知情同意.

目前, 尽管在晚期胃癌的治疗方面取得了一些进展, 但仍然面临一些挑战: 一方面, 对于治疗后疾病进展是否仍继续使用分子靶向药物尚无定论. 近年来一些研究已在乳腺癌和结直肠癌中得到证实继续使用分子靶向药物能够获益[42-47]. 这些研究结果对于胃癌治疗后疾病进展能继续使用曲妥珠单抗可能是一个曙光. 目前日本对这方面的研究已经在进行之中[48,49]. 另一方面, 术前予以曲妥珠单抗化疗是否获益尚未明确. 对于结直肠癌肝转移患者, 很多临床研究已表明在术前化疗对比单纯手术或术后化疗能获益[50]. Cunningham等[51]报道对比单纯手术, 术前给予表柔比星+顺铂+氟尿嘧啶化疗能减少胃癌肿瘤大小、降期以及改善无疾病生存期和总生存. 一些个案报道表明术前化疗给予曲妥珠单抗对胃癌患者有所获益[52,53]. 现有报道, 西班牙和德国正进行评价曲妥珠单抗作为HER2阳性胃癌术前化疗[54]的临床实验.

3 新药及其应用前景

基于人们对HER2在胃癌中的意义的认识和了解, 一些其他的抗HER2的分子靶向药物也陆续问世, 其中包括拉帕替尼[55,56]和帕妥珠单抗. 拉帕替尼是一种口服的小分子表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂, 其进入细胞内部可同时阻断EGFR和HER2两个靶点, 通过蛋白激酶和丝裂原活化蛋白激酶旁路途径诱导胃癌细胞在G_1期停滞. 可见拉帕替尼理论上应有更好的疗效, 但其Ⅱ期临床试验数据并不十分理想. 2011年发表在*Annals of Oncology*上的[57]评估拉帕替尼作为一线单药治疗47例晚期和转移性胃癌患者的疗效一文, 其主要目的是评价其反应率, 其次为生存时间、毒性反应. 研究结果显示: 只有4例患者(占9%)有确定的部分反应, 1例患者(占2%)有未确定的部分反应, 10例患者(占23%)病情稳定, 平均治疗失败时间为1.9 mo, 总体生存期较短(4.8 mo). 在2013年ASCO年会中, 徐农教授口头评价了拉帕替尼联合XELOX方案(卡培他滨、奥沙利铂)在HER2阳性的不可切除局部晚期或转移性胃癌、食管及胃连接部腺癌中的作用, 指出拉帕替尼与化疗联合没有带来有统计学意义的OS获益, 同时拉帕替尼组的腹泻和皮肤毒性反而更高. 总之, 拉帕替尼的作用似乎不敌赫赛汀. 发表在*Molecular Cancer Therapeutics*上的一篇来自美国学者的研究[58]表明, *HER2*基因扩增的胃癌细胞对拉帕替尼耐药的原因可能与肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/MET调节有密切关系; 同时, 有学者指出也可能与拉帕替尼在不同患者中的代谢和生物利用度存在差别有关; 以及与HER2的二次突变、下游KRAS突变和PTEN的丢失有关. 然而, 在今年的*Gastric Cancer*上日本的研究学者发表了一项关于拉帕替尼针对曲妥珠单抗耐药的HER2阳性胃癌的基础研究[59], 结果表明对曲妥珠单抗抵抗的胃癌细胞对拉帕替尼仍有敏感性, 拉帕替尼对这类胃癌细胞具有抗肿瘤作用, 其机制为拉帕替尼可使细胞周期停滞在G_1期; 并通过对PI3K/Akt和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的阻断来诱导肿瘤细胞的凋亡. 该研究结果为拉帕替尼对HER2阳性的曲妥珠单抗耐药的胃癌患者带来了临床治疗的希望. 上述的这些研究表明, 拉帕替尼对于HER2阳性的胃癌患者的治疗仍然是存在争议的, 但值得注意的是, 拉帕替尼在亚洲人群和年龄<60岁的患者中可能获益; 而且对HER2高表达和白介素-8(interleukin-8, IL-8)低表达的患者使用拉帕替尼, 其缓解率和生存可能获益. 因此, 对于拉帕替尼能否更多的带来生存获益, 这一点还是值得进一步研究的.

帕妥珠单抗(Pertuzumab, 也被称作2C4)是第一个被称作“HER二聚化抑制剂”的单克隆抗体. 他通过结合HER2, 阻滞HER2与其他HER受体的杂二聚, 从而减缓了肿瘤的生长. 因其与曲妥珠单抗的不同点是其抑制配体诱导的二聚体化而不依赖HER2表达水平, 提示可能受益的人群更广. 目前虽尚无帕妥珠单抗治疗胃癌的临床报道, 但在基础研究中, 帕妥珠单抗已开始崭露头角. 发表在*Clinical Cancer Research*上的关于帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗能增强对HER2阳性的胃癌异种移植物模型抗癌疗效[60]一文, 其可能的机制是通过抑制细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡和ADCC效应从而增强对HER2过表达的胃癌的细胞的抗肿瘤效应. 目前一项双盲、安慰剂对照随机Ⅲ期临床研究JACOB正在进行, 目的在评估帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗和化疗治疗HER2阳性转移性胃癌或胃食管连

接部癌的有效性和安全性. 其主要终点为总生存, 次要终点为无疾病进展期、目标应答率、应答持续时间、临床获益率、安全性、药物代谢动力学特征以及患者报告的结局. 期待帕妥珠单抗用于胃癌治疗将可能给胃癌患者带来更多的新希望.

4 结论

胃癌是位居全世界第4位的常见恶性肿瘤, 在肿瘤相关死因中位居第2位. 据报道约60%的胃癌位于亚洲, 而中国就占了42%. 尽管ToGA临床实验确立了曲妥珠单抗在胃癌中的治疗地位, 给胃癌患者带来了一线希望, 但不可否认的HER2在胃癌中的过表达仅为20%左右, 并且即使HER2表达阳性, 大部分患者在应用曲妥珠单抗后也会出现耐药. 同时从1991年开始HER2是否作为胃癌预后因子一直存在争议, 2009年至今, 包括美国、欧洲和亚洲的(共5869例患者)11项研究表明HER2的状态与胃癌预后无关, HER2仅仅只与临床的一些参数有密切关系, 如: 肿瘤浸润深度、复发、远处转移等. 因此, 研究的热点转为发现其他新的胃癌预后因子和靶标; 以及曲妥珠单抗耐药的机制和如何解决胃癌曲妥珠单抗耐药的问题. 研究表明, KRAS、黏蛋白-2、PIK3CA、波形蛋白、胰岛素样生长因子1受体、长链非编码RNA HOTAIR、微卫星不稳定性和幽门螺杆菌的状态均与胃癌患者生存预后以及治疗是否有效相关. 肿瘤的信号通路并不是单一、简单的上下游通路; 他是一个相互交错且纷繁复杂的网络系统. 因此, 对于曲妥珠单抗耐药的原因可能与胃癌异质性有关; 也可能由于曲妥珠单抗的长期作用, HER2受体出现敏感性降低、断裂、减少, 甚至另辟蹊径, 从其他的信号通路走行. 可见, 今后胃癌的靶向治疗更倾向于多元化. GRANITE-1研究表明依维莫司用于胃癌的二线和三线治疗延长了PFS, 但没有提高总的生存时间. 热休克蛋白90抑制剂与曲妥珠单抗联合作为二线治疗, 用于一线曲妥珠单抗治疗后进展的二期临床研究正在进行中. MET抑制剂与HER2靶向药物联合可能会在临床上带来获益. 总之, HER2虽然不能作为胃癌预后的因子, 但是他仍然是胃癌靶向治疗的一个靶标. 同时, 鉴于胃癌的异质性, 我们应更加关注中国人群的特殊性; 各种分子靶向药物的有效联合很有可能成为今后胃癌分子靶向治疗的方向.

5 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 Gschwind A, Fischer OM, Ullrich A. The discovery of receptor tyrosine kinases: targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 361-370 [PMID: 15122207 DOI: 10.1038/nrc1360]

3 Shepard HM, Brdlik CM, Schreiber H. Signal integration: a framework for understanding the efficacy of therapeutics targeting the human EGFR family. *J Clin Invest* 2008; 118: 3574-3581 [PMID: 18982164 DOI: 10.1172/JCI36049]

4 Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, Chen E, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230: 1132-1139 [PMID: 2999974 DOI: 10.1126/science.2999974]

5 Olayioye MA. Update on HER-2 as a target for cancer therapy: intracellular signaling pathways of ErbB2/HER-2 and family members. *Breast Cancer Res* 2001; 3: 385-389 [PMID: 11737890 DOI: 10.1186/bcr327]

6 Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K. Similarity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 1986; 319: 230-234 [PMID: 3003577 DOI: 10.1038/319230a0]

7 Sirica AE. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7033-7058 [PMID: 19084911 DOI: 10.3748/wjg.14.7033]

8 Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The role of overexpressed HER2 in transformation. *Ann Oncol* 2001; 12 Suppl 1: S9-13 [PMID: 11521729 DOI: 10.1093/annonc/12.suppl_1.S9]

9 Ménard S, Pupa SM, Campiglio M, Tagliabue E. Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer. *Oncogene* 2003; 22: 6570-6578 [PMID: 14528282 DOI: 10.1038/sj.onc.1206779]

10 Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Ann Oncol* 2001; 12 Suppl 1: S3-S8 [PMID: 11521719 DOI: 10.1093/annonc/12.suppl_1.S3]

11 Tai W, Mahato R, Cheng K. The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery. *J Control Release* 2010; 146: 264-275 [PMID: 20385184 DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.04.009]

12 Yoshino I, Goedegebuure PS, Peoples GE, Parikh AS, DiMaio JM, Lyerly HK, Gazdar AF, Eberlein TJ. HER2/neu-derived peptides are shared antigens among human non-small cell lung cancer and ovarian cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 3387-3390 [PMID: 7912166]

13 Sakai K, Mori S, Kawamoto T, Taniguchi S, Kobori O, Morioka Y, Kuroki T, Kano K. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1986; 77: 1047-1052 [PMID: 3464796]

14 Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclu-

■应用要点

本综述系统阐述了针对HER2阳性的晚期胃癌的基本理论、重大临床实验; 以及最新的基础及大型临床研究, 提出了胃癌靶向治疗未来的方向.

■同行评价
本文全面、系统地对HER2阳性晚期胃癌的靶向治疗进行了阐述，提出了一些重大、较新的临床研究报道；并指出了今后研究的热点、亟待解决的一些问题；提出未来的胃癌靶向治疗方向.

sions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010; 32: 57-65 [PMID: 20208134 DOI: 10.3233/CLO-2009-0497]

15 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]

16 Matsubara J, Yamada Y, Hirashima Y, Takahari D, Okita NT, Kato K, Hamaguchi T, Shirao K, Shimada Y, Shimoda T. Impact of insulin-like growth factor type 1 receptor, epidermal growth factor receptor, and HER2 expressions on outcomes of patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3022-3029 [PMID: 18483367 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1898]

17 寸英丽, 查勇. 胃癌组织中HER2蛋白的表达变化及意义. 山东医药 2011; 51: 72-73

18 Kushlinskii NE, Shirokii VP, Gershtein ES, Yermilova VD, Chemeris GY, Letyagin VP. Soluble fragment of HER2/neu receptor in the serum of patients with breast cancer with different levels of this protein expression in the tumor. *Bull Exp Biol Med* 2007; 143: 449-451 [PMID: 18214297 DOI: 10.1007/s10517-007-0153-4]

19 Narita T, Seshimo A, Suzuki M, Murata J, Kameoka S. Status of Tissue Expression and Serum Levels of HER2 in Gastric Cancer Patients in Japan. *Hepatogastroenterology* 2013 Jan 16. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23321006 DOI: 10.5754/hge121022]

20 Dang HZ, Yu Y, Jiao SC. Prognosis of HER2 overexpressing gastric cancer patients with liver metastasis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2402-2407 [PMID: 22654433 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2402]

21 Gómez-Martin C, Garralda E, Echarri MJ, Ballesteros A, Arcediano A, Rodríguez-Peralto JL, Hidalgo M, López-Ríos F. HER2/neu testing for anti-HER2-based therapies in patients with unresectable and/or metastatic gastric cancer. *J Clin Pathol* 2012; 65: 751-757 [PMID: 22569536 DOI: 10.1136/jclinpath-2012-200774.]

22 Janjigian YY, Werner D, Pauligk C, Steinmetz K, Kelsen DP, Jäger E, Altmannsberger HM, Robinson E, Tafe LJ, Tang LH, Shah MA, Al-Batran SE. Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis. *Ann Oncol* 2012; 23: 2656-2662 [PMID: 22689179 DOI: 10.1093/annonc/mds104.]

23 Jørgensen JT, Hersom M. HER2 as a prognostic marker in gastric cancer - a systematic analysis of data from the literature. *J Cancer* 2012; 3: 137-144 [PMID: 22481979 DOI: 10.7150/jca.4090]

24 Kataoka Y, Okabe H, Yoshizawa A, Minamiguchi S, Yoshimura K, Haga H, Sakai Y. HER2 expression and its clinicopathological features in resectable gastric cancer. *Gastric Cancer* 2013; 16: 84-93 [PMID: 22410801 DOI: 10.1007/s10120-012-0150-9]

25 Kim JW, Im SA, Kim M, Cha Y, Lee KH, Keam B, Kim MA, Han SW, Oh DY, Kim TY, Kim WH, Bang YJ. The prognostic significance of HER2 positivity for advanced gastric cancer patients undergoing first-line modified FOLFOX-6 regimen. *Anticancer Res* 2012; 32: 1547-1553 [PMID: 22493400]

26 Phillips BE, Tubbs RR, Rice TW, Rybicki LA, Plesec T, Rodriguez CP, Videtic GM, Saxton JP, Ives DI, Adelstein DJ. Clinicopathologic features and treatment outcomes of patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Dis Esophagus* 2013; 26: 299-304 [PMID: 22676551 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2012.01369.x.]

27 Shitara K, Yatabe Y, Matsuo K, Sugano M, Kondo C, Takahari D, Ura T, Tajika M, Ito S, Muro K. Prognosis of patients with advanced gastric cancer by HER2 status and trastuzumab treatment. *Gastric Cancer* 2013; 16: 261-267 [PMID: 22797858 DOI: 10.1007/s10120-012-0179-9.]

28 Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Yoo CH, Son BH, Cho EY, Chae SW, Kim EJ, Sohn JH, Ryu SH, Sepulveda AR. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1371-1379 [PMID: 16868827 DOI: 10.1007/s10620-005-9057-1]

29 Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tommola S, Soini Y, Helin H, Salo J, Joensuu H, Sihvo E, Elenius K, Isola J. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16: 273-278 [PMID: 15668283 DOI: 10.1093/annonc/mdi064]

30 Terashima M, Kitada K, Ochiai A, Ichikawa W, Kurahashi I, Sakuramoto S, Katai H, Sano T, Imamura H, Sasako M. Impact of expression of human epidermal growth factor receptors EGFR and ERBB2 on survival in stage II/III gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5992-6000 [PMID: 22977193 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1318]

31 Sheng WQ, Huang D, Ying JM, Lu N, Wu HM, Liu YH, Liu JP, Bu H, Zhou XY, Du X. HER2 status in gastric cancers: a retrospective analysis from four Chinese representative clinical centers and assessment of its prognostic significance. *Ann Oncol* 2013; 24: 2360-2364 [PMID: 23788757 DOI: 10.1093/annonc/mdt232.]

32 Yan B, Yau EX, Bte Omar SS, Ong CW, Pang B, Yeoh KG, Salto-Tellez M. A study of HER2 gene amplification and protein expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2010; 63: 839-842 [PMID: 20696687 DOI: 10.1136/jcp.2010.076570]

33 Lee KE, Lee HJ, Kim YH, Yu HJ, Yang HK, Kim WH, Lee KU, Choe KJ, Kim JP. Prognostic significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 173-179 [PMID: 12810831 DOI: 10.1093/jjco/hyg039]

34 Barros-Silva JD, Leitão D, Afonso L, Vieira J, Dinis-Ribeiro M, Fragoso M, Bento MJ, Santos L, Ferreira P, Rêgo S, Brandão C, Carneiro F, Lopes C, Schmitt F, Teixeira MR. Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *Br J Cancer* 2009; 100: 487-493 [PMID: 19156142 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604885]

35 Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, Macdonald JS, Baranda JC, Levin WJ, Blanke CD, Elatre W, Weng P, Zhou JY, Lenz HJ, Press MF. Assessment of HER2 gene amplification in adenocarcinomas

of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1754-1761 [PMID: 23524864 DOI: 10.1093/annonc/mdt106]

36 Okines AF, Thompson LC, Cunningham D, Wotherspoon A, Reis-Filho JS, Langley RE, Waddell TS, Noor D, Eltahir Z, Wong R, Stenning S. Effect of HER2 on prognosis and benefit from peri-operative chemotherapy in early oesophago-gastric adenocarcinoma in the MAGIC trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1253-1261 [PMID: 23233651 DOI: 10.1093/annonc/mds622]

37 Bang YJ, Chung HC, Xu JM, Lordick F, Sawaki A, Lipatov O, Al-Sakaff N, See CG, Rueschoff J, Van Cutsem E. Pathological features of advanced gastric cancer (GC): relationship to human epidermal growth factor receptor 2(HER2) positivity in the global screening programme of the ToGA trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: Meeting Abstract 4556

38 Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol* 2011; 18: 53-59 [PMID: 21169738 DOI: 10.1097/PAP.0b013e3182026d72]

39 Cuello M, Ettenberg SA, Clark AS, Keane MM, Posner RH, Nau MM, Dennis PA, Lipkowitz S. Down-regulation of the erbB-2 receptor by trastuzumab (herceptin) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines that overexpress erbB-2. *Cancer Res* 2001; 61: 4892-4900 [PMID: 11406568]

40 Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Hill J, Lehle M, Feyereislova A, Bang Y. Efficacy results from the ToGA trial: A phase study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2(HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2009; 27(18 Suppl): LBA4509

41 Chung HC, Bang Y, Van Cutsem E, Kang Y, Hamamoto Y, Moiseyenko V, GotovkinE, Urspruch A, Ducournau P. (Q)-TWiST analysis of trastuzumab plus fluoropyrimidine/cisplatin (T-XP/FP) versus XP/FP alone as first-line therapy for advanced HER2-positive gastric cancer. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2010; 28 (15 Suppl): 4048

42 Bennouna J, Sastre J, Arnold D, Österlund P, Greil R, Van Cutsem E, von Moos R, Viéitez JM, Bouché O, Borg C, Steffens CC, Alonso-Orduña V, Schlichting C, Reyes-Rivera I, Bendahmane B, André T, Kubicka S. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 29-37 [PMID: 23168366 DOI: 10.1016/s1470-2045(12)70477-1]

43 Blackwell KL, Burstein HJ, Storniolo AM, Rugo H, Sledge G, Koehler M, Ellis C, Casey M, Vukelja S, Bischoff J, Baselga J, O'Shaughnessy J. Randomized study of Lapatinib alone or in combination with trastuzumab in women with ErbB2-positive, trastuzumab-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1124-1130 [PMID: 20124187 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.4437]

44 Fountzilas G, Razis E, Tsavdaridis D, Karina M, Labropoulos S, Christodoulou C, Mavroudis D, Gogas H, Georgoulias V, Skarlos D. Continuation of trastuzumab beyond disease progression is feasible and safe in patients with metastatic breast cancer: a retrospective analysis of 80 cases by the hellenic cooperative oncology group. *Clin Breast Cancer* 2003; 4: 120-125 [PMID: 12864940 DOI: 10.3816/CBC.2003.n.017]

45 Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yamamoto K, Shirane M, Yamashita Y, Mori K. Preclinical study of prolonged administration of trastuzumab as combination therapy after disease progression during trastuzumab monotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 269-276 [PMID: 19904537 DOI: 10.1007/s00280-009-1160-0]

46 Huober J, Baumann M, Rochlitz C, Aebi S, Güth U, von Moos R, Müller A, von Rohr L, Widmer I, Thürlimann B. Trastuzumab treatment beyond progression in advanced breast cancer: patterns of care in six Swiss breast cancer centers. *Oncology* 2011; 81: 160-166 [PMID: 22041972 DOI: 10.1159/000333396]

47 von Minckwitz G, du Bois A, Schmidt M, Maass N, Cufer T, de Jongh FE, Maartense E, Zielinski C, Kaufmann M, Bauer W, Baumann KH, Clemens MR, Duerr R, Uleer C, Andersson M, Stein RC, Nekljudova V, Loibl S. Trastuzumab beyond progression in human epidermal growth factor receptor 2-positive advanced breast cancer: a german breast group 26/breast international group 03-05 study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1999-2006 [PMID: 19289619 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.6618]

48 Komatsu Y. Phase II study of trastuzumab with irinotecan in HER2-positive metastatic or advanced gastric cancer patients previously treated with trastuzumab and failed (UMIN000007636). Available from: URL: http: //upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi?function=brows&action=brows&type=summary&recptno=R000009008&language=E

49 Makiyama A. Randomized phase II study comparing trastuzumab plus weekly paclitaxel with weekly paclitaxel alone for patients with HER2-positive advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer refractory to trastuzumab combined with fluoropyrimidine and platinum(UMIN000009297). Available from: URL: https: //upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi?function=brows&action=brows&type=summary&recptno=R000010909&language=E

50 Pawlik TM, Cosgrove D. The role of peri-operative chemotherapy for resectable colorectal liver metastasis: what does the evidence support? *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 410-415 [PMID: 21253876 DOI: 10.1007/s11605-011-1423-z]

51 Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]

52 Sbitti Y, Essaidi I, Debbagh A, Kadiri H, Oukabli M, Moussaid Y, Slimani K, Fetohi M, Elkaoui H, Albouzidi A, Mahi M, Ali AA, Ichou M, Errihani H. Is there any advantage to combined trastuzumab and chemotherapy in perioperative setting her 2neu positive localized gastric adenocarcinoma? *World J Surg Oncol* 2011; 9: 112 [PMID: 21955806 DOI: 10.1186/1477-7819-9-112]

53 Wang J, Saukel GW, Garberoglio CA, Srikureja W, Hsueh CT. Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab-

containing regimen in gastric cancer: a case report. *J Hematol Oncol* 2010; 3: 31 [PMID: 20828403 DOI: 10.1186/1756-8722-3-31]

54 Boku N. HER2-positive gastric cancer. *Gastric Cancer* 2013 Apr 7. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23563986 DOI: 10.1007/s10120-013-0252-z]

55 Bang YJ, Xu R, Satoh T, Yeh K, Katsura K, Yoshida P, et al. A randomized, open-label, phase III study of lapatinib in combination with weekly paclitaxel versus weekly paclitaxel alone in the second-line treatment of HER2 amplified advanced gastric cancer (AGC) in Asian population: Tytan study. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2012; 31 suppl 11

56 GlaxoSmithKline. Lapatinib in combination with weekly paclitaxel in patients with ErbB2 amplified advanced gastric cancer. Available from: URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00486954.

57 Iqbal S, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM, Lenz HJ, Zhang W, Danenberg KD, Shibata SI, Blanke CD. Southwest Oncology Group study S0413: a phase II trial of lapatinib (GW572016) as first-line therapy in patients with advanced or metastatic gastric cancer. *Ann Oncol* 2011; 22: 2610-2615 [PMID: 21415234 DOI: 10.1093/annonc/mdr021]

58 Chen CT, Kim H, Liska D, Gao S, Christensen JG, Weiser MR. MET activation mediates resistance to lapatinib inhibition of HER2-amplified gastric cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 660-669 [PMID: 22238368 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0754]

59 Oshima Y, Tanaka H, Murakami H, Ito Y, Furuya T, Kondo E, Kodera Y, Nakanishi H. Lapatinib sensitivities of two novel trastuzumab-resistant HER2 gene-amplified gastric cancer cell lines. *Gastric Cancer* 2013 Aug 15. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23948998 DOI: 10.1007/s10120-013-0290-6]

60 Yamashita-Kashima Y, Iijima S, Yorozu K, Furugaki K, Kurasawa M, Ohta M, Fujimoto-Ouchi K. Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5060-5070 [PMID: 21700765 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2927]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子 0.775

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 39-45
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用

王冬青, 丁西平, 殷 实

王冬青, 丁西平, 安徽医科大学附属省立医院消化内科 安徽省合肥市 230001
殷实, 安徽医科大学附属省立医院老年病科 安徽省合肥市 230001
王冬青, 在读硕士, 主要从事胃肠黏膜屏障的研究.
作者贡献分布: 本综述由王冬青、丁西平及殷实完成; 丁西平负责审校.
通讯作者: 丁西平, 主任医师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属省立医院消化内科.
dingxipingyx@163.com
电话: 0551-62283336
收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-10-30
接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2014-01-08

Roles of proinflammatory cytokines in precancerous lesions of gastric cancer

Dong-Qing Wang, Xi-Ping Ding, Shi Yin

Dong-Qing Wang, Xi-Ping Ding, Department of Gastroenterology, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230031, Anhui Province, China
Shi Yin, Department of Geriatrics, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230031, Anhui Province, China
Correspondence to: Xi-Ping Ding, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. dingxipingyx@163.com
Received: 2013-09-23 Revised: 2013-10-30
Accepted: 2013-11-11 Published online: 2014-01-08

Abstract

Precancerous lesions of gastric cancer, including intestinal metaplasia and dysplasia, are important stages in the evolution from normal gastric tissue to gastric cancer. Gastric cancer has a very high mortality rate, mainly due to post-metastasis diagnosis. Therefore, diagnosis of precancerous lesions of gastric cancer is of great clinical significance. In recent years, it has been reported that some proinflammatory cytokines such as interleukin 1β (IL-1β), IL-8, IL-11, tumor necrosis factor α (TNF-α) and interferon-gamma (IFN-γ) play important roles in the development of precancerous lesions of gastric cancer. A more detailed understanding of the roles of proinflammatory cytokines may provide new therapeutic targets for precancerous lesions of gastric cancer. Here, we summarize the roles of some proinflammatory cytokines in the progression of precancerous lesions of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Proinflammatory cytokines; Precancerous lesions of gastric cancer; Dysplasia; Intestinal metaplasia

Wang DQ, Ding XP, Yin S. Roles of proinflammatory cytokines in precancerous lesions of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 39-45 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/39.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.39

摘要

胃癌前病变是一个病理性概念, 包括肠上皮化生和异型增生, 是从正常胃组织向胃癌转化过程中的一个重要阶段. 胃癌有很高的死亡率主要是由于其转移后才被诊断, 故对胃癌前病变的研究尤为重要. 近年来, 随着胃癌前病变的研究不断深入, 发现一些促炎细胞因子如白介素-1β(interleukin 1 beta, IL-1β)、IL-8、IL-11、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor, TNF-α)、干扰素γ(interferon γ, IFN-γ)在胃癌前病变中发挥重要的作用. 而这些促炎细胞因子的详细作用机制, 可能为胃癌前病变的治疗提供新的方法. 故本文针对几种促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 促炎细胞因子; 胃癌前病变; 异型增生; 肠上皮化生

核心提示: 促炎细胞因子白介素-1β(interleukin 1 β, IL-1β)、IL-8、IL-11、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、干扰素-γ(interferon γ, IFN-γ)在胃癌前病变中发挥重要的作用, IL-1β、TNF-α可能是通过核转录因子-κB(nuclear transcription factor kappa B, NF-κB)途径促进胃癌前病变, 而IL-8及IL-11可能是通过信号转导及转录因子3(signal transduction and transcription factors 3, STAT3)途径促进胃癌前病变的, 而IFN-γ促进胃癌前病变的机制尚未明确.

■背景资料
胃癌前病变是从慢性胃炎发展为胃癌的重要阶段, 而一些炎症因子在慢性胃炎转为胃癌过程中发挥重要作用. 一些促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用及机制, 并针对此寻求有效的治疗胃癌前病变的方法, 成为当今研究的重点.

■同行评议者
沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■研发前沿
胃癌有很高的死亡率主要由于其转移后才被诊断，故若能早期发现将有效降低死亡率. 而胃癌前病变是胃癌发展的一个重要阶段，故关于胃癌前病变的发生机制及治疗成为研究的热点.

王冬青，丁西平，殷实. 促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 39-45 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/39.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.39

0 引言

近年来，胃癌的发病率虽有所下降，但胃癌仍居世界癌症相关死亡的第2位[1]. 胃癌有很高的死亡率主要是由于其转移后才被诊断[2]. 目前胃癌公认的发展模式为：慢性胃炎，萎缩、肠上皮化生、异型增生、胃癌. 在慢性胃炎进展为胃癌的过程中有大量的炎性细胞因子参与. 白介素-1β(interleukin 1 beta, IL-1β)、IL-8、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)是公认的炎症密切相关的细胞因子，有研究[3,4]表明，他们在胃癌的发生及进展中发挥重要作用. IL-11是胃内重要促炎细胞因子，有研究[5]表明，IL-11与胃癌的发生密切相关. 而胃癌前病变是一个病理性概念，包括肠上皮化生和异型增生，是从正常胃组织向胃癌转化过程中的一个重要阶段. 故想到他们可能在胃癌前病变中也有重要作用. 而近年来干扰素-γ(interferon γ, IFN-γ)在胃癌前病变中的作用正日益受到人们的重视，故现针对这几种促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用作一综述.

1 IL-1β

*IL-1β*是*IL-1*基因家族成员之一. 主要由巨噬细胞合成[6]，具有广泛的生物学效应，可参与免疫应答、炎症反应等. 目前国内外关于IL-1β基因多态性与胃癌前病变的关系研究较少，且结果不一致. Leung等[7]发现在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的中国人中IL-1B-511T等位基因携带者是与肠上皮化生的风险增加相关的. 但与其受体拮抗剂(IL-1 receptor antagonist, IL-1RN)无关. Murphy等[8]在爱尔兰人群中却未发现IL-1B及IL-RN基因多态性与慢性萎缩性胃炎或肠上皮化生的风险增加有关. Peleteiro等[9]发现在葡萄牙及莫桑比克人中，IL-1B-511T与胃癌前病变无关，而IL-RN*22基因型与胃癌前病变有关. 这表明IL-1基因多态性对胃癌前病变的影响可能受人种及地域的影响. 研究表明，IL-1β对胃黏膜多种作用. IL-1β可促进胃上皮增生[10]，而Waghray等[11]发现IL-1β可通过抑制胃壁细胞音猥因子(sonic hedgehog, SHH)的表达从而促进胃黏膜的萎缩，且有研究表明[12]，慢性萎缩性胃炎及肠上皮化生是与SHH表达缺失有关. 近年来，关于IL-1β在引起胃前病变中的作用的研究不断增多. 孙仁虎等[13]采用实时定量PCR法，发现正常情况下人胃黏膜上皮GES-1细胞不表达肠道特异性标志物尾侧型同源转录因子-1(caudal-type homeodomain transcription factor-1, CDX1)mRNA和肠道黏蛋白-2(intestinal mucin-2, MUC2)mRNA，而IL-1β可以诱导GES-1细胞中CDX1 mRNA和MUC2 mRNA的表达，该作用在一定浓度范围内呈现剂量依赖性；而经核转录因子-κB(nuclear transcription factor κB, NF-κB)抑制剂四氢化吡咯二硫代氨基甲酸酯(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)预处理的GES-1细胞，CDX1 mRNA和MUC2 mRNA的表达水平却大幅下降. 这表明IL-1β可能通过NF-κB信号通路促进人胃黏膜上皮细胞中CDX1 mRNA和MUC2 mRNA的表达，在胃黏膜肠上皮化生中有重要作用. 此外，李疆等[14]通过研究表明IL-1β通过NF-κB通路促进胃黏膜细胞CDX2 mRNA及蛋白表达增加，在胃黏膜肠上皮化生中有重要的作用，这与Mutoh等[15]在CDX2转基因小鼠中的发现相似. 此外，Tu等[16]发现当年龄>12月龄，即使无*H. pylori*感染情况下，胃黏膜特异性表达人类IL-1β(hIL-1β)的转基因鼠，会出现明显的胃黏膜异型增生及胃炎伴炎性细胞的浸润. 而在高表达hIL-1β的转基因小鼠中，多于70%的小鼠会出现严重的胃黏膜增生、慢性炎症、壁细胞丢失(萎缩)、化生及异型增生. 相反，低表达hIL-1β的转基因小鼠几乎很少出现上述改变. 此外，他们进一步研究发现，在猫属螺杆菌(*Helicobacter felis*, *H. felis*)感染多于12 mo的野生型鼠及IL-1β的转基因小鼠中，应用IL-1受体拮抗剂(IL-1RA)可显著阻止胃部炎症的发展及其他的组织学改变. 更重要的是，*H. felis*感染的IL-1β的转基因鼠使用IL-1RA治疗后，所有鼠均不会出现胃部的异型增生. 同时体内及体外实验证实，IL-1可能是通过IL-1β/IL-1R/NF-κB途径在胃黏膜的异型增生中有重要的作用.

2 IL-8

IL-8是CXC趋化因子家族的成员. 他主要由单核细胞、内皮细胞、表皮细胞及T淋巴细胞等在IL-1、TNF-α和外源性因子脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的刺激下产生，其主要生物学作用是趋化并激活中性粒细胞，可促进中性粒细胞的溶酶体活性和吞噬作用，故IL-8在炎症反应中有重要作用. 众所周知，IL-8在*H. pylori*感染引起

的慢性胃炎中有重要的作用[17,18]. 而*H. pylori*相关的慢性胃炎易转变为胃癌前病变. 目前关于IL-8在癌前病变中的研究不断增多. 很多研究均表明IL-8的基因多态性与胃癌前病变有关. Li等[19]发现在中国山东省胃癌高发区, 肠上皮化生的风险增加在IL-8-251AT基因型患者(OR = 2.27, 95%CI: 1.06-3.09)或IL-8-251A等位基因携带者(OR = 2.07, 95%CI: 1.16-3.69). 此外, 在*H. pylori*阳性的IL-8-251A等位基因携带者中, 严重的萎缩性胃炎及肠化生的风险明显增加(OR = 6.70, 95%CI: 1.29-9.78). Ye等[20]发现在*H. pylori*感染的韩国人中, 与IL-8-251TT基因型相比, IL-8-251A等位基因携带者胃黏膜IL-8水平显著增高, 且与年轻人的严重的炎症, 胃黏膜萎缩及肠上皮化生显著相关. 但也有一些相反的结果, Kim等[21]发现在韩国人中, *H. pylori*感染时, 萎缩性胃炎及肠上皮化生的发生率均是显著增高的. 而肠上皮化生的危险因素除与年龄(≥61岁)、生活习惯等有关外, 还与IL-10-592 C/A的出现有关, 但并未发现与IL-8-251基因多态性相关. 日本学者也有报道日本患者IL-8-251A等位基因多态性与*H. pylori*感染患者的胃萎缩的进展有关, 并可能增加胃癌的风险[22]. 此外, 在匈牙利人群中, 研究发现IL-8-251AA基因型的频率在胃炎组及肠上皮化生组是显著增加的[23]. Song等[24]发现来自胃窦活组织标本的黏膜IL-8的平均浓度在慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)/肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)组(n = 74), 显著高于正常对照组(n = 55). Zhang等[25]发现IL-8水平增加, 可通过活化的信号转导及转录因子3(signal transduction and transcription factors3, STAT3)途径, 使*H. pylori*感染相关的慢性胃炎转变为胃黏膜的肠上皮化生.

3 IL-11

IL-11是一种多功能的细胞因子, 属于IL-6细胞因子家族, 他启动信号转导是通过gp130[26]. IL-11及IL-6在胃内广泛存在, 可调节炎症反应, 血管生成及在肿瘤进展情况下的细胞程序性死亡[27]. 大量的研究表明, 在胃癌组织中, IL-11的水平是显著升高的[28,29]. 此外, 升高的IL-11还与胃癌的分度、浸润有关[30,31]. 这些均表明IL-11与胃癌密切相关. 近年来, 关于IL-11在胃癌癌前病变中的研究得到广泛的关注. 但关于其基因多态性与胃癌前病变的关系尚未见报道. Howlett等[32]研究发现IL-11主要位于鼠和人胃的胃底黏膜的壁细胞, 在感染*H. pylori*的小鼠, IL-11在胃底黏膜表达增加, 类似IL-1β水平. 在野生型鼠应用外源性IL-11会导致胃底黏膜壁细胞及主细胞丢失, 增生, 黏液细胞化生及炎症, 这些病理改变与人类慢性萎缩性胃炎模型非常类似. 又有研究发现, IL-11在有发生胃癌高风险的癌旁组织及胃癌组织中均是显著增高的[33]. 此外, 发现在野生鼠的正常胃黏膜中, 延长IL-11的暴露会干扰胃上皮细胞周期, 引起一系列的改变, 正如在鼠胃癌前病变模型中所看到的病理变化一致. 并证实1 wk的IL-11干预会引起胃窦及胃底的癌前病变性改变. 且发现在IL-11治疗的野生鼠胃窦部黏膜中, 磷酸化的STAT3水平显著增加. Karasawa等[34]发现在无*H. pylori*感染的突变型鼠发生胃腺癌可遵循以下顺序: 增生-异型增生-癌症. 突变型鼠10周龄时, 出现轻度异型增生的胃组织IL-11及IL-1β的mRNA水平显著增高. 但也有一些相反的结果, Jackson等[35]发现, 与正常对照组相比, 在人类胃炎及肠上皮化生组织中IL-11 mRNA的水平仍维持在正常水平, 但在胃癌组织中, IL-11 mRNA大约增加两倍(P<0.05). 为证实这一新奇的发现, 他们查询人类cDNA基因芯片数据库, 也发现了相似的结果: 在邻近的未累及的胃黏膜及肠化生组织中, IL-11的表达并未改变, 而在胃腺癌中IL-11表达水平大约增加1.4倍. 虽然IL-11在胃癌前病变中的变化是有一些争议, 但关于IL-11的对胃黏膜的增殖作用已得到广泛的认可. 在鼠模型实验表明: IL-11的表达及上调伴有胃黏膜的增生[10]. 体外实验证明人重组IL-11是促进有丝分裂的, 可使STAT3的活化并伴随胃上皮细胞MKN28的增殖增加[35]. 而胃黏膜增生在癌前病变中有重要意义. 总之, 一般认为IL-11可能是通过STAT3途径促进胃癌前病变的.

4 IFN-γ

IFN-γ主要由活化的T细胞(包括Th0、Th1细胞和几乎所有CD8$^+$ T细胞)和NK细胞产生. 他的生物学活性除具有抗病毒、抗增殖活性外, 其主要的生物学活性为免疫调节作用. 目前关于IFN-γ在胃癌前病变中作用的研究不断增多, 但未见关于其基因多态性在胃癌前病变中的报道. Asonuma等[36]研究表明IFN-γ及*H. pylori*感染可下调性别决定区Y框蛋白2(sex-determining region Y-box 2, Sox2), 从而增加Cdx2表达, 这最终可能导致胃黏膜肠上皮化生, 这与牛海静

■相关报道

孙仁虎等发现IL-1β可促进肠上皮化生, 而Tu等发现IL-1β可促进胃黏膜异型增生的. Zhang等发现IL-8可促进胃黏膜的肠上皮化生. Howlett等发现IL-11可导致胃黏膜发生萎缩性胃炎. Asonuma等发现IFN-γ可促进胃黏膜出现肠上皮化生. Senthilkumar等发现在肠上皮化生及异型增生组织中, TNF-α表达增加.

■创新盘点
本文综述了一些促炎细胞因子与胃癌前病变的关系及其详细作用机制, 这与以往研究的炎症因子在胃癌中的作用及机制不同, 且能更好地预防胃癌.

等[37]发现相似. Sayi等[38]发现在*H. felis*感染后3 mo的小鼠中, IFN-γ水平是与胃慢性炎症, 萎缩及上皮增生显著相关, 而与化生的表现关联不大. 此外, 与野生型相比, IFN-$\gamma^{-/-}$小鼠在*H. felis*感染后3 mo, 发生胃炎、萎缩、增生或化生的风险显著降低. Oertli等[39]发现, *H. pylori*感染的基因突变型小鼠所致的慢性萎缩性胃炎, 异型增生和肠上皮化生等病理变化可能与小鼠体内Th17/Th1细胞介导的免疫应答水平相关. 且发现Th17/Th1细胞反应受损时, IL-17及IFN-γ水平降低. 这提示IFN-γ及IL-17可能与胃癌前病变有关. Syu等[40]发现在IFN-γ转基因表达的小鼠会出现胃黏膜的炎症、化生及异型增生. 这些均表明螺杆菌诱导的胃癌前病变是依赖IFN-γ的产生的. 另一方面, 大量研究表明, 胃癌前病变的组织学改善是与IFN-γ的降低有关. Ohtani等[41]发现在*H. pylori*感染后16 wk的♂的INS-GAS鼠可发展为严重的胃体胃炎伴随萎缩、增生、肠上皮化生及上皮的异型增生. 但经过17β雌二醇(E2)治疗后, 炎症并未减少, 但腺体萎缩、增生、肠上皮化生及异型增生的程度较轻(P<0.01). 而由E2治疗导致的胃部病变的改善是与IFN-γ及IL-β的mRNA的低表达水平相关(P<0.05). Fox等[42]发现在所有*H. pylori*感染的三叶草因子(trefoil factor 1, TFF1)缺乏的小鼠($TFF2^{-/-}$), 在感染后6 mo时, 胃体及胃窦上皮均有显著的改变(黏膜缺失、萎缩、增生、假幽门化生及异型增生). 在感染后19 mo时, 胃窦部上皮会出现类似的改变(P<0.01). 且在所有的*H. pylori*感染的$TFF2^{-/-}$的鼠均会出现显著胃窦部的高度非典型增生包括上皮内瘤变, 同时黏膜IFN-γ水平显著增高. 而在*H. pylori*感染的正常野生型小鼠中, 胃黏膜的IFN-γ水平则下调. 这表明TFF2在阻止*H. pylori*相关的胃癌前病变的发展的保护效应部分是通过调节IFN-γ水平实现的. Toller等[43]研究发现抑制ADP核糖基化的作用的小分子抑制剂PJ34不仅可有效预防胃癌前病变(*H. pylori*引起的萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生)的形成, 同时也可有效逆转已经存在的胃癌前病变. 并发现PJ34可直接抑制T细胞效应功能是通过体外抑制肠系膜淋巴结T细胞产生IFN-γ. 此外, 当暴露于PJ34时, 纯化的T细胞不能激活编码IFN-γ的基因的转录. 又有研究表明[44], PGE2也可阻止胃癌前病变的发生, 并可完全逆转已经存在胃癌前病变. 在动物模型中发现PGE2的保护效应主要是由于他对$CD4^+$ $CD25^-$ T细胞的免疫抑制效应, 使其不能迁移、增殖及分泌IFN-γ. 但关于IFN-γ在胃癌前病变中的具体作用途径尚不明确.

5 TNF-α

TNF-α主要由LPS活化的单核巨噬细胞或抗原刺激的T细胞分泌, 他具有广泛的生物学活性, 可参与炎症反应及免疫应答、内毒素性休克、引起恶液质等. TNF-α基因多态性与胃癌前病变的关系受到越来越多的关注. 但大量研究表明[45,46], TNF-A-308与肠上皮化生或肠型胃癌无关. 但关于其在胃癌前病变中的作用也不断有新的报道. Wang等[47]研究发现, 白云母能逆转萎缩性胃炎小鼠的胃腺萎缩及肠化生, 且体外研究表明白云母可呈剂量依赖性吸收IL-1β及TNF-α. 这提示IL-1β及TNF-α可能在胃黏膜肠化生中发挥作用. Lemke等[48]报道在C57BL/6小鼠中, 与*H. pylori*感染的鼠相比, 胆型螺杆菌(*Helicobacter billis*, *H. billis*)和*H. pylori*共同感染组, 在感染后6 mo时胃炎、萎缩黏液细胞化生及增生的程度明显减轻. 而在感染后12 mo时, 肠上皮化生及异型增生的程度较轻. 且促炎性细胞因子IL-1β、TNF-α及IFN-γ的mRNA表达水平在感染后6、12 mo均是降低的(P<0.01). Senthilkumar等[49]通过发现, 在20例正常对照组中的18例(90%)不表达TNF-α mRNA, 而在慢性胃炎、肠上皮化生及异型增生中, TNF-α的表达分别为51/63(81%), 20/20(100%)及11/11(100%), 而在胃癌中TNF-α表达为65/86(75.6%). 这些结果表明从正常组织至异型增生组织中TNF-α的表达水平是稳步增加的. Rau等[50]研究发现TNF-α在正常胃组织的细胞质中无表达, 而在肠上皮化生组织中表达水平最高, 而在胃癌中又下降. CDX1蛋白在正常胃组织中由于启动子甲基化不表达, 但在肠上皮化生及低度异型增生胃组织中强烈表达, 在胃癌中相对降低. 在5-氮杂-2-脱氧胞苷(5Aza)处理过的胃上皮细胞, 用促炎细胞因子TNF-α刺激, 可使结合至*CDX1*启动子上的NF-κB进一步升高1.8倍, 并最终使CDX1 mRNA表达水平增高. 这表明TNF-α可能是通过影响NF-κB而在肠上皮化生中起作用的. Soutto等[51]发现*TFF1*基因敲除的小鼠幽门窦的组织变化可由胃炎发展为增生, 异型增生、胃癌等变化. 并通过体内外及离体实验表明, TFF1表达抑制TNF-α调节的NF-κB的活化, 从而抑制异型增生及胃癌生成. 并在人类胃组织中发现了相似的结果. 这提示TNF-α可能通过NF-κB途径在胃黏膜异型增生中起作

用. 总之, TNF-α可能通过NF-κB途径促进胃癌前病变的发生.

6 结论

促炎细胞因子(IL-1β、IL-8、IL-11、TNF-α及IFN-γ)在胃癌前病变中发挥重要而且复杂的作用. 此外, 因这几种促炎细胞因子与胃癌前病变关系密切, 若能联合监测, 将会提高诊断胃癌前病变的准确率. 同时, 对促炎细胞因子在胃癌前病变中的具体作用机制的研究, 将会对胃癌前病变的治疗靶点的选择具有重要的意义, 并最终造福广大胃癌患者.

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 Verdecchia A, Mariotto A, Gatta G, Bustamante-Teixeira MT, Ajiki W. Comparison of stomach cancer incidence and survival in four continents. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1603-1609 [PMID: 12855268 DOI: 10.1016/S0959-8049(03)00360-5]

3 Tsujimoto H, Ono S, Ichikura T, Matsumoto Y, Yamamoto J, Hase K. Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes? *Gastric Cancer* 2010; 13: 212-221 [PMID: 21128056 DOI: 10.1007/s10120-010-0568-x]

4 Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 1175-1183 [PMID: 17476347 DOI: 10.1172/JCI31537]

5 Putoczki TL, Thiem S, Loving A, Busuttil RA, Wilson NJ, Ziegler PK, Nguyen PM, Preaudet A, Farid R, Edwards KM, Boglev Y, Luwor RB, Jarnicki A, Horst D, Boussioutas A, Heath JK, Sieber OM, Pleines I, Kile BT, Nash A, Greten FR, McKenzie BS, Ernst M. Interleukin-11 is the dominant IL-6 family cytokine during gastrointestinal tumorigenesis and can be targeted therapeutically. *Cancer Cell* 2013; 24: 257-271 [PMID: 23948300 DOI: 10.1016/j.ccr.2013.06.017]

6 Fehlings M, Drobbe L, Moos V, Renner Viveros P, Hagen J, Beigier-Bompadre M, Pang E, Belogolova E, Churin Y, Schneider T, Meyer TF, Aebischer T, Ignatius R. Comparative analysis of the interaction of Helicobacter pylori with human dendritic cells, macrophages, and monocytes. *Infect Immun* 2012; 80: 2724-2734 [PMID: 22615251 DOI: 10.1128/IAI.00381-12]

7 Leung WK, Chan MC, To KF, Man EP, Ng EK, Chu ES, Lau JY, Lin SR, Sung JJ. H. pylori genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 714-720 [PMID: 16635219 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00560.x]

8 Murphy G, Thornton J, McManus R, Swan N, Ryan B, Hughes DJ, O'Morain CA, O'Sullivan M. Association of gastric disease with polymorphisms in the inflammatory-related genes IL-1B, IL-1RN, IL-10, TNF and TLR4. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 630-635 [PMID: 19295440 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283140eea]

9 Peleteiro B, Lunet N, Carrilho C, Durães C, Machado JC, La Vecchia C, Barros H. Association between cytokine gene polymorphisms and gastric precancerous lesions: systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 762-776 [PMID: 20200422 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0917]

10 Saqui-Salces M, Covés-Datson E, Veniaminova NA, Waghray M, Syu LJ, Dlugosz AA, Merchant JL. Inflammation and Gli2 suppress gastrin gene expression in a murine model of antral hyperplasia. *PLoS One* 2012; 7: e48039 [PMID: 23110168 DOI: 10.1371/journal.pone.0048039]

11 Waghray M, Zavros Y, Saqui-Salces M, El-Zaatari M, Alamelumangapuram CB, Todisco A, Eaton KA, Merchant JL. Interleukin-1beta promotes gastric atrophy through suppression of Sonic Hedgehog. *Gastroenterology* 2010; 138: 562-572, 572. e1-e2 [PMID: 19883649 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.043]

12 Shiotani A, Iishi H, Uedo N, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Kumamoto M, Merchant JL. Evidence that loss of sonic hedgehog is an indicator of Helicobater pylori-induced atrophic gastritis progressing to gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 581-587 [PMID: 15743355 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41001.x]

13 孙仁虎, 李疆, 童强, 舒晓刚, 王国斌. 白介素-1B诱导胃上皮细胞GES-1表达肠道特异性标志物. 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 370-374

14 李疆, 孙仁虎, 王国斌, 陶凯雄. 白介素1β诱导尾型同源盒转录因子2异位表达在胃黏膜肠上皮化生中的意义. 中华胃肠外科杂志 2010: 13: 524-527

15 Mutoh H, Hayakawa H, Sakamoto H, Sashikawa M, Sugano K. Transgenic Cdx2 induces endogenous Cdx1 in intestinal metaplasia of Cdx2-transgenic mouse stomach. *FEBS J* 2009; 276: 5821-5831 [PMID: 19725873 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07263]

16 Tu S, Bhagat G, Cui G, Takaishi S, Kurt-Jones EA, Rickman B, Betz KS, Penz-Oesterreicher M, Bjorkdahl O, Fox JG, Wang TC. Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. *Cancer Cell* 2008; 14: 408-419 [PMID: 18977329 DOI: 10.1016/j.ccr]

17 Bartchewsky W, Martini MR, Masiero M, Squassoni AC, Alvarez MC, Ladeira MS, Salvatore D, Trevisan M, Pedrazzoli J, Ribeiro ML. Effect of Helicobacter pylori infection on IL-8, IL-1beta and COX-2 expression in patients with chronic gastritis and gastric cancer. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 153-161 [PMID: 18985541 DOI: 10.1080/00365520802530853]

18 Isomoto H, Matsushima K, Inoue N, Hayashi T, Nakayama T, Kunizaki M, Hidaka S, Nakayama M, Hisatsune J, Nakashima M, Nagayasu T, Nakao K, Hirayama T. Interweaving microRNAs and proinflammatory cytokines in gastric mucosa with reference to H. pylori infection. *J Clin Immunol* 2012; 32: 290-299 [PMID: 22161133 DOI: 10.1007/s10875-011-9626-3]

19 Li ZW, Wu Y, Sun Y, Liu LY, Tian MM, Feng GS, You WC, Li JY. Inflammatory cytokine gene polymorphisms increase the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1788-1794 [PMID: 20380014 DOI: 10.3748/wjg.

■应用要点

本综述阐述的一些与胃癌前病变密切相关的促炎细胞因子, 可作为临床联合检测胃癌前病变的标志物, 同时为胃癌前病变的治疗提供新的方向, 具有较好临床应用前景.

■同行评价
本文对研究胃癌前病变的形成与防治具有重要的意义.

v16.i14.1788]
20 Ye BD, Kim SG, Park JH, Kim JS, Jung HC, Song IS. The interleukin-8-251 A allele is associated with increased risk of noncardia gastric adenocarcinoma in Helicobacter pylori-infected Koreans. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 233-239 [PMID: 18542040 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181646701]
21 Kim N, Park YS, Cho SI, Lee HS, Choe G, Kim IW, Won YD, Park JH, Kim JS, Jung HC, Song IS. Prevalence and risk factors of atrophic gastritis and intestinal metaplasia in a Korean population without significant gastroduodenal disease. *Helicobacter* 2008; 13: 245-255 [PMID: 18665932 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2008.00604.x]
22 Taguchi A, Ohmiya N, Shirai K, Mabuchi N, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Goto H. Interleukin-8 promoter polymorphism increases the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2487-2493 [PMID: 16284368 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0326]
23 Szoke D, Molnar B, Solymosi N, Klausz G, Gyulai Z, Toth B, Mandi Y, Tulassay Z. T-251A polymorphism of IL-8 relating to the development of histological gastritis and G-308A polymorphism of TNF-alpha relating to the development of macroscopic erosion. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 191-195 [PMID: 18301299 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f1d29f]
24 Song JH, Kim SG, Jung SA, Lee MK, Jung HC, Song IS. The interleukin-8-251 AA genotype is associated with angiogenesis in gastric carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Koreans. *Cytokine* 2010; 51: 158-165 [PMID: 20621718 DOI: 10.1016/j.cyto.2010.05.001]
25 Zhang X, Yang Y, Zhu R, Bai J, Tian Y, Li X, Peng Z, He Y, Chen L, Fang D, Chen W, Zou Q, Mao X, Wang R. H. pylori induces the expression of Hath1 in gastric epithelial cells via interleukin-8/STAT3 phosphorylation while suppressing Hes1. *J Cell Biochem* 2012; 113: 3740-3751 [PMID: 22786753 DOI: 10.1002/jcb.24248]
26 Judd LM, Ulaganathan M, Howlett M, Giraud AS. Cytokine signalling by gp130 regulates gastric mucosal healing after ulceration and, indirectly, antral tumour progression. *J Pathol* 2009; 217: 552-562 [PMID: 19097069 DOI: 10.1002/path.2479]
27 Howlett M, Menheniott TR, Judd LM, Giraud AS. Cytokine signalling via gp130 in gastric cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 1623-1633 [PMID: 19665497 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2009.07.009]
28 Ernst M, Najdovska M, Grail D, Lundgren-May T, Buchert M, Tye H, Matthews VB, Armes J, Bhathal PS, Hughes NR, Marcusson EG, Karras JG, Na S, Sedgwick JD, Hertzog PJ, Jenkins BJ. STAT3 and STAT1 mediate IL-11-dependent and inflammation-associated gastric tumorigenesis in gp130 receptor mutant mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 1727-1738 [PMID: 18431520 DOI: 10.1172/JCI34944]
29 Ellmark P, Ingvarsson J, Carlsson A, Lundin BS, Wingren C, Borrebaeck CA. Identification of protein expression signatures associated with Helicobacter pylori infection and gastric adenocarcinoma using recombinant antibody microarrays. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5: 1638-1646 [PMID: 16844680 DOI: 10.1074/mcp.M600170-MCP200]
30 Nakayama T, Yoshizaki A, Izumida S, Suehiro T, Miura S, Uemura T, Yakata Y, Shichijo K, Yamashita S, Sekin I. Expression of interleukin-11 (IL-11) and IL-11 receptor alpha in human gastric carcinoma and IL-11 upregulates the invasive activity of human gastric carcinoma cells. *Int J Oncol* 2007; 30: 825-833 [PMID: 17332920]
31 Yakata Y, Nakayama T, Yoshizaki A, Kusaba T, Inoue K, Sekine I. Expression of p-STAT3 in human gastric carcinoma: significant correlation in tumour invasion and prognosis. *Int J Oncol* 2007; 30: 437-442 [PMID: 17203226]
32 Howlett M, Chalinor HV, Buzzelli JN, Nguyen N, van Driel IR, Bell KM, Fox JG, Dimitriadis E, Menheniott TR, Giraud AS, Judd LM. IL-11 is a parietal cell cytokine that induces atrophic gastritis. *Gut* 2012; 61: 1398-1409 [PMID: 22180059 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300539]
33 Howlett M, Giraud AS, Lescesen H, Jackson CB, Kalantzis A, Van Driel IR, Robb L, Van der Hoek M, Ernst M, Minamoto T, Boussioutas A, Oshima H, Oshima M, Judd LM. The interleukin-6 family cytokine interleukin-11 regulates homeostatic epithelial cell turnover and promotes gastric tumor development. *Gastroenterology* 2009; 136: 967-977 [PMID: 19121317 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.003]
34 Karasawa F, Shiota A, Goso Y, Kobayashi M, Sato Y, Masumoto J, Fujiwara M, Yokosawa S, Muraki T, Miyagawa S, Ueda M, Fukuda MN, Fukuda M, Ishihara K, Nakayama J. Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice. *J Clin Invest* 2012; 122: 923-934 [PMID: 22307328 DOI: 10.1172/JCI59087]
35 Jackson CB, Judd LM, Menheniott TR, Kronborg I, Dow C, Yeomans ND, Boussioutas A, Robb L, Giraud AS. Augmented gp130-mediated cytokine signalling accompanies human gastric cancer progression. *J Pathol* 2007; 213: 140-151 [PMID: 17724739 DOI: 10.1002/path.2218]
36 Asonuma S, Imatani A, Asano N, Oikawa T, Konishi H, Iijima K, Koike T, Ohara S, Shimosegawa T. Helicobacter pylori induces gastric mucosal intestinal metaplasia through the inhibition of interleukin-4-mediated HMG box protein Sox2 expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G312-G322 [PMID: 19520737 DOI: 10.1152/ajpgi.00518.2007]
37 牛海静, 陈鑫, 王邦茂. Sox2和Cdx2在胃黏膜肠化生中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1295-1299
38 Sayi A, Kohler E, Hitzler I, Arnold I, Schwendener R, Rehrauer H, Müller A. The CD4+ T cell-mediated IFN-gamma response to Helicobacter infection is essential for clearance and determines gastric cancer risk. *J Immunol* 2009; 182: 7085-7101 [PMID: 19454706 DOI: 10.4049/jimmunol.0803293]
39 Oertli M, Engler DB, Kohler E, Koch M, Meyer TF, Müller A. MicroRNA-155 is essential for the T cell-mediated control of Helicobacter pylori infection and for the induction of chronic gastritis and colitis. *J Immunol* 2011; 187: 3578-3586 [PMID: 21880981 DOI: 10.4049/jimmunol.1101772]
40 Syu LJ, El-Zaatari M, Eaton KA, Liu Z, Tetarbe M, Keeley TM, Pero J, Ferris J, Wilbert D, Kaatz A, Zheng X, Qiao X, Grachtchouk M, Gumucio DL, Merchant JL, Samuelson LC, Dlugosz AA. Transgenic expression of interferon-γ in mouse stomach leads to inflammation, metaplasia, and dysplasia. *Am J Pathol* 2012; 181: 2114-2125 [PMID: 23036899 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.08.017]
41 Ohtani M, Ge Z, García A, Rogers AB, Muthupalani

S, Taylor NS, Xu S, Watanabe K, Feng Y, Marini RP, Whary MT, Wang TC, Fox JG. 17 β-estradiol suppresses Helicobacter pylori-induced gastric pathology in male hypergastrinemic INS-GAS mice. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1244-1250 [PMID: 21565825 DOI: 10.1093/carcin/bgr072]

42 Fox JG, Rogers AB, Whary MT, Ge Z, Ohtani M, Jones EK, Wang TC. Accelerated progression of gastritis to dysplasia in the pyloric antrum of TFF2 -/- C57BL6 x Sv129 Helicobacter pylori-infected mice. *Am J Pathol* 2007; 171: 1520-1528 [PMID: 17982128]

43 Toller IM, Altmeyer M, Kohler E, Hottiger MO, Müller A. Inhibition of ADP ribosylation prevents and cures helicobacter-induced gastric preneoplasia. *Cancer Res* 2010; 70: 5912-5922 [PMID: 20634404 DOI: 10.1158/0008-5472]

44 Toller IM, Hitzler I, Sayi A, Mueller A. Prostaglandin E2 prevents Helicobacter-induced gastric preneoplasia and facilitates persistent infection in a mouse model. *Gastroenterology* 2010; 138: 1455-1467, 1455-1467, [PMID: 20026064 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.006]

45 Partida-Rodríguez O, Torres J, Flores-Luna L, Camorlinga M, Nieves-Ramírez M, Lazcano E, Perez-Rodríguez M. Polymorphisms in TNF and HSP-70 show a significant association with gastric cancer and duodenal ulcer. *Int J Cancer* 2010; 126: 1861-1868 [PMID: 19626584 DOI: 10.1002/ijc.24773]

46 Shin CM, Kim N, Lee HS, Lee DH, Kim JS, Jung HC, Song IS. Intrafamilial aggregation of gastric cancer: a comprehensive approach including environmental factors, Helicobacter pylori virulence, and genetic susceptibility. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 411-417 [PMID: 21502924 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328343b7f5]

47 Wang LJ, Zhou QY, Chen Y, Chen SJ, Xu M, Du Q, Zhu FS, Si JM. Muscovite reverses gastric gland atrophy and intestinal metaplasia by promoting cell proliferation in rats with atrophic gastritis. *Digestion* 2009; 79: 79-91 [PMID: 19276636 DOI: 10.1159/000207489]

48 Lemke LB, Ge Z, Whary MT, Feng Y, Rogers AB, Muthupalani S, Fox JG. Concurrent Helicobacter bilis infection in C57BL/6 mice attenuates proinflammatory H. pylori-induced gastric pathology. *Infect Immun* 2009; 77: 2147-2158 [PMID: 19223483 DOI: 10.1128/IAI.01395-08]

49 Senthilkumar C, Niranjali S, Jayanthi V, Ramesh T, Devaraj H. Molecular and histological evaluation of tumor necrosis factor-alpha expression in Helicobacter pylori-mediated gastric carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 577-583 [PMID: 20512382 DOI: 10.1007/s00432-010-0921-9]

50 Rau TT, Rogler A, Frischauf M, Jung A, Konturek PC, Dimmler A, Faller G, Sehnert B, El-Rifai W, Hartmann A, Voll RE, Schneider-Stock R. Methylation-dependent activation of CDX1 through NF-κB: a link from inflammation to intesti=nal metaplasia in the human stomach. *Am J Pathol* 2012; 181: 487-498 [PMID: 22749770 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.028]

51 Soutto M, Belkhiri A, Piazuelo MB, Schneider BG, Peng D, Jiang A, Washington MK, Kokoye Y, Crowe SE, Zaika A, Correa P, Peek RM, El-Rifai W. Loss of TFF1 is associated with activation of NF-κB-mediated inflammation and gastric neoplasia in mice and humans. *J Clin Invest* 2011; 121: 1753-1767 [PMID: 21490402 DOI: 10.1172/JCI43922]

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 2014年1月8日; 22(1): 46-52
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

树突状细胞疫苗在胃癌免疫治疗中的研究进展

吴凤丽, 李国华

■背景资料
我国是胃癌的高发区, 且我国每年胃癌的死亡人数居世界首位. 目前的传统疗法的治疗效果不理想. 树突状细胞可启动免疫应答, 是机体免疫反应的始动者, 目前树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗在肿瘤免疫治疗的研究领域中备受关注, 多位学者也在研究其在胃癌的免疫治疗中的作用.

吴凤丽, 李国华, 南昌大学第一附属医院消化科 江西省南昌市 330006
吴凤丽, 南昌大学医学院硕士, 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. 30960429
作者贡献分布: 本文综述由吴凤丽完成; 李国华审校.
通讯作者: 李国华, 教授, 主任医师, 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科.
liguohua98@sohu.com
电话: 0791-88692505
收稿日期: 2013-10-11 修回日期: 2013-11-06
接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2014-01-08

Dendritic cell vaccines in gastric cancer immunotherapy

Feng-Li Wu, Guo-Hua Li

Feng-Li Wu, Guo-Hua Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960429
Correspondence to: Guo-Hua Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizhen Street, Nanchang 33006, Jiangxi Province, China. liguohua98@sohu.com
Received: 2013-10-11 Revised: 2013-11-06
Accepted: 2013-11-20 Published online: 2014-01-08

Abstract
Gastric cancer is one of the most common malignant tumors of the digestive tract. Current treatments for gastric cancer are mainly surgery, radiotherapy, and chemotherapy, and the effects of these treatments are not satisfactory. Dendritic cells are the most important antigen presenting cells, play an important role in the immune surveillance and immune escape of gastric cancer, and are closely related to the occurrence, development and outcome of gastric cancer. Dendritic cell vaccines in immunotherapy of tumors have become a hot research spot.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Dendritic cells; Vaccine; Immunotherapy

Wu FL, Li GH. Dendritic cell vaccines in gastric cancer immunotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 46-52 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/46.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.46

摘要
胃癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一, 其目前的治疗手段主要是手术切除、放疗、化疗等, 治疗效果不理想. 树突状细胞是最重要的抗原提呈细胞, 在胃癌的免疫监视及免疫逃逸机制中起重要作用, 与胃癌的发生、发展、愈后密切相关. 树突状细胞疫苗在肿瘤的免疫治疗中的研究已成为一个热点.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 树突状细胞; 疫苗; 免疫治疗

核心提示: 树突状细胞在免疫系统中起着“黄金钥匙”的特殊作用, 其体外培养、诱导技术已基本成熟, 树突状细胞疫苗的制备及其在胃癌中的治疗作用研究的相关报道越来越多, 治疗作用已被多为学者证实.

吴凤丽, 李国华. 树突状细胞疫苗在胃癌免疫治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 46-52 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/46.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.46

0 引言
胃癌在我国乃至世界范围内均是最常见的恶性肿瘤之一. 根据世界卫生组织公布的全球统计报告, 世界胃癌年发病率为13.86/10万, 仅次于肺癌居第2位. 我国是胃癌的高发区, 每年我国新发现40万例胃癌患者, 占世界胃癌发患者数的42%. 我国胃癌的死亡率是欧美发达国家的4-8倍, 每年胃癌的死亡人数居世界首位. 目前我国胃癌防治的现状是“一高三低”: 发病死亡率高, 早期诊断率低, 手术根治率低, 5年生存率低. 胃癌传统的治疗手段(手术切除、放疗、化疗)并不理想, 人们正在开拓一个全新的治疗方法-免疫治疗, 已成为目前针对肿瘤治疗的一个热点.

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前已知

■同行评议者
张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

的最强大的专职抗原提呈细胞, 其最大的特点是能激活初始型T淋巴细胞, DCs通过抗原肽-主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)将抗原呈递给初始T淋巴细胞, 从而启动免疫反应[1-3]. 而其他抗原提呈细胞仅能刺激已活化的或记忆性T淋巴细胞, 因此DC是机体免疫反应的始动者[4]. 基于这一特性, 目前DC疫苗在肿瘤免疫治疗的研究领域中备受关注, 为胃癌在治疗上有所突破带来新的希望, 本文就DC与胃癌免疫治疗方面的研究作一综述.

1 DC的生物学特性及功能

DC是由2011年诺贝尔生理学或医学奖得主拉夫尔-斯坦曼于1973年发现的, 因其表面有树突状或毛刺状突起而被命名. DC分布十分广泛, 存在于淋巴组织, 皮肤、消化系、呼吸道的上皮和大多数实质器官内. 所有DC来源于骨髓前体细胞. 根据其发育分化途径将DC分为两类: 髓样DC(myeloid DC)和淋巴样DC(lymphoid DC); 从活化T细胞免疫反应类型(Th1型和Th2型)DC分为1型DC和2型DC[5].

当与其他抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)如巨噬细胞相比较时, DCs是非常有效且可以引发非常低数量的T细胞反应[3,6,7], 从而它被称为“专职APC”[8]. DC抗原提呈能力随其发育成熟而增强, 而其摄取抗原能力则逐渐减弱. 未成熟DC表面低水平表达协同共刺激分子CD40、CD80、CD86及MHC-Ⅱ分子, 在混合淋巴反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)中刺激同种异体淋巴细胞的能力低下, 其上清白介素12(interleukin-12, IL-12)的浓度低, 其具有很强的摄取和加工处理抗原的能力. 且有文献报道, 其呈递抗原能力低下, 并可能诱导免疫耐受[9]. 其摄取加工抗原的能力在其成熟过程中越来越弱[10]. 成熟的DC高表达MHC-Ⅱ类分子及协同共刺激分子CD40、CD80、B7-2(CD86)、淋巴细胞功能相关抗原3(也称CD58)(lymphocyte function-associated antigen-3, LFA-3或CD58)、CD54、细胞间黏附分子3(也称CD50)(intercellular adhesion molecule 3, ICAM-3或CD50)及CD1α、CD83[11], 其中CD1α、CD83是成熟DC表面特异性标志, 且在MLR中刺激同种异体淋巴细胞的能力较未成熟DC强. 另有研究表明CD80、CD86可活化Th细胞, 并使其产生大量细胞因子, 如白介素2(interleukin-2, IL-2)、IL-6、干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等, 而这些因子又可以启动DC的成熟过程, 并促进DC分泌IL-12并活化T细胞的功能[12].

DC的主要功能是通过捕获、摄取抗原, 并经过内化加工处理后, 将抗原呈递给T淋巴细胞. 经DCs刺激后, 初始的$CD4^+$ T细胞和$CD8^+$ T细胞向不同功能的特异性效应T细胞分化. $CD4^+$ T细胞可以分化成为辅助性T1(Th1)细胞、Th2细胞、Th17细胞或滤泡性辅助性T细胞(Tfh)细胞, 以及调节性T(Treg)细胞; 初始$CD8^+$ T细胞则分化为细胞毒性效应T细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)[1]. DCs还可刺激先天免疫系统中的相关细胞, 例如自然杀伤(natural killer cell, NK)细胞、巨噬细胞以及肥大细胞等[1-3]. DCs亦可通过与B淋巴细胞相互作用或间接诱导$CD4^+$ T辅助T细胞增殖分化而在调节体液免疫中扮演着一个重要角色[13,14]. 这些起关键作用的DCs, 可激活两种不同的适应性免疫系统(即细胞免疫和体液免疫), 启动免疫反应, 这使得DCs在抗原呈递及疫苗接种治疗癌症中起核心作用[8].

2 DC的体外培样

DC在血液中含量稀少, 直接从血液中提取含量极微, 大大限制了其在临床中的应用. 为了克服这一难题, 不少研究小组在探索DC的体外培养, 期许能使其在体外扩增以满足临床需求. 目前其体外培养来源有3种: (1)外周血; (2)脐带血; (3)骨髓. 其各有优缺点, 人类外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中仅含有0.1%-0.5%的DC[15], 故从外周血中无法得到大量的DC. 人骨髓来源的DC因其来源少、难于采集且创伤性大等缺点限制了其在研究中的应用. 有实验表明, 与外周血相比, 脐血可得到较多数量的DC[16], 且其高表达表面标记分子且稳定[17,18], 另外, 脐血具有来源丰富、便于采集、免疫原性弱、组织相容性好等特点[19]. 基于这些优点, 脐带血提取DC有望成为体外培养获得数目可观的DC的主要途径.

目前, 体外培养常用的培养基有多种, 但在选用中无统一标准[20]. 有文献指出, 目前临床研究使用人血清、同源血浆或无血清培养基较多[21]. 但统一的是无论使用什么培养基均需要加入细胞因子刺激、诱导得到DC. 其中GM-CSF是刺激骨髓来源细胞向粒细胞和巨噬细胞系分化的

■研发前沿

目前树突状细胞疫苗在肿瘤中的治疗作用已是研究热点, 重点是树突状细胞的体外培养以及针对肿瘤的高度特异性、高效性的树突状细胞疫苗, 亟待研究的问题是疫苗的治疗剂量、纯度、接种方式、疗程、频率、接种最佳人群及最佳时机的选择以及临床治疗效果的评价标准的统一.

■相关报道
Palucka等的文章《Cancer immunotherapy *via* dendritic cells》就树突状细胞的特性及树突状细胞疫苗在肿瘤中的治疗等方面的研究做了总结性的、翔实的报道.

生长因子, 而IL-4则阻止前体细胞向巨噬细胞方向的分化, 这两个因子组合可刺激诱导出未成熟DC[22]. 另外, Sallusto等[23]也在实验中印证了这一点. 因成熟DC刺激同种异体T淋巴细胞反应能力及抗原呈递能力远强于未成熟DC, 故DC肿瘤疫苗的疗效与DC成熟程度密切相关, 因此寻找高效诱导DC成熟、制备负载DC的方法是DC瘤苗在临床抗肿瘤治疗中得以广泛应用的关键问题[24]. 最初描述促DC成熟的方法是向培养基内加入未知成份的混合细胞因子[25], 后有报道提出, 只用TNF-α促DC成熟[26]. 随后, 有研究指出用TNF-α、IL-1和IL-6的混合物来促进DC成熟, 且其成为促DC成熟的“标准”[27].

3 DC疫苗的制备和种类

由于这些细胞在协调天然免疫与适应性免疫反应中特殊的属性, DCs疫苗接种策略已经开发. DC疫苗接种的目的是诱导肿瘤特异效应T细胞可以有效地遏制肿瘤, 并且可以诱导免疫记忆来控制肿瘤复发. 在这个过程中, 第一步是要提供负载有肿瘤特异抗原的DC. 这可以通过两种途径来实现: 一种是通过体外培养来自患者体内的DCs, 在细胞因子(使其成熟)和肿瘤特异抗原共培养, 然后将这些细胞回输给患者; 另一种是在体内诱导载有肿瘤特异抗原的DCs[8]. 其中使用由细胞因子在体外刺激生成的DCs制备的肿瘤疫苗在癌症患者的疫苗治疗中的研究已有十多年的历史[28]. 这些研究结论认为DC疫苗是安全的, 并且其可诱导肿瘤特异性的$CD4^+$ T细胞和$CD8^+$ T细胞的扩大循环[8].

代国知等[29]就目前用于特异性抗肿瘤的DC疫苗种类进行描述, 大致可分为两类, DC多肽疫苗和DC基因疫苗. 其中DC多肽疫苗有: (1)肿瘤特异性表位肽刺激的DC; (2)肿瘤细胞裂解物致敏的DC; (3)肿瘤细胞与DC的融合; (4)Exosomes小体负载的DC. 其中Exosomes小体负载的DC在动物肿瘤模型实验中已被证实具有有效的抗肿瘤免疫作用, 已成为抗肿瘤免疫治疗研究的新热点[30,31]. DC基因疫苗包括肿瘤DNA、肿瘤RNA、细胞因子、共刺激分子和黏附分子基因转染的DC疫苗, 通过提高DC对抗原的摄取、加工处理及递呈能力, 能特异性诱导机体产生高效而特异的抗肿瘤免疫效应[32,33]. 据报道, 美国食品和药物管理局(Food and Drug Admistraton, FDA)已批准其在肿瘤生物治疗的研究进入临床试验阶段[34].

4 DC与肿瘤免疫逃逸

据目前研究结果已知, 肿瘤微环境可诱导其免疫耐受[35]. 肿瘤细胞免疫逃逸的机制有: (1)肿瘤抗原的变异, 是其逃避免疫监视的主要机制; (2)肿瘤细胞的“抗原调整”; (3)MHC分子表达水平下调; (4)肿瘤细胞分泌免疫抑制因子[36]. 虽然DC有强大的免疫监视功能, 但由于肿瘤细胞相关的一些因素致使DC不能有效提呈肿瘤细胞, 故肿瘤细胞逃避免疫系统的监控[36]. 对肿瘤如肠癌[37]、肝癌[38]、胰腺癌、喉癌、卵巢癌的研究中发DC存在缺憾, 表现在数量上减少以及功能上障碍等. DCs内吞的肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAA)如癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA), 早期可以局限于包内小体, 故而抑制了其对肿瘤抗原的有效处理和呈递给T淋巴细胞[39]. 有研究提示致癌基因信号可抑制DC分化、成熟从而促肿瘤逃避免疫监视[40].

5 DC疫苗与肿瘤免疫治疗

然而, 一个肿瘤细胞并非一定会发展成癌症, 这要归功于机体强大的免疫系统. 免疫系统有清除肿瘤细胞的潜能. 然而肿瘤细胞本身是较弱的抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC), 因此提出了一个问题, 如此强大的免疫力是怎样生成的[8]? 小鼠模型表明, 保护性抗肿瘤免疫取决于肿瘤抗原提呈细胞DC[41,42]. DCs可在大量的分子传感器的协助下捕获入侵的微生物并将产生的信息传输给淋巴细胞. 因此DCs在天然免疫与适应性免疫反应中起着重要的桥梁作用[8].

肿瘤免疫治疗试图利用免疫系统的特异性力量治疗肿瘤, 人类癌症特异抗原的分子识别使肿瘤特异性免疫治疗成为可能[8]. 其是继传统疗法如手术、化疗、放疗等之后的新兴的抗肿瘤方法[43], 是最近几十年来备受关注的研究领域. 其基本思路是克服免疫系统对肿瘤的免疫忽视或免疫耐受状态, 通过体内或体外方法来调动宿主免疫系统之抗肿瘤应答能力, 消灭肿瘤细胞或抑制其进一步发展. 目前已有多种肿瘤免疫治疗的方案, 例如细胞因子治疗、抗体免疫治疗、细胞免疫治疗以及肿瘤疫苗等. 目前, 研究热门的主要有两种方法, 一种是自体特异性T细胞在体外扩增, 然后回输到患者. 另一种方法是, 接种疫苗, 即将一个负载有抗原的物质注射入体内引起效应性T细胞. 由于他们的属性, DC通常被称为“自然的佐剂”从而成为了

天然的抗原传递剂[8]. 从而产生了DC疫苗的理论基础, 即使用某种方法使DC负载肿瘤抗原, 再将此负载肿瘤抗原的DC回输给荷瘤宿主, 诱导宿主抗肿瘤免疫应答, 产生特异性杀伤肿瘤作用.

根据肿瘤免疫逃逸机制及DC疫苗的理论基础, 且目前体外培养DC条件及相关基因工程技术日渐成熟, DC疫苗抗肿瘤治疗是可行的. 据报道DC疫苗已在多种恶性肿瘤的治疗上进入临床试验阶段, 如B细胞淋巴瘤、黑色素瘤、肾癌、胰腺和胆囊肿瘤、前列腺癌、白血病等, 并取得了一定的临床疗效, 且安全性较好, 仅有轻度不适, 如接种疫苗后出现短暂的乏力、发热等全身表现和恶心、呕吐消化系统不适及注射部位的局部炎症反应等[24,44]. Avigan等[45]研究显示, 从自体外周血提取的单个核细胞在GM-CSF、IL-4及自体血浆进行培养后在体外与肿瘤细胞融合, 此融合细胞双重表达肿瘤细胞及DC的特异性标志, 将此融合疫苗回输给23例癌症患者, 其中10例乳腺癌患者, 13例肾癌患者, 每3 wk皮下注射1次, 共9 wk. 每周进行疫苗毒性评估, 在完成疫苗接种后1、3及6 mo评估其抗肿瘤反应. 结果提示, 整个治疗过程中无显著的治疗相关不良反应, 且无临床证据提示有自身免疫; 在可评估的18例患者中, 有10例高表达IFN-γ的具有抗肿瘤活性的$CD4^+$ T和$CD8^+$ T细胞的百分比增高, 2例乳腺癌患者表现肿瘤退缩, 5例肾癌患者及1例乳腺癌患者趋于稳定. 其研究结果再次证明, DC疫苗在特异性抗肿瘤作用的有效性及安全性.

6 DC与胃癌

基于对胃癌的进一步研究, 发现其发生、发展、愈后与DC密切相关. 因不成熟的DC刺激活化初始T细胞能力远远弱于成熟的DC, 因此DC的迁移、成熟在胃癌免疫逃逸中扮演重要角色. 研究表明, 与正常胃黏膜组织相比, 胃癌组织中DC的成熟及功能受到抑制, 这影响到机体对幽门螺杆菌的天然免疫和获得性免疫应答的能力[46]. 胃癌组织中成熟的DC的数量显著低于癌旁正常组织, 且与淋巴结转移、TNM分期、预后等因素有关[47,48]. 众所周知, 环氧化酶2(cycloxygenase-2, COX-2)可以通过多种机制参与肿瘤的发生、发展, 具有致癌作用, 而对于胃癌的研究中显示, COX-2的表达水平与DC浸润程度呈负相关, 从而促进肿瘤的发展[49]. 另有文章指出, 淋巴结转移程度与DC浸润程度呈负相关; 胃癌的分期越晚DC浸润数量越低; DC显著浸润者的预后优于轻度浸润者. 提示胃癌组织中成熟DC数量减少、抗原呈递能力降低, 机体识别胃癌细胞能力下降, 致使胃癌发生、发展和转移[24].

7 DC疫苗在胃癌中的应用

DC疫苗具有良好的临床应用前景, 其可与传统治疗方法联合应用成为抗肿瘤的综合治疗方法之一[50]. 有文章指出, 化疗联合肿瘤疫苗治疗可作为癌症的辅助治疗, 可增强机体抗肿瘤免疫能力, 从而抑制肿瘤复发和发展[51]. 目前胃癌的传统疗法效果差强人意, 新的治疗方法亟待解决. 已知胃癌的发生、发展与成熟DC数量减少及功能抑制有关, 且DC疫苗可在体内诱导出特异性杀伤肿瘤免疫反应, 可将负载有特定胃癌抗原的DC回输给相应类型的胃癌患者, 产生特异性抗胃癌反应, 抑制胃癌的发展.

有研究报道, 黑色素瘤抗原基因3(melanoma antigen-encoding gene-3, *MAGE-3*)、人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, *HER2/neu*)基因与胃癌密切相关, 在胃癌中高表达, 基于这一事实, 有研究用它们负载DC治疗胃癌, 结果提示可获得特异性抗肿瘤反应, 相应DC疫苗可用于相应分型胃癌的治疗[24]. 赵永亮等[52]研究提示gp96多肽复合物DC疫苗诱导的效应T淋巴细胞分泌具有促进免疫应答作用的IFN-γ的量有所提高, 而分泌具有负向调控免疫应答功能的IL-10的量下降, 能高度特异性地诱导出针对自体胃癌细胞的杀伤作用. 经转染制备出的肝素酶阳性的DC疫苗可高独特异性杀伤与之匹配的胃癌细胞, 而对自体细胞无杀伤作用[53]. Ohshita等[54]提取MKN45胃癌细胞株及腹水胃癌细胞中的mRNA, 导入DC, 得到的DC疫苗可诱导产生特异性杀伤胃癌细胞作用.

现有的临床治疗方法及效果表明, 单纯一种治疗方法的治疗效果不及联合治疗. 胃癌患者血清中IL-12的浓度降低及IL-10的浓度升高, 且病期越晚这种改变越明显, 说明机体免疫功能受抑制越严重. 有研究指出采用DC疫苗同步化学治疗法治疗进展期胃癌的近期疗效较好, 能增强胃癌术后患者的特异性免疫抗肿瘤能力, 提高胃癌患者术后化疗疗效及生存率, 且术后肿瘤的复发得到遏制. 且能减少化学治疗的不良反应, 减弱机体的免疫抑制功能, 改善患者的生活质量[55,56]. 另有报道指出, 化疗联合DC疫苗

■创新盘点

此文章从树突状细胞的生物特性到其疫苗在胃癌免疫治疗中的作用应用等, 着重介绍树突状细胞疫苗与肿瘤免疫治疗, 重点描述其在胃癌免疫治疗中的应用及目前尚需解决的问题.

■应用要点
该文章针对树突状细胞在胃癌免疫治疗中的作用，在胃癌的传统疗法的基础上进行创新，将给胃癌患者带来新的曙光，大大提高胃癌患者的生存率甚至治愈率. 但是其治疗剂量、纯度、接种方式、疗程、频率、接种最佳人群及最佳时机的选择等还需进一步统一.

的进展期胃癌术后患者非特异免疫功能和特异性细胞免疫应答明显优于单纯化疗[57].

8 问题与展望

DC在人体免疫系统扮演着重要角色，是天然免疫系统和获得性免疫系统间的桥梁，成熟的DC才可以激发免疫反应，其在胃癌的发生、发展及预后中起重要作用，参与胃癌的免疫逃逸. DC疫苗用于胃癌的治疗已进入临床试验阶段，然而如何使DC疫苗在胃癌中高效性、高特异性应用仍需解决以下问题：(1)在体外大规模生产具有高效激发免疫反应的DC；(2)选择高效、特异的抗原负载DC方式制备优质疫苗，最大限度地减少自身免疫性疾病等副作用发生的几率；(3)疫苗的治疗剂量、纯度、接种方式、疗程、频率、接种最佳人群及最佳时机的选择以及临床治疗效果的评价标准的统一；(4)联合治疗方式的选择及相关标准；(5)疫苗+克制免疫逃逸机制相结合. 随着免疫学、分子生物学及基因工程的研究进展，相信DC疫苗会给胃癌患者带来新的曙光.

9 结论

鉴于DC在免疫系统中起着举足轻重的作用，且其体外培养及诱导技术已基本成熟，DC疫苗的制备已不再是难题，其在胃癌中的治疗作用已被多为学者证实.

10 参考文献

1 Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252 [PMID: 9521319 DOI: 10.1038/32588]
2 Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007; 449: 419-426 [PMID: 17898760 DOI: 10.1038/nature06175]
3 Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 1-22 [PMID: 22136168 DOI: 10.1146/annurev-immunol-100311-102839]
4 Schuler G, Steinman RM. Dendritic cells as adjuvants for immune-mediated resistance to tumors. *J Exp Med* 1997; 186: 1183-1187 [PMID: 9379142 DOI: 10.1084/jem.186.8.1183]
5 Kaliński P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today* 1999; 20: 561-567 [PMID: 10562707 DOI: 10.1016/S0167-5699(99)01547-9]
6 Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973; 137: 1142-1162 [PMID: 4573839 DOI: 10.1084/jem.137.5.1142]
7 Steinman, RM, Cohn, ZA. Mononuclear Phagocytes in Immunity, Infection, and Pathology. Blackwell Scientific Publications Ltd, Oxford: 1975: 95-109
8 Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 265-277 [PMID: 22437871 DOI: 10.1038/nrc3258]
9 刘婷, 华川. 树突状细胞抗肿瘤免疫的研究进展. 重庆医学 2009; 38: 2090-2092
10 Cella M, Sallusto F, Lanzavecchia A. Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 10-16 [PMID: 9039784 DOI: 10.1016/S0952-7915(97)80153-7]
11 Son YI, Dallal RM, Mailliard RB, Egawa S, Jonak ZL, Lotze MT. Interleukin-18 (IL-18) synergizes with IL-2 to enhance cytotoxicity, interferon-gamma production, and expansion of natural killer cells. *Cancer Res* 2001; 61: 884-888 [PMID: 11221875]
12 Peiser M, Wanner R, Kolde G. Human epidermal Langerhans cells differ from monocyte-derived Langerhans cells in CD80 expression and in secretion of IL-12 after CD40 cross-linking. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 616-622 [PMID: 15178702 DOI: 10.1189/jlb.0703327]
13 Jego G, Pascual V, Palucka AK, Banchereau J. Dendritic cells control B cell growth and differentiation. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8: 124-139 [PMID: 15564719 DOI: 10.1159/000082101]
14 Qi H, Egen JG, Huang AY, Germain RN. Extrafollicular activation of lymph node B cells by antigen-bearing dendritic cells. *Science* 2006; 312: 1672-1676 [PMID: 16778060 DOI: 10.1126/science.1125703]
15 Jefford M, Schnurr M, Toy T, Masterman KA, Shin A, Beecroft T, Tai TY, Shortman K, Shackleton M, Davis ID, Parente P, Luft T, Chen W, Cebon J, Maraskovsky E. Functional comparison of DCs generated in vivo with Flt3 ligand or in vitro from blood monocytes: differential regulation of function by specific classes of physiologic stimuli. *Blood* 2003; 102: 1753-1763 [PMID: 12738673 DOI: 10.1182/blood-2002-12-3854]
16 李奇灵, 卜宁, 李亚玲, 于月成, 方静, 辛晓燕. 两种来源的树突状细胞体外培养及免疫学特征比较. 现代肿瘤医学 2006; 14: 787-789
17 何海新, 叶韵斌, 陈强, 张其忠. 脐血来源树突状细胞的培养与鉴定. 福建医药杂志 2005; 27: 112-115
18 王媛, 杨爱珍, 陈惠英, 乐美兆, 秦叔逵. 人外周血树突状细胞的体外诱导和鉴定. 临床肿瘤学杂志 2004; 9: 597-600
19 徐虹, 黄自明, 阮丽荣, 杜英, 张虹, 董子明. 人外周血及脐血树突状细胞的体外诱导及抗肿瘤作用比较. 郑州大学学报(医学版) 2006; 41: 26
20 薛洋, 师建国. 树突状细胞的提取与肿瘤免疫治疗之间的关系. 黑龙江医学 2012; 36: 23-26
21 Babatz J, Röllig C, Oelschlägel U, Zhao S, Ehninger G, Schmitz M, Bornhäuser M. Large-scale immunomagnetic selection of CD14+ monocytes to generate dendritic cells for cancer immunotherapy: a phase I study. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12: 515-523 [PMID: 14594508 DOI: 10.1089/152581603322448222]
22 Tuyaerts S, Aerts JL, Corthals J, Neyns B, Heirman C, Breckpot K, Thielemans K, Bonehill A. Current approaches in dendritic cell generation and future implications for cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 1513-1537 [PMID: 17503040 DOI: 10.1007/s00262-007-0334-z]
23 Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-

stimulating factor plus interleukin 4 and down-regulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; 179: 1109-1118 [PMID: 8145033 DOI: 10.1084/jem.179.4.1109]
24 耿一婷, 蒋敬庭, 吴昌平. 树突状细胞与胃癌免疫治疗的研究进展. 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 1136-1140
25 Romani N, Reider D, Heuer M, Ebner S, Kämpgen E, Eibl B, Niederwieser D, Schuler G. Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J Immunol Methods* 1996; 196: 137-151 [PMID: 8841452 DOI: 10.1016/0022-1759(96)00078-6]
26 Morse MA, Zhou LJ, Tedder TF, Lyerly HK, Smith C. Generation of dendritic cells in vitro from peripheral blood mononuclear cells with granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, interleukin-4, and tumor necrosis factor-alpha for use in cancer immunotherapy. *Ann Surg* 1997; 226: 6-16 [PMID: 9242332 DOI: 10.1097/00000658-199707000-00002]
27 Jonuleit H, Kühn U, Müller G, Steinbrink K, Paragnik L, Schmitt E, Knop J, Enk AH. Pro-inflammatory cytokines and prostaglandins induce maturation of potent immunostimulatory dendritic cells under fetal calf serum-free conditions. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3135-3142 [PMID: 9464798 DOI: 10.1002/eji.1830271209]
28 Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, Pedroza-Gonzalez A, Matsui T, Zurawski G, Oh S, Fay J, Pascual V, Banchereau J, Palucka K. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine. *Immunol Rev* 2010; 234: 199-212 [PMID: 20193020 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2009.00884.x]
29 代国知, 袁红霞, 陈虹亮. 基于树突状细胞的肿瘤免疫治疗研究进展. 现代肿瘤医学 2012; 20: 409-411
30 Ren WN, Chang CK, Fan HH, Guo F, Ren YN, Yang J, Guo J, Li X. A combination of exosomes carrying TSA derived from HLA-A2-positive human white buffy coat and polyI: C for use as a subcellular antitumor vaccination. *J Immunoassay Immunochem* 2011; 32: 207-218 [PMID: 21574092 DOI: 10.1080/15321819.2011.559295]
31 杜英. 脐血树突状细胞及BGC823衍生exosomes诱导抗肿瘤活性的研究. 郑州大学学报 2006; 34: 2-2
32 Ohno S, Takano F, Ohta Y, Kyo S, Myojo S, Dohi S, Sugiyama H, Ohta T, Inoue M. Frequency of myeloid dendritic cells can predict the efficacy of Wilms' tumor 1 peptide vaccination. *Anticancer Res* 2011; 31: 2447-2452 [PMID: 21873158]
33 林嘉盈, 李晓艳. Hep-2细胞总RNA转染树突状细胞诱发抗喉癌特异性免疫效应的研究. 现代肿瘤医学 2010; 18: 2308-2312
34 Study ID. National Center for research resources. *Clin Triat* 2002; 64: 30
35 汤美雯. 树突状细胞与肿瘤免疫治疗. 亚太传统医药 2012; 8: 211-212
36 彭丹, 王洪武. 树突状细胞疫苗在抗肿瘤免疫治疗中的研究进展. 临床肺科杂志 2012; 17: 2060-2062
37 Ojima T, Iwahashi M, Nakamura M, Matsuda K, Nakamori M, Ueda K, Naka T, Ishida K, Primus FJ, Yamaue H. Successful cancer vaccine therapy for carcinoembryonic antigen (CEA)-expressing colon cancer using genetically modified dendritic cells that express CEA and T helper-type 1 cytokines in CEA transgenic mice. *Int J Cancer* 2007; 120: 585-593 [PMID: 17096339]
38 Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Sakamori R, Ohkawa K, Kohga K, Uemura A, Hayashi N. Intrahepatic delivery of alpha-galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. *Hepatology* 2007; 45: 22-30 [PMID: 17187419 DOI: 10.1002/hep.21447]
39 Hiltbold EM, Vlad AM, Ciborowski P, Watkins SC, Finn OJ. The mechanism of unresponsiveness to circulating tumor antigen MUC1 is a block in intracellular sorting and processing by dendritic cells. *J Immunol* 2000; 165: 3730-3741 [PMID: 11034378]
40 Barahona-Garrido J, Yamamoto-Furusho JK. New treatment options in the management of IBD - focus on colony stimulating factors. *Biologics* 2008; 2: 501-504 [PMID: 19707380]
41 Diamond MS, Kinder M, Matsushita H, Mashayekhi M, Dunn GP, Archambault JM, Lee H, Arthur CD, White JM, Kalinke U, Murphy KM, Schreiber RD. Type I interferon is selectively required by dendritic cells for immune rejection of tumors. *J Exp Med* 2011; 208: 1989-2003 [PMID: 21930769 DOI: 10.1084/jem.20101158]
42 Fuertes MB, Kacha AK, Kline J, Woo SR, Kranz DM, Murphy KM, Gajewski TF. Host type I IFN signals are required for antitumor CD8+ T cell responses through CD8{alpha}+ dendritic cells. *J Exp Med* 2011; 208: 2005-2016 [PMID: 21930765 DOI: 10.1084/jem.20101159]
43 周永康, 张雪妍. 树突状细胞疫苗在胰腺癌免疫治疗中的应用研究. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1241-1242
44 A phase I/II study of a MUC1 peptide pulsed autologous dendritic cell vaccine as adjuvant therapy in patients with resected pancreatic and biliary tumors. *Cancer Ther* 2008; 6: 955-964 [PMID: 19129927]
45 Avigan D, Vasir B, Gong J, Borges V, Wu Z, Uhl L, Atkins M, Mier J, McDermott D, Smith T, Giallambardo N, Stone C, Schadt K, Dolgoff J, Tetreault JC, Villarroel M, Kufe D. Fusion cell vaccination of patients with metastatic breast and renal cancer induces immunological and clinical responses. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4699-4708 [PMID: 15269142 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0347]
46 Chang LL, Wang SW, Wu IC, Yu FJ, Su YC, Chen YP, Wu DC, Kuo CH, Hung CH. Impaired dendritic cell maturation and IL-10 production following H. pylori stimulation in gastric cancer patients. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 96: 211-220 [PMID: 22526791 DOI: 10.1007/s00253-012-4034-z]
47 Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta 1 in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011 58: 1834-1840 [PMID: 22086706 DOI: 10.5754/hge10320]
48 Kashimura S, Saze Z, Terashima M, Soeta N, Ohtani S, Osuka F, Kogure M, Gotoh M. CD83(+) dendritic cells and Foxp3(+) regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012; 15: 144-153 [PMID: 22083420 DOI: 10.1007/s10120-011-0090-9]
49 万美珍, 徐建忠, 史永娟, 陈玉芳, 汪美华, 潘耀东. 进展期胃癌组织中COX-2表达与树突状细胞浸润的相关性研究. 中华肿瘤防治杂志 2006; 13: 1005-1007
50 Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, André F, Tesniere A, Kroemer G. The anticancer immune response: indispensable for therapeutic success? *J Clin Invest* 2008; 118: 1991-2001 [PMID: 18523649 DOI: 10.1172/JCI35180]
51 Casati A, Zimmermann VS, Benigni F, Bertilaccio

■同行评价

本文内容较好. 主要讲述"树突细胞"与免疫治疗. 文章内容较新颖, 层次清晰, 文笔流畅, 容易阅读. 参考文献较新. 临床医生对这个领域的了解有一定的帮助.

MT, Bellone M, Mondino A. The immunogenicity of dendritic cell-based vaccines is not hampered by doxorubicin and melphalan administration. *J Immunol* 2005; 174: 3317-3325 [PMID: 15749863]

52 赵永亮, 余佩武, 蔡志民, 朱金明. p96多肽复合物树突状细胞疫苗诱导的体外抗胃癌实验研究. 中华普通外科杂志 2006; 21: 26-28

53 Cai YG, Fang DC, Chen L, Tang XD, Chen T, Yu ST, Luo YH, Xiong Z, Wang DX, Yang SM. Dendritic cells reconstituted with a human heparanase gene induce potent cytotoxic T-cell responses against gastric tumor cells in vitro. *Tumour Biol* 2007; 28: 238-246 [PMID: 17717429 DOI: 10.1159/000107584]

54 Ohshita A, Yamaguchi Y, Minami K, Okita R, Toge T. Generation of tumor-reactive effector lymphocytes using tumor RNA-introduced dendritic cells in gastric cancer patients. *Int J Oncol* 2006; 28: 1163-1171 [PMID: 16596232]

55 吕国强, 许炳华, 沈晓明, 李丽, 项方. 进展期胃癌术后树突状细胞疫苗同步化学治疗的免疫功能监测. 中华消化杂志 2009; 29: 825-828

56 张玲, 孙雷, 刘改丽. 树突状细胞联合化疗治疗晚期胃癌的临床观察. 青岛医药卫生 2012; 44: 137-141

57 陈环球, 文旭, 顾荣民, 李刚, 赖娅娜, 张磊, 央央, 时宏珍. 自体DC细胞疫苗对进展期胃癌术后同步化疗患者免疫功能的影响. 江苏医药 2011; 37: 668-670

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》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 2014年1月8日; 22(1): 53-58
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

胃癌遗传易感性基因的研究进展

于国伟, 梁 会

于国伟, 西北民族大学医学院 西部环境健康研究所 甘肃省兰州市 730030
梁会, 天津医科大学护理学院 天津市 300070
于国伟, 主要从事肿瘤病因学的研究.
作者贡献分布: 本论文资料查找由梁会完成; 写作由于国伟与梁会完成; 于国伟审校.
中央高校基本科研基金资助项目, No. 31920130037
通讯作者: 梁会, 300070, 天津市和平区气象台路22号, 天津医科大学护理学院. l_hui@163.com
收稿日期: 2013-06-10 修回日期: 2013-07-04
接受日期: 2013-12-01 在线出版日期: 2014-01-08

Gastric cancer susceptibility genes

Guo-Wei Yu, Hui Liang

Guo-Wei Yu, Medical College, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, Gansu Province, China
Hui Liang, Nursing College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Supported by: the Central University Basic Scientific Research Funds, No. 31920130037
Correspondence to: Hui Liang, Nursing College, Tianjin Medical University, 22 Qixiangtai Road, Heping District, Tianjin 300070, China. l_hui@163.com
Received: 2013-06-10 Revised: 2013-07-04
Accepted: 2013-12-01 Published online: 2014-01-08

Abstract
Genetic susceptibility results from genetic factors or some genetic defects, and endows the offspring with some physiological and metabolic features prone to certain diseases. At present, gastric cancer susceptibility genes have become a hot research topic in China, and the identification and characterization of gastric cancer susceptibility genes can help develop methods for exploring gastric cancer etiology and provide a scientific basis for the prevention and control of this malignancy. In this paper, we will review the current progress in research of gastric cancer susceptibility genes.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Gene; Genetic; Susceptibility

Yu GW, Liang H. Gastric cancer susceptibility genes. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 53-58 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/53.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.53

摘要
遗传易感性是指由于遗传因素的影响、或由于某种遗传缺陷、使其后代的生理代谢具有容易发生某些疾病的特性. 目前国内对胃癌遗传易感性基因的研究已成为热点, 其目的是为筛选胃癌病因、寻找基因治疗方法, 最终为预防和控制胃癌提供科学依据. 本文就目前胃癌遗传易感基因的研究进展进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 基因; 遗传; 易感性

核心提示: 胃癌的遗传易感基因在胃癌的发生、发展中起着非常重要的作用. 不同人群, 其地区不同, 民族不同, 遗传易感性会存在一定的差异. 因此, 该研究还需要进一步深入研究为寻找基因治疗方法, 最终为预防和控制胃癌提供科学依据.

于国伟, 梁会. 胃癌遗传易感性基因的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 53-58 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/53.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.53

0 引言
胃癌是我国常见的消化系肿瘤, 占恶性肿瘤死亡的第1位[1]. 目前已知胃癌的发生与胃部基础疾病(如胃炎、胃切除手术等)、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、生活习惯如高盐饮食和易感遗传因素等有关. 研究表明35%-60%的胃癌发生与*H. pylori*感染有关[2], 但*H. pylori*感染人群中只有部分人患胃癌, 遗传因素可能是胃癌发生的另一重要因素[1]. 胃癌的家庭聚集性现象以及在相同的暴露环境下只有少数人患病的事实表明, 个体对环境暴露因素的遗传易感性在胃癌发病过程中起着同样重要作用[3,4]. 同样近几年的流行病学研究结果发现, 同样生活在胃癌高发区的环境中, 也只有少数人

■背景资料
胃癌在我国发病率和死亡率均较高, 居消化系恶性肿瘤的首位. 其病因及发病机制尚不明确, 与很多因素有关, 遗传易感基因成为国内的研究热点, 解析胃癌的遗传机制, 才有可能真正实现个体化预防, 并有助于发展更有效的医疗方法以降低临床不良后果, 具有重大的临床意义.

■同行评议者
李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

■研发前沿
单核苷酸多态性与肿瘤易感性的关系是近年研究的热点. 今后的研究需要在有足够大样本的研究基础上, 检测出尽可能多的候选基因, 同时分析及其他环境因素与基因多态性的共同作用.

发病, 提示个体是否罹患胃癌在很大程度上还取决于个体的遗传易感性.

1 胃黏膜保护基因

对胃黏膜起保护作用的基因主要有黏液素基因(mucin gene). 目前发现的亚型有*MUC1*、*MUC2*、*MUC5AC*、*MUC6*和三叶肽(Trefoil peptide)家族基因. (1)MUC1是一个跨膜型的大分子量(2000 kDa)的糖蛋白, 与HCO_3^-共同构成"黏液-碳酸氢盐屏障", 实现对胃黏膜的保护作用. Xu等[5]采用序列特异性引物-聚合酶链反应(sequence specific primers PCR, PCR-SSPs)方法对辽宁地区人群MUC1568位点A/G多肽的分布特征进行了检测, 发现携带*MUC1* AA基因型个体胃癌的发病风险提高. 同时有研究报道[6]基因*MUC1*和*MUC5* AC中, 常见的遗传变异将有助于提高胃癌的风险; (2)三叶肽家族目前被归为三叶肽因子家族(trefoil factor family, TFF)肽, 主要由乳腺相关肽及TFF1(trefoil factor family1, TFF1)、解痉多肽(spasmolytic polypetide, SP)和肠三因子(intestinal trefoil factor, ITF)组成. 目前认为三叶肽可与黏液中的黏蛋白相互作用或交联形成黏液凝胶, 增强胃肠道黏膜的防御屏障能力, 诱导上皮细胞迁移, 对正常或癌前期病变起分化作用, 而对肿瘤细胞则促进其生长[7]. 在葡萄牙, 有研究表明*TFF2*基因多态性与胃癌无关[8].

2 免疫反应相关基因

与免疫反应相关的基因主要有白介素(interleukin, *IL*)基因、人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, *HLA*)基因和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, *TNF*)基因. (1)近年对白细胞介素的研究比较多, 如研究发现IL-1、IL-6、IL-8、IL-10的多个位点基因多态性可增加胃癌发生的危险性, IL-1是感染产生或起放大免疫反应的重要细胞因子, 并且是胃酸分泌强有力的抑制剂, 其基因位于染色体2q13上, 含有IL-1A、IL-1B和IL-1RN(编码IL-1受体拮抗剂). 采用病例对照研究方法发现, 目前尚未直接证据证明IL-1β和IL-1RN基因多态性与胃癌易感性有关, 但携带IL-1RN 2R等位基因可能提高胃癌患病风险[9]. IL-6主要由单核巨噬细胞、内皮细胞及淋巴样细胞产生, 是一种多效应细胞因子, 在胃癌的发生发展中发挥着重要作用. 赵勇等[10]采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)研究发现IL-6-174位点G/C基因型与甘肃武威地区人群的胃癌发病风险有相关性. 但有Meta分析表明IL-6-174 C/G和IL-6-572 C/G多态性与胃癌危险不相关[11]. 国外研究发现中国人携带IL-6-6331与胃癌的发生发展有关[12]. IL-10是抗炎细胞因子的一种, 在抑制炎症和预防肿瘤方面起着重要作用. Xue等[13,14]发现在亚洲人群中IL-10-592 AA和IL-10-819 TT基因型能减少胃癌的发生, 是一个保护性因素. 在河西地区*H. pylori*感染的患者中, IL-10-819 C等位基因和IL-10-592 C等位基因能增加胃癌的发病风险. 而且IL-10与*H. pylori*感染存在协同效应[15]; (2)肿瘤坏死因子是体内具有多种生物活性的细胞因子, 在机体的抗肿瘤免疫中发挥重要作用, 而TNF-α基因多态性可影响TNF的分泌. Hong等[16]采用TaqMan方法发现在中国人群中TNF-α-308 G>A多态性与进展期胃癌相关; (3)HLA抗原是黏附于特异T细胞受体的细胞表面蛋白, *HLA*基因有2类, HLA1(HLA-A)和HLA2(HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP). 陈威等[17]采用PCR-RFLP技术研究发现HLA-DPB1*0901、*1701等位基因的多态性与胃癌患病的高低有关, 但未发现其与*H. pylori*感染有关. 有研究采用Logistic回归分析发现*HLA-DQA1*基因与胃癌的易感性相关(OR = 1.87, 95%CI: 1.15-3.06, P = 0.012), 同时在*H. pylori*感染与环境中存在加乘交互作用[18]. 此外还发现有, *NOD1*基因rs2906766位点C>T的改变; 中国北方携带*GSTP1* Val等位基因; 在*H. pylori*感染阳性人群中, 携带PARP-1 762Ala/Ala基因型者患胃癌的风险均会增加.

3 代谢酶基因

影响胃癌遗传易感性的代谢酶基因主要有: 与Ⅰ相代谢有关的细胞色素P450(cytochromeP450, CYP450)酶系统能将进入机体的前致癌物经其催化转变成亲电子化合物攻击细胞内生物大分子, 最终形成DNA加成物, 启动致癌或致突变过程, 至今已经发现了7种*CYP*基因的遗传多态现象, 他们是*CYP1A1*、*CYP2A6*、*CYP2C9*、*CYP2C18*、*CYP2C19*、*CYP2D6*和*CYP2E1*, 而与胃癌遗传易感性有关的基因主要是*CYP1A1*、*CYP2E1*、*CYP2C19*基因[19]; 与Ⅱ相代谢酶有关的主要是谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferases, GSTs), 他可催化外来化合物的中间代谢产物与还原型谷胱甘肽结合, 而还原型谷胱甘肽的结合物常常是毒性

降低而且易于排出体外, 所以在保护细胞免受化学致癌物的攻击方面有重要作用, 主要有*GSTM1*、*GSTT1*基因等. (1)有研究采用PCR-RFLP技术检测发现在广西地区汉族、壮族人群单独*CYP1A1*基因MSP1多态性与胃癌易感性无明显相关性[20]. CYP2E1能增加胃癌发病的风险, *CYP1A2* CC或CT基因型能减少胃癌的发生[21]; (2)采用病例对照分子流行病学方法, 发现*GSTMI*基因缺失可能会增加胃癌发生的危险[22]. 但在南欧人群中, 却发现GST多态性与个体易感性不相关[23]. 除上述基因外, 近年来还发现一些基因在胃癌的发生发展中发挥着重要的作用. 如环氧化酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)、脂氧酶12(12-lipoxygenase, LOX12)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等基因的多态性可能与胃癌的发病有关.

4 DNA修复基因

DNA损伤修复对胃癌的发生具有重要意义. DNA修复酶在维持DNA的稳定性中发挥着重要作用, 如果他们能够正确地判断并修复受损伤的DNA, 机体就能正常代谢, 而若修复酶基因出现了异常, 修复功能就会受到影响, 对受损伤的DNA就不能修复或出现错误的修复, 导致蛋白表达错误, 进而导致肿瘤的发生. 对DNA损伤修复主要的基因有亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenete trahydrofolate reductase, MTHFR)、X射线交错互补修复基因(X-ray repair cross-complementing 1, XRCC1)和8-羟基鸟嘌呤糖苷酶1基因(human homolog of the 8-oxoguanine glycosylase 1, HOGG1)等. (1)MTHFR是调节叶酸和蛋氨酸代谢的限速酶, 其多态性会影响叶酸的代谢, 造成甲基不足, 从而促进胃癌的发生, 国外有研究采用Meta分析发现*MTHFR*基因C677T携带TT有易感性, 而A1298C携带CC基因无明显易感性[24]; (2)对XRCC1多态性与胃癌的研究还处于起步阶段, 各项研究还存在很大的分歧, 目前发现*XRCC1*基因存在3个多态性位点, 第6外显子上C26304 T(Arg194Trp), 第9外显子上G27466A(Arg280His)以及第10外显子上G28152 A(Arg399Gln), Liu等[25]通过Meta分析表明, *XRCC1* Arg399Gln的多态性对发展中胃癌不是危险因素. Pan等[26]采用病例-对照研究方法发现携带XRCC1 Arg194Trp对非贲门胃癌在西方的中国汉族人群是一个遗传易感因素; (3)Kim等[27]研究发现*HOGG1*基因的等位基因(Ser326, Cys326, Gln46)能有效地阻抑化学物质对DNA所致的氧化损伤突变, 从而减少癌症的发生. 但国外采用Meta分析研究却表明*HOGG1*基因多态性与胃癌易感性无关[28]. 张传臻等[29]用扩增阻滞突变系统-聚合酶链反应和PCR-RFLP发现人类着色性干皮病D(xeroderma pigmentosum complementary group D, XPD)也称核苷酸切除修复交叉互补基因(ERCC)codon312位点与胃癌易感显著相关. 王名法等[30]采用TaqMan-PCR方法发现着色性干皮病基因(xeroderma pigmentosum group F, XPF)基因RS744154多态性与广西胃腺癌的发病相关, 但与癌旁胃黏膜*H. pylori*感染无关.

5 肿瘤抑制基因

*p53*基因是一个重要的抑癌基因已经被证实, 张伟华等[31,32]在两次研究中对*p53*基因Arg/Arg均发现其与胃癌在西北地区的高发性, 尤其是弥漫型胃癌. 通过Meta分析表明[33], p53CD72可能与胃癌遗传易感性相关, 对亚洲人来说, 而且可能还是一个重要的生物标志物. 在甘肃地区发现p53CD72与*H. pylori*感染存在协同效应[34]. NM23是第一个被确认的抑制肿瘤转移基因, 编码蛋白为二磷酸核苷磷酸激酶家族成员, 其表达与肿瘤侵袭转移及不良预后密切相关[35]. 近年来发现*NM23*基因表达与胃癌进程的发展机制有关[36]. 郑雄伟等[37]采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法进行NM23-1465T>C和NM23-873C>T多态性检测研究发现, NM23-1465T＞C基因多态性与胃癌的不良预后密切相关.

6 其他胃癌易感基因

在最近几年还发现了一些新的基因与胃癌的遗传易感性相关, 如转化生长因子B(transforming growth factor B, TGFB)作为一种生长因子与多种肿瘤的发生、发展密切相关. 通过病例-对照研究发现TGFB, 其基因型TGFB1-509和TGFBR2-875多态性有助于减少胃癌的发病风险[38]. 有Meta分析进一步表明, TGFB1-509T是胃癌的一个易感因素[39]. 前列腺干细胞抗原基因(prostate stem cell antigen gene, PSCA)来源于前列腺, 在细胞信号传导, 细胞与细胞间黏附, 干细胞、祖细胞自我更新(抗凋亡) 或增殖等功能方面起重要作用. 有两篇[40,41]文献报道PSCA rs2294008 C>T会增加胃癌的遗传易感性. 沈国双等[42]研究发现*PSCA*基因rs2976392位点可能与青海地区藏族胃癌的易

■相关报道
刘爱民等的研究中分析了部分基因多态性的胃癌病例对照研究结果, 表明单核苷酸多态性是造成差异的遗传物质基础之一. 在胃癌的发生、发展过程中, 某些基因可能存在逆向或正向的作用, 并与幽门螺杆菌感染等环境因素之间存在交互作用.

■同行评价
本文分别从胃黏膜保护基因、免疫反应相关基因、代谢酶基因、DNA修复基因等方面对胃癌的遗传易感性进行综述, 对阐明胃癌的病因和发病机制有重要理论指导意义.

感性相关. *p73*基因位于1p36.33, 长约138 kb, 有研究显示p73 G4C14-to-A4T14基因多态性可能是胃癌的一个危险因素[43]. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth-factor, VEGF)是一种分子量为32-34 kDa的多功能糖分泌性蛋白, 基因定位于第6对染色体的长臂上(6p21.3), 有研究通过Meta发现VEGFA -634G/C有助于胃癌的发生, 而VEGFA+936C/T与胃癌不相关[44,45]. 脂联素(adiponectin)是一种具有调节能量平衡、增强胰岛素敏感性、抗炎、抗动脉粥样硬化等生物学作用的激素蛋白. 与正常人群相比, 胃癌患者具有较低的血清脂联素[46], 周燕[47]发现*ADIPOQ*基因rs2241766T>G位点多态性可能与中国西北人群胃癌发病相关. 邹伟文等[48]运用RT-PCR、ELISA和免疫组织化学发现了N-Myc下游受调节基因2(N-myc down stream regalated gene 2, *NDRG2*)在胃癌组织中低表达或不表达, 因此推断该基因很有可能是一种新的抑癌基因. 张伟华等[32,49]在最近几年发现了携带*p73*基因G4AGC/GC纯合子基因型可能会增加胃癌的危险性, 特别是弥漫性胃癌, 但对*p73*基因的功能还需进一步的研究. 孙静哲等[50]采用MassARRAY SNP分型技术检测在研究中首次发现表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, *EGFR*)基因第一内含子rs763317位点多态性与江西地区汉族人群胃癌的遗传易感性相关. 还有其他基因如*Klotho*基因、*Reg*基因蛋白(regenerating gene protein)等都与胃癌的遗传易感性有一定的相关性.

7 结论

胃癌的遗传易感基因在胃癌的发生、发展中起着非常重要的作用. 虽然目前某些基因其发病机制及遗传机制已经明确, 但很多基因经过Meta分析后, 仍需要进一步大样本研究, 而且不同人群, 其地区不同, 民族不同, 遗传易感性会存在一定的差异. 因此, 该研究还需要进一步深入研究为寻找基因治疗方法, 最终为预防和控制胃癌提供科学依据.

8 参考文献

1 Shanks AM, El-Omar EM. Helicobacter pylori infection, host genetics and gastric cancer. *J Dig Dis* 2009; 10: 157-164 [PMID: 19659782 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00380.x]

2 Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Kemona A, Czyzewska J. Helicobacter pylori infection and expressions of EGF, EGFR and c-erbB-2 proteins in gastric carcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2009; 47: 447-451 [PMID: 20164030 DOI: 10.2478/v10042-009-0102-3]

3 Milne AN, Carneiro F, O'Morain C, Offerhaus GJ. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer. *Hum Genet* 2009; 126: 615-628 [PMID: 19657673 DOI: 10.1007/s00439-009-0722-x]

4 Lee DH, Hahm KB. Inflammatory cytokine gene polymorphisms and gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1470-1472 [PMID: 19120846 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05563.x]

5 Xu Q, Yuan Y, Sun LP, Gong YH, Xu Y, Yu XW, Dong NN, Lin GD, Smith PN, Li RW. Risk of gastric cancer is associated with the MUC1 568 A/G polymorphism. *Int J Oncol* 2009; 35: 1313-1320 [PMID: 19885554]

6 Jia Y, Persson C, Hou L, Zheng Z, Yeager M, Lissowska J, Chanock SJ, Chow WH, Ye W. A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 313-321 [PMID: 19924550 DOI: 10.1007/s10552-009-9463-3]

7 徐林, 潘勤聪, 钱湘绮. 三叶肽与胃癌. 国际消化杂志 2006; 26: 203-206

8 dos Santos Silva E, Kayademir T, Regateiro F, Machado JC, Savas S, Dobosz T, Blin N, Gött P. Variable distribution of TFF2 (Spasmolysin) alleles in Europeans does not indicate predisposition to gastric cancer. *Hum Hered* 1999; 49: 45-47 [PMID: 9858857]

9 Li K, Yang J, Chen ZR. [Relationships among interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and susceptibility to gastric cancer]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2010; 41: 1039-1043 [PMID: 21265111]

10 赵勇, 肖滢, 高峰, 张鑫, 宋枫. 甘肃武威地区胃癌发病风险与IL-6基因多态性的相关性研究. 临床军医杂志 2010; 38: 25-27

11 Yin YW, Sun QQ, Hu AM, Wang Q, Liu HL, Hou ZZ, Zeng YH, Xu RJ, Shi LB, Ma JB. Associations between interleukin-6 gene -174C/G and -572C/G polymorphisms and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *J Surg Oncol* 2012; 106: 987-993 [PMID: 22711691 DOI: 10.1002/jso.23199]

12 Yu J, Jia Y, Cheung KF, Zeng Z, Tian L, Wang S, Hu P, Sung JJ. Polymorphisms in interleukin-6-6331 influences the susceptibility of a Chinese population to gastric cancer. *Cancer Invest* 2011; 29: 564-572 [PMID: 21843047 DOI: 10.3109/07357907.2011.605411]

13 Xue H, Wang YC, Lin B, An J, Chen L, Chen J, Fang JY. A meta-analysis of interleukin-10 -592 promoter polymorphism associated with gastric cancer risk. *PLoS One* 2012; 7: e39868 [PMID: 22859944 DOI: 10.1371/journal.pone.0039868]

14 Xue H, Lin B, An J, Zhu Y, Huang G. Interleukin-10-819 promoter polymorphism in association with gastric cancer risk. *BMC Cancer* 2012; 12: 102 [PMID: 22436502 DOI: 10.1186/1471-2407-12-102]

15 Zeng X, Li Y, Liu T, Zhang J. Diverse H. pylori strains, IL-10 promoter polymorphisms with high morbidity of gastric cancer in Hexi area of Gansu Province, China. *Mol Cell Biochem* 2012; 362: 241-248 [PMID: 22081333 DOI: 10.1007/s11010-011-1149-y]

16 Hong Y, Ge Z, Jing C, Shi J, Dong X, Zhou F, Wang M, Zhang Z, Gong W. Functional promoter -308G> A variant in tumor necrosis factor α gene is associated with risk and progression of gastric cancer in a Chinese population. *PLoS One* 2013;

8: e50856 [PMID: 23326309 DOI: 10.1371/journal.pone.0050856]
17 陈威, 孙丽萍, 张晔, 白雪蕾, 刘瑾, 袁媛. 胃癌高发与低发区人群HLA-DPB1等位基因多态性的研究. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 807-810
18 Huang LM, Cheng Y, Yu DK, Zhai K, Tan W, Lin DX. [Association between HLA-DQA1 gene copy number polymorphisms and susceptibility to gastric cancer]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2012; 34: 269-271 [PMID: 22781038 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2012.04.007]
19 Dong LM, Potter JD, White E, Ulrich CM, Cardon LR, Peters U. Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. *JAMA* 2008; 299: 2423-2436 [PMID: 18505952 DOI: 10.1001/jama]
20 黄雪, 唐国都, 姜海行,黄杰安, 谭至柔, 梁志海, 周洁, 陆云飞. 代谢酶基因CYP1A1与广西胃癌遗传易感性的关系. 国际消化病杂志 2010; 30: 304-306
21 Ghoshal U, Tripathi S, Kumar S, Mittal B, Chourasia D, Kumari N, Krishnani N, Ghoshal UC. Genetic polymorphism of cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, and CYP2E1 genes modulate susceptibility to gastric cancer in patients with Helicobacter pylori infection. *Gastric Cancer* 2013 May 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23686565]
22 李志婷, 徐力冬, 刘晓东.谷胱甘肽转硫酶M1基因多态性与胃癌遗传易感性的关系探讨. 中国误诊学杂志 2008; 8: 1312-1313
23 García-González MA, Quintero E, Bujanda L, Nicolás D, Benito R, Strunk M, Santolaria S, Sopeña F, Badía M, Hijona E, Pérez-Aísa MA, Méndez-Sánchez IM, Thomson C, Carrera P, Piazuelo E, Jiménez P, Espinel J, Campo R, Manzano M, Geijo F, Pellisé M, González-Huix F, Espinós J, Titó L, Zaballa M, Pazo R, Lanas A. Relevance of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms to gastric cancer susceptibility and phenotype. *Mutagenesis* 2012; 27: 771-777 [PMID: 22952149 DOI: 10.1093/mutage/ges049]
24 Dong X, Wu J, Liang P, Li J, Yuan L, Liu X. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. *Arch Med Res* 2010; 41: 125-133 [PMID: 20470942 DOI: 10.1016/j.arcmed.2010.01.001]
25 Liu BM, Liu TM, You BS, You HY, Yang J, Li L, He YC. Lack of an association between the XRCC1 Arg399Gln polymorphism and gastric cancer based on a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2012; 11: 3852-3860 [PMID: 23212324 DOI: 10.4238/2012.November.12.2]
26 Pan XF, Xie Y, Loh M, Yang SJ, Wen YY, Tian Z, Huang H, Lan H, Chen F, Soong R, Yang CX. Polymorphisms of XRCC1 and ADPRT genes and risk of noncardia gastric cancer in a Chinese population: a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5637-5642 [PMID: 23317230]
27 Kim SR, Matsui K, Yamada M, Kohno T, Kasai H, Yokota J, Nohmi T. Suppression of chemically induced and spontaneously occurring oxidative mutagenesis by three alleles of human OGG1 gene encoding 8-hydroxyguanine DNA glycosylase. *Mutat Res* 2004; 554: 365-374 [PMID: 15450432]
28 Ding R, Chen DJ, Lin SL. Lack of association between Human Oxoguanine Glycosylase 1 (hOGG1) S326C polymorphism and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *Neoplasma* 2012; 59: 289-296 [PMID: 22296498 DOI: 10.4149/neo_2012_037]
29 张传臻, 陈自平, 许昌倩, 宁涛, 李丹萍, 厚瑞萍. XPD基因与胃癌易感性的相关性. 癌症 2009; 28: 1163-1167
30 王名法, 王超, 马韵, 邓卓霖, 黄永秩, 王华, 梁秀就, 廖文莉, 龙喜带. 广西地区人群XPF基因RS744154多态性与胃腺癌发病风险及其临床病理特征的关系. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 1169-1176
31 张伟华, 刘玉华, 郭凤霞, 谢小冬. p53基因Arg72Pro单核苷酸多态性与西北人群胃癌风险相关性研究. 卫生职业教育 2010; 28: 100-101
32 张伟华, 郭凤霞, 刘玉琴, 谢小冬. p73及p53基因多态性与甘肃武威人群胃癌风险相关性研究. 中国肿瘤 2011; 20: 810-815
33 Zhang Q, Ma YY, Wang HJ, Shao CM, Zhang J, Ye ZY. Meta-analysis of the association between P53 codon 72 polymorphisms and gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 360-366 [PMID: 22886602 DOI: 10.1002/jso.23233]
34 Ke-Xiang Z, Yu-Min L, Xun L, Wen-Ce Z, Yong S, Tao L. Study on the association of p53 codon 72 polymorphisms with risk of gastric cancer in high incidence Hexi area of Gansu Province in China. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 723-728 [PMID: 21562767 DOI: 10.1007/s11033-011-0791-5]
35 Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904 [PMID: 16892035]
36 Kushlinskii NE, Delektorskaya VV, Mochal'nikova VV, Sini L, Yurchenko AA, Ryabov AB, Stilidi IS. Analysis of NM23 protein and components of plasminogen activation system in tumors of patients with stomach cancer with consideration for disease clinical picture and morphology. *Bull Exp Biol Med* 2008; 146: 786-790 [PMID: 19513384]
37 郑雄伟, 林贤东, 力超, 师怡, 陈刚, 陈德东. NM23基因多态性与胃癌遗传易感性关系的研究. 福建医科大学学报 2011; 45: 159-163
38 Xu L, Zeng Z, Chen B, Wu X, Yu J, Xue L, Tian L, Wang Y, Chen M, Sung JJ, Hu P. Association between the TGFB1 -509C/T and TGFBR2 -875A/G polymorphisms and gastric cancer: a case-control study. *Oncol Lett* 2011; 2: 371-377 [PMID: 22866090]
39 Li K, Xia F, Zhang K, Mo A, Liu L. Association of a tgf-b1-509c/t polymorphism with gastric cancer risk: a meta-analysis. *Ann Hum Genet* 2013; 77: 1-8 [PMID: 23088218 DOI: 10.1111/j.1469-1809.2012.00732.x]
40 Zhang QH, Yao YL, Gu T, Gu JH, Chen L, Liu Y. Association of the PSCA rs2294008 C& gt; T polymorphism with gastric cancer risk: evidence from a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2867-2871 [PMID: 22938475]
41 Li F, Zhong MZ, Li JH, Liu W, Li B. Case-control study of single nucleotide polymorphisms of PSCA and MUC1 genes with gastric cancer in a Chinese. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2593-2596 [PMID: 22938426]
42 沈国双, 张成武, 赵久达, 耿排力, 窦拉加, 张双元, 马德寿, 李国元. PSCA基因多态性与青海地区藏族胃癌遗传易感性的初步研究. 青海医学院学报 2011; 32: 169-171
43 De Feo E, Persiani R, La Greca A, Amore R, Arzani D, Rausei S, D'Ugo D, Magistrelli P, van Duijn CM, Ricciardi G, Boccia S. A case-control study on the effect of p53 and p73 gene polymorphisms on gastric cancer risk and progression. *Mutat Res* 2009; 675: 60-65 [PMID: 19386249 DOI: 10.1016/j.mrgentox.2009.02.009]

44 Zhou LP, Luan H, Dong XH, Jin GJ, Man DL, Shang H. Vascular endothelial growth factor +936C/T polymorphism and gastric cancer risk: A meta-analysis. *Exp Ther Med* 2011; 2: 931-936 [PMID: 22977600]
45 Liu H, Wang S, Huang C. VEGFA+936C/T and -634G/C polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1979-1983 [PMID: 22292637]
46 冯玉良, 戴一扬, 郑培奋, 陈新宁, 杨俊. 血清脂联素水平与胃癌转移的相关性研究. 实用医学杂志 2011; 27: 976-978
47 周燕. ADIPOQ基因遗传多态性和环境因素与中国西北人群易患风险相关性研究. 兰州大学, 2011
48 邹伟文, 张晓波, 刑继强, 姚海涛. 抑癌候选基因NDRG2在胃癌组织中的表达及其意义. 黑龙江医药科学 2011; 34: 47-48
49 张伟华, 刘玉华, 郭凤霞, 谢小冬, 杨荣, 王旭东. p73基因G4C14-to-A4T14多态性与中国西北人群胃癌高发风险的相关性. 兰州大学学报(医学版) 2009; 35: 39-42
50 孙静哲, 胡妮娅, 易金萍, 杨学习, 李欣, 李明. EGFR基因rs763317多态性与胃癌遗传易感性的相关性研究. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 724-727

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 2014年1月8日; 22(1): 59-66
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肝细胞性肝癌相关分子信号通路的研究进展

刘 强, 刘 静

刘强, 刘静, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)普外科 福建省漳州市 363000
刘强, 厦门大学医学院2011级硕士研究生, 主要从事肝胆外科的基础与临床研究.
作者贡献分布: 本文综述由刘强撰写完成; 刘静审校.
通讯作者: 刘静, 副教授, 副主任医师, 363000, 福建省漳州市漳华中路269号, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)普外科. liujdoctor@hotmail.com
电话: 0592-2975769
收稿日期: 2013-09-24 修回日期: 2013-10-29
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Signaling pathways in hepatocellular carcinoma

Qiang Liu, Jing Liu

Qiang Liu, Jing Liu, Department of General Surgery, the 175th Hospital PLA (Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University), Zhangzhou 363000, Fujian Province, China
Correspondence to: Jing Liu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the 175th Hospital PLA (Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University), 269 Zhanghua Middle Road, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China. liujdoctor@hotmail.com
Received: 2013-09-24 Revised: 2013-10-29
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract
Hepatocellular carcinoma is a complex multistep process involving progressive abnormalities of hepatocellular survival, proliferation, apoptosis and differentiation. Currently, accumulating evidence has demonstrated that the development of hepatocellular carcinoma is closely associated with dysregulation of several signaling pathways. Aberrant activation of these signaling cascades often leads to the over-expression of oncogenes and down-regulation of tumor suppressor genes, thus promoting cell cycle progression and apoptosis evasion. Here, we discuss some signaling pathways in hepatocellular carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Signaling pathways; Receptor; Kinase

Liu Q, Liu J. Signaling pathways in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 59-66 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/59.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.59

摘要
肝细胞性肝癌的发生是一个多阶段多因素的复杂过程, 涉及到肝细胞生存、增殖、凋亡和分化等方面的相关机制. 近来研究发现许多关键信号通路的异常活化与肝细胞性肝癌的关系密切, 导致癌基因过表达, 抑癌基因低表达, 细胞周期紊乱, 促进细胞凋亡. 因此, 本文就肝细胞性肝癌相关的重要信号转导通路作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞性肝癌; 分子信号通路; 受体; 激酶

核心内容: 肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma)发生是一个多途径的复杂病理发展过程, 近年来, 在肝癌中发现许多重要信号转导通路影响原癌基因过表达, 抑癌基因低表达, 细胞周期紊乱, 促进细胞凋亡. 希望通过对其综述, 寻找到新的多靶点、多激酶肝癌靶向治疗药物.

刘强, 刘静. 肝细胞性肝癌相关分子信号通路的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 59-66 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/59.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.59

■背景资料
肝细胞性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 近年来, 许多关键细胞信号通路的异常活化与肝细胞性肝癌的发生发展密切相关.

0 引言
肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是居全球第5位的常见肿瘤, 并且在肿瘤相关性死亡中排第3位, 尤其是在受肝炎病毒影响严重的亚洲和非洲地区[1]. HCC的治疗方法虽然有多种: 如手术治疗、经肝动脉化疗栓塞、局部消融和放疗等, 但总体疗效差[2]. 我国的HCC患者多数发生在肝硬化的基础上, 多数患者就诊时已为中晚期HCC, 能手术切除的不到20%, 适合局部消融患者有限[3]. 近年来, 随着分子生物学的深入研究和发展, 发现许多信号转导通路与HCC发生发展、增殖转移及预后密切相关. 目前基

■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
目前，临床上对肝细胞性肝癌治疗以手术为主，但近年来对肝细胞性肝癌信号通路中关键分子的靶向治疗成为研究热点.

于这些信号转导通路关键分子靶向治疗策略正在发展. 本文就肝细胞癌相关的信号转导通路研究进展作一综述.

1 肝细胞性肝癌血管生成相关的酪氨酸蛋白激酶信号转导通路

受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)通路是细胞信号转导中最重要的通路之一, 活化后可启动胞内一系列信号级联反应, 促发有丝分裂和细胞转化等过程. 许多与RTKs相关的生长因子都与HCC发生发展相关, 尤其是与HCC新生血管形成关系密切. 这为临床进行HCC分子靶向治疗提供了新的途径. RTKs相关的生长因子包括表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、纤维母细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)、肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, c-Met)、血小板衍生长因子受体(platelet growth factor receptor, PDGFR)、胰岛素样生长因子受体(insulin-like growth factor receptor, IGFR)、血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)等[4]. 这些因子影响酪氨酸蛋白激酶信号转导通路, 从而影响HCC增殖、转移与预后. 我们可以使用与这些因子相关的抗体或分子阻断剂, 阻断相关血管的RTKs信号转导通路, 有望控制HCC发展.

1.1 VEGF/VEGFR/FGFR/PDGFR信号通路 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板衍生长因子(platelet growth factor, PDGF)和纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)对HCC新生血管形成、肿瘤细胞侵袭和转移起着重要作用[5]. 文献报道, 这3种因子在HCC均呈高表达, 位于内皮细胞的VEGFR-1和VEGFR-2是另外两个因子的触发点, 能激活RTKs中其他相关因子, 而且VEGF含量与HCC术后复发和预后息息相关[6]. 内皮细胞源性的PDGF对HCC微血管形成起着重要作用, 他与PDGF受体结合, 使新生血管周皮细胞和平滑肌细胞聚集, 促进肿瘤微血管形成[7]. PDGF受体阻断剂能使周皮细胞从内皮细胞中分离, 提高VEGF阻断剂对血管内皮细胞的疗效[8]. FGF能刺激机体释放胶原酶、蛋白酶、整合素等, 这有利于HCC微血管初期形成, 而且FGF已被证明能与VEGF协同促进HCC血管的形成和肿瘤恶化. 有实验研究证明FGF阻断剂对VEGF受体调节因子有抑制作用[9], 同时, VEGF阻断剂和FGF阻断剂联合用药可以互相弥补各自单用时的耐药性, 所以, VEGF/FGFR/PDGFR信号通路阻断剂对HCC治疗具有广阔前景.

1.2 表皮生长因子受体通路 人类ErbB/HER受体家族成员包括EGFR(ErbB1/HER1)、ErbB2(HER2/neu)、ErbB3(HER3)和ErbB4(HER4), 由原癌基因*erbB1*编码的EGFR, 其EGFR配体家族成员有10种以上, 包括EGF、转化生长因子-α(transforming growth factor-α, TGF-α)、双调蛋白、β细胞素、肝素结合EGF和表皮调节素等[10]. EGFR活化后可激活细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular-signal regulated protein kinase, ERKs)-丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶(mitogen-activated protein kinase phosphatase, MAKP)和PI3K等下游信号转导通路, 参与调节细胞的分裂、分化和增殖, 促进组织损伤修复, 同时与肿瘤细胞周期进展、凋亡抑制、肿瘤血管生成和细胞运动、侵袭能力亦密切相关[11]. EGFR在受TGF-α或EGF刺激的HCC肝癌细胞中高表达, 体内外实验证明EGFR阻断剂可以通过EGFR通路抑制HCC增殖和转移[4], 并且联合其他增长因子信号通路对HCC治疗具有协同作用.

1.3 胰岛素样生长因子受体通路 IGFs系统由一组配体、受体和结合蛋白组成. 配体包括胰岛素、IGF-1/2; 其相应受体为胰岛素受体(IGF-1/2R); 结合蛋白共有6种, 即胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP1-6). 组织中的IGFBP通过阻止IGF-1与受体结合, 抑制IGF-1发挥生物学效应. IGFBPs翻译后修饰如蛋白裂解或磷酸化, 可能参与了IGF的释放. IGFBP3与IGF-1的亲和力最强, 决定其生物活性. 研究显示肥胖和糖尿病能明显增加肝癌患病的风险性, 这可能与包括IGF/IGFR在内的内分泌系统紊乱有关[12]. 另外, 12%-44%HCC患者中的IGF-1是异常增高的, 他会使IGFBP3水解分裂, 降低其含量, 异常激活IGFR信号通路[13]. 主要信号因子涉及IRS、Shc、PI3-K、PKB或Akt、MAPK以及Grb-2等. IGFR通路通过IRS-1介导PI3-K/Akt和MAPK途径, 促使IGF-1与IGF-1受体(IGF-1R)的胞外域结合, 引起跨膜IGF-1R发生自磷酸化和下游底物的磷酸化, 最终将MAPK和Akt磷酸化, 从而把信号传递到细胞核内, 启动基因表达, 发挥其促进细胞增殖和抗细胞凋亡的作用[14].

1.4 c-MET信号通路 c-Met是一种由*c-Met*原癌基因编码的蛋白产物, 并且作为为肝细胞生长

因子(hepatocyte growth factor, HGF)受体, 具有酪氨酸激酶活性, 与多种癌基因产物和调节蛋白相关, 参与细胞信息传导、细胞骨架重排的调控, 是细胞增殖、分化和运动的重要因素. 临床病理学研究证实, 20%-48% HCC患者的肝组织中可见*c-Met*基因的扩增和过度表达, 且肿瘤侵袭和临床预后常与MET高表达相关, 这可能由于内源性细胞因子HGF、EGF、IL-1和外源性乙型肝炎病毒诱导影响[15]. c-Met信号激活方式主要有两种: 一是通过经典的HGF-c-Met途径, 二是通过脱-γ-羧基凝血酶原(Des-γ-carboxy-prothrombin, DCP)-c-Met途径. 肝细胞生长因子(HGF)是由间质源性细胞如成纤维细胞、平滑肌细胞等产生的一种多肽生长因子, 具有强促分裂、组织成形、诱导上皮细胞迁移、侵袭以及诱导血管生成等作用. c-Met通过与其配体HGF结合, 可以激活血管内皮细胞, 引起血管内皮细胞的增殖和迁移, 参与肿瘤新生血管的生成; c-Met活化后可激活下游RAS-MAPK/ERK、PI3K-PKB/AKT等信号通路, 参与诱导多种上皮细胞有丝分裂、存活增加、运动能力增强、向胞外基质侵袭、腺管状形态发生等, 在胚胎发育、上皮生长、组织分化、损伤修复等过程中发挥重要的调控作用[16]. DCP是由肝癌细胞分泌并作为临床诊断肝癌的特异性肿瘤生物标志物, 他是缺乏凝血作用的异常凝血素, 由于其与HGF结构相似性, 当HGF缺乏时, DCP也可以触发c-Met信号转导通路. 研究证实HGF的拮抗剂NK4可以与c-Met结合, 竞争性地抑制HGF和c-Met的相互作用, 影响HGF/c-Met信号传导途径, 从而抑制HGF诱导的肿瘤细胞侵袭转移过程[17]. 所以, 抑制HGF及其受体的靶向分子表达及活性, 延缓肿瘤发展, 这将有可能是抗HCC治疗的新突破口.

2 PI3K/Akt 信号转导通路

PI3K/Akt信号转导通路是HCC发生发展中一条主要调节通路. PI3K通过两种方式激活, 一种是与具有磷酸化酪氨酸残基的生长因子受体或连接蛋白相互作用, 引起二聚体构象改变而被激活; 另一种是通过Ras和p110直接结合导致P13K的活化[18]. PI3K的激活促使质膜上产生第二信使PIP3, 导致Akt磷酸化, 活化的Akt通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白mTOR、Bad、Caspase9、NF-κB、GSK-3、FKHR等, 进而调节细胞的增殖、分化、凋亡. PI3K-Akt信号通路的活性被类脂磷酸酶PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10)和SHIP(SH2 inositol 5-phosphatase)负调节, 他们分别从PIP3的3和5, 去除磷酸而将其转变成Pl(4,5)P2和Pl(3,4)P2而降解[19]. 与人体其他组织相比, 肝脏具有高水平内生性PI3K活性, 几乎50%HCC患者有PTEN减少或缺失, 36%HCC患者PI3K突变成pik3ca(p110 catalytic subunit of PI3-K). 这些因素通过PI3K/Akt信号转导通路深深影响着HCC发生发展[20].

3 MAPK信号转导通路

Ras/Raf/MEK/MAPK是HCC发展中关键信号转导通路之一. 许多生长因子包括EGF、IGF、VEGF、PDGF、FGFs和HGF能激活Ras/Raf/MEK/MAPK中残余的酪氨酸, 使其自身磷酸化. MAPK信号转导是以三级激酶级联的方式进行的, 首先MAP-KKK受有丝分裂原刺激磷酸化而激活, 在此基础上MAPKKK转而磷酸化激活MAPKK, 最后由MAPKK磷酸化MAPK, 使其活化进而转入核内[21]. MAPK信号通路主要途径有Ras-Raf-ERK途径、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)途径、p38-MAPK途径.

3.1 Ras-Raf-ERK途径 致癌基因*Ras*突变激发Raf的活化, 活化的Raf再通过磷酸化促分裂原激活的蛋白激酶的激酶(mitogen activated kinase kinase, MEK)环上的丝氨酸残基而将其激活, MEK再将促分裂原激活的蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinas, ERK)激活, 当HCC患者Ras突变率较低时, 还可以通过降低双特异性磷酸酶(dual specificity phosphatase, DUSP)激活ERK[22]. 激活的ERK进而磷酸化许多与胞质和胞膜相连的底物, 同时还可被快速地转运入细胞核去磷酸化和激活ELK-1、AP-1、TCF等涉及增殖反应的转录分子, 可以调节ETS、c-Jun、c-Fos、c-Myc、cyclin D等蛋白在HCC中表达, 影响HCC预后[23]. 另外, 激活的ERK还可以通过核糖体S6蛋白激酶-2磷酸化调节组蛋白H3磷酸化、凋亡前体蛋白Bad、转录因子CREB. ERK连续激活使磷酸化ERK不断升高, 这是肝癌细胞增殖与入侵的基础.

3.2 JNK途径 JNK途径一方面主要是通过激活的JNK使激活的转录因子c-Jun协同ERK通路一起维持细胞周期连续性; 另一方面活化的JNK不但可以和转录因子ATF2及c-Jun的氨基末端区域结合, 使转录因子的活性区域发生磷酸化, 激活转

■**相关报道**
以肝细胞性肝癌发生发展中的某一信号通路进行详细的理论和实验研究报道.

■**创新盘点**
与肝细胞性肝癌发生发展的信号转导通路较多，但目前报道多以单一信号转导通路报道为主，本文综合报道了与肝细胞性肝癌发生发展的相关的多条信号转导通路的研究进展.

录因子AP-1，使凋亡前体因子CD95L和TNF-α表达上调；而且活化的JNK还能通过线粒体途径间接调节Bcl-2和Bcl-XL磷酸化，使其抗凋亡能力减弱[24]. 研究表示JNK通路能影响肝癌细胞系MHCC97H的侵袭和转移，JNK分子活性抑制剂D-JNK11能影响人肝癌细胞移植瘤和化学诱导鼠肝癌增长[25].

3.3 p38-MAPK途径 P38主要参与细胞炎症和增殖反应，主要有p38α、p38β、p38γ和p38δ 4种表型. p38α是p38-MAPK通路中最重要的因子，他能调节IL-1、IL-6、TNF-α等炎症因子的释放，同时还能增加Ros活性诱导肝细胞凋亡[26]. IL-1、IL-6增加和Ros的累积使p38α表达降低，有助于抑制HCC发生；同时p38α还可以竞争性拮抗JNK-c-Jun通路，抑制HCC增殖[27]. P38通路途径可下调细胞周期蛋白D1的表达，使细胞周期阻滞于G_1-S期和G_2-M期，同时还可以影响抑癌基因*p53*下游基因*Gadd45a*，调节早期HCC发展[28].

MAPK信号转导通路的突变深深影响着HCC发展，60%HCC和肝硬化患者中发现TGF-α、BTC、HB-EGF、IGF-II、AR的过表达，且3条信号通路间存在协同作用[29]. 因此，降低Ras/Raf/MEK/MAPK通路磷酸化水平有望对HCC治疗带来巨大福音.

4 Wnt/β-Catenin信号转导通路

Wnt/β-Catenin是HCC中常见且研究得较为透彻的Wnt经典信号通路[30]. Wnt/β-Catenin转导途径在肝癌细胞中是激活的，在正常细胞中却是无活性的. 当细胞分泌的Wnt蛋白同时与细胞跨膜受体Frz及辅助受体LRP5/6结合后，即触发细胞内的信号转导，活化细胞质内Dsh，Dsh的活化抑制了细胞质内β-catenin与Axin-APC-GSK-3β等形成降解复合物，导致β-catenin在细胞质内积累并转移至细胞核内，继而与转录因子TCF/LEF相结合，刺激Wnt信号靶基因*c-myc*、*cyclin D1*、*MMP-7*、*CD44*和*Claudin-1*等的转录，调控细胞生长[31]. 在没有Wnt信号刺激的情况下，β-Catenin与糖原合成激酶GSK3β、结直肠息肉腺瘤蛋白APC及轴蛋白Axin形成多聚蛋白酶复合体，酪蛋白激酶CKIα和糖原合成激酶GSK3β对丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化在泛素多聚蛋白酶复合体作用下，将β-Catenin降解[32].

30%HCC患者发生可能与β-Catenin磷酸化降解有关，如何预防β-Catenin因磷酸化而降解是HCC治疗关键. 在乙型肝炎病毒感染后的HCC患者中，HBx蛋白通过甲基化E-钙黏蛋白启动子减少E-钙黏蛋白的表达，β-Catenin从细胞膜向细胞质转移[33]. Suzuki等[34]研究发现β-Catenin在细胞质中蓄积可能是HCC发生的早期改变. 除此之外，Wnt/β-Catenin信号转导通路的许多上游调节基因在HCC中深深影响其发生发展. APC是从细胞核输出用于降解β-Catenin的抑癌蛋白，但67%HCC患者APC被破坏，还有Wnt/β-Catenin信号负向调节的Wnt拮抗剂sFRP1、Dvl拮抗剂HDPR1与Prickle-1在HCC患者中都是降低的，但是Wnt/β-Catenin信号正向调节的Wnt配体Fz-7、Dvl-1、Dvl-3和PIN1却是升高的. 这些因素都将使β-Catenin进一步在细胞核中聚集，调节Wnt/β-Catenin信号下游基因. 许多细胞增殖都是通过CDK4释放的P21WAF1/CIP1来实现，而β-Catenin能调节细胞周期蛋白D1，干扰CDK4/6向Rb磷酸化转化，使细胞周期停止在G_1、S期[35].

5 TGF-β信号转导通路

TGF-β对肝细胞生长及凋亡起着重要作用，他通过抑制肝细胞DNA合成和诱导凋亡，直接或间接损害肝细胞. 哺乳动物的TGF-β有3种亚型TGF-β1、TGF-β2和TGF-β3. 在胞内传递TGF-β超家族的信号由Smads家族负责. Smads从结构和功能上可分为3个亚类，即受体调节性Smad(R-Smad)，包括Smad1、2、3、5、8. 其中Smad2、3与TGF-βRⅠ相结合，共同介导的Smad(Co-Smad)是Smad4，抑制性Smad(I-Smad)，包括Smad6、7[36]. 激活的TGF-β细胞因子通过与Ⅰ型和Ⅱ型两种类型的 TGF-β跨膜丝氨酸/苏氨酸激酶受体结合，形成异源复合物. 异源复合物使丝氨酸残基R-Smads、Smad-2和Smad-3磷酸化，介导Co-Smads4增加和磷酸化并转入细胞核，上调整合素和*β-Catenin*等基因. 抑制性Smad6、7与受体调节性Smad2、3竞争TGF受体，影响Smad2、3磷酸化[37].

TGF-β信号转导通路影响HCC发生发展的不同阶段. 在早期HCC发生阶段，TGF-β与肝细胞损伤、细胞周期异常、肝细胞凋亡等息息相关. TGF-βⅡ在肝细胞中异常表达可诱导细胞异常凋亡和细胞周期紊乱[38]. 在HCC进展阶段，TGF-β信号通路能直接诱导一些关键的血管生成介质(VEGF，HIF-1)和金属蛋白酶EMT(MMP1，VIM)表达升高，同时利用TGF-β的免疫

抑制功能来逃避免疫系统监控. 在肿瘤原发灶中肿瘤中央的细胞呈现上皮表型, 而周围的细胞常分散呈现间质细胞表型, 具有较强的运动能力, 可浸润和转移, 即所谓的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT). 已有研究证实TGF-β是诱导发生EMT的关键因子, 他能和其他细胞因子共同协作诱导HCC的EMT发生[39].

6 Hedgehog(Hh)信号转导通路

Hh信号通路是一条调节胚胎形成和HCC发生的重要通路, 在肝损伤患者中的组织重建和祖细胞分化中起着重要调节作用[40]. *hedgehog*基因最早在果蝇中发现, 后发现在人类高等动物中也普遍存在, 其中研究较透彻的是sonic hedgehog(SHH). Hh信号通路成员包括hedgehog、PTCH、SMO、FU、SUFU和Gli等, 而这些组件的突变往往会导致Hh通路异常活化. 首先Hh信号分子作用于受体蛋白PTCH家族, *PTCH*为抑癌基因, 当不存在Hh蛋白时, PTCH受体家族(PTCH1和PTCH2)通过抑制7次跨膜蛋白Smo的活性, 从而阻断了信号传递[41]. 随着Hh分子的出现, 这种阻断被解除, 进而激活Smo蛋白, 引起一系列下游信号传递, 最终引起锌指样转录因子Gli活化[42].

最近研究发现Hh信号通路影响肝脏炎性细胞累积、肝纤维化、血管重构, 这与肝硬化和肝癌等肝脏相关疾病密切相关[43]. 肝星形细胞和肝上皮样血管内皮细胞损伤可以激活Hedgehog配体, 促发Hedgehog信号转导通路下游级联反应[44]. 将近60%HCC患者能持续激活Smo, 引起Gli活化, 随着Hedgehog信号转导通路激活, snail、cyclin D1、c-Myc表达相应增加, 导致上皮型E-钙黏蛋白、组织黏合蛋白(tissue adhesion protein, TAP-1)表达降低, 细胞周期紊乱, 影响HCC发展及转移[45].

7 Notch信号转导通路

完整的Notch信号通路由Notch受体、Notch配体、细胞内效应分子、DNA结合蛋白及Notch的调节分子等组成. Notch受体为单链跨膜蛋白, 目前哺乳动物中发现4种*Notch*基因, 包括*Notch1*、*Notch2*、*Notch3*、*Notch4*. Notch配体也为细胞表面表达的单链跨膜蛋白, 已发现人的Notch配体有Jagged1、Jagged2、Delta1、Delta3、Delta4. Notch信号通路在胚胎发育中对细胞分化起着重要决定作用. 特异性受体和配体结合后, 触发Notch信号通路下游级联反应, 使Notch受体从胞质区自由转移到胞核区, 通过释放转录共抑制因子或募集转录共激活因子来影响转录因子CSL活性, 进而调节下游靶基因[46].

研究证实Notch信号通路主要影响干细胞的自我更新和分化, 单纯Notch信号通路激活不足以导致癌症发生, 还需要影响其他致癌蛋白, 如Ras和Myc. 在许多上皮性肿瘤中, Notch相关转录因子与激活的ERK和PI3K信号通路相关, 他们不仅增加了Notch mRNA稳定性, 还参加了Notch靶基因的转录. Notch1过表达能下调Bcl-2、cyclins、CDK2、Rb的表达水平, 上调抑癌基因*p53*、*p21*的表达产物, 影响细胞周期和凋亡, 从而抑制肝癌细胞的生长[47]. Fan等[48]研究表明在HCC中Notch-1的表达明显上调. Herranz等[49]发现在晚期肝癌阶段, 与DNA复制、修复和细胞周期相关的基因表达上调, 而Notch信号通路在调节细胞周期进展中有重要作用.

8 IKK/NF-κB信号转导通路

慢性感染和炎症反应与肿瘤发生密切相关, HCC就是肝炎病毒不断诱导的慢性炎症反应结果. 在肝炎、肝纤维化、HCC中, IKK/NF-κB信号转导通路都起着重要作用. NF-κB是一类具有多向转录调节作用的核蛋白因子, NF-κB的内源性抑制因子主要是IκB抑制蛋白, 使NF-κB停留在胞质而抑制其核易位[50]. 在TNF-α、IL-6、病毒蛋白触发炎症反应下, NF-κB经IκB蛋白激酶复合体磷酸化, 进而被泛素化和降解. 释放的NF-κB从胞质转移到胞核, 然后在细胞凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)、Bcl-2家族、TNFR-associated factor(TRAF1, TRAF-2)、JNK、c-FLIP、IEX-1L等作用下发挥抗细胞凋亡作用[51].

肝细胞中NF-κB持续异常激活, 将导致胆汁淤积性肝炎和HCC发生. NF-κB抑制剂会影响肝细胞正常凋亡. 阻断IKK/NF-κB信号转导通路会降低肝脏从慢性炎症发展为HCC可能性. 我们通过阻止异常JNK通路激活和清除ROS产物等途径, 使肝脏中NF-κB维持在正常生理水平, 防止向HCC发展, 然而NF-κB常过度激活而使肝细胞易于向HCC转化[52]. 因此, 如何移除过度激活的NF-κB, 使其维持在正常生理水平是HCC防治的关键.

9 干细胞相关的信号转导通路

近些年来, 人们对肿瘤干细胞的研究不断取得

■应用要点

除索拉菲尼外, 肝癌治疗的多靶点、多激酶抑制药临床报道和应用较少, 本文综述的肝细胞性肝癌发生发展的相关的多条信号转导通路的关键分子有望单独或联合成为肝癌的靶向治疗药物.

■同行评价
本文对与肝细胞性肝癌相关的信号转导通路进行了重点客观的介绍. 本文逻辑性较强, 具有较强的可读性.

突破, 目前已知的肿瘤干细胞中相关的多种信号通路, 如Wnt/β-catenin、Hedgehog、Notch、Bmi-1和BMP等, 这些信号通路中某些分子表达异常或突变会促使通路异常激活. 对HCC患者来说, 肝脏干细胞严重影响着HCC发生、发展及耐药性. 位于门静脉区的胆小管和Hering管内的肝脏祖细胞分别在Notch信号和生长因子作用下分化为肝细胞和胆管上皮细胞. 同时, TGF-β/Smad信号参与了肝细胞和胆管上皮细胞形态分化的调节[53].

激活的Wnt/β-catenin能加速肝脏干细胞自我更新, 促使肝细胞向HCC发展, 而且HCC卵圆细胞在Wnt/β-catenin影响下扩大, 使HCC进一步恶化. 易于向肝癌细胞分化的肝细胞常见标志物有STAT3、NANOG和OCT4, 与正常肝细胞比, 其丢失了TβRII和ELF, 更可能发展为HCC. 研究发现正常肝脏干细胞向肝癌干细胞转化需要IL6/STAT3, Wnt和CDK4信号激活及TGF-β信号抑制. STAT3抑制剂NSC 74859降低STAT3活性可抑制HCC细胞的增殖[53], 这预示着STAT3将是HCC干细胞治疗的潜在靶标.

10 结论

HCC发生是一个多因素参与, 多途径形成的复杂病理发展过程. 过去几十年研究已发现许多信号通路参与了HCC形成. 正常情况下, 大部分信号通路都是正常控制着肝细胞的自我更新和生理预防肝组织急性损伤, 然而, 当异常持续激活这些信号通路, 正常肝细胞可能被转化发展为HCC细胞. 由于HCC细胞往往存在多基因缺陷和耐药性, 故仅仅抑制某一条信号通路或关键因子可能效果较差, 需要多因子和信号通路协同抑制处理. 所以, 对HCC相关信号通路的研究有助于发掘更多潜在的HCC靶向治疗途径.

11 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 Lin S, Hoffmann K, Schemmer P. Treatment of Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review. *Liver Cancer* 2012; 1: 144-158 [PMID: 24159579 DOI: 10.1159/000343828]

3 Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1312-1327 [PMID: 18821591 DOI: 10.1002/hep.22506]

4 Höpfner M, Schuppan D, Scherübl H. Growth factor receptors and related signalling pathways as targets for novel treatment strategies of hepatocellular cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1-14 [PMID: 18176955 DOI: 10.3748/wjg.14.1]

5 Imura S, Miyake H, Izumi K, Tashiro S, Uehara H. Correlation of vascular endothelial cell proliferation with microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in hepatocellular carcinoma. *J Med Invest* 2004; 51: 202-209 [PMID: 15460907 DOI: 10.2152/jmi.51.202]

6 Sia D, Alsinet C, Newell P, Villanueva A. VEGF Signaling in Cancer Treatment. *Curr Pharm Des* 2013 Aug 12. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23944367]

7 Kim S, Kang H. miR-15b induced by platelet-derived growth factor signaling is required for vascular smooth muscle cell proliferation. *BMB Rep* 2013; 46: 550-554 [PMID: 24152911]

8 Zhang T, Sun HC, Xu Y, Zhang KZ, Wang L, Qin LX, Wu WZ, Liu YK, Ye SL, Tang ZY. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in endothelial cells of hepatocellular carcinoma associated with high metastatic potential. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8557-8563 [PMID: 16361537 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0944]

9 Finn RS. Development of molecularly targeted therapies in hepatocellular carcinoma: where do we go now? *Clin Cancer Res* 2010; 16: 390-397 [PMID: 20068087 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2084]

10 Wu J, Zhang W, Xu A, Zhang L, Yan T, Li Z, Wu X, Zhu X, Ma J, Li K, Li H, Liu Y. Association of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor polymorphisms with the risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in the population of North China. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013; 17: 595-600 [PMID: 23790025 DOI: 10.1089/gtmb.2013.0031]

11 Seshacharyulu P, Ponnusamy MP, Haridas D, Jain M, Ganti AK, Batra SK. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 15-31 [PMID: 22239438 DOI: 10.1517/14728222.2011.648617]

12 Shimizu M, Tanaka T, Moriwaki H. Obesity and hepatocellular carcinoma: targeting obesity-related inflammation for chemoprevention of liver carcinogenesis. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 191-202 [PMID: 22945457 DOI: 10.1007/s00281-012-0336-6]

13 Aishima S, Basaki Y, Oda Y, Kuroda Y, Nishihara Y, Taguchi K, Taketomi A, Maehara Y, Hosoi F, Maruyama Y, Fotovati A, Oie S, Ono M, Ueno T, Sata M, Yano H, Kojiro M, Kuwano M, Tsuneyoshi M. High expression of insulin-like growth factor binding protein-3 is correlated with lower portal invasion and better prognosis in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2006; 97: 1182-1190 [PMID: 16965600 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00322.x]

14 Breuhahn K, Schirmacher P. Reactivation of the insulin-like growth factor-II signaling pathway in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1690-1698 [PMID: 18350600 DOI: 10.3748/wjg.14.1690]

15 Gao J, Inagaki Y, Song P, Qu X, Kokudo N, Tang W. Targeting c-Met as a promising strategy for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Res* 2012; 65: 23-30 [PMID: 22138044 DOI: 10.1016/j.phrs.2011.11.011]

16 Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET pathway in hepatocellular carcinoma.

Clin Cancer Res 2013; 19: 2310-2318 [PMID: 23388504 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2791]
17 Heideman DA, Overmeer RM, van Beusechem VW, Lamers WH, Hakvoort TB, Snijders PJ, Craanen ME, Offerhaus GJ, Meijer CJ, Gerritsen WR. Inhibition of angiogenesis and HGF-cMET-elicited malignant processes in human hepatocellular carcinoma cells using adenoviral vector-mediated NK4 gene therapy. *Cancer Gene Ther* 2005; 12: 954-962 [PMID: 15905856 DOI: 10.1038/sj.cgt.7700856]
18 Zhou Q, Lui VW, Yeo W. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2011; 7: 1149-1167 [PMID: 21992728 DOI: 10.2217/fon.11.95]
19 Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, Link W, Leal JF. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 187-198 [PMID: 18473732 DOI: 10.2174/156800908784293659]
20 He X, Zhu Z, Johnson C, Stoops J, Eaker AE, Bowen W, DeFrances MC. PIK3IP1, a negative regulator of PI3K, suppresses the development of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 5591-5598 [PMID: 18632611 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0025]
21 Min L, He B, Hui L. Mitogen-activated protein kinases in hepatocellular carcinoma development. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 10-20 [PMID: 20969960 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.10.011]
22 Calvisi DF, Pinna F, Meloni F, Ladu S, Pellegrino R, Sini M, Daino L, Simile MM, De Miglio MR, Virdis P, Frau M, Tomasi ML, Seddaiu MA, Muroni MR, Feo F, Pascale RM. Dual-specificity phosphatase 1 ubiquitination in extracellular signal-regulated kinase-mediated control of growth in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 4192-4200 [PMID: 18519678 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6157]
23 Vantaggiato C, Formentini I, Bondanza A, Bonini C, Naldini L, Brambilla R. ERK1 and ERK2 mitogen-activated protein kinases affect Ras-dependent cell signaling differentially. *J Biol* 2006; 5: 14 [PMID: 16805921 DOI: 10.1186/jbiol38]
24 Seki E, Brenner DA, Karin M. A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches. *Gastroenterology* 2012; 143: 307-320 [PMID: 22705006 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.004]
25 Liu S, Yu M, He Y, Xiao L, Wang F, Song C, Sun S, Ling C, Xu Z. Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway. *Hepatology* 2008; 47: 1964-1973 [PMID: 18506888 DOI: 10.1002/hep.22240]
26 Cuenda A, Rousseau S. p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1358-1375 [PMID: 17481747]
27 Hui L, Bakiri L, Mairhorfer A, Schweifer N, Haslinger C, Kenner L, Komnenovic V, Scheuch H, Beug H, Wagner EF. p38alpha suppresses normal and cancer cell proliferation by antagonizing the JNK-c-Jun pathway. *Nat Genet* 2007; 39: 741-749 [PMID: 17468757 DOI: 10.1038/ng2033]
28 Kondo M, Yanase S, Ishii T, Hartman PS, Matsumoto K, Ishii N. The p38 signal transduction pathway participates in the oxidative stress-mediated translocation of DAF-16 to Caenorhabditis elegans nuclei. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 642-647 [PMID: 15888317 DOI: 10.1016/j.mad.2004.11.012]
29 Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 537-549 [PMID: 19629069 DOI: 10.1038/nrc2694]
30 Takigawa Y, Brown AM. Wnt signaling in liver cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 1013-1024 [PMID: 18991612 DOI: 10.2174/138945008786786127]
31 Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 2006; 119: 395-402 [PMID: 16443747 DOI: 10.1242/jcs.02826]
32 Fogarty MP, Kessler JD, Wechsler-Reya RJ. Morphing into cancer: the role of developmental signaling pathways in brain tumor formation. *J Neurobiol* 2005; 64: 458-475 [PMID: 16041741 DOI: 10.1002/neu.20166]
33 Giles RH, van Es JH, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1653: 1-24 [PMID: 12781368]
34 Suzuki T, Yano H, Nakashima Y, Nakashima O, Kojiro M. Beta-catenin expression in hepatocellular carcinoma: a possible participation of beta-catenin in the dedifferentiation process. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 994-1000 [PMID: 12167121 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2002.02774.x]
35 Shachaf CM, Kopelman AM, Arvanitis C, Karlsson A, Beer S, Mandl S, Bachmann MH, Borowsky AD, Ruebner B, Cardiff RD, Yang Q, Bishop JM, Contag CH, Felsher DW. MYC inactivation uncovers pluripotent differentiation and tumour dormancy in hepatocellular cancer. *Nature* 2004; 431: 1112-1117 [PMID: 15475948 DOI: 10.1038/nature03043]
36 Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. The TGF-β signaling pathway as a pharmacological target in a hepatocellular carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4148-4154 [PMID: 22630081 DOI: 10.2174/138161212802430431]
37 李凡妮, 郭青龙. TGF-β信号通路在肿瘤侵袭转移中的作用. 现代生物医学进展 2011; 11: 4194-4197
38 Baek HJ, Lim SC, Kitisin K, Jogunoori W, Tang Y, Marshall MB, Mishra B, Kim TH, Cho KH, Kim SS, Mishra L. Hepatocellular cancer arises from loss of transforming growth factor beta signaling adaptor protein embryonic liver fodrin through abnormal angiogenesis. *Hepatology* 2008; 48: 1128-1137 [PMID: 18704924 DOI: 10.1002/hep.22460]
39 Derynck R, Akhurst RJ. Differentiation plasticity regulated by TGF-beta family proteins in development and disease. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 1000-1004 [PMID: 17762890 DOI: 10.1038/ncb434]
40 Cheng WT, Xu K, Tian DY, Zhang ZG, Liu LJ, Chen Y. Role of Hedgehog signaling pathway in proliferation and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 829-836 [PMID: 19212688]
41 Katoh Y, Katoh M. Hedgehog target genes: mechanisms of carcinogenesis induced by aberrant hedgehog signaling activation. *Curr Mol Med* 2009; 9: 873-886 [PMID: 19860666 DOI: 10.2174/156652409789105570]
42 Kim HY, Cho HK, Hong SP, Cheong J. Hepatitis B virus X protein stimulates the Hedgehog-Gli activation through protein stabilization and nuclear localization of Gli1 in liver cancer cells. *Cancer Lett* 2011; 309: 176-184 [PMID: 21726936 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.05.033]
43 Pereira Tde A, Witek RP, Syn WK, Choi SS, Bradrick S, Karaca GF, Agboola KM, Jung Y, Omenetti A, Moylan CA, Yang L, Fernandez-Zapico ME, Jhaveri

R, Shah VH, Pereira FE, Diehl AM. Viral factors induce Hedgehog pathway activation in humans with viral hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Lab Invest* 2010; 90: 1690-1703 [PMID: 20697376 DOI: 10.1038/labinvest.2010.147]

44 Che L, Yuan YH, Jia J, Ren J. Activation of sonic hedgehog signaling pathway is an independent potential prognosis predictor in human hepatocellular carcinoma patients. *Chin J Cancer Res* 2012; 24: 323-331 [PMID: 23359030 DOI: 10.1007/s11670-012-0271-z]

45 李晓伟, 刘炳亚. Hedgehog信号通路在肿瘤中作用的研究进展. 生命科学 2009; 21: 116-121

46 刘兆国, 朱智杰, 周梁, 田超, 王爱云, 陈文星, 郑仕中, 陆茵. Notch信号通路与肿瘤研究. 中国药理学通报 2012; 28: 1045-1048

47 Gao J, Dong Y, Zhang B, Xiong Y, Xu W, Cheng Y, Dai M, Yu Z, Xu H, Zheng G. Notch1 activation contributes to tumor cell growth and proliferation in human hepatocellular carcinoma HepG2 and SMMC7721 cells. *Int J Oncol* 2012; 41: 1773-1781 [PMID: 22922832 DOI: 10.3892/ijo.2012.1606]

48 Fan RH, Li J, Wu N, Chen PS. Late SV40 factor: a key mediator of Notch signaling in human hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3420-3430 [PMID: 21876634 DOI: 10.3748/wjg.v17.i29.3420]

49 Herranz H, Milán M. Signalling molecules, growth regulators and cell cycle control in Drosophila. *Cell Cycle* 2008; 7: 3335-3337 [PMID: 18948741 DOI: 10.4161/cc.7.21.6996]

50 Malek S, Huang DB, Huxford T, Ghosh S, Ghosh G. X-ray crystal structure of an IkappaBbeta x NF-kappaB p65 homodimer complex. *J Biol Chem* 2003; 278: 23094-23100 [PMID: 12686541 DOI: 10.1074/jbc.M301022200]

51 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 DOI: 10.1126/science.1140485]

52 Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597 [PMID: 17661407 DOI: 10.1002/hep.21802]

53 Mishra L, Banker T, Murray J, Byers S, Thenappan A, He AR, Shetty K, Johnson L, Reddy EP. Liver stem cells and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 318-329 [PMID: 19111019 DOI: 10.1002/hep.22704]

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 2014年1月8日; 22(1): 67-73
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

特异性核基质结合区结合蛋白1在消化系肿瘤中的研究进展

毕洪钟, 王 伟, 胡敏敏, 琚 坚

毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 琚坚, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科 云南省昆明市 650101
毕洪钟, 在读硕士, 主要从事消化内科的相关研究.
作者贡献分布: 本文文献资料由王伟与胡敏敏收集; 综述由毕洪钟完成; 琚坚负责审校.
通讯作者: 琚坚, 教授, 主任医师, 650101, 云南省昆明市西山区麻园1号, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科.
jujianyn@163.com
电话: 0871-65351281
收稿日期: 2013-10-19 修回日期: 2013-11-01
接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2014-01-08

Role of special AT rich sequence binding protein 1 in digestive system neoplasms

Hong-Zhong Bi, Wei Wang, Min-Min Hu, Jian Ju

Hong-Zhong Bi, Wei Wang , Min-Min Hu, Jian Ju, VIP Department, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China
Correspondence to: Jian Ju, Professor, Chief Physician, VIP Department, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 1 Mayuan Road, Xishan District, Kunming 650101, Yunnan Province, China. jujianyn@163.com
Received: 2013-10-19 Revised: 2013-11-01
Accepted: 2013-11-11 Published online: 2014-01-08

Abstract
Special AT rich sequence binding protein 1 (SATB1) is a unique global regulatory factor. Epigenetic modifications and dynamic changes in chromatin organization mediated by SATB1 have recently been shown to play an important role in regulating cancer-promoting genes. The role of SATB1 in promoting metastasis was discovered in breast carcinoma cells in 2008. In recent years, high expression of SATB1 has been found in digestive system neoplasms including oral cancer, stomach cancer, liver cancer, gallbladder cancer and colorectal cancer. SATB1 is related closely to proliferation, invasion and metastasis of tumor cells. Digestive system neoplasms are the most common malignant tumor in China, and control of cancer metastasis has been the research focus. A better understanding of the role of SATB1 will contribute to the diagnosis, treatment and prognosis evaluation in malignant tumors. In this review, we will summarize recent progress in understanding the role of SATB1 in digestive system neoplasms.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Special AT rich sequence binding protein 1; Digestive system neoplasms; Metastasis; Mechanism

Bi HZ, Wang W, Hu MM, Ju J. Role of special AT rich sequence binding protein 1 in digestive system neoplasms. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 67-73 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/67.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.67

摘要
特异性核基质结合区结合蛋白1(special AT rich sequence binding protein 1, SATB1)又称AT富集序列特异性结合蛋白1, 是一种独特的全局调节因子, 通过基因表达调控结合染色质高级结构, 对染色质进行表观遗传修饰和动态改变, 直接调节促癌基因的表达. 自2008年在乳腺癌细胞中发现他对肿瘤细胞的发生和转移有促进作用后, 近年来又发现其高表达对消化系肿瘤(包括口腔癌、胃癌、肝癌、胆囊癌、结直肠癌)的肿瘤细胞增殖、侵袭、转移关系密切. 我国以消化系肿瘤多见, 如何控制恶性肿瘤的转移, 一直是国内外研究的重点. 随着对SATB1作用机制的深入研究必将为恶性肿瘤的诊断、治疗以及预后评估提供新的思路和方法. 本文就近年来SATB1在消化系肿瘤中的相关研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 特异性核基质结合区结合蛋白质1; 消化系肿瘤; 转移; 机制

核心提示: 特异性核基质结合区结合蛋白1是一种独特的全局调节因子, 可直接调节促癌基因的表达, 其在肿瘤中作用机制是目前研究的热点. 这种 "超级基因" 有望在未来肿瘤的诊断、治疗以及预后评估上开辟新的道路.

■背景资料
特异性核基质结合区结合蛋白1是一种独特的全局调节因子, 通过基因表达调控结合染色质高级结构, 对染色质进行表观遗传修饰和动态改变, 直接调节促癌基因的表达.

■同行评议者
代智, 副研究员, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所

■研发前沿
此篇文章主要综述了SATB1自2008年发现其在乳腺癌中的重要作用以来的致病机制，以及在消化系肿瘤中的研究进展.

毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 琚坚. 特异性核基质结合区结合蛋白1在消化系肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 67-73 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/67.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.67

0 引言

近年来, 我国恶性肿瘤死亡率逐年上升, 其死亡率位于世界较高水平, 已经成为我国居民首要死因之一. 在我国死亡率前5位的恶性肿瘤分别为肺癌、肝癌、胃癌、食管癌、结直肠癌, 消化系肿瘤占了4种[1]. 恶性肿瘤发生、发展、转移过程是多步骤、不连续的可称之为浸润-转移级联反应, 其中涉及很多基因学方面的改变[2]. 肿瘤发生转移是导致恶性肿瘤患者死亡的直接原因. 特异性核基质结合区结合蛋白1(special AT rich sequence binding protein 1, SATB1)自2008年发现其对乳腺癌细胞的转移有重要促进作用后[3], 近五年研究显示在包括消化系肿瘤等多种恶性肿瘤转移过程中SATB1都呈现出高表达. SATB1促进肿瘤增殖和转移具体途径尚不明确, 因此, 对STAB1进一步深入研究将对恶心肿瘤诊断、治疗以及预后具有重大意义. 本文将对SATB1在消化系肿瘤中的相关研究进展作一综述.

1 SATB1的概述

SATB1位于3号染色体3p23区, 全长763个氨基酸, 包含有两个CUT基序[4], 核心启动子可能存在于其5c上游序列的-760至-9 bp区域中[4]. 在其N-末端PSD95/Dlg-A/ZO-1[5]形成类似盘状同源区域(discoid homologous region)的二聚体又称PDZ(PSD95/DLG/ZO1)样结构域, 以非常高的亲和力与核基质结合区(matrix attachmentregions, MARs)相结合, 介导了一些染色质蛋白的相互作用. MARs是一段富含AT的序列位于转录活跃的DNA环状结构域的边界, 其功能将染色质分割成多个染色质环, 使每个转录单元保持相对的独立性[6], 是具有高度碱基配对(base unpairing regions, BURs)倾向的区域[7]. SATB1与MARs特异性结合, 改变染色体环(loop)-微带-染色单体折叠模式, 促进染色质重塑, 在基因组水平调节多个基因群的转录活性[8]. 聚类分析显示SATB1的PDZ样结构域的过度表达时600至19000个基因表达明显上调. SATB1在全局基因调节中可能通过PDZ结构域和其他细胞蛋白相互作用[5]. Wang等[9]的研究显示SATB1的N-末端结构域也有类似于泛素结构域, SATB1可以通过N-末端结构域寡聚化形成的四聚体绑定到高度专业化的DNA序列上, 从而发挥重要作用.

2 SATB1在肿瘤发生发展中的作用

2008年Han等[3]研究人员在*Nature*杂志上首次揭示了SATB1与肿瘤侵袭转移的关系, SATB1在乳腺癌进展过程中调控超过1000个基因的表达, 是乳腺癌细胞获得和维持侵袭转移能力所必需的因子. 近几年的研究显示SATB1调节肿瘤细胞的机制主要集中在调节细胞周期、细胞凋亡、Wnt/β-Catenin的信号转导途径以及参与上皮细胞-间充质转化等.

2.1 SATB1调节细胞周期和细胞凋亡 细胞周期调节异常和细胞异常增殖是肿瘤细胞的主要特征. Agrelo等[10]的研究发现小鼠胚胎成纤维细胞中SATB1诱导了细胞周期阻滞和衰老与p16蛋白水平升高密切相关, 删除*p16*基因克服了SATB1诱导衰老. 进一步研究证实p16和视网膜母细胞瘤相关基因(*RB/E2F*)通路对于SATB1诱导细胞周期阻滞非常重要, *p16*基因突变与SATB1的致癌活性有关. Tu等[11]发现SATB1上调CDK4和下调P16, 促进细胞周期进程和细胞增殖, 抑制FADD-Caspase8-Caspase3的死亡受体介导的细胞凋亡途径防止细胞凋亡. 蒋金[12]用SATB1-shRNA转染A549细胞48 h后可促进了A549细胞凋亡, 通过研究他们发现其中机制可能是*SATB1*和*Bcl2*(B-cell lymphoma/leukemia-2)基因的核基质附着区(matrix attachment region, MAR)、主要断裂点区(major breakpoint region, MBR)或 SB1、SB2序列(25 bp)特异性结合拮抗MAR、MBR或/和SB1、SB2序列对*Bcl2*基因的负转录调控功能, 下调*Bcl2*基因的表达, 上调BAX及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(*Caspase3*)基因表达有关. Gong等[13]在Jurkat细胞中研究发现 SATB1可通过与Bcl2转录起始部位的SB1、SB2序列(25 bp)结合拮抗SB1、SB2序列对Bcl2的负转录调控功能, 使*Bcl2*基因的表达上调, 抑制Jurkat细胞凋亡. 通过Caspase6抑制剂抑制SATB1的裂解, 可以抑制SATB1介导的染色质环的解体, 并提高Bcl2 mRNA表达水平. Chu等[14]也得出了SATB1表达和细胞凋亡及Bcl2表达和细胞凋亡之间呈负相关的结论. Han等[15]在膀胱癌的研究中发现SATB1上调Caspase3抑制肿瘤细胞凋亡. 涂炜等[16]发现HBV编码的蛋白质HBx激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)及p38 MAPK(mitogen-activated protein kinases)信

号通路诱导SATB1的表达, 并通过SATB1抑制Fas相关死亡结构域蛋白(Fas-associated protein with death domain, FADD)的表达及Caspase8和Caspase3的活化, 进而诱导癌细胞的失巢凋亡抵抗. Kuo等[17]也证实*SATB1*基因调控HBX表达, 通过上调SATB1表达, HBX可以阻止癌细胞凋亡. 凋亡抑制基因*p63*绑定在最接近SATB1的调节区, 敲除p63转录因子导致了SATB1在表皮中的表达显著下降, 说明了SATB1的过表达可通过抑制了细胞凋亡[18]. 此外SATB1基因在Sezary细胞内是不表达的, 把载有SATB1的逆转录病毒感染Hut78细胞(一种Sezary细胞)可以诱导细胞凋亡, 表明Sezary细胞内*SATB1*基因的不表达可能在细胞凋亡中起着重要的作用[19].

2.2 SATB1参与Wnt/β-Catenin的信号转导途径 Wnt/β-Catenin的信号转导途径在肿瘤的增殖和转移过程中发挥重要作用. Notani等[20]学者发现SATB1是Wnt/β-Catenin 信号转导途径的下游效应蛋白之一, 在T细胞的成熟和分化中有重要作用. SATB1能与β-Catenin相互作用并能招募β-Catenin与*SATB1*基因组结合位点结合, 进而改变了SATB1调节的靶基因的转录水平. 刘科等[21]的实验发现, 通过Wnt3a激活Wnt信号通路可以使SATBI与靶基因上游启动子区域的结合浓度增加1.5-4倍, 应用DKK1蛋白(dickkopf1)阻断Wnt信号通路时SATB1与靶基因上游启动子区域的结合浓度会下调1.5-6倍. SATB1可能通过Wnt信号通路招募p-catenin-P300复合体调控基因的表达. Burute等[22]的研究中也揭示了SATB1通过招募β-Catenin介导Wnt信号途径并通过GATA-3调节Th2细胞的分化[23]. Meng等[24]发现在大肠癌细胞中SATB1依赖于Wnt/β-Catenin信号发挥作用, 导致了肿瘤的发生和转移.

2.3 SATB1参与上皮细胞-间充质转化 上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要过程, 通过EMT上皮细胞失去了细胞极性, 失去与基底膜的连接等上皮表型, 获得了较高的迁移与侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质的能力等间质表型. 在癌症的进展过程中SATB1的表达逐渐增多, 并且动态重新编码涉及*EMT*基因的表达, SATB1可直接调节雌激素相关受体β(estrogen related receptor beta, ERRB2)、二型基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-2, MMP2)、钙黏连蛋白(E-cadherin)等的表达, 因此作为在癌症发展的关键调节器[25]. Li等[26]在乳腺癌细胞研究中发现miR-448可直接作用于SATB1 mRNA从而抑制其诱导EMT, 导致双调蛋白的水平升高并增加了表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)介导的*TWIST1*基因的表达以及NF-κB通路的激活. Wang等[27]学者在朊蛋白介导的EMT过程中发现, 减少朊蛋白的转录可通过Fyn-SP1-SATB1通路下调SATB1的表达, 使大肠癌细胞转移能力降低并减少其在体内远处转移. SATB1诱导EMT增加了*Snail1*、*Slug*、*Twist*基因和波形蛋白表达, 并伴随减少钙黏连蛋白、紧密接头蛋白ZO-1和桥粒斑蛋白的表达, 促进体内肿瘤的生长[11]. Shukla等[28]敲除了人类高度侵袭性前列腺癌细胞PC-3M中*SATB1*基因抑制了细胞侵袭和体内肿瘤的生长并增加了钙黏连蛋白的表达.

2.4 SATB1与其他 PI3K/Akt信号转导通路可以促进细胞增殖、分化、存活、黏附和迁移, 在肿瘤的发生和发展过程中发挥着重要作用. 研究发现, SATB1也参与该通路的调节, 可以与PI3KC亚型基因的MARs序列结合, 从而抑制PI3KC的转录[29]. Akt蛋白激酶使SATB1在丝氨酸47上磷酸化并保护SATB1防止其凋亡裂解[30]. 2013年Chu等[31]对SATB1的表达和O-6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O-6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)启动子甲基化状态之间的关系进行了研究, 结果显示SATB1在有*MGMT*启动子甲基化星状细胞瘤标本中的表达比在没有*MGMT*启动子甲基化中的表达显著降低, 肯定了SATB1在星形细胞瘤中的作用.

3 SATB1与消化系肿瘤

通过近5年的研究显示, SATB1不仅与乳腺癌[3,32]、肺癌[33-35]、卵巢癌[36-38]、甲状腺癌[39]、前列腺癌[40]、膀胱癌[41]、皮肤淋巴瘤[42]、黑色素瘤[43]等肿瘤的细胞增殖和转移关系密切, 还发现其对消化系肿瘤(包括口腔癌、胃癌、肝癌、胆囊癌、结直肠癌)中的肿瘤细胞增殖、侵袭、转移也起到重要的促进作用.

3.1 SATB1与口腔癌 目前SATB1在口腔鳞癌和腺样囊性癌中的作用研究较少. 罗婷婷[44]对口腔鳞癌52例, 腺样囊性癌14例, 4例口腔多形性腺瘤组织标本, 4例口腔白斑组织标本, 2例正常牙龈组织作对照进行研究. 发现SATB1蛋白及SATB1 mRNA在口腔恶性肿瘤组织中的表达高于良性肿瘤及口腔正常牙龈上皮, 提示SATB1在

■相关报道
SATB1在肿瘤中作用被发现最早的文章是2008年Han等在Nature上发表的一篇《SATB1 reprogrammes gene expression to promote breast tumour growth and metastasis》. 从08年以后众多学者对其在肿瘤中机制进行深入研究, 本篇文章进行相关综述. 前人的相关综述也有SATB1的相关调节机制, 但不包括肿瘤方面.

■创新盘点
关于SATB1在2008年之前就有研究，对其在肿瘤的发生发展中的作用机制尤其是消化系肿瘤，没有综述类文章. 因此机制总结是主要内容，可以方便读者系统全面了解其研究的最新进展.

口腔恶性肿瘤的发生、发展过程中起到了促进作用. SATB1的表达上调与口腔鳞状细胞癌的恶性程度、侵袭、转移有正相关关系，因其在口腔鳞癌转移组原发灶中的表达高于口腔鳞癌未转移组原发灶中的表达以及转移癌中的表达高于原发灶，提示SATB1在口腔鳞癌中可能为肿瘤转移的促进基因. SATB1蛋白及SATB1 mRNA在腺样囊性癌中均显示强阳性表达，提示SATB1与腺样囊性癌的发生、发展密切相关.

3.2 SATB1与胃癌 胃癌仍是第4个最常见的癌症，癌症死亡在世界上第2个最常见的原因. 在东亚、东欧、美洲和南美洲的部分地区，发病率特别高. 预后较差，5年相对生存率低于30%[45]. 在我国胃癌死亡率居各种恶性肿瘤的首位，其恶性侵袭和转移是造成胃癌预后不良的主要原因. 刘科[21]研究了48例胃癌标本及相应的癌旁组织，在胃癌组织中SATB1的转录和翻译水平均出现表达上调，而在相应的癌旁组织其表达水平很低或呈现阴性表达. 提示其在胃癌的形成和发展中可能有一定作用；同时发现高侵袭性胃癌细胞系AGS中SATB1的表达水平明显高于低侵袭性的细胞系SGC-7901，进一步证实SATB1可能参与胃癌的侵袭转移进程. 在Tracz等[46]的实验发现*SATB1*基因在有胃癌家族史并伴有幽门螺杆菌感染和胃黏膜可逆病理改变的患者中的表达比没有胃癌家族史的患者高，成功根除幽门螺杆菌后，有胃癌家族史患者的SATB1 mRNA表达水平与对照组患者相比没有增加. Zuk等[47]的研究也得出了相似的结论. 而在胃癌的化疗过程中孙福强[48]发现SATB1表达和胃癌细胞的化疗耐药能力间存在着正相关的关系，SATB1在胃癌的化疗耐药中扮演着重要的角色. Sun等[49]实验表明SATB1在人类胃癌细胞株SGC7901的多药耐药变种细胞SGC7901/VCR的表达上调. 在体外药物敏感试验表明SATB1的表达水平及耐药性呈正相关关系. Lu等和Cheng等[50,51]研究显示，胃癌组织中SATB1蛋白阳性表达与肿瘤浸润深度、TNM分期、淋巴结转移及远处转移明显相关并具有显著的统计学意义，可作为胃癌独立的预后指标.

3.3 SATB1与肝癌 原发性肝癌为最常见恶性肿瘤之一，肝癌患者临床确诊时大部分已出现肝内或肝外转移，是导致死亡的主要原因. Li等[2,52]对6种肝癌细胞株(HL-7702、SMMC-7721、MHCC97L、MHCC97H、HCCLM3、HepG2)研究时发现与永生化肝癌细胞株HL-7702相比SATB1 mRNA在高度侵袭性细胞株MHCC97H、HCCLM3表达最高，然后是低侵袭性MHCC97L细胞株，其次是非入侵性SMMC-7721和HepG2肝癌细胞株，HCCLM3细胞株SATB1蛋白表达水平是HepG2细胞株的4.6倍. 曹晓飞等[53]成功干扰HCCLM3细胞株中SATB1，干扰后细胞株的增殖及迁移能力均明显降低，裸鼠体内移植实验后肿瘤增殖能力明显减弱. 而罗敏等[54,55]发现SATB1调控肝癌HepG2细胞周期并不是单一改变细胞某个周期，而是参与细胞周期的每个阶段，促进HepG2细胞的增殖，还发现转移能力越强的肝癌细胞株中SATB1表达越高，上调或下调SATB1表达，可调控许多肝癌侵袭转移相关基因表达，SATB1可与这些基因MAR区相应位点结合并调控其表达. 曲杰等[56]也对高转移人肝癌细胞株进行研究，把此类LM3细胞株的*SATB1*基因沉默后，细胞的增殖、侵袭及迁移能力均明显降低，提示STAB1可以促进肝癌细胞的增殖及侵袭迁移. Huang等[57]学者对22例HBV相关肝癌患者的肝癌组织及癌旁组织进行研究，SATB1在16例癌组织中高表达，而在癌旁组织中没有表达. Peng等[58]对102例肝癌组织和癌旁组织进行研究，发现*SATB1*基因在肝癌组织中的表达高于癌旁组织3.27倍，其表达水平与肝癌伴有肝硬化、AFP水平、肿瘤大小、癌栓、肿瘤分化程度、TNM分期、术后复发和转移有关. SATB1可以用来作为预测肝癌复发和转移的一个重要指标.

3.4 SATB1与胆囊癌 胆囊癌具有恶性程度高、易早期转移、难于早期发现、对化疗药物不敏感等特点，因而术前确诊为胆囊癌的患者其远期疗效差于肝癌及胰腺癌. 李民华[59]应用免疫组织化学SP法检测了39例胆囊癌组织和23例对照患者的胆囊组织中SATB1的表达. 结果显示SATB1的过表达与胆囊癌的发生发展及侵袭转移有一定的相关性，*SATB1*基因可能是胆囊癌发生的“开关基因”.

3.5 SATB1与结直肠癌 结直肠癌也是常见的消化系恶性肿瘤，发生率仅次于肝癌、胃癌和食道癌. Fang等[60]免疫组织化学检测了130结直肠癌组织样本，发现SATB1的表达增强；结直肠癌SW480细胞株体外实验中SATB1的表达促进了细胞增殖和细胞周期的进程，提高了细胞迁移和侵袭的能力. Meng等[61]对93例直肠癌和远端正常直肠组织的样本进行实验，结果显示在直肠癌组织中SATB1 mRNA和SATB1蛋白表达阳

性率均明显高于其在正常直肠黏膜组织中的表达, 尤其在直肠癌的发病初期其mRNA呈过度表达, SATB1蛋白和mRNA的表达与肿瘤侵犯深度和淋巴结转移都有关系. Zhang等[62]在对80例结直肠癌和3种结直肠细胞系的研究中发现SATB1过表达与肿瘤细胞的分化阶段密切相关, 其蛋白在低分化细胞株中的表达明显高于高分化细胞株, 并且数量和分布与肿瘤分化和pTNM分期有关. 高超等[63]发*SATB1*基因在结肠癌癌组织中的表达较癌旁组织显著增高, SATB1高表达预示结直肠癌恶性程度高, 临床分期较晚, 可能存在淋巴结转移, 预后不良. 因此检测SATB1表达可作为临床上筛选结直肠癌高危转移患者、制定治疗方案和判断预后的一个新指标, 并有望成为新的治疗靶点.

4 结论

恶性肿瘤转移机制极其复杂, 随着对SATB1研究的不断深入, SATB1与其下游基因间的相互调节作用将有助于阐明更多关于肿瘤发生发展的机制. 我相信这一可导致多种恶性肿瘤发生侵袭转移的“超级基因”有望在未来肿瘤的诊断、治疗以及预后评估上开辟新的道路. 在抗肿瘤药物研发应用方面, 依据SATB1的生物学特性, 开发研制相应的SATB1抑制剂, 将为抗肿瘤转移新药的研制和筛选提供新的思路和方法.

■**应用要点**
通过对SATB1机制深入研究必将为以后恶性肿瘤的诊断、治疗以及预后评估提供新的思路和方法.

5 参考文献

1 张伟东, 苗树军. 我国恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析. 中国健康教育 2009; 25: 246-248
2 李光辉. SATB1在不同侵袭潜能肝癌细胞株的表达研究. 南方医科大学, 2012
3 Han HJ, Russo J, Kohwi Y, Kohwi-Shigematsu T. SATB1 reprogrammes gene expression to promote breast tumour growth and metastasis. *Nature* 2008; 452: 187-193 [PMID: 18337816 DOI: 10.1038/nature06781]
4 李颖, 戴冰冰, 蔡蓉, 仇全, 于丽莉, 卢健. 人SATB1基因5′上游序列的转录激活功能分析. 中国生物化学与分子生物学报 2005; 21: 220-225
5 Notani D, Ramanujam PL, Kumar PP, Gottimukkala KP, Kumar-Sinha C, Galande S. N-terminal PDZ-like domain of chromatin organizer SATB1 contributes towards its function as transcription regulator. *J Biosci* 2011; 36: 461-469 [PMID: 21799257 DOI: 10.1007/s12038-011-9091-4]
6 Broll S, Oumard A, Hahn K, Schambach A, Bode J. Minicircle performance depending on S/MAR-nuclear matrix interactions. *J Mol Biol* 2010; 395: 950-965 [PMID: 20004666 DOI: 10.1016/j.jmb.2009.11.066]
7 Li J, Brunner AM, Meilan R, Strauss SH. Matrix attachment region elements have small and variable effects on transgene expression and stability in field-grown Populus. *Plant Biotechnol J* 2008; 6: 887-896 [PMID: 19548343 DOI: 10.1111/j.1467-7652.2008.00369.x]
8 Galande S, Purbey PK, Notani D, Kumar PP. The third dimension of gene regulation: organization of dynamic chromatin loopscape by SATB1. *Curr Opin Genet Dev* 2007; 17: 408-414 [PMID: 17913490 DOI: 10.1016/j.gde.2007.08.003]
9 Wang Z, Yang X, Chu X, Zhang J, Zhou H, Shen Y, Long J. The structural basis for the oligomerization of the N-terminal domain of SATB1. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 4193-4202 [PMID: 22241778 DOI: 10.1093/nar/gkr1284]
10 Agrelo R, Kishimoto H, Novatchkova M, Peraza V, Paolino M, Souabni A, Wutz A. SATB1 collaborates with loss of p16 in cellular transformation. *Oncogene* 2013; 32: 5492-5500 [PMID: 23686316 DOI: 10.1038/onc.2013.158]
11 Tu W, Luo M, Wang Z, Yan W, Xia Y, Deng H, He J, Han P, Tian D. Upregulation of SATB1 promotes tumor growth and metastasis in liver cancer. *Liver Int* 2012; 32: 1064-1078 [PMID: 22583549 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02815.x]
12 蒋金. SATB1-shRNA下调Bc12表达诱导A549细胞凋亡. 重庆医科大学, 2012
13 Gong F, Sun L, Wang Z, Shi J, Li W, Wang S, Han X, Sun Y. The BCL2 gene is regulated by a special AT-rich sequence binding protein 1-mediated long range chromosomal interaction between the promoter and the distal element located within the 3'-UTR. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 4640-4652 [PMID: 21310710 DOI: 10.1093/nar/gkr023]
14 Chu SH, Ma YB, Feng DF, Li ZQ, Jiang PC. Correlation between SATB1 and Bcl-2 expression in human glioblastoma multiforme. *Mol Med Rep* 2013; 7: 139-143 [PMID: 23076250]
15 Han B, Luan L, Xu Z, Wu B. Expression and biological roles of SATB1 in human bladder cancer. *Tumour Biol* 2013; 34: 2943-2949 [PMID: 23696028 DOI: 10.1007/s13277-013-0857-1]
16 涂炜. HBV编码蛋白HBx通过核基质结合蛋白SATB1诱导肝癌细胞失巢凋亡抵抗的作用机制研究. 华中科技大学, 2012
17 Kuo TC, Chao CC. Hepatitis B virus X protein prevents apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by upregulating SATB1 and HURP expression. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 1093-1102 [PMID: 20541537 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.06.003]
18 Fessing MY, Mardaryev AN, Gdula MR, Sharov AA, Sharova TY, Rapisarda V, Gordon KB, Smorodchenko AD, Poterlowicz K, Ferone G, Kohwi Y, Missero C, Kohwi-Shigematsu T, Botchkarev VA. p63 regulates Satb1 to control tissue-specific chromatin remodeling during development of the epidermis. *J Cell Biol* 2011; 194: 825-839 [PMID: 21930775 DOI: 10.1083/jcb.201101148]
19 Wang Y, Su M, Zhou LL, Tu P, Zhang X, Jiang X, Zhou Y. Deficiency of SATB1 expression in Sezary cells causes apoptosis resistance by regulating FasL/CD95L transcription. *Blood* 2011; 117: 3826-3835 [PMID: 21270445 DOI: 10.1182/blood-2010-07-294819]
20 Notani D, Gottimukkala KP, Jayani RS, Limaye AS, Damle MV, Mehta S, Purbey PK, Joseph J, Galande S. Global regulator SATB1 recruits beta-catenin and regulates T(H)2 differentiation in Wnt-dependent manner. *PLoS Biol* 2010; 8: e1000296 [PMID:

■同行评价
本文介绍了特异性核基质结合区结合蛋白1的定位、结构及其在肿瘤发生发展中的作用，特别重点阐述了其在消化系肿瘤中的作用，为恶性肿瘤的诊断、治疗以及预后评估提供新的靶点. 作者选题很好，文章新颖性突出，组织结构也比较合理，对读者有一定参考价值.

20126258 DOI: 10.1371/journal.pbio.1000296]

21 刘科. 核基质结合蛋白SATB1对胃癌生物学行为的影响及其机制研究. 华中科技大学, 2010

22 Burute M, Gottimukkala K, Galande S. Chromatin organizer SATB1 is an important determinant of T-cell differentiation. *Immunol Cell Biol* 2012; 90: 852-859 [PMID: 22710879 DOI: 10.1038/icb.2012.28]

23 Ahlfors H, Limaye A, Elo LL, Tuomela S, Burute M, Gottimukkala KV, Notani D, Rasool O, Galande S, Lahesmaa R. SATB1 dictates expression of multiple genes including IL-5 involved in human T helper cell differentiation. *Blood* 2010; 116: 1443-1453 [PMID: 20522714 DOI: 10.1182/blood-2009-11-252205]

24 Meng WJ, Yan H, Li Y, Zhou ZG. SATB1 and colorectal cancer in Wnt/β-catenin signaling: Is there a functional link? *Med Hypotheses* 2011; 76: 277-279 [PMID: 21122998 DOI: 10.1016/j.mehy.2010.10.022]

25 Mir R, Pradhan SJ, Galande S. Chromatin organizer SATB1 as a novel molecular target for cancer therapy. *Curr Drug Targets* 2012; 13: 1603-1615 [PMID: 22998183 DOI: 10.2174/138945012803530008]

26 Li QQ, Chen ZQ, Cao XX, Xu JD, Xu JW, Chen YY, Wang WJ, Chen Q, Tang F, Liu XP, Xu ZD. Involvement of NF-κB/miR-448 regulatory feedback loop in chemotherapy-induced epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells. *Cell Death Differ* 2011; 18: 16-25 [PMID: 20798686 DOI: 10.1038/cdd.2010.103]

27 Wang Q, Qian J, Wang F, Ma Z. Cellular prion protein accelerates colorectal cancer metastasis via the Fyn-SP1-SATB1 axis. *Oncol Rep* 2012; 28: 2029-2034 [PMID: 22972305]

28 Shukla S, Sharma H, Abbas A, MacLennan GT, Fu P, Danielpour D, Gupta S. Upregulation of SATB1 is associated with prostate cancer aggressiveness and disease progression. *PLoS One* 2013; 8: e53527 [PMID: 23308245 DOI: 10.1371/journal.pone.0053527]

29 Cai R, Xu W, Dai B, Cai X, Xu R, Lu J. SATB1 binds an intronic MAR sequence in human PI3kgamma in vitro. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 1461-1465 [PMID: 19430959 DOI: 10.1007/s11033-009-9538-y]

30 Chen B, Xue Z, Yang G, Shi B, Yang B, Yan Y, Wang X, Han D, Huang Y, Dong W. Akt-signal integration is involved in the differentiation of embryonal carcinoma cells. *PLoS One* 2013; 8: e64877 [PMID: 23762260 DOI: 10.1371/journal.pone.0064877]

31 Chu SH, Ma YB, Feng DF, Zhang H, Qiu JH, Zhu ZA, Li ZQ, Jiang PC. Relationship between SATB1 expression and prognosis in astrocytoma. *J Clin Neurosci* 2013; 20: 543-547 [PMID: 23317753 DOI: 10.1016/j.jocn.2012.05.033]

32 Nagpal N, Ahmad HM, Molparia B, Kulshreshtha R. MicroRNA-191, an estrogen-responsive microRNA, functions as an oncogenic regulator in human breast cancer. *Carcinogenesis* 2013; 34: 1889-1899 [PMID: 23542418 DOI: 10.1093/carcin/bgt107]

33 Zhou LY, Liu F, Tong J, Chen QQ, Zhang FW. [Expression of special AT-rich sequence-binding protein mRNA and its clinicopathological significance in non-small cell lung cancer]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2009; 29: 534-537 [PMID: 19304547]

34 Huang B, Zhou H, Wang X, Liu Z. Silencing SATB1 with siRNA inhibits the proliferation and invasion of small cell lung cancer cells. *Cancer Cell Int* 2013; 13: 8 [PMID: 23379909 DOI: 10.1186/1475-2867-13-8]

35 Selinger CI, Cooper WA, Al-Sohaily S, Mladenova DN, Pangon L, Kennedy CW, McCaughan BC, Stirzaker C, Kohonen-Corish MR. Loss of special AT-rich binding protein 1 expression is a marker of poor survival in lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 1179-1189 [PMID: 21597389 DOI: 10.1097/JTO.0b013e31821b4ce0]

36 Nodin B, Hedner C, Uhlén M, Jirström K. Expression of the global regulator SATB1 is an independent factor of poor prognosis in high grade epithelial ovarian cancer. *J Ovarian Res* 2012; 5: 24 [PMID: 22992394 DOI: 10.1186/1757-2215-5-24]

37 Xiang J, Zhou L, Li S, Xi X, Zhang J, Wang Y, Yang Y, Liu X, Wan X. AT-rich sequence binding protein 1: Contribution to tumor progression and metastasis of human ovarian carcinoma. *Oncol Lett* 2012; 3: 865-870 [PMID: 22741008]

38 Zhao XL, Wang P. [Expression of SATB1 and BRMS1 in ovarian serous adenocarcinoma and its relationship with clinieopathological features]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2011; 42: 82-85, 105 [PMID: 21355308]

39 Murono S, Tsuji A, Endo K, Kondo S, Wakisaka N, Yoshizaki T. Immunohistochemical detection of SATB1 is independent of thyroid cancer differentiation. *Laryngoscope* 2013; 123: 2909-2912 [PMID: 23670286 DOI: 10.1002/lary.23992]

40 Mao L, Yang C, Wang J, Li W, Wen R, Chen J, Zheng J. SATB1 is overexpressed in metastatic prostate cancer and promotes prostate cancer cell growth and invasion. *J Transl Med* 2013; 11: 111 [PMID: 23642278 DOI: 10.1186/1479-5876-11-111]

41 Liu CX, Wen Y, Xu K, Zheng SB, Xu YW, Chen BS. [Expression of special AT-rich sequence-binding protein in bladder urothelial carcinoma and its clinical significance]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2010; 30: 1389-1391, 1394 [PMID: 20584685]

42 Grzanka A, Grzanka D, Gagat M, Tadrowski T, Sokołowska-Wojdyło M, Marszałek A, Placek W. Correlation of SATB1 expression with clinical course of cutaneous T-cell lymphomas. *Pol J Pathol* 2012; 63: 101-105 [PMID: 22864778]

43 Chen H, Takahara M, Oba J, Xie L, Chiba T, Takeuchi S, Tu Y, Nakahara T, Uchi H, Moroi Y, Furue M. Clinicopathologic and prognostic significance of SATB1 in cutaneous malignant melanoma. *J Dermatol Sci* 2011; 64: 39-44 [PMID: 21767935 DOI: 10.1016/j.jdermsci.2011.06.007]

44 罗婷婷. 特异性核基质结合区结合蛋白质1(SATB1)在口腔恶性肿瘤中表达的研究. 广西医科大学, 2012

45 Brenner H, Rothenbacher D, Arndt V. Epidemiology of stomach cancer. *Methods Mol Biol* 2009; 472: 467-477 [PMID: 19107449 DOI: 10.1007/978-1-60327-492-0_23]

46 Tracz AF, Peczek Ł, Zuk K, Stec-Michalska K, Nawrot B. [Effect of Helicobacter pylori eradication on the expression level of SATB1 and c-Myc genes in gastric mucosa of patients with family history of gastric cancer]. *Pol Merkur Lekarski* 2013; 34: 269-276 [PMID: 23894778]

47 Zuk K, Peczek L, Stec-Michalska K, Medrek M, Nawrot B. SATB1 expression in gastric mucosa in relation to Helicobacter pylori infection and family history of gastric cancer. *Adv Med Sci* 2012; 57: 237-243 [PMID: 23188721 DOI: 10.2478/v10039-012-0049-z]

48 孙福强. SATB1增强胃癌细胞多重化疗耐药和侵袭能力的研究. 华中科技大学, 2012
49 Sun F, Lu X, Li H, Peng Z, Wu K, Wang G, Tong Q. Special AT-rich sequence binding protein 1 regulates the multidrug resistance and invasion of human gastric cancer cells. *Oncol Lett* 2012; 4: 156-162 [PMID: 22807980]
50 Lu X, Cheng C, Zhu S, Yang Y, Zheng L, Wang G, Shu X, Wu K, Liu K, Tong Q. SATB1 is an independent prognostic marker for gastric cancer in a Chinese population. *Oncol Rep* 2010; 24: 981-987 [PMID: 20811679]
51 Cheng C, Lu X, Wang G, Zheng L, Shu X, Zhu S, Liu K, Wu K, Tong Q. Expression of SATB1 and heparanase in gastric cancer and its relationship to clinicopathologic features. *APMIS* 2010; 118: 855-863 [PMID: 20955458 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2010.02673.x]
52 Li G, Yang D, Li X, Zhong K, Liu X, Bi M, Liu Y, Liao X, Lin L. [Expression of SATB1 in hepatocellular carcinoma cell lines with different invasive capacities]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2012; 32: 986-990, 994 [PMID: 22820583]
53 曹晓飞, 刘庆宏. SATB1促进肝癌增殖与转移能力的初步研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 3646-3649
54 罗敏, 涂炜, 刘永健, 邓欢, 周珍珍, 朱倩, 林海华, 夏丽敏, 晏维, 田德安. 过表达SATB1对人原发性肝癌细胞HepG2增殖的促进作用. 医药导报 2011; 30: 196-199
55 罗敏. 核基质结合蛋白SATB1调控肝癌细胞侵袭转移的实验研究. 华中科技大学, 2010
56 曲杰, 叶丽虹, 杨宗伟. SATB1在原发性肝癌中表达并促进生长和转移的研究. 重庆医科大学学报 2012; 37: 606-609
57 Huang YK, Fan XG, Qiu F, Wang ZM. Genomics of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma and adjacent noncancerous tissues with cDNA microarray. *Chin Med J* (Engl) 2011; 124: 2057-2064 [PMID: 22088470]
58 Peng ZK, Yang DH, Li XH, Huang Y, Zhang GQ, Zhong KB, Bi MP, Li GH. [Expression of special AT-rich sequence-binding protein 1 mRNA in hepatocellular carcinoma and its clinical significance]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2011; 31: 1207-1211 [PMID: 21764697]
59 李民华. SATB1及E-Cad在胆囊癌中的表达及意义. 安徽医科大学, 2012
60 Fang XF, Hou ZB, Dai XZ, Chen C, Ge J, Shen H, Li XF, Yu LK, Yuan Y. Special AT-rich sequence-binding protein 1 promotes cell growth and metastasis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2331-2339 [PMID: 23613626 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2331]
61 Meng WJ, Yan H, Zhou B, Zhang W, Kong XH, Wang R, Zhan L, Li Y, Zhou ZG, Sun XF. Correlation of SATB1 overexpression with the progression of human rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 143-150 [PMID: 21870058 DOI: 10.1007/s00384-011-1302-9]
62 Zhang J, Zhang B, Zhang X, Sun Y, Wei X, McNutt MA, Lu S, Liu Y, Zhang D, Wang M, Lin Z, Niu N. SATB1 expression is associated with biologic behavior in colorectal carcinoma in vitro and in vivo. *PLoS One* 2013; 8: e47902 [PMID: 23326301 DOI: 10.1371/journal.pone.0047902]
63 高超, 朱艳卿, 刘颖, 裴东升, 赵晶, 孔姝婧. SATB1基因在结直肠癌中的表达及其临床意义. 肿瘤防治研究 2013; 40: 159-163

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 2014年1月8日; 22(1): 74-79
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

四氯化碳法制备肝硬化大鼠模型中重要脏器的病理改变

张云巍, 胡亚卓, 徐丽娟, 潘美妍, 阎 丽

■背景资料
肝硬化是终末期肝病, 严重威胁患者的生命, 现已成为消化学界的研究热点, 而肝硬化动物模型是肝硬化的研究基础, 研究肝硬化的发生机制及其防治就必须建立良好的肝纤维化动物模型. 目前还没有与人类肝硬化完全相似的动物模型.

张云巍, 徐丽娟, 阎丽, 中国人民解放军总医院南楼临床部消化内科 北京市 100853
胡亚卓, 中国人民解放军总医院老年医学研究所病理科 北京市 100853
潘美妍, 中国人民解放军济南军区第二疗养院 山东省济南市 250000
张云巍, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30900669
北京市科技新星计划基金资助项目
作者贡献分布: 此课题由阎丽设计; 研究过程由阎丽与张云巍操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由胡亚卓与潘美妍提供; 数据分析由张云巍与徐丽娟完成; 本论文写作由张云巍完成.
通讯作者: 阎丽, 副教授, 副主任医师, 北京市海淀区复兴路28号, 解放军总医院南楼临床部消化内科. yanlifmu@126.com
收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-11-11
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Pathological changes in major organs of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis

Yun-Wei Zhang, Ya-Zhuo Hu, Li-Juan Xu, Mei-Yan Pan, Li Yan

Yun-Wei Zhang, Li-Juan Xu, Li Yan, Department of Gastroenterology, Institute of Geriatrics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China
Ya-Zhuo Hu, Department of Pathology, Institute of Geriatrics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China
Mei-Yan Pan, Department of Gastroenterology, the Second Sanatorium of Jinan Military Region, Jinan 250000, Shandong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30900669; and Beijing New-star Plan of Science and Technology
Correspondence to: Li Yan, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Institute of Geriatrics, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. yanlifmu@126.com
Received: 2013-10-14 Revised: 2013-11-11
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To observe the pathologic changes in major organs of rats with liver cirrhosis induced by injecting carbon tetrachloride (CCl_4) intraperitoneally.

METHODS: Thirty SD rats were randomly divided into two groups, a model group (n = 22) and a control group (n = 8). Rats in the model group were intraperitoneally injected with CCl_4 (3 μL/g) three times a week for 12 wk to induce hepatic cirrhosis (The formation of pseudolobuli as the criterion for successful induction of cirrhosis). The control group was injected intraperitoneally with the vehicle. All rats were fed ordinary forage and water, and weight changes, activities and the reaction to the surroundings were monitored during the experiment. Animal deaths and death dates were also recorded. At the end of the 12th week, 6 rats in the model group were dead and all rats in the control group survived. The rest rats in the model group were executed, and the samples of the liver, esophagus, colon, spleen, and lung were collected and subjected to HE staining. PAS staining for the renal samples was performed. The pathological changes in the above organs were observed by light microscopy.

RESULTS: Compared with the controls, typical pseudolobes were formed in the animal model of liver cirrhosis. Gastrointestinal tissues were infiltrated by few inflammatory cells. The renal tubular cells showed mild edema. The structure of pulmonary alveolus was damaged or fused with acute inflammatory cells and blood cells, accompanied with alveolar septum tightening in some regions. Other major organs were not affected.

CONCLUSION: It is the first time to observe the pathological changes in major organs of rats with liver cirrhosis induced by intraperitoneally administration of CCl_4. Mild pathological changes occurred in the animal models, which are consistent with pathological changes observed in human liver cirrhosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Carbon tetrachloride; Liver cirrhosis; Organ injury

Zhang YW, Hu YZ, Xu LJ, Pan MY, Yan L. Pathological

■同行评议者
杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

changes in major organs of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 74-79 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/74.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.74

摘要

目的: 观察四氯化碳(CCl_4)经腹腔注射法制备肝硬化动物模型(cirrhosis model, CM)实验中机体其他主要脏器的病理变化情况.

方法: 30只SD大鼠, 随机分为对照组和模型组. 模型组: 22只, 使用橄榄油配备浓度为600 mL/L的CCl_4按3 μL/g体质量经腹腔注射, 3次/wk, 共计12 wk, 制备肝硬化大鼠模型(假小叶形成为判定CM成功的标准); 对照组: 8只, 按3 L/g体质量给予橄榄油溶液腹腔注射, 3次/wk, 共计12 wk. 两组大鼠均给予普通饲料加清水喂养, 并监测实验期间大鼠体质量变化、活动及对外界的反应情况, 同时记录大鼠的死亡情况及死亡时间. 至12周末, 模型组死亡6只, 对照组全部存活. 处死存活下来的模型组大鼠做肝脏病理, 均符合肝硬化标准. 造模成功的同时收集食管、结肠、脾、肺等组织行HE染色, 肾脏组织行PAS染色、并在光镜下观察各器官的组织形态学改变.

结果: 与对照组相比, 模型组的大鼠肝组织呈典型的假小叶改变; 食管、结肠可见少量的炎症细胞浸润, 肾脏可见肾小管细胞轻度水肿. 肺泡结构破坏, 部分区域内有肺泡间隔绷紧, 有多个肺泡的融合, 肺泡腔内见急性炎细胞及红细胞. 脾的组织形态基本正常.

结论: 本文首次对CCl_4腹腔注射法制备肝硬化动物模型的重要脏器进行病理学观察, 证明该方法制备的肝硬化大鼠模型对主要脏器的影响小, 与人类发生肝硬化时重要脏器的病理改变基本一致, 因此, 再次说明该方法是一种理想的实验性肝硬化动物模型的制备方法.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 四氯化碳; 肝硬化; 脏器损伤

核心提示: 四氯化碳腹腔注射法制备肝硬化动物模型中除肝脏以外的多个重要脏器的病理改变轻微, 与人类发生肝硬化时这些脏器的病理改变基本保持一致, 是一种良好的肝硬化动物模型制备方法, 值得在临床及实验研究中推广应用.

张云巍, 胡亚卓, 徐丽娟, 潘美妍, 阎丽. 四氯化碳法制备肝硬化大鼠模型中重要脏器的病理改变. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 74-79 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/74.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.74

0 引言

肝硬化(liver cirrhosis)是临床常见的一种慢性进行性肝病, 由一种或多种病因长期或反复作用形成的弥漫性肝损害[1], 严重威胁患者的生命[2]. 病理组织学上可见广泛的肝细胞坏死、残存肝细胞结节性再生、结缔组织增生与纤维隔形成, 导致肝小叶结构破坏和假小叶形成, 肝脏逐渐变形、变硬而发展为肝硬化. 然而, 肝硬化发病机制至今尚不明确. 近年来, 在实验性肝硬化动物模型(cirrhosis model, CM)建立的基础[3]上, 该病的发病机制及治疗方面的研究均取得了可喜的成就[4-6]. 然而, 目前报道的CM还仅局限于肝脏的病理学改变情况, 缺乏其他重要脏器的病理组织学研究[7]. 本文在以往研究的基础上, 首次就四氯化碳(CCl_4)制备肝硬化模型实验中除肝脏外其他主要脏器的病理变化进行了研究.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠, 30只, 体质量180-220 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供. 按清洁级标准饲养, 普通颗粒饲料喂养. CCL_4(分析纯)购自宁波市江东化学试剂厂(批号: 9406661). 橄榄油购自上海卫辉化学试剂厂(批号: 930112). TD型电子天平(余姚市金诺天平有限公司)由解放军总医院动物实验中心提供. 显微镜(Olympus)由解放军总医院老年医学研究所病理科提供.

1.2 方法 大鼠自购进后, 于实验室中适应性饲养7 d, 不限食水. 按体质量随机分为正常对照组8只和肝硬化模型组22只. 对照组: 按3 μL/g体质量给予橄榄油溶液腹腔注射, 3次/wk, 普通饲料加清水喂养; 模型组大鼠按3 μL/g体质量给予600 mL/L CCl_4橄榄油溶液经腹腔注射, 3次/wk. 监测实验期间大鼠体质量变化、活动及对外界的反应情况, 同时记录大鼠的死亡情况及死亡时间. 12 wk处死大鼠取材, 取肝、食管、结肠、脾、肺组织, 行HE染色, 肾脏组织行PAS染色, 光镜观察各组织形态改变.

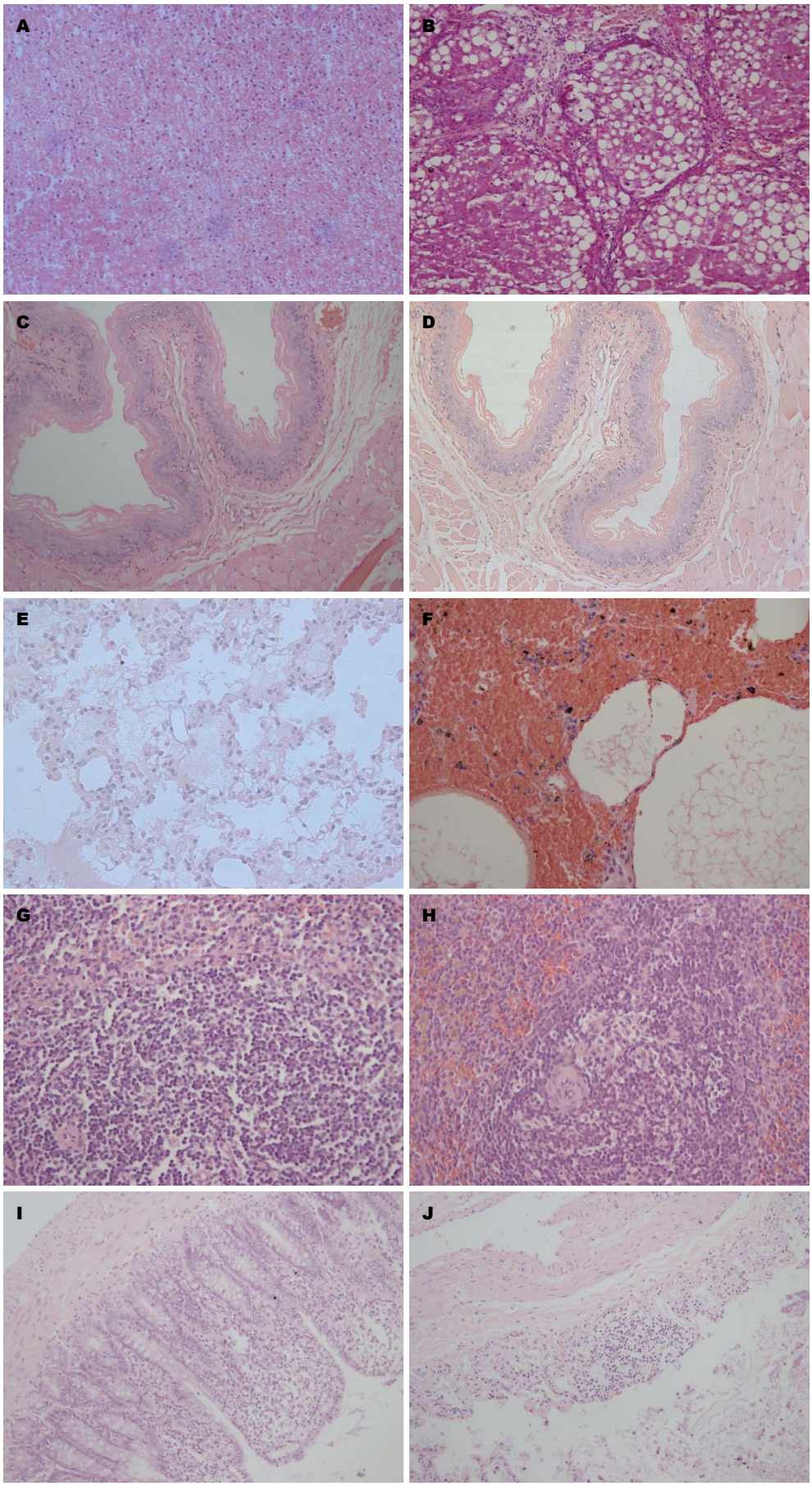
2 结果

2.1 大体观察 对照组的大鼠毛发光泽, 精神状态好, 活动多, 食欲佳, 对外界刺激反应敏感. 模型组大鼠毛发凌乱, 无光泽, 食欲差, 精神萎靡, 活

■研发前沿
目前制备肝硬化动物模型的方法较多, 从单因素发展到多因素, 甚至复合因素, 但是与理想的动物肝硬化模型(与人类肝硬化、门脉高压的特征相同、造模成功率高、病死率低、周期短、方法简便易行、所用造模因素对人体无害或较少危害)有较大的差距.

■相关报道

Wang等就CCl_4致病机制做了详尽的报道，主要是被肝细胞微粒体细胞色素P450激活；Krahenbuhl和吴孟超分别成功的用CCl_4加苯巴比妥和CCl_4加乙醇建造肝硬化动物模型，造模时间比单独应用CCl_4短，但死亡率高，操作复杂.



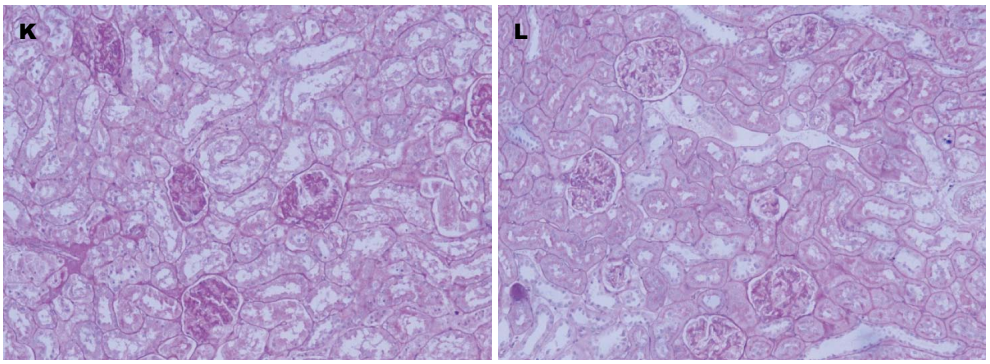


图 1 CCl_4腹腔注射法制备大鼠肝硬化动物模型的重要脏器的病理学改变(×200). A: 肝组织对照组; B: 肝组织模型组; C: 食管对照组; D: 食管模型组; E: 肺组织对照组; F: 肺组织模型组; G: 脾脏对照组; H: 脾脏模型组; I: 结肠对照组; J: 结肠模型组; K: 肾脏对照组; L: 肾脏模型组.

■创新盘点
本文首次对CCl_4腹腔注射法制备肝硬化动物模型的重要脏器进行病理学观察, 证明该方法制备的肝硬化大鼠模型对主要脏器的影响小, 与人类发生肝硬化时重要脏器的病理改变基本一致, 因此, 再次说明该方法是一种理想的实验性肝硬化动物模型的制备方法.

动少, 对外界刺激反应迟钝. 对照组大鼠体质量增长迅速, 模型组大鼠体质量增长缓慢, 尤以实验前期明显. 模型组大鼠6只死亡, 对照组全部存活.

2.2 脏器组织学改变 至造模第12周末取对照组及模型组的大鼠肝、食管、肺、脾、结肠组织行HE染色及肾脏行PAS染色(图1).

肝脏组织学改变: 对照组: 肝小叶结构正常(图1A), 中央静脉有放射状排列的肝细胞窦, 肝窦明显, 肝细胞体积较大, 核圆居中, 可见核仁, 胞浆丰富, 汇管区清晰可辨, 无明显的炎细胞浸润. 模型组: 肝组织内可见纤维增粗紊乱, 肝组织(图1B)的正常结构被破坏, 变得杂乱, 纤维束分割肝小叶, 破坏的肝小叶和部分增生的肝细胞团被较粗的纤维分割包绕, 有假小叶形成, 且汇管区出现典型的病变, 证明肝硬化造模成功.

食管组织学改变: 对照组食管壁(图1C)四层结构清晰, 上皮为复层扁平上皮, 结构正常. 模型组食管腔(图1D)可见角化不全的鳞状上皮, 黏膜下层见少许炎细胞浸润, 黏膜下层见扩张的脉管.

肺脏组织学改变: 对照组肺泡腔(图1E)内见轻度水肿, 间隔不宽, 上皮可见; 模型组肺泡(图1F)结构破坏, 部分区域内有肺泡间隔绷紧, 有多个肺泡的融合, 肺泡腔内见急性炎细胞及红细胞.

脾脏组织学改变: 模型组(图1H)相对于对照组(图1G), 血管内皮增厚明显, 血管内皮增生, 脾髓境界清楚, 可见含铁血黄素沉积.

结肠组织学改变: 模型组(图1J)与对照组(图1I)相比, 结肠黏膜层崩解, 肌层断裂, 有炎细胞浸润.

肾脏组织学改变: 对照组肾小球(图1K)结构正常, 无系膜增生及毛细血管纤维化, 肾小管为单层上皮性小管. 模型组肾小球(图1L)结构较为清晰, 无出现明显纤维化, 肾小管内皮细胞轮廓分明, 上皮细胞核浆比大体正常, 未见明显管型.

3 讨论

绝大部分肝硬化形成机制的研究及治疗药物的开发是建立在肝硬化动物模型的基础上, 制造CM的主要方法包括CCl_4诱导性肝硬化模型、CCl_4联合苯巴比妥肝硬化动物模型[8-10]、CCl_4联合乙醇肝硬化动物模型[11,12]、化学致癌物诱导性肝硬化模型[13]、二甲基亚硝胺建立肝硬化模型[14-16]、酒精性肝硬化模型[17]、免疫性肝硬化动物模型[18]、胆总管结扎诱导性肝硬化模型[19]、病毒性肝硬化动物模型[20]、复合多因素诱导性肝硬化模型[21,22]等.

CCl_4是CM常用的动物肝硬化造模药物, 具有成模率高、重复性好、方法简便易行等特点[23]. 其致病机制主要是被肝细胞微粒体细胞色素P450激活, 损害线粒体, 从而抑制脂肪酸氧化和三羧酸循环; 此外, 由于内质网受损可导致脂蛋白合成障碍, 使三酰甘油和脂肪酸在肝细胞内蓄积, 形成脂肪变性. 因此, 低浓度的CCl_4反复应用, 可使大鼠的肝组织受到损害-修复-损害的循环破坏作用, 最终导致肝纤维化及肝硬化的发生[24-27]. 目前, CCl_4制备CM的方法包括单因素CCl_4法和多因素CCl_4法. 单因素CCl_4法诱导制备CM的主要途径包括皮下注射、腹腔注射、口服灌胃和蒸汽吸入等. 研究表明CCl_4经皮下注射后, 迅速被机体吸收, 对脑、肾毒性较大, 注射位置易发生浸润性脓肿和溃疡, 死亡率可高达30%-40%. CCl_4通过腹腔内注射, 经门静脉系统吸收, 使肝硬化形成时间短, 而较少的不良反

■应用要点
通过对CCl_4腹腔注射法制备肝硬化动物模型的重要脏器进行病理学观察，该法与理想肝硬化动物模型中的肝脏外脏器损伤小较接近，成功率高，操作简单易行，重复性好，较适合肝硬化研究的动物造模.

应使死亡率降至20%-35%[28]; CCl_4灌胃的吸收和代谢途径类似于腹腔注射，且二者在生存曲线上并无特异差别，但操作复杂，肠道反应大；蒸汽吸入呼吸道刺激大，动物不耐受，中枢毒性大，易造成环境污染和实验人员伤害[29,30]. 多因素CCl_4法: (1)CCl_4加苯巴比妥. Krahenbuhl等[31]分别给鼠口服CCl_4辅以苯巴比妥为唯一饮用水的方法建立肝纤维化动物模型，结果显示肝脏表面可见结节形成，实质变致密，镜检可见在结节周围有少量纤维组织沉积，但同时伴有脾大、慢性门脉高压表现；死亡率高达40%-52.9%[32]; (2)CCl_4加乙醇. 吴孟超等[33]报道在小鼠使用该方法60 d即可制成肝硬化模型，肝硬化稳定，分期明显，动物死亡率低，但停止刺激恢复较快.

本文首次对CCl_4腹腔注射法制备肝硬化动物模型中除肝脏以外的多个重要脏器的病理改变进行探讨. 我们通过HE染色及PAS染色法，观察了食管、胃、结肠以及肾脏等多个重要脏器在肝硬化发生过程中的病理改变. 结果提示上述重要器官在肝硬化建模过程中病理改变轻微，与人类发生肝硬化时这些脏器的病理改变基本保持一致. 我们的研究结果再次表明采用CCl_4经腹腔注射法制备大鼠肝硬化动物模型是一种良好的肝硬化动物模型制备方法，值得在临床及实验研究中推广应用.

4 参考文献

1 Goldacre MJ, Wotton CJ, Yeates D, Seagroatt V, Collier J. Liver cirrhosis, other liver diseases, pancreatitis and subsequent cancer: record linkage study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 384-392 [PMID: 18403939 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f4489f]

2 Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 110-122 [PMID: 18293281 DOI: 10.1055/s-2008-1040325]

3 Steib CJ, Hennenberg M, Beitinger F, Hartmann AC, Bystron M, De Toni EN, Gerbes AL. Amiloride reduces portal hypertension in rat liver cirrhosis. *Gut* 2010; 59: 827-836 [PMID: 20551467 DOI: 10.1136/gut.2009.197756]

4 Singh M, Kumar V. Transgenic mouse models of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Rev Med Virol* 2003; 13: 243-253 [PMID: 12820186]

5 Rall GF, Lawrence DM, Patterson CE. The application of transgenic and knockout mouse technology for the study of viral pathogenesis. *Virology* 2000; 271: 220-226 [PMID: 10860874]

6 陈拥军, 邱伟华, 万亮, 王天翔, 项明, 李勤裕, 林言箴. 脾动脉注射IL-2在大鼠肝癌模型中的定位及其对免疫功能的影响. 外科理论与实践 2002; 7: 298-301

7 Chang ML, Yeh CT, Chang PY, Chen JC. Comparison of murine cirrhosis models induced by hepatotoxin administration and common bile duct ligation. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4167-4172 [PMID: 16015684]

8 周婷, 杨军, 王勇. 四氯化碳加乙醇制备实验性肝硬化大鼠模型. 农垦医学 2003; 2: 152

9 曾燕, 赵建农, 冷志. 不同浓度四氯化碳复合法诱导家兔肝纤维化模型的建立. 第三军医大学学报 2009; 8: 694-696

10 Zhang JJ, Meng XK, Dong C, Qiao JL, Zhang RF, Yue GQ, Zhong HY. Development of a new animal model of liver cirrhosis in swine. *Eur Surg Res* 2009; 42: 35-39 [PMID: 18987472 DOI: 10.1159/000167855]

11 叶春华, 刘浔阳. 四氯化碳综合法制备大鼠肝硬化模型. 医学临床研究 2005; 5: 619-621

12 李栋, 张乐玲, 侯怀水, 时庆, 沈柏均. 四氯化碳诱导兔肝硬化模型的动态研究. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1403-1405

13 Kitamura K, Nakamoto Y, Akiyama M, Fujii C, Kondo T, Kobayashi K, Kaneko S, Mukaida N. Pathogenic roles of tumor necrosis factor receptor p55-mediated signals in dimethylnitrosamine-induced murine liver fibrosis. *Lab Invest* 2002; 82: 571-583 [PMID: 12003998]

14 Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M, Altomare E. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 175: 130-139 [PMID: 11543645]

15 Spahr L, Burkhard PR, Grötzsch H, Hadengue A. Clinical significance of basal ganglia alterations at brain MRI and 1H MRS in cirrhosis and role in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2002; 17: 399-413 [PMID: 12602516]

16 George J, Rao KR, Stern R, Chandrakasan G. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats: the early deposition of collagen. *Toxicology* 2001; 156: 129-138 [PMID: 11164615]

17 Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. *Alcohol Res Health* 2003; 27: 220-231 [PMID: 15535450]

18 Herkel J, Schuchmann M, Tiegs G, Lohse AW. Immune-mediated liver injury. *J Hepatol* 2005; 42: 920-923 [PMID: 15885364]

19 García-Ayllón MS, Silveyra MX, Candela A, Compañ A, Clària J, Jover R, Pérez-Mateo M, Felipo V, Martínez S, Galcerán J, Sáez-Valero J. Changes in liver and plasma acetylcholinesterase in rats with cirrhosis induced by bile duct ligation. *Hepatology* 2006; 43: 444-453 [PMID: 16496349]

20 Cote PJ, Korba BE, Miller RH, Jacob JR, Baldwin BH, Hornbuckle WE, Purcell RH, Tennant BC, Gerin JL. Effects of age and viral determinants on chronicity as an outcome of experimental woodchuck hepatitis virus infection. *Hepatology* 2000; 31: 190-200 [PMID: 10613745]

21 王英凯, 迟宝荣, 孙波, 王智昊. 肝硬化大鼠模型的建立及其稳定性. 吉林大学学报 2006; 31: 893-895

22 韩得五, 马学惠, 赵元昌. 肝硬化动物模型的研究. 山西医药杂志 1989; 4: 41-44

23 Laviña B, Gracia-Sancho J, Rodríguez-Vilarrupla A, Chu Y, Heistad DD, Bosch J, García-Pagán JC. Superoxide dismutase gene transfer reduces portal pressure in CCl4 cirrhotic rats with portal hypertension. *Gut* 2009; 58: 118-125 [PMID: 18829979 DOI: 10.1136/gut.2008.149880]

24 Wang L, Potter JJ, Rennie-Tankersley L, Novitskiy G, Sipes J, Mezey E. Effects of retinoic acid on the

development of liver fibrosis produced by carbon tetrachloride in mice. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 66-71 [PMID: 17011172]
25 Chae HB, Jang LC, Park SM, Son BR, Sung R, Choi JW. [An experimental model of hepatic fibrosis induced by alcohol and CCl4: can the lipopolysaccharide prevent liver injury induced by alcohol and CCl4?]. *Taehan Kan Hakhoe Chi* 2002; 8: 173-178 [PMID: 12499803]
26 Boll M, Weber LW, Becker E, Stampfl A. Pathogenesis of carbon tetrachloride-induced hepatocyte injury bioactivation of CCI4 by cytochrome P450 and effects on lipid homeostasis. *Z Naturforsch C* 2001; 56: 111-121 [PMID: 11302200]
27 Jeong WI, Lee CS, Park SJ, Chung JY, Jeong KS. Kinetics of macrophages, myofibroblasts and mast cells in carbon tetrachloride-induced rat liver cirrhosis. *Anticancer Res* 2002; 22: 869-877 [PMID: 12014664]
28 Henkel C, Roderfeld M, Weiskirchen R, Berres ML, Hillebrandt S, Lammert F, Meyer HE, Stühler K, Graf J, Roeb E. Changes of the hepatic proteome in murine models for toxically induced fibrogenesis and sclerosing cholangitis. *Proteomics* 2006; 6: 6538-6548 [PMID: 17109383]
29 马学惠. 肝纤维化动物模型的造作方法. 中华肝脏病杂志 1996; 4: 58-61
30 Ugazio G, Bosia S, Cornaglia E. Experimental model of cirrhosis in rabbits exposed to carbon tetrachloride by inhalation. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1995; 88: 63-77 [PMID: 7620839]
31 Krahenbuhl S, Weber FL, Brass EP. Decreased hepatic glycogen content and accelerated response to starvation in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 1991; 14: 1189-1195 [PMID: 1959869]
32 Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* 1982; 83: 1183-1190 [PMID: 7129027]
33 吴孟超, 杨广顺. 大鼠肝硬化模型复制的研究. 中华实验外科杂志 1994; 1: 146-148

■同行评价
本文立意新颖, 另辟蹊径证明了传统方法的优越性.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 80-85
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系

王 君, 何生松, 刘亚男, 张 盼, 姚景宏

■背景资料
在我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝细胞癌的最主要致病原因, 近年来发现HBV的x基因编码蛋白即乙型肝炎病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生和发展过程中发挥重要的作用. 钙离子是重要的细胞内第二信使, 参与细胞的多种生理病理过程. 本研究从内质网途径入手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制.

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科 湖北省武汉市 430022
王君, 在读博士, 主要从事病毒性肝炎与肝癌病因机制的研究.
国家自然基金资助项目, No. 81001063
作者贡献分布: 何生松与王君对此文所作贡献均等; 此课题设计由何生松与姚景宏完成; 研究过程由王君、刘亚男及张盼操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姚景宏与何生松提供; 数据分析及本论文写作由王君完成; 何生松审校.
通讯作者: 何生松, 教授, 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感染科.
shengshexiehe@sina.cn
收稿日期: 2013-09-28 修回日期: 2013-10-28
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein

Jun Wang, Sheng-Song He, Ya-Nan Liu, Pan Zhang, Jing-Hong Yao

Jun Wang, Sheng-Song He, Ya-Nan Liu, Pan Zhang, Jing-Hong Yao, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81001063
Correspondence to: Sheng-Song He, Professor, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. shengshexiehe@sina.cn
Received: 2013-09-28 Revised: 2013-10-28
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To determine whether HBx protein elevates the intracellular calcium through interacting with SOC components (STIM1 and Orai1).

METHODS: The pcDNA-Flag-HBx plasmid was transfected into HEK293 cells, and viability of transfected cells was determined by cell counting Kit-8 (CCK8). The interaction between SOC components and HBx protein was confirmed in co-immunoprecipitation (Co-IP) and immunofluorescence assays. Subsequent confocal microscopic analysis revealed that HBx protein also co-localizes with full-length STIM1 and Orai1 complexes in HEK293 cells following Ca^{2+} store depletion.

RESULTS: The results indicated that HBx protein interacts with the Orai1 in binding assays and this interaction may be modulated by the intracellular Ca^{2+} concentration.

CONCLUSION: HBx protein binds to STIM1-Orai1 complexes to positively regulate the activity of SOCs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: HBx protein; Hepatitis B virus; Orai1; Intracellular Ca^{2+}; Hepatocellular carcinoma

Wang J, He SS, Liu YN, Zhang P, Yao JH. Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 80-85 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/80.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.80

摘要

目的: 研究乙型肝炎病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制, 揭示乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导肝癌的可能途径.

方法: 培养HEK293细胞, 取第2代HEK293细胞转染pcDNA-HBx质粒, 培养12、24和48 h后, 细胞活力细胞毒性检测(cell counting kit-8, CCK-8)观察转染后细胞生长情况, Western blot检测HBx蛋白的表达情况, 当共同转染*HBx*基因、*Orai1*基因或*STIM1*基因后co-IP实验、免疫荧光检测观察细胞内蛋白结合情况.

结果: 转染pcDNA-HBx质粒后HBx蛋白可以在HEK293细胞高表达, 转染后的24 h后细胞增殖加快($P<0.05$), co-IP实验及免疫荧光检测结果均显示, HBx蛋白在细胞内可以与Orai1蛋白结合.

结论: HBx蛋白通过与细胞膜钙离子通道

Orai1结合, 来升高细胞内钙离子浓度, 从而影响细胞增殖等活性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乙型肝炎病毒x蛋白; Orai1蛋白; 乙型肝炎病毒; 钙离子; 肝癌

核心提示: 本研究首次发现在细胞内乙肝病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)蛋白可以与SOCs在细胞膜上的孔蛋白Orai1蛋白相互作用, 这可能是HBx蛋白通过内质网途径调节细胞内钙离子平衡的重要途径, 从而影响细胞生物活性, 加速肝细胞恶性转变.

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏. HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 80-85
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/80.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.80

0 引言

在我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的最主要致病原因, 绝大部分HCC患者合并有HBV感染[1]. HBV促进肝细胞恶变及侵袭、转移, HBV可以通过内质网应激, 增加细胞对缺氧耐受从而促进肿瘤细胞生长, 还可以通过干预细胞内钙离子平衡从而影响细胞生长, 参与肝癌的形成, 但是其具体作用机制尚不明确[2-4]. 乙肝病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)编码的HBx蛋白具有强大的恶性转化能力, 与肝细胞肝癌发生关系密切[5]. HBx蛋白是一种多功能蛋白, 可以调节细胞转录、蛋白降解、细胞胞浆钙离子信号、细胞周期及细胞的凋亡途径[4,6]. 钙离子是重要的细胞内第二信使, 参与细胞的多种生理病理过程[7]. 已有研究表明, 经通透性钙池调节离子通道SOCs进入细胞的钙离子对肝细胞系Huh-7和HepG2细胞的增殖发挥重要作用[8]. 我们发现, HBx在促进HBV复制及肝细胞增殖恶性转化过程中, 常首先激活钙离子信号, 引起细胞内钙离子浓度失稳, 但是HBx蛋白是如何调节细胞内钙离子机制目前还不清楚, 本研究从内质网途径入手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制.

1 材料和方法

1.1 材料 HEK293(ATCC, Manassas, USA); BL21(DE3)菌株、携带*HBx*全长基因的pcDNA-Flag-HBx质粒及pcDNA-GFP-HBx质粒、携带*Orai1*全长基因的pcDNA-HA-Orai1质粒、携带基质交互作用蛋白1(stromal interaction molecule-1, *STIM1*)全长基因的pcDNA-HA-STIM1质粒(从NIH神经实验室Prof. Lutz Birnbaumer处获得); 细胞培养基DMEM、6孔培养板、胎牛血清(Gibco公司); PBS(武汉博士德公司); 蛋白质marker(晶美生物有限公司); 胰蛋白酶、鼠单克隆HA抗体、羊抗鼠多克隆抗体、flag-beeds、HA-beeds、CY3标记的HA IgG(Sigma公司); ECL显色试剂盒(默克公司); 细胞活力细胞毒性检测(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒(碧云天生物技术研究所); Lipofectamine 2000(Invitrogen); 倒置相差显微镜(日本OLYMPUS); 激光共聚焦显微镜(日本OLYMPUS).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HEK293细胞使用10%胎牛血清的DMEM培养基培养, 待细胞贴壁生长达80%-90%融合度时, 细胞生长状态良好, 预热的PBS洗细胞, 弃去PBS; 用预热的胰蛋白酶消化细胞, 细胞脱落后, 加入含10%FBS培养液终止消化反应, 并将细胞悬液转入离心管中; 1000 r/min, 离心5 min, 去除上清; 加入10 mL DMEM培养液(含10%FBS), 重新悬浮细胞, 进行细胞计数, 将适当数量的细胞悬液转至6孔培养板中(细胞密度6×10^4个/mL); 置于37 ℃ 5%CO_2的培养箱中培养.

1.2.2 细胞转染: 在Lipofectamine 2000介导下, 将pcDNA-Flag-HBx、pcDNA-HA-Orai1、pcDNA-HA-STIM1及空载质粒转染或共转染HEK293细胞. 分别将需要共转染质粒各2.5 μg装入250 μL不含血清的DMEM培养基的1.5 mL Ep管中混匀. 将10 μL Lipofectamine 2000装入500 μL不含血清的DMEM培养基的1.5 mL Ep管中混匀, 将含2.5 μg质粒的无血清培养基分别和含有5 μL Lipofectamine 2000的无血清培养基250 μL混合, 轻轻混匀, 室温静置30 min. 将含有DNA和脂质体的液体小心加入换液后的每个培养孔中, 分散均匀, 置于37 ℃ 5%CO_2的培养箱孵育5 h后去除含脂质体复合物的培养基, 加入2 mL含10%血清的DMEM培养基, 置于37 ℃ 5%CO_2的培养箱中培养48 h.

1.2.3 细胞活性检测: CCK8检测转染后细胞增殖情况: 将转染后的第2代细胞接种到96孔板, 密度为2.5×10^3个/孔, 每孔设置4个复孔. 每孔加入

■**研发前沿**
已有实验研究发现HBx在促进HBV复制及肝细胞增殖恶性转化过程中, 常首先激活钙离子信号, 引起细胞内钙离子浓度失稳, 但是HBx蛋白是如何调节细胞内钙离子机制目前还不清楚, 需进一步研究.

■相关报道
目前研究表明HBx蛋白可以增加细胞内钙离子内流及促进细胞增殖, 而且HBx蛋白通过线粒体途径干扰细胞内钙离子平衡已经有报道.

100 μL细胞悬液, 后加入含胎牛血清10%培养液150 μL. 置于37.0 ℃、5%CO_2浓度和饱和湿度的培养箱中培养, 每24 h换液1次, 实验组为转染细胞组, 对照组(control)未转染细胞组. 分别在0、12、24、48 h, 每个时间点取出96孔板, 实验组对照组每次取6个孔, 加入细胞毒性/增殖检测试剂CCK-8 10 μL, 避光放入37.0 ℃培养箱中培养2 h, 取出用酶标仪测吸光度值, 激发光波长为450 nm. 每个时间点取出96孔板, 加入20 μL的CCK8试剂, 避光, 37 ℃孵育2 h, 后使用分光光度计450 nm检测吸光光度值, 根据吸光光度值确定存活的细胞个数, 并与对照组细胞增殖情况进行对比.

1.2.4 Western blot检测HBx蛋白的表达: 转染48 h后, 吸走培养孔中培养基, 用PBS洗涤2次, 加入预冷的细胞裂解液(含cocktail蛋白酶抑制剂)1 mL, 细胞刮收集细胞; 超声裂解细胞; 4 ℃, 8000 r/min, 离心15 min, 取上清, 水浴65 ℃ 5 min, 蛋白变性. 取适量表达蛋白样品上样后, 用12% SDS-PAGE电泳分离, 然后转印于PVDF膜上, 用含5%的脱脂奶粉TBST室温封闭蛋白印迹膜1 h, 加入一抗即鼠单克隆myc抗体, 4 ℃孵育过夜, 用TBST振摇洗涤3次, 10 min/次, 加入二抗即羊抗鼠IgG, 室温孵育2 h, 接着用TBST振摇洗涤3次, 10 min/次, 用ECL显色, 暗室胶片曝光显影.

1.2.5 免疫共沉淀: 转染48 h后收集细胞, 提取目的蛋白(具体操作同上). 取30 μL含有flag蛋白的琼脂糖珠(flag-beeds)或HA蛋白的琼脂糖珠(HA-beeds), 用预冷的RIPA buffer洗3遍, 12000 r/min, 离心1 min, 并用RIPA buffer配制成1∶1琼脂糖珠悬浮液. 将琼脂糖珠悬浮液加入到已收集的细胞裂解液中, 4 ℃层析柜旋转孵育4 h. 在4 ℃, 以12000 r/min, 离心3 min; 将上清小心吸去, 琼脂糖珠悬浮液用预冷的RIPA buffer洗3遍, 800 μL/遍; 最后加入35 μL 2×SDS上样缓冲液, 将上样样品水浴95 ℃ 5 min, 蛋白变性. 取适量表达蛋白样品上样后, 用10%的SDS-PAGE电泳分离, 然后转印于PVDF膜上, 用含5%的脱脂奶粉TBST室温封闭蛋白印迹膜1 h, 加入一抗即鼠单克隆HA抗体或flag抗体, 4 ℃孵育过夜. 用TBST振摇洗涤3次, 10 min/次, 加入二抗即羊抗鼠IgG, 室温孵育2 h, 接着用TBST振摇洗涤3次, 10 min/次, 用ECL显色, 暗室胶片曝光显影.

1.2.6 免疫荧光检测HBx蛋白在细胞内与Orai1蛋白结合: 取6孔板, 将其分为3组, 每组2孔. 每孔先放入细胞爬片, 用0.1 mg/mL多聚赖氨酸包被各孔. 3组每孔均接种HEK293细胞悬液2 mL(细胞密度6×10^4个/mL), 置于37 ℃、5%CO_2细胞培养箱培养, 待细胞贴壁生长达80%时, 分别用pcDNA-GFP-HBx、pcDNA-HA-Orai、pcDNA-GFP-EV质粒共转染HepG2细胞. 转染48 h后, 吸走培养基, 用PBS轻柔的洗涤1次, 将细胞爬片用4%多聚甲醛固定15 min; 室温下, 用PBS洗涤3次, 10 min/次; 加入0.1%Triton X-100破膜3 min; 再次用PBS洗涤3次, 10 min/次; 用10%牛血清(BSA)封闭30 min, 300 μL/孔; 吸出多余封闭血清, 用PBS轻柔的洗涤1遍, 加入由PBS稀释的CY3标记的HA IgG(1∶100), 100 μL/孔, 室温避光孵育12 h; 用PBS洗涤3次, 10 min/次; 取出细胞爬片甘油封片后于激光共聚焦显微镜下观察, 并拍照保存, 红色荧光为Orai1蛋白表达, 绿色荧光为HBx蛋白表达, 黄色荧光为细胞内HBx蛋白与Orai1蛋白的结合.

统计学处理 采用SPSS12统计软件处理数据, 测定结果均以mean±SD表示, 两组数据间使用配对t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞培养与转染 培养HEK293细胞, 采用脂质体Lipofectamine 2000方法转染细胞, 24 h用显微镜观察细胞生长情况, 观察结果显示转染后的细胞生长良好(图1).

2.2 细胞活性检测 使用pcDNA-HBx质粒转染HEK293细胞后, 使用CCK8试剂观察细胞的活性, 结果显示24、48 h, 实验组与对照组相比吸光度值均明显增高(P<0.05), 显示转染pcDNA-HBx质粒后HEK293细胞增殖明显加快(图2).

2.3 HBx蛋白表达 pcDNA-HBx或者pcDNA质粒转染HEK293细胞24 h后, 并且HBx蛋白使用myc标记, 收集HEK293细胞通过Western blot检测结果显示细胞内可以表达HBx蛋白, 对照组无表达(图3).

2.4 体内检测免疫共沉淀检测 为检测HBx蛋白如何通过内质网调节细胞内钙离子, 收集HEK293细胞蛋白, 进行co-IP实验, 验证Orai1或者STIM1蛋白是否可以HBx蛋白结合, co-IP实验结果示, 共转染HA标记的*Orai1*基因, HA标记的*STIM1*基因及Flag标记的*HBx*基因到HEK293细胞, 使用co-IP技术HA标记的Orai1蛋白可以与Flag标记的HBx蛋白免疫共沉淀(图4), 表明Orai1-HBx在HEK293细胞内可以发生聚合, Orai1蛋白可以直接与HBx蛋白结合. 而对照组

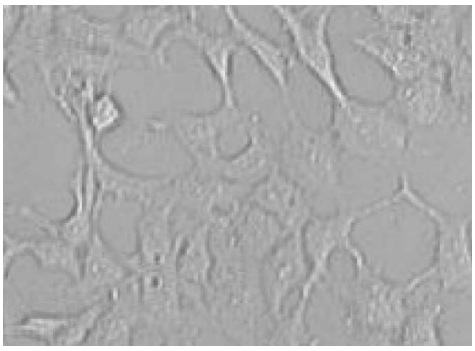


图 1 转染24 h后HEK293细胞生长情况.

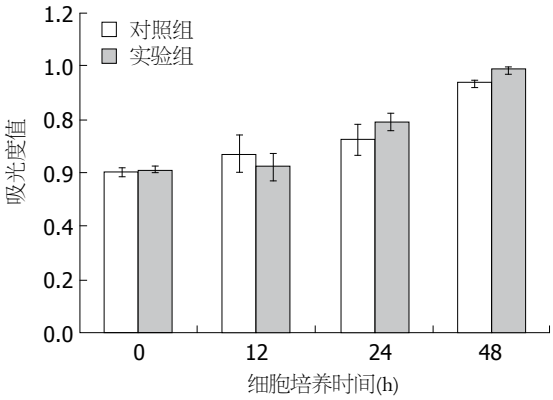


图 2 转染后HEK293细胞活性检测.

HA标记的STIM蛋白不与HBx蛋白发生免疫共沉淀, 因此结果显示在细胞内HBx蛋白可以与Orai1蛋白形成异二聚体, 从而影响细胞内钙离子的平衡.

2.5 免疫荧光检测HBx蛋白在细胞内与Orai1蛋白结合 pcDNA-GFP-HBx或者pcDNA-HA-Orai1质粒转染HEK293细胞后, 48 h后收集细胞进行免疫荧光染色, 后通过激光共聚焦显微镜观察细胞(图5), 结果显示: GFP标记的HBx蛋白主要在细胞浆表达, 细胞核也有少量表达, 为绿色, HA-Orai1蛋白使用cy3标记的二抗, 主要在细胞膜表达, 为红色, 阳性细胞即细胞内*HBx*基因表达蛋白与细胞内的Orai1蛋白结合的细胞细胞内为黄色, 阴性细胞为红色或绿色(即二者蛋白无结合). 用过激光共聚焦软件分析显示阳性细胞数为46个, 对照组细胞内无相关蛋白表达.

3 讨论

HBV复制与肝癌的发生密切相关, Hbx蛋白是HBV的核心蛋白, 他是一种多功能蛋白, 可以调节细胞转录、蛋白降解、细胞浆钙离子信号、细胞周期及细胞的凋亡途径, 其中调节细胞浆

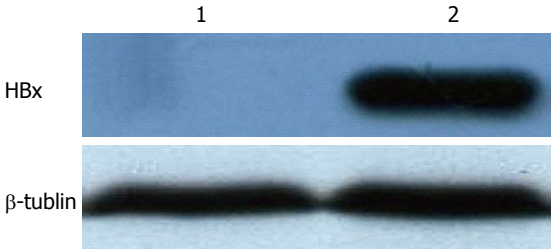


图 3 HBx蛋白在HEK293中表达. 1: 转染myc-EV; 2: 转染myc-HBx.

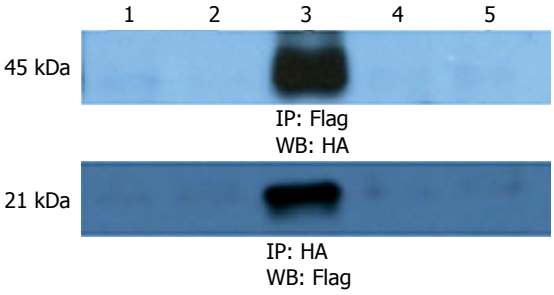


图 4 co-IP实验验证Orai 1蛋白与HBx蛋白相互作用情况. 1: Flag-HBx+HA-EV; 2: Flag-EV+HA-orail; 3: Flag-HBx+HA-orail; 4: Flag-HBx+HA-STIM1; 5: Flag-EV+HA-STIM1.

钙离子信号、蛋白酶体的活性等与HBV复制及肝细胞增殖密切相关, 但是HBx蛋白是如何干预细胞内钙离子平衡来调节细胞增殖从而影响HBV复制, 具体机制不清.

目前研究显示HBx蛋白可以增加细胞内钙离子及促进细胞增殖[9,10], 而且HBx蛋白通过线粒体途径干扰细胞内钙离子平衡已有报道[11], 但是内质网做为细胞钙离子储存库, 可以调节及维持细胞内钙离子平衡[12]. 为明确HBx蛋白经如何通过内质网相关途径调节细胞内钙离子平衡的, 本课题组从内质网钙离子调节关键蛋白Orai1及STIM1入手, 探讨HBx蛋白调节细胞内钙离子平衡机制. Orai1蛋白是钙离子释放激活的钙离子通道(CRAC通道)重要的亚单位, 对存储调控性钙离子内流(store-operated calcium entry, SOCE)起着关键性作用[13]. STIM1为内质网Ca^{2+}浓度感受器, Orail是SOCs在细胞膜上的孔蛋白, 同时发现Orai1与STIM1的联合作用可以大大提高SOCE和CRAC通道的活性[14,15]. Oh等[16]研究表明, HBx能升高细胞内钙离子浓度, 激活细胞信号通道, 促进细胞增殖. 我们研究发现, Western blot检测转染后细胞内HBx蛋白的表达情况, 结果显示转染后的HEK293细胞可以表达HBx蛋白. co-IP实验证实在细胞内HBx蛋

■创新盘点

做为细胞钙离子储存库的内质网, 在调节及维持细胞内钙离子平衡方面起着重要作用. 但HBx蛋白如何通过内质网相关途径调节细胞内钙离子平衡却鲜有报道, 本课题组从内质网钙离子调节关键蛋白Orai1及STIM1入手, 探讨HBx蛋白调节细胞内钙离子平衡机制.

■应用要点
本研究从内质网着手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子的具体分子途径，揭示HBV诱导HCC的可能途径，为肝癌研究提供新的研究方向.

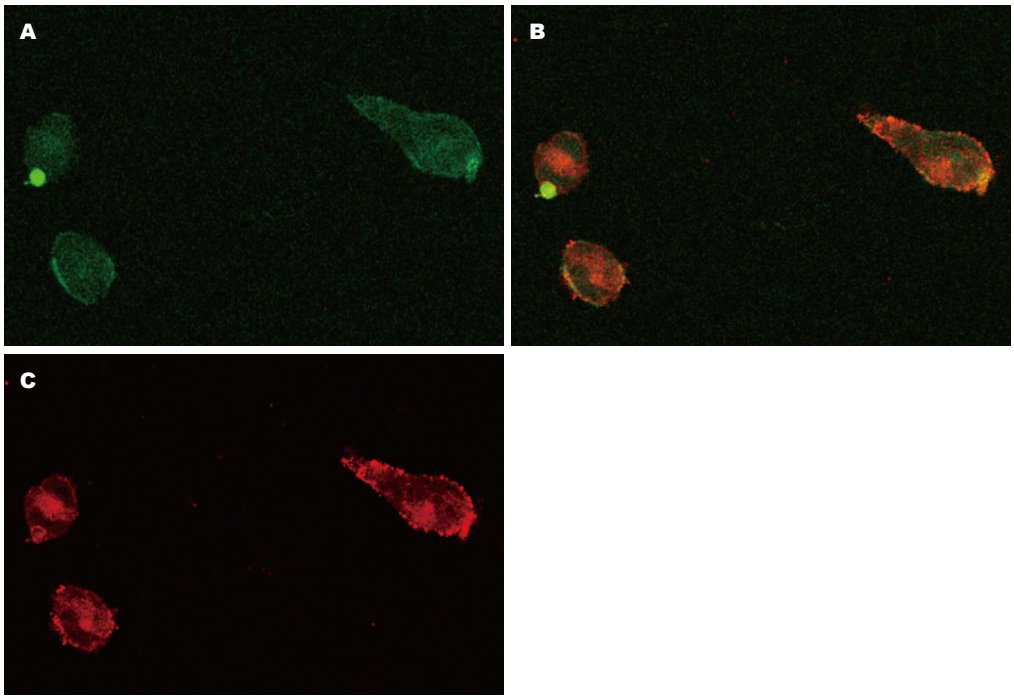


图 5 激光共聚焦显微镜检测HBx蛋白与Orai1蛋白在HEK293细胞内表达情况(×400). A: HBx蛋白在细胞内表达; B: HBx蛋白与Orai1蛋白在细胞内相互结合; C: Orai1蛋白在细胞内表达.

白可以与Orai1蛋白形成异二聚体，该结果显示在细胞内HBx蛋白可以与SOCs在细胞膜上的孔蛋白Orai1蛋白相互作用. 因此HBx蛋白与Orai1蛋白结合可能是HBx蛋白通过内质网途径调节细胞内钙离子平衡的重要途径，从而影响细胞生物活性. 免疫荧光检测再次证明在细胞内HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合，从而影响细胞内钙离子平衡. 此实验结果与之前研究HBx蛋白通过线粒体途径调节细胞内钙离子平衡有所不同，Gearhart等[11]研究发现HBx蛋白可以通过线粒体途径调节细胞内钙离子平衡，影响细胞的生理活性. CCK8检测显示HEK293细胞转染HBx质粒后，细胞增殖加速，此结果可能与HBx蛋白与Orai1蛋白相互作用，升高细胞内钙离子，加快细胞增殖有关. 其中转染后12 h，细胞数较对照组减少，可能与转染时加入Lipofectamine 2000有关. 此结果与Yang等[17]研究相似，与HBV感染后可能导致癌症形成有关.

本研究从内质网着手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子的具体分子途径，首次提出HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合干预细胞内钙离子平衡，从而调节细胞增殖等生物活性，可能与癌症形成有关，但是HBx蛋白与Orai1蛋白结合的具体部位，及二者结合后对细胞内钙离子平衡的影响等目前还不清楚，还需继续研究.

4 参考文献

1 Kew MC. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 144-152 [PMID: 21199526 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x]
2 Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25: 142-163 [PMID: 22232374 DOI: 10.1128/CMR.00018-11]
3 Azam F, Koulaouzidis A. Hepatitis B virus and hepatocarcinogenesis. *Ann Hepatol* 2008; 7: 125-129 [PMID: 18626429]
4 Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 138-142 [PMID: 19784739 DOI: 10.1007/s00795-009-0457-8]
5 Ng SA, Lee C. Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 974-990 [PMID: 21647825 DOI: 10.1007/s00535-011-0415-9]
6 Rawat S, Clippinger AJ, Bouchard MJ. Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses* 2012; 4: 2945-2972 [PMID: 23202511 DOI: 10.3390/v4112945]
7 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca2+通道的激活机制研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1873-1880
8 El Boustany C, Bidaux G, Enfissi A, Delcourt P, Prevarskaya N, Capiod T. Capacitative calcium entry and transient receptor potential canonical 6 expression control human hepatoma cell proliferation. *Hepatology* 2008; 47: 2068-2077 [PMID: 18506892 DOI: 10.1002/hep.22263]
9 Feitelson MA, Lee J. Hepatitis B virus integration, fragile sites, and hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2007; 252: 157-170 [PMID: 17188425]
10 Gearhart TL, Bouchard MJ. The hepatitis B virus

X protein modulates hepatocyte proliferation pathways to stimulate viral replication. *J Virol* 2010; 84: 2675-2686 [PMID: 20053744 DOI: 10.1128/JVI.02196-09]
11 Gearhart TL, Bouchard MJ. Replication of the hepatitis B virus requires a calcium-dependent HBx-induced G1 phase arrest of hepatocytes. *Virology* 2010; 407: 14-25 [PMID: 20719353 DOI: 10.1016/j.virol.2010.07.042]
12 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca通道研究中工具药的应用及进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 231-234
13 Hoover PJ, Lewis RS. Stoichiometric requirements for trapping and gating of Ca2+ release-activated Ca2+ (CRAC) channels by stromal interaction molecule 1 (STIM1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 13299-13304 [PMID: 21788510 DOI: 10.1073/pnas.1101664108]
14 Numaga-Tomita T, Putney JW. Role of STIM1- and Orai1-mediated Ca2+ entry in Ca2+-induced epidermal keratinocyte differentiation. *J Cell Sci* 2013; 126: 605-612 [PMID: 23203806 DOI: 10.1242/jcs.115980]
15 Wu MM, Buchanan J, Luik RM, Lewis RS. Ca2+ store depletion causes STIM1 to accumulate in ER regions closely associated with the plasma membrane. *J Cell Biol* 2006; 174: 803-813 [PMID: 16966422]
16 Oh JC, Jeong DL, Kim IK, Oh SH. Activation of calcium signaling by hepatitis B virus-X protein in liver cells. *Exp Mol Med* 2003; 35: 301-309 [PMID: 14508071]
17 Yang N, Tang Y, Wang F, Zhang H, Xu D, Shen Y, Sun S, Yang G. Blockade of store-operated Ca(2+) entry inhibits hepatocarcinoma cell migration and invasion by regulating focal adhesion turnover. *Cancer Lett* 2013; 330: 163-169 [PMID: 23211538 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.040]

■同行评价
本文首次提出HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合干预细胞内钙离子平衡, 从而影响细胞增殖等生物活性, 提示了乙型肝炎病毒与肝癌发生之间新的关系.

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 2014年1月8日; 22(1): 86-90
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

Sirtinol对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU敏感性的影响

张军港, 石 英, 王知非, 洪德飞

■背景资料
沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种依赖于NAD+的III型组蛋白去乙酰化酶, 在细胞对抗衰老及凋亡中发挥重要作用. SIRT1在多种肿瘤细胞表达上调, 调控癌细胞的生物学行为, 同时与胰腺癌病理特征密切相关. 可见SIRT1是胰腺癌靶向治疗的有效靶点.

张军港, 王知非, 洪德飞, 浙江省人民医院肝胆胰外科 浙江省杭州市 310014
石英, 浙江省人民医院妇产科 浙江省杭州市 310014
张军港, 医师, 主要从事肝胆胰外科的相关研究.
作者贡献分布: 本课题由洪德飞与张军港共同设计; 研究过程由石英与王知非完成; 统计数据由王知非提供; 本论文写作由洪德飞与张军港完成.
通讯作者: 洪德飞, 教授, 310014, 浙江省杭州市下城区上塘路158号, 浙江省人民医院肝胆胰外科. hongdefi@163.com
电话: 0571-85893396
收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-11-04
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Effects of Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells

Jun-Gang Zhang, Ying Shi, Zhi-Fei Wang, De-Fei Hong

Jun-Gang Zhang, Zhi-Fei Wang, De-Fei Hong, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China
Ying Shi, Department of Obstetrics and Gynecology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China
Correspondence to: De-Fei Hong, Professor, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Zhejiang Provincial People's Hospital, 158 Shangtang Road, Xiacheng District, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China. hongdefi@163.com
Received: 2013-10-21 Revised: 2013-11-04
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract
AIM: To investigate the effects of SIRT1 specific inhibitor Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells.

METHODS: PANC-1 cells were treated with 25, 50 and 100 μmol/L Sirtinol for 48 h. The expression levels of SIRT1 were measured by Western blot. Cell proliferation was detected by MTT assay. Cell apoptosis was detected by flow cytometry (FCM). 5-FU chemosensitivity was measured by MTT assay.

RESULTS: Sirtinol obviously decreased the expression of SIRT1, inhibited cell proliferation and induced cell apoptosis in a dose-dependent manner. Moreover, compared with Sirtinol alone (A = 0.546 ± 0.020) or 5-FU alone (A = 0.526 ± 0.023), Sirtinol combined with 5-FU more significantly inhibited the proliferation of PANC-1 cells (A = 0.251 ± 0.017, both P < 0.01).

CONCLUSION: Sirtinol could induce cell proliferation inhibition and apoptosis, and enhance anti-cancer effects of chemotherapy on PANC-1 cells possibly *via* mechanisms associated with down-regulating SIRT1 expression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Sirtinol; 5-fluorouracil; Proliferation; Apoptosis

Zhang JG, Shi Y, Wang ZF, Hong DF. Effects of Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 86-90 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/86.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.86

摘要
目的: 探讨沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)去乙酰化酶抑制剂Sirtinol体外应用对胰腺癌PNAC-1细胞增殖和5-FU化疗敏感的影响.

方法: 应用不同浓度的Sirtinol(25, 50和100 μmol/L)处理PNAC-1细胞48 h, Western blot测定SIRT1表达的变化情况, MTT法检测PANC-1细胞增殖变化, 流式细胞术观察细胞凋亡变化, MTT法检测Sirtinol对5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)化疗敏感性的变化.

结果: Sirtinol显著降低SIRT1的表达量, 明显抑制了PANC-1细胞的增殖, 促进了凋亡, 且呈浓度依赖性. 与Sirtinol(A = 0.546±0.020)或5- FU(A = 0.526±0.023)单药作用相比, 两药联合应用可显著降低PANC-1细胞的增殖(A = 0.251±0.017, P<0.01).

结论: Sirtinol通过下调SIRT1表达可抑制胰腺

■同行评议者
潘阳林, 副教授, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

癌细胞增殖和促进其凋亡, 同时增强化疗药5-FU敏感性, 这为胰腺癌的化疗提供了一种新的方案.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺癌; Sirtinol; 5-氟尿嘧啶; 增殖; 凋亡

核心提示: 沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)信号通路与胰腺癌密切相关, 设计合成SIRT1特异性的抑制剂可以沉默SIRT1基因, 有效抑制胰腺癌细胞生长, 促进胰腺癌细胞的凋亡, 增强化疗药物的敏感性, 为分子靶向阻断SIRT1信号通路治疗胰腺癌奠定了基础.

张军港, 石英, 王知非, 洪德飞. Sirtinol对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU敏感性的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 86-90 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/86.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.86

0 引言

化疗是治疗胰腺癌最主要的辅助手段之一, 但不论是单药化疗还是联合化疗, 肿瘤对化疗药物的反应率都不高[1], 因此寻找新的靶点进行干预以增强化疗的效果是胰腺癌治疗研究的关键点之一. 沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种依赖于NAD^+的III型组蛋白去乙酰化酶, 作为代谢应激感受因子, 在细胞对抗衰老及凋亡中发挥重要作用[2-4]. 最近研究发现, SIRT1在多种肿瘤细胞表达上调, 下调SIRT1的活性可抑制肿瘤的增殖[5,6], 我们前期的研究结果表明SIRT1在胰腺癌中高表达, 这种表达趋势与胰腺癌患者的年龄、肿瘤大小、TNM分期、淋巴结侵袭和远处转移密切相关[7]. 但SIRT1抑制剂在胰腺癌细胞的作用尚未明确. 本研究设想通过应用SIRT1抑制剂Sirtinol, 观察胰腺癌细胞增殖及凋亡改变; 进一步联合应用5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU), 初步探讨以SIRT1为干预靶点对于5-FU化疗的增敏效应.

1 材料和方法

1.1 材料 Sirtinol、5-FU、MTT、PMSF及二甲基亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO)购自Sigma-Aldrich Chemical Company, Sirtinol用DMSO溶解, 配制成浓度为100 mmol/L储存液, -20 ℃避光保存, 胎牛血清、RPMI 1640购自美国Gibco BRL公司; 兔抗人SIRT1和GAPDH第一抗体购自美国Santa Cruz公司; 辣根过氧化物酶结合的第二抗体、免疫细胞化学试剂购自武汉博士德公司; 凋亡检测试剂盒(ANT0002)购自Antgene公司; RIPA裂解液、ECL发光试剂盒购自Beyotime公司; 胰腺细胞系PANC-1购自中国科学院上海细胞库.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 胰腺癌PANC-1细胞用含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 置于37 ℃、5%CO_2饱和湿度的CO_2培育箱下常规培养.

1.2.2 Western blot检测SIRT1蛋白变化: 各组细胞培养48 h后, 提取细胞总蛋白. 总蛋白提取参照Beyotime公司提取方法进行. 分别将相同含量的蛋白样品和2×蛋白上样缓冲液等体积混合, 100 ℃水中煮沸5 min使蛋白变性, 10%SDS-PAGE电泳后电转移至硝酸纤维素膜上, 5 g/L脱脂奶粉封闭后, 加入1∶500稀释的第一抗体, 4 ℃孵育过夜, TBS漂洗膜后, 加入1∶2000稀释的第二抗体, 室温90 min, TBS漂洗膜后, ECL增强发光, X线曝光5 min. 以GAPDH蛋白作内参照, Bandscan图像分析软件进行光密度积分值分析.

1.2.3 MTT法细胞增殖抑制的测定: 取对数生长期细胞, 消化后计数, 按每孔5×10^3个接种于96孔培养板中贴壁生长后, 无血清培养细胞24 h, 使细胞同步化, 不同浓度Sirtinol(100 μmol/L)或Sirtinol(100 μmol/L)联合5-FU(50 μg/mL)处理细胞48 h, 阴性对照组无药物作用, 各组DMSO体积分数不超过0.1%. 然后每孔加入浓度为5 mg/mL的MTT 20 μL, 37 ℃孵育4 h后, 小心吸除培养液, 再加入DMSO 200 μL, 混匀后用酶标仪测定570 nm处吸收度(A)值. 每检测点取6个平行孔的平均值, 绘制图, 实验重复3次, 观察药物对细胞生长的抑制作用.

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡变化: 细胞以每孔4×10^5个接种于6孔板中, 各组处理细胞48 h后, 收集细胞, 制成单细胞悬液, 消化收集经药物处理过的细胞制成细胞悬液, 按检测试剂盒的说明书(ANT0002)操作, 经药物处理后的细胞, 用带有荧光素FITC的Annexin V和PI同时染色后, 2 h内用流式细胞仪检测. 细胞发生凋亡时, 位于细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸外翻, 由于Annexin-V能特异地与磷脂酰丝氨酸结合, 根据结合量的变化可反映凋亡细胞的百分率.

统计学处理 应用统计学软件SPSS13.0进行统计学分析, 数据经方差齐性检验, 符合正态分

■研发前沿
胰腺癌高度耐药, 寻找新的靶点进行干预以增强化疗的效果是胰腺癌治疗研究的热点. SIRT1与胰腺癌耐药密切相关, 寻求沉默SIRT1的有效抑制剂或分子生物学技术是当前亟待解决的问题.

■相关报道
研究报道SIRT1在人乳腺癌，肺癌和胰腺癌细胞中高表达. Keitaro等发现siRNA干扰SIRT1的表达增强了前列腺癌细胞对化疗的敏感性. Chu等发现ShRNA干扰SIRT1能逆转多种肿瘤的耐药性.

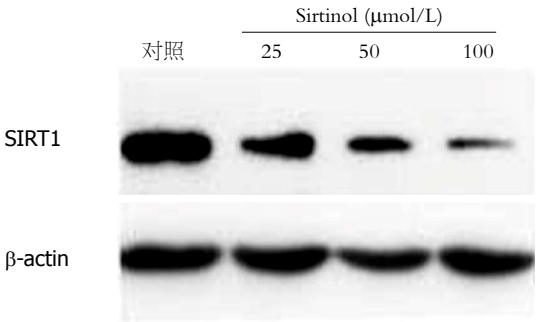


图 1 Sirtinol对PANC-1细胞SIRT1蛋白的影响. SIRT1: 沉默信息调节因子-1.

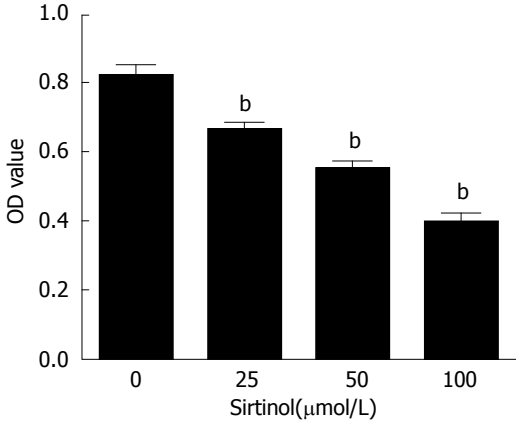


图 2 Sirtinol对人胰腺癌PANC-1细胞增殖的影响. $^{b}P<0.01$ *vs* 0 μmol/L.

布, 以数据以mean±SD表示, 组间比较采用*t*检验, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 Sirtinol对PANC-1细胞SIRT1蛋白的影响 我们采用Western blot的方法, 结果发现不同浓度Sirtinol(25、50、100 μmol/L)作用PANC-1细胞48 h后, SIRT1蛋白的表达明显下降, 且成浓度依赖性, 差异具有显著性($P<0.05$)(图1).

2.2 Sirtinol对PANC-1细胞增殖影响 不同浓度Sirtinol作用PANC-1细胞48 h后, 采用MTT法检测其增殖情况. 结果显示, 不同药物组(25、50、100 μmol/L)与对照组(A = 0.816±0.034)相比, 细胞增殖率分别明显降低(A = 0.663±0.025, 0.546±0.029, 0.396±0.027), 有显著差异($P<0.01$)(图2).

2.3 Sirtinol对PANC-1细胞凋亡的影响 不同浓度Sirtinol作用PANC-1细胞48 h后, 采用流式细胞术检测细胞凋亡变化. 结果显示, 与对照组(2.70%±0.42%)相比, 25、50和100 μmol/L的Sirtinol引起的细胞凋亡率明显增加(4.85%±0.50%, 7.95%±0.35%和11.05%±0.64%), 差异非常具有显著性($P<0.05$)(图3).

2.4 Sirtinol对PANC-1细胞5-FU化疗敏感性的影响 5-FU(25 μg/mL)、Sirtinol(50 μmol/L)以及Sirtinol联合5-FU作用PANC-1细胞48 h后, 细胞增殖A值分别为0.526±0.023、0.546±0.020、0.251±0.017, 明显低于对照组(0.816±0.034, $P<0.01$), 并且Sirtinol联合5-FU后细胞增殖率也明显低于Sirtinol或5-FU($P<0.01$)(图4).

3 讨论

SIRT1是与酵母菌长寿基因*SIR2*(silent information regulator 2)同源的基因, 主要分布在细胞核中, 其功能是催化在蛋白赖氨酸ε位上的去乙酰化, 调控细胞增殖、凋亡、衰老等过程[8,9]. 多项研究提示SIRT1与肿瘤发生发展密切相关, 但其确切作用则尚未明确. Wang等[10]研究发现SIRT1在胶质母细胞瘤、膀胱癌及卵巢癌中的表达明显低于正常组织, 提出SIRT1可能是抑癌因子. Firestein等[11]证实在老鼠的结肠癌模型中, 通过热量限制在增加SIRT1表达的同时抑制了肿瘤的增殖. 而与此相反, Huffman等[12]研究发现人类前列腺癌组织中的SIRT1表达量比邻近的正常组织表达量高很多, 指示SIRT1可能是一种促癌基因. 同时Ota等[6]观察到发现下调SIRT1表达可以抑制人乳腺癌和肺癌细胞增殖. 我们前期的研究结果表明SIRT1在胰腺癌中高表达, 使用ShRNA干扰SIRT1表达可以抑制胰腺癌细胞增殖[7]. 本研究观察到应用SIRT1抑制剂Sirtinol作用胰腺癌PANC-1细胞株后, SIRT1的表达明显下降, 细胞增殖明显受到抑制而凋亡率增加, 进一步提示SIRT1可能在胰腺癌中发挥促癌作用. 上述多个研究结果的不一致性, 提示SIRT1的具体作用可能有肿瘤异质性.

SIRT1通过P53的去乙酰化来阻止DNA损伤后P53依赖的CDKN1A(编码P21)和BAX的反式激活, 对调控细胞增殖和凋亡起关键的作用[13]. 人类SIRT1的过度表达会通过阻断p53的乙酰化阻断细胞的衰老凋亡[14]. 本研究中应用流式细胞术观察到PANC-1细胞应用Sirtinol后凋亡率显著增加, 同时Western blot检测到应用Sirtinol后细胞SIRT1表达显著降低, 表明Sirtinol抑制PANC-1细胞增殖机制与下调SIRT1表达从而促进细胞凋亡密切相关.

本研究前期结果证实Sirtinol可抑制SIRT1表达从而促进胰腺癌细胞凋亡, 而胰腺癌细胞

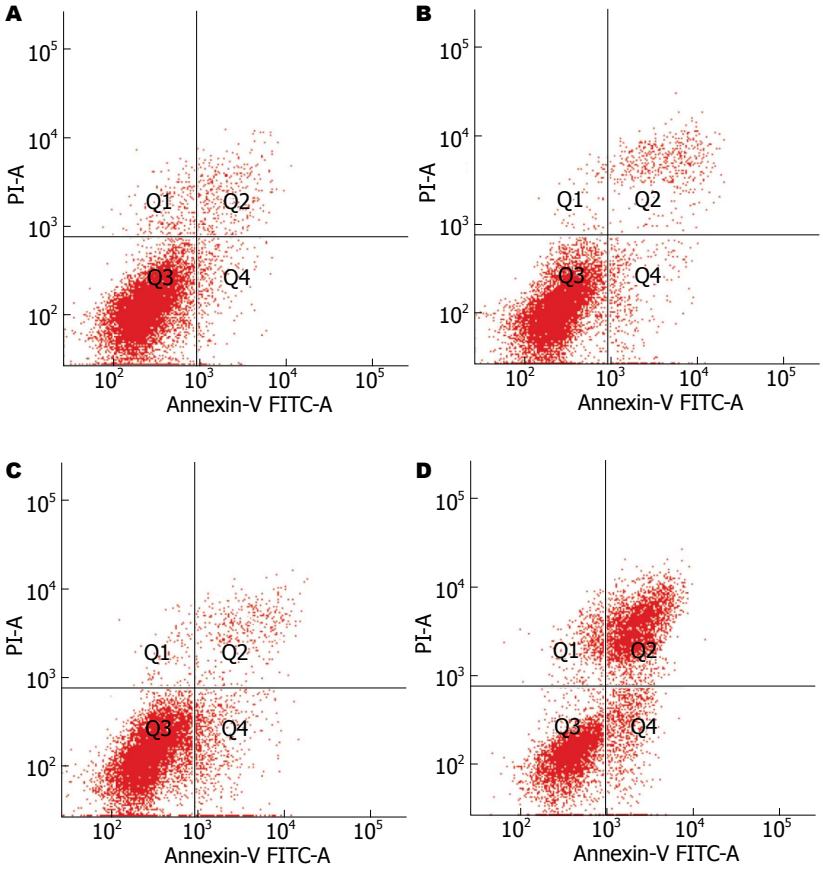


图 3 Sirtinol对PANC-1细胞凋亡的影响. A: 对照组; B: 25 μmol/L; C: 50 μmol/L; D: 100 μmol/L.

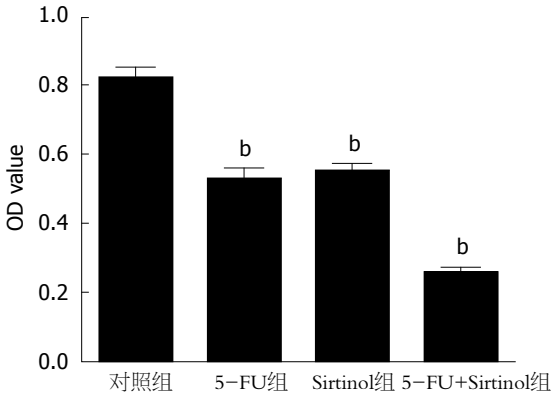


图 4 Sirtinol对PANC-1细胞5-FU化疗敏感性的影响. $^{b}P<0.01$ *vs* 对照组.

耐药与凋亡信号密切相关, 因而本研究进一步观察了Sirtinol与5-FU的联合作用. 结果显示, Sirtinol联合5-FU对胰腺癌细胞增殖抑制效应较单独应用Sirtinol和5-FU更为显著, 进一步抑制癌细胞增殖, 表明Sirtnol增加了5-FU化疗敏感性. 与此相似, Kojima等[15]研究发现siRNA干扰技术下调SIRT1的表达, 可能通过诱导凋亡增强了PC3和DU145细胞对喜树碱和顺铂的敏感性. Chu等[16]等发现ShRNA干扰SIRT1能逆转多种肿瘤的耐药性, 其机制是通过降低耐药基因P-glycoprotein的表达. 上述研究结果提示, SIRT1可以作为具有化疗增敏作用的潜在靶点, 其机制可能是通过诱导凋亡通路或降低耐药相关基因, 有待于进一步研究.

本研究结果表明SIRT1可能是胰腺癌的促癌因子, 使用SIRT1抑制剂Sirtinol抑制SIRT1表达可抑制胰腺癌细胞增殖促进凋亡, 同时可通过抑制SIRT1发挥化疗增敏作用, 提高胰腺癌化疗效果.

■创新盘点

本研究利用SIRT1抑制剂Sirtinol抑制SIRT1表达, 体外研究SIRT1与胰腺癌细胞增殖, 凋亡及5-FU化疗敏感性的关系, 该结果为胰腺癌的化疗提供了一种新的方案.

4 参考文献

1 Berlin JD, Rothenberg ML. Chemotherapeutic advances in pancreatic cancer. *Curr Oncol Rep* 2003; 5: 219-226 [PMID: 12667419 DOI: 10.1007/s11912-003-0113-8]

2 Portmann S, Fahrner R, Lechleiter A, Keogh A, Overney S, Laemmle A, Mikami K, Montani M, Tschan MP, Candinas D, Stroka D. Antitumor effect of SIRT1 inhibition in human HCC tumor models in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2013; 12: 499-508 [PMID: 23339189 DOI: 10.1158/1535-7163]

3 Kozako T, Aikawa A, Shoji T, Fujimoto T, Yoshimitsu M, Shirasawa S, Tanaka H, Honda S, Shimeno H, Arima N, Soeda S. High expression of the longevity gene product SIRT1 and apoptosis induc-

■同行评价
本文选题有一定的价值，设计合理，研究结果较为丰富，结论可靠.

tion by sirtinol in adult T-cell leukemia cells. *Int J Cancer* 2012; 131: 2044-2055 [PMID: 22322739 DOI: 10.1002/ijc.27481]

4 Saunders LR, Verdin E. Sirtuins: critical regulators at the crossroads between cancer and aging. *Oncogene* 2007; 26: 5489-5504 [PMID: 17694089 DOI: 10.1038/sj.onc.1210616]

5 Wang J, Kim TH, Ahn MY, Lee J, Jung JH, Choi WS, Lee BM, Yoon KS, Yoon S, Kim HS. Sirtinol, a class III HDAC inhibitor, induces apoptotic and autophagic cell death in MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Oncol* 2012; 41: 1101-1109 [PMID: 22751989 DOI: 10.3892/ijo.2012.1534]

6 Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Ouchi Y, Kaneki M. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene* 2006; 25: 176-185 [PMID: 16170353 DOI: 10.1038/sj.onc.1209049]

7 Zhao G, Cui J, Zhang JG, Qin Q, Chen Q, Yin T, Deng SC, Liu Y, Liu L, Wang B, Tian K, Wang GB, Wang CY. SIRT1 RNAi knockdown induces apoptosis and senescence, inhibits invasion and enhances chemosensitivity in pancreatic cancer cells. *Gene Ther* 2011; 18: 920-928 [PMID: 21677689 DOI: 10.1038/gt.2011.81]

8 Liu T, Liu PY, Marshall GM. The critical role of the class III histone deacetylase SIRT1 in cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 1702-1705 [PMID: 19244112 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3365]

9 Chung S, Yao H, Caito S, Hwang JW, Arunachalam G, Rahman I. Regulation of SIRT1 in cellular functions: role of polyphenols. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501: 79-90 [PMID: 20450879 DOI: 10.1016/j.abb.2010.05.003]

10 Wang RH, Sengupta K, Li C, Kim HS, Cao L, Xiao C, Kim S, Xu X, Zheng Y, Chilton B, Jia R, Zheng ZM, Appella E, Wang XW, Ried T, Deng CX. Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice. *Cancer Cell* 2008; 14: 312-323 [PMID: 18835033 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.09.001]

11 Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, Bhimavarapu A, Luikenhuis S, de Cabo R, Fuchs C, Hahn WC, Guarente LP, Sinclair DA. The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PLoS One* 2008; 3: e2020 [PMID: 18414679 DOI: 10.1371/journal.pone.0002020]

12 Huffman DM, Grizzle WE, Bamman MM, Kim JS, Eltoum IA, Elgavish A, Nagy TR. SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 6612-6618 [PMID: 17638871]

13 Tang Y, Zhao W, Chen Y, Zhao Y, Gu W. Acetylation is indispensable for p53 activation. *Cell* 2008; 133: 612-626 [PMID: 18485870 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.025.]

14 Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S, Pelicci PG, Kouzarides T. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J* 2002; 21: 2383-2396 [PMID: 12006491 DOI: 10.1093/emboj/21.10.2383]

15 Kojima K, Ohhashi R, Fujita Y, Hamada N, Akao Y, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. A role for SIRT1 in cell growth and chemoresistance in prostate cancer PC3 and DU145 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 423-428 [PMID: 18573234 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.045]

16 Chu F, Chou PM, Zheng X, Mirkin BL, Rebbaa A. Control of multidrug resistance gene mdr1 and cancer resistance to chemotherapy by the longevity gene sirt1. *Cancer Res* 2005; 65: 10183-10187 [PMID: 16288004]

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 2014年1月8日; 22(1): 91-95
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

进展期胃癌应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂3周方案新辅助化疗的临床效果

李 涛, 梁美霞, 冯道夫, 袁 静, 郭 旭, 李 婷, 陈 凛

李涛, 梁美霞, 冯道夫, 李婷, 陈凛, 中国人民解放军总医院普通外科 北京市 100853
袁静, 中国人民解放军总医院病理科 北京市 100853
郭旭, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853
冯道夫, 李婷, 南开大学医学院 天津市 300071
李涛, 主治医师, 主要从事胃癌的临床与基础研究.
作者贡献分布: 课题设计由李涛完成; 课题执行由梁美霞完成; 数据分析由冯道夫与李婷完成; 病理学分析由袁静完成; 郭旭参与内镜评估; 本课题由陈凛指导.
通讯作者: 陈凛, 主任医师, 教授, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院普通外科. chenlinbj@vip.sina.com
电话: 010-66938328
收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-11-13
接受日期: 2013-11-26 在线出版日期: 2014-01-08

Efficacy of S-1 and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer

Tao Li, Mei-Xia Liang, Dao-Fu Feng, Jing Yuan, Xu Guo, Ting Li, Lin Chen

Tao Li, Mei-Xia Liang, Dao-Fu Feng, Ting Li, Chen Lin, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Jing Yuan, Department of Pathology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Xu Guo, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Dao-Fu Feng, Ting Li, Medical College of Nankai University, Tianjin 300071, China
Correspondence to: Lin Chen, Chief Physician, Professor, Department of General Surgery, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. chenlinbj@vip.sina.com
Received: 2013-10-21 Revised: 2013-11-13
Accepted: 2013-11-26 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of S-1 combined with oxaliplatin (SOX) in the treatment of advanced gastric cancer.

METHODS: Preoperative stage Ⅱ/Ⅲ gastric cancer patients received S-1 [80 mg/(m^2•d); days 1-14] and SOX (130 mg/m^2; day 1) followed by a 7 d rest during the 3 wk schedule and subsequently received gastrectomy with D1/D2 lymphadenectomy.

RESULTS: Between June 2012 and September 2013, 117 patients were enrolled in this study. All patients were assessed for efficacy and adverse events, and 57 (69.5%) patients had clinical tumor response. The response and disease control rates were 69.5 % and 97.6%, respectively. Main grade 3/4 adverse events were hematological toxicities, including thrombocytopenia (5.4%) and leucopenia (5.4%). Grade 3/4 non-hematological events included liver dysfunction (8.1%), loss of appetite (5.4%) and vomiting (10.8%).

CONCLUSION: S-1 plus SOX provided a favorable efficacy and safety profile in Chinese patients with advanced gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Neoadjuvant chemotherapy; Efficacy

Li T, Liang MX, Feng DF, Yuan J, Guo X, Li T, Chen L. Efficacy of S-1 and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 91-95 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/91.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.91

摘要

目的: 评估进展期胃癌患者术前应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂(SOX)新辅助化疗的有效性和安全性.

方法: 通过对治疗前分期评估为第7版AJCC Ⅱ-Ⅲ期胃癌患者行口服替吉奥胶囊[80 mg/(m^2·d), 第1-14天]联合奥沙利铂(130 mg/m^2, 第1天)新辅助化疗结合D1/D2淋巴结清扫, 统计所有术后患者肿瘤降期情况及化疗过程中出现的不良反应.

结果: 2012-06/2013-09共入组117例Ⅱ-Ⅲ期胃癌患者, 所有入组患者均完成了至少2个周期化疗, 其中82例患者顺利完成手术, 57例患者肿瘤达临床缓解(69.5%), 12例患者疗效达到

■背景资料
胃癌新辅助化疗是较新的综合治疗模式, 其临床应用尚在探索之中, 但可以预测其前景较好. 本研究选用较新的化疗方案(SOX)应用于我国进展期胃癌患者, 有效率高, 肿瘤降期明显, 值得临床推广.

■同行评议者
郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 副院长, 郑州大学第二附属医院消化科

■研发前沿
本文研究的重点是针对Ⅱ-Ⅲ期胃癌患者应用SOX方案新辅助化疗，观察其有效性，重点是病理学疗效. 待研究的问题是生存时间.

完全缓解(complete response, CR), 45例患者疗效达到部分缓解(partial response, PR), 化疗有效率为69.5%, 疾病控制率达97.6%. 绝大部分患者完成D2淋巴结清扫(80/82, 97.6%), 30例患者术后标本切缘阴性(R0)(97.6%) . 此外, 所有患者基本可耐受化疗, 并没有出现4级不良反应. 3/4级不良反应主要为呕吐(10.8%); 肝功能异常(8.1%); 血小板减少(5.4%); 白细胞减少(5.4%); 食欲减退(5.4%).

结论: 进展期胃癌应用SOX方案新辅助化疗有效率高, 肿瘤降期明显, 值得临床推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 新辅助化疗; 有效性

核心提示: 本文采用了新型胃癌综合治疗模式(新辅助化疗), 肿瘤降期明显, 临床和病理学有效率比较具有统计学差异, 反映出大多数患者从新辅助化疗中受益, 提高了治疗效果. 应值得临床推广新辅助化疗模式.

李涛, 梁美霞, 冯道夫, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凛. 进展期胃癌应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂3周方案新辅助化疗的临床效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 91-95 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/91.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.91

0 引言

胃癌目前是全球发病率第4位的恶性肿瘤, 在肿瘤中致死率居第2位[1]. 胃癌与其他恶性肿瘤相比较具有生物学类型多、恶性程度高、早期诊断率低、根治程度差等特点. 临床实践证明, 单纯强调外科手术的根治性和规范化已经无法进一步提高胃癌患者生存率. 积极探索其他治疗方法成为当务之急. 基于术前化疗理论学基础, 设想如果能够术前应用化疗药物使得肿瘤缩小, 减轻瘤体对于周围脏器的侵犯, 就能够提高R0切除率和D2根治率, 理论上将进一步能够提高生存率. 自上世纪90年代, 随着新型化疗药物的不断出现和新方案的组合, 胃癌新辅助化疗相关研究得到越来越多学者的关注[2]. 文献报道, 胃癌术前化疗有效性最高可达50%-70%. 2006年英国学者Cunningham在《新英格兰杂志》发表著例的MAGIC实验研究结果证实, 进展期胃癌术前行ECF化疗较单纯手术组能够提高5年生存率(36% *vs* 23%, P = 0.009), 并被美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)癌指南列为Ⅰ类证据[3]. 法国FFCD研究结果证实, 胃癌患者应用氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)联合顺铂新辅助化疗后, 能够显著提高R0切除率(84% *vs* 73%, P = 0.04)和5年生存率(38% *vs* 24%, P = 0.03)[4]. 但是由于各个国家胃癌患者在发病部位、病理分期、地域和人种等方面有所区别, 所以至今仍然未能探索出一个得到世界公认的术前化疗方案, 与此相关的研究也成为目前胃癌综合治疗的热点问题. 相关研究结果显示S-1联合铂类药对于晚期胃癌患者具有较高的有效性, 值得临床进一步探索研究[5-8]. 本研究将采用两种新型化疗药物(替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂, SOX方案)针对中国进展期胃癌患者进行围手术期化疗, 观察其疗效及不良反应, 并对其临床应用进行初步探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 解放军总医院普通外科2012-06/2013-09共117例AJCC Ⅱ-Ⅲ期胃癌患者行新辅助化疗. 其中82例患者进行外科手术(表1). 男性67例, 女性15例; 年龄40-75岁, 平均年龄55.3±2.3岁; 化疗前肿瘤TNM分期为Ⅱ期3例, Ⅲ期79例. 所有患者入组标准如下: (1)经胃镜活检病理活检确诊腺癌的胃癌患者; (2)所有患者治疗前均需经过超声胃镜(ultrasonography, EUS)、CT(或PET-CT)和腹腔镜探查进行治疗前分期评估(TNM), 按照第7版AJCC分期为II-III期患者; (3)患者无手术相关禁忌症, 预计能够进行根治性外科切除; (4)卡氏评分(Karnofsky, KPS)>60; 东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)评分: 0-2; (5)年龄20-75岁; (6)过去未曾进行过化疗; (7)根据RECIST 1.1标准[9]要求具有可测量病灶; (8)血液检查和身体状况能够耐受化疗药物. 筛选前7 d内(包括7 d)时, 基线实验室数据要求: 白细胞计数4×10^9/L-10×10^9/L、血小板计数≥100×10^9/L、血红蛋白≥100 g/L、肝功能<3倍正常上限值、总胆红素≤1.5 mg/dL、血清肌酐≤1.2 mg/dL; (9)签署知情同意书. 此研究已通过解放军总医院伦理委员会批准.

1.2 方法

1.2.1 术前化疗: 入组患者均严格按照SOX方案进行. 具体方案: 替吉奥胶囊(S-1)80 mg/m^2, d1-14, 口服; 注射用奥沙利铂130 mg/m^2 d1, 静滴, 每3周1个周期. 如果患者血液学毒性达到3或4级或非血液毒性达2、3或4级, 那么每日S-1

表 1 82例胃癌手术患者基线特征

临床特征	SOX方案新辅助化疗	
	n	所占百分比(%)
性别		
男	67	81.7
女	15	18.3
年龄(岁)		
40–49	12	14.7
50–59	27	32.8
60–69	32	39.0
70–75	11	13.5
肿瘤位置		
上1/3部	23	28.8
中部	23	28.8
下1/3部	36	42.4
术前TNM分期		
II	3	3.7
III	79	96.3
手术方式		
近端胃	23	28.0
远端胃	35	42.7
全胃	24	29.3
淋巴结清扫		
D2淋巴结清扫	80	97.6
D0/D1淋巴结清扫	2	2.4
切缘情况		
R0	80	97.6
R1	2	2.4
R2	0	0.0
病理学分期		
0	12	14.6
I	29	35.3
II	12	14.7
III	27	33.0
IV	2	2.4

剂量需要减量, 120 mg减为100 mg, 100 mg减为80 mg, 80 mg减为60 mg, 或由于毒性而停止给药. 随后的剂量根据结果进行调整. 注射用奥沙利铂剂量调整如下: 由130 mg/m^{2}调整为100 mg/m^{2}或85 mg/m^2. 安全性分析依据NCI-CTC4.0版本进行评估.

1.2.2 *手术和病理*: 在患者完成最后一次化疗后至少4 wk才可行手术治疗. 手术按照日本胃癌协会(Japanese Gastric Cancer Association, JGCA)标准[10]行D1/D2淋巴结清扫. 术中照片证实手术的根治性. 术中标本送检后均由专业的病理学专家进行检查, 并发布报告.

统计学处理 利用计算机SPSS17.0(SPSS Inc., Chicago, IL)软件包进行, 统计描述时计数资料采用率, 计量资料采用均数; 两组比较时计量数据采用*t*检验, 计数资料分析采用χ^2检验, 采用概率*P*值进行统计推断, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 *有效性和安全性* 所有入组患者均完成至少2个周期SOX方案化疗, 其中82例患者顺利完成手术. 其中12例(14.6%)患者术后病理提示为病理学完全缓解(pathological complete response, pCR); 45例(54.9%)患者疗效达到部分缓解(partial response, PR), 病理学化疗有效率为69.5%. 另外23例(28.0%)患者为疾病稳定(stable disease, SD), 2例(2.5%)患者病情进展(progressive disease, PD). 3/4级毒性反应主要为呕吐(10.8%); 肝功能异常(8.1%); 血小板减少(5.4%); 白细胞减少(5.4%); 食欲减退(5.4%)(表2).

2.2 *手术和病理结果* 82例手术患者中, 绝大部分患者完成D2淋巴结清扫(80/82, 97.6%), 少数患者(2/82, 2.4%)因肿瘤较晚而仅行D1淋巴结清扫. 部分患者经化疗后组织容易渗血, 总体手术风险及难度并无明显增加. 所有手术标本均由经验丰富的病理学专家认真进行病理检查, 所有患者清扫淋巴结个数均超过15个. 按照日本胃癌治疗指南对化疗后病理学疗效进行分级, 临床与病理学TNM分期, 具有统计学差异($P<0.05$, 表3). 80例(97.6%)患者术后标本切缘阴性(R0), 2例(2.4%)患者切缘阳性(R1).

3 讨论

胃癌是严重威胁我国人民健康的恶性肿瘤性疾病, 高发病率和死亡率是本病主要特点. 根治性、规范化外科手术已经达到前所未有的高度, 仍无法显著提高胃癌患者5年生存率. 胃癌的新辅助化疗结合手术为改善患者预后带来了希望. S-1是一种口服氟尿嘧啶类药物, 其组成主要由替加氟、吉美嘧啶和奥替拉西钾, 按照1: 0.4: 1比例结合而成. 其中吉美嘧啶能够可逆性拮抗二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD酶), 维持5-FU在血清和肿瘤组织内部较长的高浓度状态. 奥替拉西钾使5-FU在胃肠道内保持磷酸化状态, 从而减小了胃肠道毒性反应. S-1是目前单药治疗晚期胃癌有效率最高的化疗药物, 文献报道其有效率可达44%. ACT-

■相关报道
其他相关研究包括MAGIC、FFCD等研究, 在研究设计方面具有一定类似性, 都是探讨术前化疗在胃癌综合治疗中的应用.

■创新盘点
本文不同在于化疗方案新, 入组患者为可手术切除的胃癌患者, 通过较为准确的病理学疗效评价.

表 2 入组患者不良反应 n(%)

不良反应	NCI-CTC4.0版本标准评价毒性反应分级			
	1级	2级	3级	4级
白细胞减少	7(8.9)	6(16.2)	2(5.4)	0(0)
贫血	5(13.5)	0(0)	0(0)	0(0)
白细胞减少	12(32.4)	18(48.6)	2(5.4)	0(0)
血小板减少	8(21.6)	5(13.5)	0(0)	0(0)
肝功能异常	5(13.3)	0(0)	3(8.1)	0(0)
食欲减退	12(32.4)	7(18.9)	2(5.4)	0(0)
腹泻	7(18.9)	5(13.5)	0(0)	0(0)
黏膜炎	4(10.8)	0(0)	0(0)	0(0)
恶心	13(35.1)	4(10.8)	0(0)	0(0)
呕吐	5(13.5)	7(18.9)	4(10.8)	0(0)
色素沉着	13(35.1)	0(0)	0(0)	0(0)
体质量下降	4(10.8)	0(0)	0(0)	0(0)

GC研究结果证实胃癌术后应用S-1能够显著提高3年生存率, 降低复发率. SPIRITS研究证实S-1联合顺铂较S-1单药组能够显著延长中位总生存期和无进展生存期, 显示出S-1联合顺铂治疗晚期胃癌的良好疗效[11]. 2010年NCCN中国版胃癌指南将其列为胃癌辅助化疗药物. 奥沙利铂属于三代铂类, 与顺铂相比, 抑制DNA的能力更强, 结合速度快10倍以上, 结合牢固, 细胞毒作用更强, 无心、肾、耳毒性, 不脱发, 胃肠道反应和血液学毒性均较小. 自2001开始, 采用此药方案治疗进展期胃癌的报告逐渐增多. 国内金懋林报告联合使用奥沙利铂、5-Fu和CF对进展期胃癌的有效率为42.5%. 综合法国、美国、台湾、韩国等的临床研究资料, 该方案的总有效率在42.5%-64%, 中位生存期8-10 mo[12-15]. 近期研究结果显示S-1联合奥沙利铂(SOX方案)能够显着延长中位总生存期和无进展生存期, 总体有效率为59%, 疾病控制率为84%, 显示出此方案的良好疗效[8].

本研究中82例进展期胃癌患者经2-4个SOX方案新辅助化疗并进行手术后, 57例患者肿瘤降期, 化疗有效率为69.5%, 疾病控制率为97.6%; 12例患者疗效更达完全缓解; 80例患者术后标本切缘阴性(R0), 2例患者切缘阳性(R1), R0根治率为97.6%. 对比化疗前后肿瘤学分期可发现TNM分期降期明显, 由此显示SOX方案较好的有效率. 此外, 所有患者基本可耐受化疗, 并没有出现4级毒性反应. 可见, 进展期胃癌新辅助化疗不仅是可耐受的、有效的治疗方法, 同时未增加手术风险及术后并发症, 还可以降低肿瘤分期, 提高无残存肿瘤(D2/R0)手术切除率, 甚至进一步提高患者生存率.

表 3 化疗前后肿瘤TNM分期对比 (n)

分期	临床TNM分期	病理TNM分期	P值
0	0	10	0.001
I	0	32	0.000
II	4	13	0.020
III	76	25	0.000
IV	0	0	–

该研究中仍存在不少局限且需进一步改善的地方, 包括: (1)本研究每2个周期应用CT按照实体瘤RECIST1.1标准进行疗效评价. 在临床实践中, 以CT观察治疗前后肿瘤大小的变化时经常出现治疗后的最大横断面与治疗前无法完全重合在同一层面等现象. 呼吸对CT扫描平面的影响是其中的原因之一, 胃属腹腔内脏器, 与胰腺、肾脏等腹膜后脏器相比较为游离, 随着呼吸运动有一定幅度的上下移动, 即使在患者配合的情况下, 治疗后CT扫描时肿瘤所在的平面也不一定与治疗前完全重合. 此外, 以CT评价疗效时许多细节仍未在评价标准中作出规定. 在某些病例, 治疗后癌组织已经完全坏死, 但其增厚的瘢痕组织仍存在, 这种增厚的瘢痕组织轮廓在CT上却无法确认为CR, 从而会导致CT判断的结果与组织学结果不相符合. 这些细节都值得在临床工作中进行深入的研究, 进一步完善评价标准; (2)本研究入组患者术前需行新辅助化疗2-4个周期, 患者于化疗后1 mo行手术治疗, 从化疗到手术需要大约3-4 mo的时间, 化疗的不良反应, 治疗周期相对较长, 经济费用较高, 给患者带来了严重的心理问题, 影响着患者的身心健康, 通常在化疗前后的整个阶段患者的心理问题尤为复杂, 突出患者的心理状况直接影响到治疗的效果, 化疗期间的护理对于患者的化疗是非常重要的一步.

总之, 胃癌新辅助化疗是一个相对较新的理念, 目前在临床上应用逐渐增多, 新型化疗药物为提高胃癌新辅助化疗的疗效提供了有力的手段. 我国在此领域尚处于起步阶段, 充分利用病例资源优势, 开展规范的临床研究, 借鉴基础研究的成果, 积极探索术前分期手段和分子水平预测, 是改善胃癌疗效的前提和保证. 该研究显示进展期胃癌应用SOX新辅助化疗具有较高的有效性, 可以显著提高病理缓解率、D2/R0手术

切除率, 同时未增加手术风险, 具有成为胃癌化疗一线方案的潜力. 但是仍需进行大样本的前瞻性研究证实是否可以延长总体生存时间.

4 参考文献

1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130 [PMID: 16514137 DOI: 10.3322/canjclin.56.2.106]

2 Mezhir JJ, Tang LH, Coit DG. Neoadjuvant therapy of locally advanced gastric cancer. *J Surg Oncol* 2010; 101: 305-314 [PMID: 20187070 DOI: 10.1002/jso.21483]

3 Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]

4 Ychou M, Boige V, Pignon JP, Conroy T, Bouché O, Lebreton G, Ducourtieux M, Bedenne L, Fabre JM, Saint-Aubert B, Genève J, Lasser P, Rougier P. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCD multicenter phase III trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1715-1721 [PMID: 21444866 DOI: 10.1200/JCO.2010.33.0597]

5 Sugimachi K, Maehara Y, Horikoshi N, Shimada Y, Sakata Y, Mitachi Y, Taguchi T. An early phase II study of oral S-1, a newly developed 5-fluorouracil derivative for advanced and recurrent gastrointestinal cancers. The S-1 Gastrointestinal Cancer Study Group. *Oncology* 1999; 57: 202-210 [PMID: 10545788 DOI: 10.1159/000012032]

6 Koizumi W, Kurihara M, Nakano S, Hasegawa K. Phase II study of S-1, a novel oral derivative of 5-fluorouracil, in advanced gastric cancer. For the S-1 Cooperative Gastric Cancer Study Group. *Oncology* 2000; 58: 191-197 [PMID: 10765119]

7 Cunningham D, Okines AF, Ashley S. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 858-859 [PMID: 20200397 DOI: 10.1056/NEJMc0911925]

8 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]

9 Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-247 [PMID: 19097774 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026]

10 Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2010 (ver. 3). *Gastric Cancer* 2011; 14: 113-123 [PMID: 21573742 DOI: 10.1007/s10120-011-0042-4]

11 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]

12 Sumpter K, Harper-Wynne C, Cunningham D, Rao S, Tebbutt N, Norman AR, Ward C, Iveson T, Nicolson M, Hickish T, Hill M, Oates J. Report of two protocol planned interim analyses in a randomised multicentre phase III study comparing capecitabine with fluorouracil and oxaliplatin with cisplatin in patients with advanced oesophagogastric cancer receiving ECF. *Br J Cancer* 2005; 92: 1976-1983 [PMID: 15928658]

13 Shen L, Shan YS, Hu HM, Price TJ, Sirohi B, Yeh KH, Yang YH, Sano T, Yang HK, Zhang X, Park SR, Fujii M, Kang YK, Chen LT. Management of gastric cancer in Asia: resource-stratified guidelines. *Lancet Oncol* 2013; 14: e535-e547 [PMID: 24176572 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70436-4]

14 Choi YY, Cheong JH, Noh SH. Advanced gastric cancer: is chemotherapy needed after surgery? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 673-675 [PMID: 24161131 DOI: 10.1586/17474124.2013.841542]

15 Lordick F, Lorenzen S, Yamada Y, Ilson D. Optimal chemotherapy for advanced gastric cancer: is there a global consensus? *Gastric Cancer* 2013 Sep 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24048758]

■同行评价

本文临床治疗效果较好, 值得临床推广.

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 2014年1月8日; 22(1): 96-100
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

HIF-1α表达在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性

周晓刚, 陈宁波, 沈小钢

■背景资料
由于胃癌早期症状比较隐蔽, 部分患者接受手术治疗是已是进展期, 患者术后复发率较高. 施华等对早期胃癌患者行根治手术患者进行观察, 其结果表明早期胃癌患者术后复发率仅为12.24%, 而对于进展期患者其术后复发率则为74.58%. 因此对影响胃癌患者术后复发的相关因素进行分析可延长患者生存期限, 提高患者生存率.

周晓刚, 沈小钢, 四川省医学科学院 四川省人民医院胃肠外科 四川省成都市 610072
陈宁波, 四川省医学科学院 四川省人民医院急诊外科 四川省成都市 610072
周晓刚, 主治医师, 主要从事普外胃肠道疾病方面的研究.
作者贡献分布: 本文主要由周晓刚完成; 并由陈宁波与沈小钢辅助完成.
通讯作者: 周晓刚, 主治医师, 610072, 四川省成都市一环路西二段32号, 四川省医学科学院, 四川省人民医院胃肠外科.
zhouxiaogangziyue@163.com
收稿日期: 2013-11-11 修回日期: 2013-11-27
接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-08

Correlation between gastric HIF-1α expression and gastric cancer recurrence

Xiao-Gang Zhou, Ning-Bo Chen, Xiao-Gang Shen

Xiao-Gang Zhou, Xiao-Gang Shen, Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China
Ning-Bo Chen, Department of Emergency Surgery, Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China
Correpondence to: Xiao-Gang Zhou, Attending Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, 32 Xierduan Yihuan Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. zhouxiaogangziyue@163.com
Received: 2013-11-11 Revised: 2013-11-27
Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-08

Abstract
AIM: To investigate the relationship between hypoxia inducible factor -1α (HIF-1α) expression and gastric cancer recurrence and to analyze factors affecting HIF-1α expression in gastric cancer.

METHODS: Eighty patients with gastric cancer recurrence after radical resection were included in the study, and 50 patients without recurrence after radical resection for more than 5 year were selected as a control group. The expression of HIF-1α and VEGF was compared between the two groups. Risk factors for gastric cancer were analyzed with univariate and Cox proportional hazards models. The correlation between HIF-1α and VEGF expression was investigated by Spearman correlation analysis.

RESULTS: The positive rates of HIF-1α (77.50% *vs* 12.00%) and VEGF (73.75% *vs* 10.00%) expression were higher in the recurrence group than in the control group. The degree of differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis, vascular invasion, TNM clinical stage, VEGF expression were factors affecting HIF-1α expression in gastric tissue. There was a positive correlation between HIF-1α and VEGF expression (r = 0.458, P = 0.000). The 1-year survival rate (45.16% *vs* 77.77%) and average survival time (8.62 ± 2.32 *vs* 18.96 ± 3.14) were significantly lower in the HIF-1α-positive group than in the HIF-1α-negative group. HIF-1α and VEGF expression were independent prognostic factors for gastric cancer.

CONCLUSION: HIF-1α expression is closely related to recurrence of gastric cancer and tumor angiogenesis, and can be used as a parameter for assessing gastric cancer recurrence and prognosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hypoxia-inducible factor-1α; Cancer; Angiogenesis

Zhou XG, Chen NB, Shen XG. Correlation between gastric HIF-1α expression and gastric cancer recurrence. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 96-100 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/96.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.96

摘要
目的: 探讨缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α, HIF-1α)在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性与影响因素.

方法: 选取行根治切除手术后复发的80例胃癌患者为研究对象, 另选取行根治切除手术后经随访5年以上无复发的50例胃癌患者为对照组, 采用免疫组织化学法测定两组HIF-1α、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)阳性表达情况, 采用单因素及Cox风险模型对影响胃癌患者预后的危险因素进行分析, HIF-1α与VEGF相关性采用Spearman相关分析.

■同行评议者
沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

结果: 观察组胃组织中HIF-1α、VEGF表达阳性率分别为77.50%、73.75%显著高于对照组12.00%、10.00%. 经单因素分析可知, 分化程度、浸润程度、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期、VEGF表达情况与胃癌HIF-1α阳性表达相关. 经Spearman相关分析可知HIF-1α与VEGF呈正相关(r = 0.458, P = 0.000). HIF-1α阳性组1年生存率为45.16%, 平均生存时间为8.62 mo±2.32 mo显著低于阴性组1年生存率77.77 mo及平均生存时间18.96 mo±3.14 mo. 经Cox风险模型可知, HIF-1α与VEGF阳性表达是影响胃癌患者预后的独立危险因素.

结论: HIF-1α高水平表达与胃癌复发及血管生成具有密切的关系, 其可作为胃癌术后复发及预后的评价测指标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 缺氧诱导因子-1α; 胃癌; 血管生成

核心提示: 本文观察了根治术后复发胃癌及未复发胃癌组织中缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α, HIF-1α)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达情况, 并与临床病理、患者生存时间进行了相关性分析, 结果显示与胃癌复发组患者胃组织中HIF-1α表达相关的因素包括分化程度、浸润程度、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期、VEGF表达情况, HIF-1α阳性组1年生存率、平均生存时间显著低于阴性组, 研究结论对胃癌的预后研究具有较重要的意义.

周晓刚, 陈宁波, 沈小钢. HIF-1α表达在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 96-100
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/96.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.96

0 引言

胃癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 尽管近年综合治疗使得胃癌5年生存率有所提高, 但患者总体预后效果仍较差[1]. 研究表明[2], 血管生成与胃癌发生及发展有密切的关系, 缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α, HIF-1α)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)过度表达是促使肿瘤细胞生成、增殖及凋亡的重要因素之一, 尤其是HIF-1α作为新近发现的促血管生长因子, 可为抗血管生成治疗提供新的作用机制. 为此本研究将采用免疫组织化学法测定胃癌组织中HIF-1α、VEGF表达情况, 并对两者与胃癌复发及预后的相关性进行分析, 旨在为临床胃癌的治疗提供新的思路.

■研发前沿
胃癌是我国常见的消化系肿瘤, 根治手术是目前治疗胃癌最常用的方法, 但仍有部分患者行根治手术治疗后预后效果不理想, 术后复发仍是胃癌患者死亡的主要原因.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2011-12收治的行胃癌根治切除手术术后复发者80例为观察组, 患者均经超声、胃镜、CT等影像学或经病理组织学检查确诊, 患者临床病理资料完整, 且排除第二原发癌. 另选取同期行常规性检查的曾行胃癌根治手术术后随访5年无复发的50例患者为对照组. 本研究中所有患者均签署知情同意书, 且均经本院伦理医学委员会审批通过.

1.2 方法 采用免疫荧光组化法检测两组根治术后复发胃癌HIF-1α、VEGF表达情况, 兔抗人VEGF多克隆体购自福州迈新生物技术公司, HIF-1α鼠抗人多克隆抗体购于北京金桥生物技术公司. HIF-1α采用EDTA热修复处理20 min, VEGF采用柠檬酸缓冲液于高压锅中热修复处理2 min后采用冷水洗涤, 并采用PBS缓冲液对样品进行冲洗, 经苏木精复染后采用乙醇对样本脱水并制成中性树胶封片, 并与已知的阳性切片进行对比, 阴性对照采用PBS缓冲液替代一抗的样本为参照. 免疫组织结果的判断: (1)HIF-1α阳性表达为棕黄色颗粒见于细胞核内, VEGF阳性表达为棕黄色颗粒见于细胞质及细胞核内; (2)在倍数为100的显微镜下观察细胞着色情况, 根据着色程度由轻至重可分别记为0、1、2、3分. 随机选取5个视野点, 采用倍数为400的显微镜进行观察, 每个视野进行细胞计数, 以500个细胞作为一组计算单位, 细胞阳性百分率: 1分为小于10%, 2分为10%-50%, 3分为大于50%. 积分计算: (1)与(2)计算所得的分值相乘. 0分为阴性“-”, 1-3分为弱阳性“+”, 4-6分为中度阳性“++”, 7-9分为强阳性“+++”[3].

统计学处理 应用SPSS17.0软件进行统计学分析, 计数资料采用百分比表示; 组间计数资料的比较采用χ^2检验, HIF-1α与VEGF相关性采用Spearman相关分析, 多因素分析采用Cox风险模型分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组HIF-1α与VEGF阳性表达情况 观察组胃组织中HIF-1α、VEGF表达阳性率显著高于对照组(表1, 图1).

2.2 胃癌复发组HIF-1α阳性率与临床病理特征

■相关报道
Zhang等研究证实HIF-1α阳性表达与癌细胞淋巴结转移有关. 曾楷峰等研究指出HIF-1α表达强度与癌症患者总体生存期及术后复发率显著相关, HIF-1α表达水平可作为胃癌患者根治手术术后复发的预测指标.

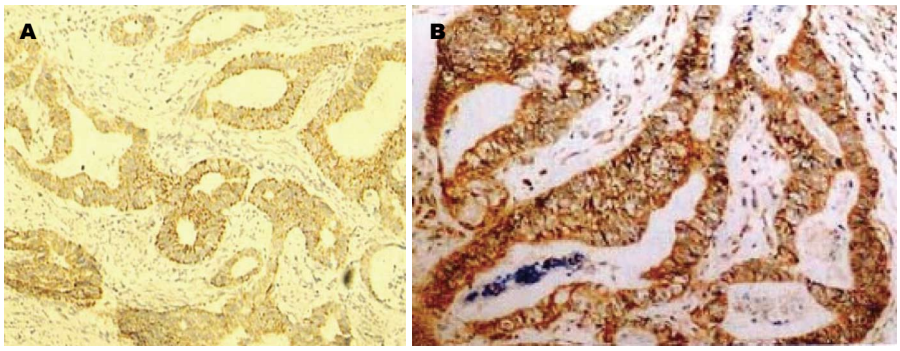


图 1 HIF-1α 和VEGF在胃癌组织中阳性表达. A: HIF-1α; B: VEGF. HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α; VEGF: 血管内皮生长因子.

表 1 两组HIF-1α阳性表达情况 *n*

分组	*n*	HIF-1α表达				阳性率(%)	阴性率(%)
		–	+	++	+++		
观察组	80	18	24	24	14	77.50[a]	22.50
对照组	50	44	4	2	0	12.00	88.00

[a]$P<0.05$ *vs* 对照组. HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α.

表 2 两组VEGF阳性表达情况 *n*

分组	*n*	VEGF表达				阳性率(%)	阴性率(%)
		–	+	++	+++		
观察组	80	21	28	24	7	73.75[a]	6.25
对照组	50	45	3	2	0	10.00	90.00

[a]$P<0.05$ *vs* 对照组. VEGF: 血管内皮生长因子.

的相关性分析 经单因素分析可知, 影响胃癌复发组患者胃组织中HIF-1α阳性率的因素包括分化程度、浸润程度、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期、VEGF表达情况. 经Spearman相关分析可知HIF-1α与VEGF呈正相关($r = 0.458$, $P = 0.000$)(表2).

2.3 复发组HIF-1α阴性与阳性患者1年生存率及平均生存时间分析 HIF-1α阳性组1年生存率、平均生存时间显著低于阴性组. 经Cox风险模型可知, HIF-1α(OR = 3.145, 95%CI: 1.665-4.027)与VEGF(OR = 3.012, 95%CI: 1.244-3.886)阳性表达是影响胃癌患者预后的独立危险因素(表3, 4).

3 讨论

胃癌是我国常见的消化系肿瘤, 根治手术是目前治疗胃癌最常用的方法, 但仍有部分患者行根治手术治疗后预后效果不理想, 术后复发仍是胃癌患者死亡的主要原因[4]. 由于胃癌早期症状比较隐蔽, 部分患者接受手术治疗是已是进展期, 患者术后复发率较高[5]. 施华等[6]对早期胃癌患者行根治手术患者进行观察, 其结果表明早期胃癌患者术后复发率仅为12.24%, 而对于进展期患者其术后复发率则为74.58%. 因此对影响胃癌患者术后复发的相关因素进行分析可延长患者生存期限, 提高患者生存率.

目前普遍认为胃癌术后复发是由于内外因素共同作用引起的, 血管生成是肿瘤发展的首要条件[7]. 石燕等[8]认为肿瘤周围微环境中抑制因子及促进因子调控失衡是导致肿瘤血管生成的重要因素. VEGF是血管内皮细胞有丝分裂素, 属于重要的血管生成促进因子, 其在血管生成过程中处于核心地位[9]. 大量研究表明[10], 在正常成年人群中VEGF的表达水平非常低, 而在恶性肿瘤患者中VEGF表达水平异常高. 此外, VEGF可诱导血管、淋巴管内皮细胞迁移及增殖, 从而促使淋巴血管及生成, 并可增加淋巴血

表 3 胃癌复发组HIF-1α阳性率与临床病理特征的相关性分析 *n*(%)

病理特征	*n*	HIF-1α阳性率	χ^2	*P*值
性别			0.916	0.339
男	52	42(80.77)		
女	28	20(71.43)		
年龄(岁)			0.058	0.809
<60	38	29(76.31)		
≥60	42	33(78.57)		
分化程度			5.792	0.016
未分化/低分化	47	32(68.08)		
中分化/高分化	33	30(90.91)		
病理组织分型			0.087	0.768
管状腺癌	38	30(78.95)		
乳头腺癌	32	25(78.12)		
其他类型	10	7(70.00)		
肿瘤直径(cm)			0.015	0.904
<5	39	30(76.92)		
≥5	41	32(78.05)		
浸润程度			20.452	0.000
未及浆膜层	34	18(52.94)		
侵入浆膜层	46	44(95.65)		
淋巴结转移			12.333	0.0004
有	38	36(94.74)		
无	42	26(61.90)		
血管侵袭			13.207	0.0003
有	29	29(100.00)		
无	51	33(64.70)		
TNM临床分期			21.701	0.000
I、II期	37	20(54.05)		
III、IV期	43	42(97.67)		
VEGF			14.580	0.000
阴性	21	10(47.62)		
阳性	59	52(88.13)		

HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α; VEGF: 血管内皮生长因子.

管通透性, 加速淋巴血管转移, 因此与肿瘤恶性程度具有密切的关系. 肿瘤患者体内普遍存在免疫识别障碍的情况, 机体在此情况下可将肿瘤组织误认为自身组织, 从而产生应激反应, 并诱导HIF-1α生成HIF-1α表达增强可刺激肿瘤蛋白及基因转录, 并促使VEGF大量生成. 目前相关研究[11]表明HIF-1α与肿瘤的发生发展具有密切的关系, 在肿瘤发生发展过程中起到重要的调控作用. Lu等[12]采用免疫组织化学法测定53例胃癌患者组织中HIF-1α表达情况, 结果显示其阳性表达与胃癌肝转移及肿瘤大小有关. Zhan等[13]检测60例胃癌组织HIF-1α的表达, 其结果显示, HIF-1α表达与胃癌远处转移及术后

表 4 复发组HIF-1α阴阳性患者1年生存率及平均生存时间分析

分组	*n*	1年生存率(%)	平均生存时间(mo)
HIF-1α阳性组	62	28(45.16)	8.62 ± 2.32
HIF-1α阴性组	18	14(77.77)	18.96 ± 3.14
χ^2/*t*值		8.225	7.265
*P*值		0.000	0.000

HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α.

复发有关. Zhang等[14]研究证实HIF-1α阳性表达与癌细胞淋巴结转移有关. 曾楷峰等[15]研究指出HIF-1α表达强度与癌症患者总体生存期及术后复发率显著相关, HIF-1α表达水平可作为胃癌患者根治手术术后复发的预测指标. Jia等[16]对胃癌患者预后情况进行分析, 其结果显示胃癌患者己糖激酶-Ⅱ及HIF-1α表达强度与肿瘤大小、分化程度、临床分期有密切关系, 是影响患者术后预后的独立危险因素.

本研究结果显示, 复发组患者VEGF、HIF-1α表达强度较强, 浸润程度较深, 患者存在淋巴结转移, 血管浸润显著, TNM分期较晚, 经Cox风险模型分析可知, VEGF、HIF-1α是胃癌术后复发的独立危险因素. VEGF表达、肿瘤浸润、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期可作为胃癌患者根治术后预后的预测指标. 此外, 对复发组患者随访1年发行, HIF-1α阳性组1年生存率、平均生存时间显著低于阴性组, 从而提示HIF-1α阳性表达强度与患者生存率及生存期限具有密切的关系, 通过测定胃癌患者HIF-1α阳性表达情况, 对预测患者病情进展具有重要的意义

总之, HIF-1α高水平表达与胃癌复发及血管生成具有密切的关系, 其可作为胃癌术后复发及预后的评价测指标.

■应用要点
HIF-1α高水平表达与胃癌复发及血管生成具有密切的关系, 其可作为胃癌术后复发及预后的评价测指标.

4 参考文献

1 徐桂芳, 周志华, 吴寒, 徐新运, 汪灏, 管文贤, 邹晓平. 缺氧诱导因子-1α在胃癌组织中的表达与胃癌术后复发的关系. 中华消化杂志 2013; 33: 456-459

2 陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍. 血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2031-2037

3 马俊华, 汪必成. 缺氧诱导因子-1α、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白27在胃癌中的表达及其与肿瘤细胞增殖的关系. 中华实验外科杂志 2013; 30: 1290-1291

4 Zhu CL, Huang Q, Liu CH, Lin XS, Xie F. Prognostic value of HIF-1α expression in patients with gastric cancer. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 6055-6062 [PMID:

■同行评价
本文设计合理，结果可靠，具有一定的学术参考价值.

24057269 DOI: 10.1007/s11033-013-2715-z]
5 黄庆文, 韩佳, 王琳, 叶震世, 巴亚斯古楞, 任建林. 缺氧诱导胃癌细胞SGC-7901中三叶因子3与血管内皮生长因子相互关系研究. 中华消化杂志 2012; 32: 232-235
6 施华, 王爱军, 郑宝军, 冯俊伟, 王红钰, 吴肖. siRNA沉默缺氧诱导因子-2α对胃癌细胞SGC7901凋亡的影响和机制. 中华实验外科杂志 2013; 30: 248-251
7 范小玲, 刘文其, 毛艳, 康敏. HIF-1α、Tiam1表达对食管癌侵袭、淋巴结转移以及放疗的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 590-595
8 刘倩, 吴小翎, 罗红春. MMP-2在胃癌组织中的表达及其与微血管生成和淋巴结转移的关系. 重庆医学 2012; 41: 1262-1264
9 杨勤, 张亚声, 杨德全. 复方苦参注射液联合低剂量5-Fu对人胃癌裸鼠移植瘤血管生成的影响. 重庆医学 2011; 40: 3239-3241
10 Miyake S, Kitajima Y, Nakamura J, Kai K, Yanagihara K, Tanaka T, Hiraki M, Miyazaki K, Noshiro H. HIF-1α is a crucial factor in the development of peritoneal dissemination via natural metastatic routes in scirrhous gastric cancer. *Int J Oncol* 2013; 43: 1431-1440 [PMID: 23970191]
11 Jung JH, Im S, Jung ES, Kang CS. Clinicopathological implications of the expression of hypoxia-related proteins in gastric cancer. *Int J Med Sci* 2013; 10: 1217-1223 [PMID: 23935399 DOI: 10.7150/ijms.6054]
12 Lu XX, Chen YT, Feng B, Mao XB, Yu B, Chu XY. Expression and clinical significance of CD73 and hypoxia-inducible factor-1α in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1912-1918 [PMID: 23569336 DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1912]
13 Zhan H, Liang H, Liu X, Deng J, Wang B, Hao X. Expression of Rac1, HIF-1α, and VEGF in gastric carcinoma: correlation with angiogenesis and prognosis. *Onkologie* 2013; 36: 102-107 [PMID: 23485997 DOI: 10.1159/000348525]
14 Zhang ZG, Zhang QN, Wang XH, Tian JH. Hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1α) as a prognostic indicator in patients with gastric tumors: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 4195-4198 [PMID: 23991975 DOI: 10.7314/APJCP.2013.14.7.4195]
15 曾楷峰, 金海林, 张伟锋, 肖斌, 朱宏, 郝波, 施瑞华. RNA干扰缺氧诱导因子1α对食管鳞癌和胃腺癌细胞生物学行为的影响. 中华肿瘤杂志 2011; 33: 260-264
16 Jia YF, Xiao DJ, Ma XL, Song YY, Hu R, Kong Y, Zheng Y, Han SY, Hong RL, Wang YS. Differentiated embryonic chondrocyte-expressed gene 1 is associated with hypoxia-inducible factor 1α and Ki67 in human gastric cancer. *Diagn Pathol* 2013; 8: 37 [PMID: 23445622 DOI: 10.1186/1746-1596-8-37]

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 2014年1月8日; 22(1): 101-106
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

声辐射力脉冲成像对非酒精性脂肪性肝病诊断价值的Meta分析

李曼蓉, 王 跃, 宋 雯, 陆伦根, 卜 平

李曼蓉, 王跃, 宋雯, 卜平, 扬州大学临床医学院苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001
陆伦根, 上海交通大学附属第一人民医院消化科 上海市 200080
李曼蓉, 硕士研究生, 主要从事消化系疾病的临床及实验研究.
作者贡献分布: 文献收集与Meta分析主要由李曼蓉完成; 王跃与宋雯参与文献检索; 论文的选题、指导及审校由陆伦根与卜平共同完成.
通讯作者: 卜平, 教授, 主任医师, 225001, 扬州大学医学院广陵区淮海路11号, 扬州大学临床医学院苏北人民医院消化内科.
boping@yzu.edu.cn
电话: 0514-7978801
收稿日期: 2013-09-25 修回日期: 2013-10-23
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-08

Diagnostic value of acoustic radiation force impulse imaging for non-alcoholic fatty liver disease: A Meta-analysis

Man-Rong Li, Yue Wang, Wen Song, Lun-Gen Lu, Ping Bu

Man-Rong Li, Yue Wang, Wen Song, Ping Bu, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Lun-Gen Lu, Department of Gastroenterology, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China
Correspondence to: Ping Bu, Professor, Chief Physician, Medical College of Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Yangzhou, Jiangsu Province, China. boping@yzu.edu.cn
Received: 2013-09-25 Revised: 2013-10-23
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To systematically evaluate the diagnostic performance of acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) by meta-analysis.

METHODS: Pertinent articles related to diagnosis of NAFLD by ARFI were searched in PubMed, Medline, Web of Science, CNKI, Wan-Fang Data, CBM, and Google. The references of retrieved articles were also searched. Literature screening was performed according to inclusion and exclusion criteria. The quality of included articles was assessed using the QUADAS tool. The heterogeneity was explored, and indexes reflecting accuracy were pooled and summary receiver operating characteristics (SROC) were analyzed using MetaDiSc1.4 and STATA 12.0. The publication bias and sensitivity were also evaluated.

RESULTS: Eight studies were included in the review. Meta-analysis results showed that the pooled accuracy indicators like sensitivity, specificity, positive likelihood ratio, negative likelihood ratio, and diagnostic odds ratio were 90% (95%CI: 86%-94%), 78% (95%CI: 73%-83%), 3.57 (95%CI: 2.19-5.81), 0.13 (95%CI: 0.09-0.20), and 35.87 (95%CI: 19.96-64.48), respectively. The area under the SROC curve was 0.9326, SE was 0.0169, and the Q* index was 0.8683.

CONCLUSION: ARFI has a high diagnostic efficacy and could be used as a reliable and safe non-invasive tool for diagnosing NAFLD.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acoustic radiation force impulse imaging; Non-alcoholic fatty liver disease; Diagnostic imaging; Meta-analysis

Li MR, Wang Y, Song W, Lu LG, Bu P. Diagnostic value of acoustic radiation force impulse imaging for non-alcoholic fatty liver disease: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 101-106 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/101.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.101

摘要

目的: 采用Meta分析的方法系统评价声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的诊断价值.

方法: 检索PubMed、Medline、Web of

■**背景资料**
非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率随着肥胖、血脂紊乱、糖尿病及其代谢综合征的增多而逐年增高, NAFLD的诊断对其有效治疗、改善预后及预防糖尿病及心血管疾病等并发症的发生有着重大意义.

■**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诊断的“金标准”公认为肝穿刺活检，因其有创性等缺点，迫切需要发展简便、可靠、安全的无创性诊断手段. 常用的无创诊断主要是血标本的肝酶谱水平和肝脏超声检查. 但血浆肝酶谱水平常低估疾病程度、漏诊率高，传统的超声检查有特异性较差的劣势，声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)技术应运而生.

Science、CNKI、WanFang Data、CBM、Google学术搜索，及追溯参考文献收集相关文献. 根据纳入与排除标准筛选文献，采用QUADAS工具评估文献质量并提取数据. 采用MetaDisc1.4、STATA12.0软件进行异质性分析，计算合并敏感度、特异度、阳性似然比、阴性似然比等指标，并绘制总受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristics, SROC)，最后进行敏感性分析及发表偏倚的评估.

结果：共8篇研究纳入本评价研究. Meta分析结果显示ARFI对NAFLD的合并敏感度和特异度分别为90%(95%CI: 86%-94%)、78%(95%CI: 73%-83%)，合并阳性似然比及阴性似然比分别为3.57(95%CI: 2.19-5.81)、0.13(95%CI: 0.09-0.20)，合并诊断比值比35.87(95%CI: 19.96-64.48). SROC曲线下面积为0.9326，SE = 0.0169，总诊断精确度Q*指数为0.8683.

结论：ARFI具有较高的诊断效能，可作为诊断NAFLD的一种相对可靠、安全的无创诊断工具.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：声辐射力脉冲成像；非酒精性脂肪性肝病；诊断性影像学；Meta分析

核心提示：本研究采用Meta分析方法定性、定量地评价声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的诊断价值，得出ARFI具有较高的诊断效能，可作为诊断NAFLD的一种相对可靠、安全的无创诊断工具的结论.

李曼蓉，王跃，宋雯，陆伦根，卜平. 声辐射力脉冲成像对非酒精性脂肪性肝病诊断价值的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 101-106 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/101.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.101

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与胰岛素抵抗、糖脂代谢异常等密切相关，他的发病率随着肥胖、血脂紊乱、糖尿病及代谢综合征的逐年增多而增高. NAFLD已成为欧美发达国家慢性肝病的首要病因，在我国仅次于慢性病毒性肝炎位居第2位. NAFLD包括单纯性非酒精性脂肪肝(simple non-alcoholic fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝纤维化以及隐源性肝硬化. 诸多循证医学证据显示NAFLD可影响其他病因所致的慢性肝病的进展、诱导移植肝的复发，可进展为肝细胞癌，还可参与2型糖尿病和心血管疾病的发生. NAFLD可能作为代谢性疾病的一个早期可逆性干预治疗的潜在靶点，受到国内外学者的广泛关注. 故NAFLD的诊断对其有效治疗、改善预后及预防糖尿病及心血管疾病等并发症的发生、发展有着重大意义.

目前肝穿刺病理诊断仍作为公认的诊断NAFLD的“金标准”. 但因肝活检方法的有创性、并发症的发生风险及患者合作度差等缺点，在很大程度地限制了其在流行病学调查、前瞻性研究及长期随访研究中的广泛应用. 因而迫切需要发展简便、可靠、安全的无创性诊断方法，NAFLD常用的无创诊断主要是血液样本肝酶谱水平和肝脏超声检查. 由于血标本肝酶谱水平常低估疾病程度、漏诊率高，传统的超声检查有特异性较差的劣势，声辐射脉冲弹性成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)技术应运而生. 他又称为声触诊组织量化(virtual tough tissues quantification, VTQ) 技术，通过发射声脉冲使组织局部产生横向震动和纵向压缩，从而产生剪切波速度来获得感兴趣区域组织的机械特性，可定量评估组织弹性测量的数值，是反映组织的硬度等物理性质的一种临床新技术. 近年来国内外研究显示该技术能明显提高肝纤维化的诊断能力，但对NAFLD的诊断价值尚不肯定. 本研究采用Meta分析方法对有关ARFI诊断NAFLD的文献进行全面、客观的系统评价，旨在为ARFI的临床应用提供最可靠的循证依据.

1 材料和方法

1.1 材料 检索PubMed、Medline、Web of Science、CNKI、WanFang Data、CBM、Google学术搜索，筛选国内外ARFI与NAFLD相关的随机对照试验，并追溯引文及引证文献进行了全面的文献检索. 中文检索词为“声辐射力脉冲成像”、“声触诊组织量化技术”、“非酒精性脂肪性肝病”、“非酒精性单纯性脂肪肝”、“非酒精性脂肪性肝炎”、“肝纤维化”，英文检索词为“acoustic radiation force impulse imaging(ARFI)”、“virtual tough tissues quan-

表 1 纳入文献基本特征及QUADAS评分

作者	发表年份/国家	*n*	平均年龄(岁)	男性	真阳性数	假阳性数	假阴性数	真阴性数	cut-off(m/s)	QUADAS评分
Osaki等[4]	2010/Japan	21	57 ± 23.1	47.6	17	1	0	3	1.47	14
金清等[5]	2010/China	100	NA	74.0	47	13	3	37	1.06	8
Yoneda等[6]	2010/Japan	54	50.6 ± 13.7	NA	10	13	0	31	1.77	16
Palmeri等[7]	2010/USA	172	NA	37.8	50	12	6	104	NA	13
曾令容[8]	2011/China	37	45 ± 10.6	54.1	6	15	1	15	0.99	10
肖凯兰[9]	2012/China	60	43.7 ± 13.55	46.7	24	4	6	26	1.06	10
Guzmán-Aroca等[10]	2012/Spain	32	43.7 ± 10.4	56.3	20	1	4	7	1.30	14
张大鹍等[11]	2012/China	67	34.7 ± 14.2	68.7	56	3	5	3	1.06	12

NA: 未获得数据.

■相关报道
近年来国内外研究显示该技术能明显提高肝纤维化的诊断能力, 但各家报道不一, 并且样本量不大, 故对NAFLD的诊断价值尚不肯定.

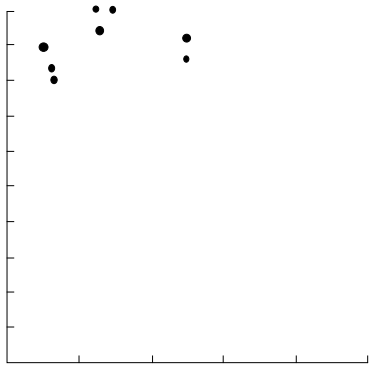


图 1 ROC平面散点图.

tification (VTQ)”、“non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD)”、“simple nonalcoholic fatty liver”“nonalcoholic steatohepatitis(NASH)”、“liver fibrosis”. 检索结果由两名研究者独立评阅, 若存在争议或不确定时咨询第三方后确定. 检索时限截至2013-08.

1.2 方法

1.2.1文献纳入标准: (1) 研究内容: 有关ARFI诊断NAFLD的诊断性临床研究; (2)研究语种: 限中、英文; (3)研究对象, NAFLD组患者诊断标准符合2006年[1]或2010年[2]中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》; (4)全文或摘要中能够直接或间接获得诊断试验的真阳性数(true positive, TP)、假阳性数(false positive, FP)、假阴性数(false negative, FN)及真阴性数(true negative, TN), 结果以表格形式表示.

1.2.2 文献排除标准: (1)综述、个案报道、述评类文献及动物实验研究; (2)无法获得全文或不能经摘要推算出数据的研究; (3)数据重复发表.

1.2.3 资料提取和文献质量评价: 资料提取主要包括作者、国家、发表时间、患者的年龄、性别比例、样本量及诊断试验的参数信息. 用Cochrane协作网诊断性试验评价方法学采用的质量评价工具(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)[3]评价纳入文献的质量, 每个项目按“是”2分、“不清楚”1分、“否”0分3个标准进行综合评价, 总分22分. QUADAS得分越高, 文献质量越优.

统计学处理 首先, 采用MetaDisc1.4软件分析异质性, 预先检验是否存在阈值效应, 灵敏度(Se)、特异度(Sp)的异质性检验采用卡方检验, 阳性似然比(LR+)、阴性似然比(LR-)采用Cochran-Q检验. 其次, 根据异质性的有无确定采用随机效应模型(有异质性)固定效应模型(无异质性)计算合并灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比及诊断比值比等统计学指标, 同时绘制汇总受试者工作特征曲线(SROC曲线), 估计试验的总诊断精确度. 再次, 进行敏感性分析. 最后, 采用STATA 12.0软件绘出Deeks图并计算*P*值, 检测及评价发表偏倚.

2 结果

2.1 纳入试验的特点及方法学质量 本研究最初检索到相关文献143篇, 其中英文115篇, 中文28篇. 根据纳入与排除标准, 最终有8篇文献共543例病例纳入本次研究, 其中英文4篇, 中文4篇, 发表时间为2010-2012年, 发表国家为美国、日本、西班牙、中国. 纳入文献基本特征及质量评估结果如表1.

2.2 异质性检验及各统计指标的Meta分析结果 使用Meta Disc1.4软件进行异质性分析, 由于诊断阈值不同可能导致相关统计指标准确

■**创新盘点**

本研究采用Meta分析方法定性、定量地对有关ARFI诊断NAFLD的文献进行全面、客观的系统评价，旨在为ARFI对NAFLD诊断的临床应用提供最可靠的循证依据.

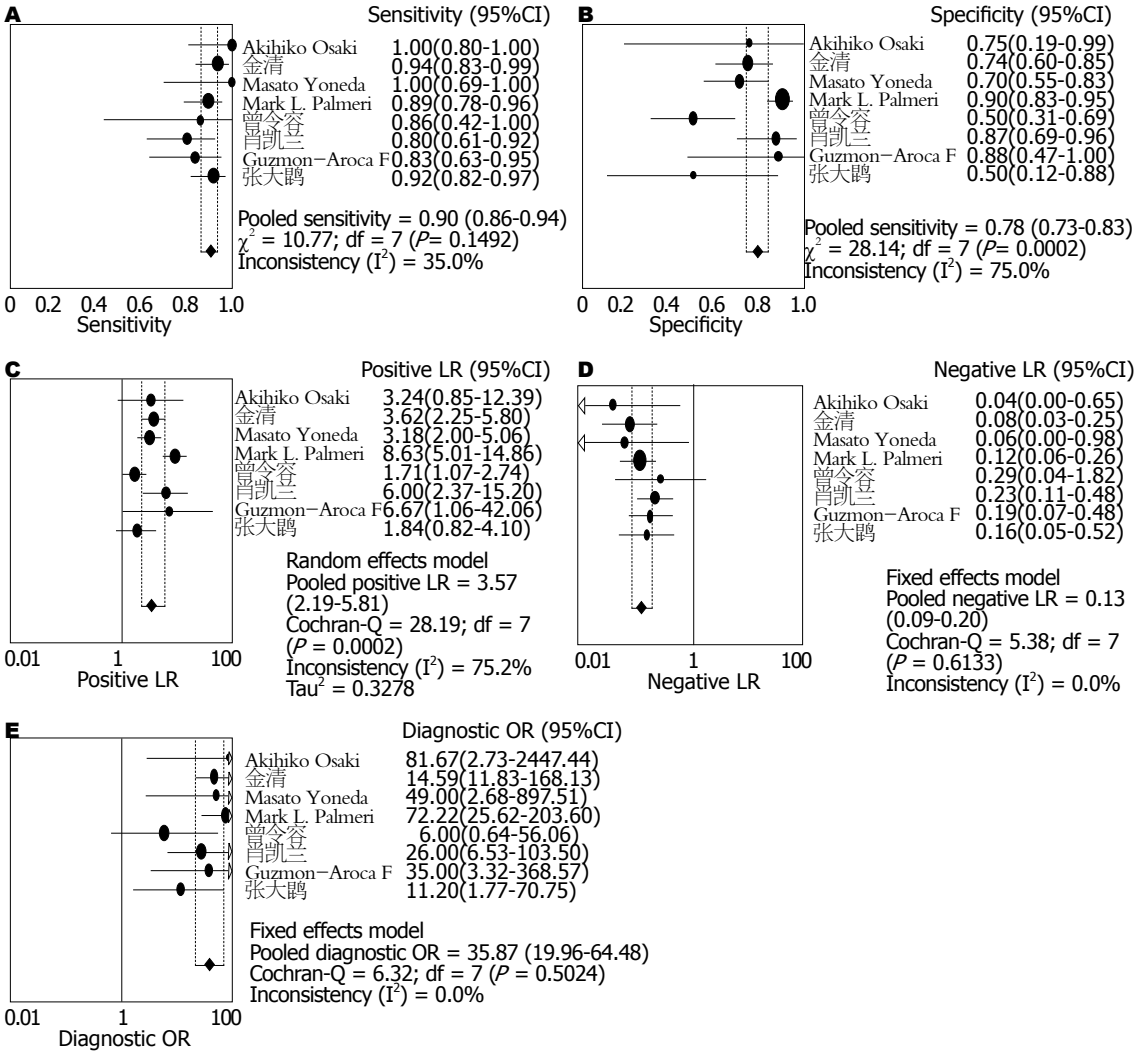


图 2 各指标的Meta分析合并森林图. A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比; E: 诊断比值比.

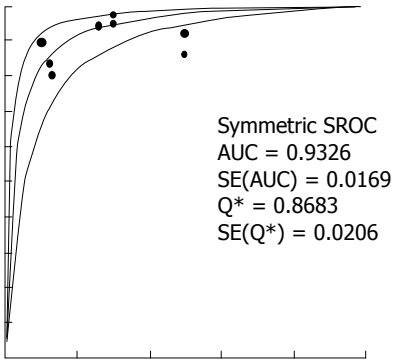


图 3 SROC曲线.

度的差异而产生阈值效应，因而首先检验是否存在阈值效应. 当存在阈值效应时，敏感度与(1-特异度)呈阳性关联，ROC平面散点分布呈典型的“肩臂形”，Spearman相关分析提示强阳性关联. 本研究中，可见Meta Discl.4软件输出的ROC平面散点图不是典型的“肩臂形”外观(图1)，同时Spearman相关系数，rs = 0.374，P = 0.362，提示本研究中敏感度与(1-特异度)呈阴性关联，不存在阈值效应. 然后，对其他来源的异质性进行检验，结果提示各研究间的灵敏度(χ^2 =10.77，P = 0.1492)、特异度(χ^2 = 28.14，P = 0.0002)、LR+(Cochran-Q = 28.19，P = 0.0002)、LR-(Cochran-Q = 5.38，P = 0.6133)、dOR (Cochran-Q = 6.32，P = 0.5024)，其中特异度、LR+两者存在异质性，灵敏度、LR-、dOR均是同质的. 异质性结果采用随机效应模型合并统计结果，同质性结果则采用固定效应模型合并统计结果. 其合并敏感度(图2A)和特异度(图2B)分别为90%(95%CI: 86%-94%)、78%(95%CI:73%-83%)，合并LR+(图2C)及LR-(图2D)分别为3.57(95%CI: 2.19-5.81)、0.13(95%CI: 0.09-0.20)，合并dOR为35.87(95%CI: 19.96-64.48). 绘制ARFI诊断的SROC曲线图(图3)，AUC为0.9326，SE = 0.0169，

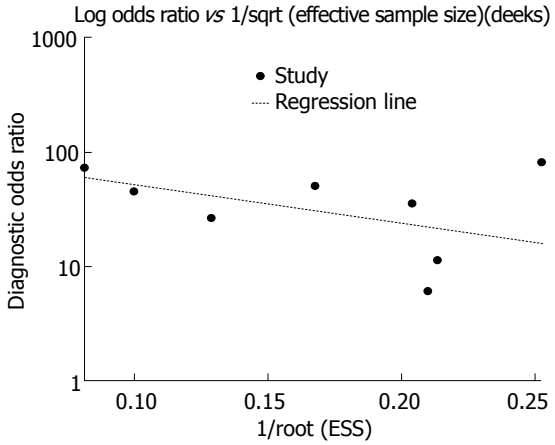


图 4 发表偏倚的Deeks图.

总诊断精确度Q*指数分别为0.8683.

2.3 敏感性分析结果 为了考察本Meta分析结论的敏感性, 采用逐一排除的方法, 其结果均与原有纳入的8项研究的结果基本一致, 各评价指标均变化不大, 且可信区间大致重叠. 说明本研究的结果稳定、可靠.

2.4 发表偏倚的检验结果 为了检验及评价本研究的发表偏倚, 采用STATA12.0绘出Deeks图(图4), 图中研究分布于相关线附近, 呈大致对称分布, 提出本研究存在发表偏倚的可能较小. 计算出P = 0.116>0.05, 再次提示本次Meta分析不存在发表偏倚, 结果较为可靠.

3 讨论

2012年由美国肝脏病学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)、美国胃肠病学院(American College of Gastroenterology, ACG)和胃肠病学会(American Gastroenterological Association, AGA)共同起草并发表于Hepatology杂志的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》[12], 对于评估NAFLD患者是否存在NASH和进展期肝纤维化, 仍推荐行肝组织病理检查确诊. 近年来, 诊断影像学技术的高速发展, 诸多学者用瞬时弹性测定、ARFI等特殊超声检查无创评估NAFLD患者是否存在NASH和进展期肝纤维化[13-16]. 但其诊断的敏感性及特异性尚不肯定, 且大多为小样本研究. 因此本研究采用Meta分析方法对多个同类的临床研究结果进行综合定量分析, 从统计学角度增大样本含量, 提高检验效能, 对国内外使用ARFI诊断NAFLD的临床研究做一系统评价.

8项ARFI诊断NAFLD的临床研究的综合定量分析结果显示合并灵敏度和特异度较高, 分别为90%(95%CI: 86%-94%)、78%(95%CI:73%-83%), 似然比属于同时反映灵敏度和特异度的复合指标, 本研究LR+为3.57, 提示NAFLD患者经ARFI检查结果为阳性的机会是非NAFLD患者的3.57倍; NLR为0.13, 提示ARFI检查错误判断阴性的机会是正确判断的13%. 总诊断优势比为35.87, 远大于1, 说明NAFLD患者比非NAFLD患者更有可能获得ARFI检查的阳性结果, 前者是后者的35.87倍, 他反映了诊断效能, 全面评价了诊断检查的准确性及判别能力. SROC曲线分析通过曲线下的面积及Q*的大小进一步显示了诊断检查准确度的高低, AUC = 0.9326, Q = 0.8683, 均接近1, 表明ARFI检查对NAFLD患者诊断的准确度很高. 且经敏感性分析及发表偏倚的评估, 提示本研究的结论稳定和可靠.

本研究存在以下不足之处: 检索文献语言仅限于中、英文, 可能存在语种偏倚; 由于ARFI是新的诊疗技术, 其诊断NAFLD的相关文献数量不多, 故纳入文献数量及样本量均相对较少; 尽管采取多种途径从多个数据库全面检索正式发表文献, 但由于多种原因未能发表的文献均不在研究之列, 且阳性结果的研究常较阴性结果的研究更容易发表, 所以可能存在潜在的发表偏倚.

虽然本研究存在上述不足, 但本研究从循证医学的角度用科学的方法荟萃分析了ARFI对NAFLD的诊断价值, 得出ARFI对NAFLD患者具有较高诊断效能. 鉴于本研究中样本量较小, 期待更多的设计严谨、大样本、多中心的高质量诊断学临床研究, 以获得更为合理可靠的循证医学证据, 更准确地为广大临床工作者和医疗卫生决策者提供参考.

■应用要点

本文显示ARFI对NAFLD患者具有较高诊断效能, 是一无创、安全、简便、可靠的诊断手段.

4 参考文献

1 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163

2 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 163-166

3 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960]

4 Osaki A, Kubota T, Suda T, Igarashi M, Nagasaki K, Tsuchiya A, Yano M, Tamura Y, Takamura M, Kawai H, Yamagiwa S, Kikuchi T, Nomoto M, Aoyagi Y. Shear wave velocity is a useful marker

■同行评价
本文方法合理, 数据真实可信, 具有较好的科学性.

for managing nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2918-2925 [PMID: 20556839]
5 金清, 赵明珠. 应用声辐射力脉冲成像技术评估非酒精性单纯性脂肪肝的初步经验. 中华医学超声杂志 2010; 7: 1004-1008
6 Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, Nakajima A. Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography. *Radiology* 2010; 256: 640-647 [PMID: 20529989]
7 Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B, Diehl AM, Nightingale KR. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 666-672 [PMID: 21256907]
8 曾令容. 超声声触诊组织定量在肝脏实质弥漫性病变鉴别诊断中的初步应用. 长沙: 中南大学, 2011
9 肖凯兰. 声脉冲辐射力技术定量评估肝实质病变的价值. 长沙: 中南大学, 2012
10 Guzmán-Aroca F, Frutos-Bernal MD, Bas A, Luján-Mompeán JA, Reus M, Berná-Serna Jde D, Parrilla P. Detection of non-alcoholic steatohepatitis in patients with morbid obesity before bariatric surgery: preliminary evaluation with acoustic radiation force impulse imaging. *Eur Radiol* 2012; 22: 2525-2532 [PMID: 22648049]
11 张大鹏, 陈敏, 王瑞芳, 刘阳, 董晓宇, 李志艳, 周光德. 声辐射力脉冲成像定量评价非酒精性脂肪性肝病与病理对照研究. 中华临床医师杂志 2012; 6: 4253-4257
12 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023 [PMID: 22488764]
13 Mahadeva S, Mahfudz AS, Vijayanathan A, Goh KL, Kulenthran A, Cheah PL. Performance of transient elastography (TE) and factors associated with discordance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Dig Dis* 2013; 14: 604-610 [PMID: 23859493]
14 Fierbinteanu Braticevici C, Sporea I, Panaitescu E, Tribus L. Value of acoustic radiation force impulse imaging elastography for non-invasive evaluation of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 1942-1950 [PMID: 23932277]
15 Kim D, Kim WR, Talwalkar JA, Kim HJ, Ehman RL. Advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: noninvasive assessment with MR elastography. *Radiology* 2013; 268: 411-419 [PMID: 23564711]
16 Friedrich-Rust M, Romen D, Vermehren J, Kriener S, Sadet D, Herrmann E, Zeuzem S, Bojunga J. Acoustic radiation force impulse-imaging and transient elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis and steatosis in NAFLD. *Eur J Radiol* 2012; 81: e325-e331 [PMID: 22119555 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.10.029]

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®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 107-113
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

慢性乙型肝炎湿热中阻证的血浆代谢组学

刘友平, 李 波, 张光海, 米绍平, 李 洪, 魏 嵋

刘友平, 李洪, 泸州医学院生物化学教研室 四川省泸州市 646000
魏嵋, 李波, 张光海, 米绍平, 泸州医学院附属中医医院肝胆内科 四川省泸州市 646000
刘友平, 教授, 主要从事生物化学与分子生物学教学及肝脏疾病的分子机制的研究.
四川省教育厅科技基金资助项目, Nos. 2009ZA048, 13ZA0239
作者贡献分布: 刘友平、李波及魏嵋对此论文做贡献均等; 此课题设计由魏嵋与刘友平完成; 样本收集及研究过程由李波、张光海及米绍平操作完成; 数据分析由刘友平、李洪及李波共同完成; 本论文写作由刘友平与魏嵋共同完成.
通讯作者: 魏嵋, 教授, 646000, 四川省泸州市江阳区忠山路三段319号, 泸州医学院附属中医医院肝胆内科.
weimei62@126.com
收稿日期: 2013-10-15 修回日期: 2013-10-29
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Metabonomic analysis of plasma samples from chronic hepatitis B patients with damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome

You-Ping Liu, Bo Li, Guang-Hai Zhang, Shao-Ping Mi, Hong Li, Mei Wei

You-Ping Liu, Hong Li, Department of Biochemistry, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Mei Wei, Bo Li, Guang-Hai Zhang, Shao-Ping Mi, Department of Liver Diseases, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Supported by: the Scientific Research Foundation of the Education Department of Sichuan Province, Nos. 2006C085 and 13ZA0239
Correspondence to: Mei Wei, Professor, Department of Liver Diseases, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Luzhou Medical College, 319 Zhongshan Road, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. weimei62@126.com
Received: 2013-10-15 Revised: 2013-10-29
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To investigate the molecular mechanisms of damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome in patients with chronic hepatitis B.

METHODS: Plasma samples were collected prospectively from normal controls (n = 20) and patients with chronic hepatitis B and damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome (DHSS) (TM1 group: n = 20) and analyzed using ultra-performance liquid chromatography (LC)/time-of-flight mass spectrometry (MS) coupled with orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA).

RESULTS: Significant metabonomic differences were observed between the two groups. Plasma levels of 14 metabolites in the TM1 group were obviously altered compared with those in the control group (P < 0.05), among which taurochenodesoxycholic acid, 7b-hydroxy-3-oxo-5b-cholanoic acid, glycochenodeoxycholic acid 3-glucuronide, glycochenodeoxycholate-3-sulfate and cholic acid glucuronide are related to the metabolism of bile acids, lysophosphatidylcholine (lysoPC), lysophosphatidylethanolamine (LysoPE) (C22:1), 3b,16a-dihydroxyandrostenone sulfate, phosphatidylcholine (PC) (C22:6), phosphatidylethanolamine (PE) (C24:1), lysophosphatidylcholine (lysoPC) (C18:2) and 13'-hydroxy-alpha-tocopherol are related to the metabolism of lipids.

CONCLUSION: There are significant metabonomic differences between normal controls and patients with chronic hepatitis B and DHSS, and these metabolites may be used as potential biological markers for DHSS in patients with chronic hepatitis B.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; DHSS; Plasma; Metabonomics

Liu YP, Li B, Zhang GH, Mi SP, Li H, Wei M. Metabonomic analysis of plasma samples from chronic hepatitis B patients with damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 107-113 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/107.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.107

摘要

目的: 从代谢组学的角度探讨慢性乙型肝炎湿热中阻证的分子机制.

方法: 采用超高性能液相色谱与质谱(UPLC-

■背景资料
肝脏是人体消化系统中最大的消化腺, 是人体内以代谢功能为主参与新陈代谢的重要器官. 代谢组学就是对机体代谢终端产物进行综合性多元化分析, 从整体上展示生物体复杂的内在变化状态. 组学所具备的整体性、复杂性、时空性和动态性等特点与中医理论中注重整体研究, 强调功能联系的观点是相通的. 因此采用代谢组学研究慢性乙型肝炎湿热中阻证血浆代谢谱改变可为该病证侯及辨证的规范化提供一定的科学依据.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■研发前沿
中医的核心思想是“辨证论治”，其中，辨证是论治的前提，但长期以来中医对“证”的判断主观性较强，缺乏规范化的客观性标准. 因此，对慢性乙型肝炎中医证候客观化研究已成为当务之急.

Q-TOP/MS)联用技术并结合正交偏最小二乘方-判别分析(OPLS-DA)进行对比分析慢性乙型肝炎湿热中阻证与正常对照组血浆代谢物水平.

结果: 慢性乙型肝炎湿热中阻证组与正常对照组有明显的代谢图谱分离; 慢性乙型肝炎湿热中阻证组比较正常对照组有14种代谢产物主成分差异, 其中牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、胆酸葡萄糖醛酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸等主要与胆汁酸代谢密切相关; 溶血磷脂酰胆碱(C18:3)、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、二羟基雄甾烯酮硫酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、13'-羟基-α-生育酚等主要与脂类代谢密切相关.

结论: 慢性乙型肝炎湿热中阻证患者与健康者存在代谢产物主成分差异, 这些代谢产物主成分差异可能是慢性乙型肝炎湿热中阻证的潜在分子标志物.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性乙型肝炎; 湿热中阻证; 血浆; 代谢组学

核心提示: 本研究发现慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B)湿热中阻证患者升高的溶血磷脂成分如溶血磷脂酰胆碱(C18:3; C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)等以及升高的疏水性胆汁酸成分如牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸等均对肝脏有明显的损伤作用.

刘友平, 李波, 张光海, 米绍平, 李洪, 魏嵋. 慢性乙型肝炎湿热中阻证的血浆代谢组学. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 107–113 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/107.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.107

0 引言

目前世界上有超过4亿例乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者(大约占世界人口的5%)[1], 并且, HBV感染容易发展成为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝硬化和肝细胞癌[2], 因此慢性乙型肝炎的防治是一个全球性公共卫生问题, 已引起世界各国的关注. 近年来, 祖国传统医学在治疗CHB上显示出独特的优势. 中医的核心思想是“辨证论治”, 其中, 辨证是论治的前提, 但长期以来中医对“证”的判断主观性较强, 缺乏规范化的客观性标准. 近年来国内外不少学者采用多种方法对中医“证”的内涵进行了研究, 但单层次、单系统的研究所发现的证侯的微观指标, 很难全面揭示“证”的科学内涵[3]. 近年来, 随着系统生物学的逐步深入, 组学已成为目前中医药研究中最活跃的领域之一. 组学所具备的整体性、复杂性、时空性和动态性等特点与中医理论中注重整体研究, 强调功能联系的观点是相通的[4]. 如代谢组学, 是对机体代谢终端产物进行综合性多元化分析, 他抛开了体内纷繁复杂的网络式代谢过程和生物分子相互作用过程, 从整体上展示生物体复杂的内在变化状态[5]. 因此, 代谢组学是最接近生物表型和最能有效反映细胞个体或群体功能的表征技术[6]. 本研究选取慢性乙型肝炎湿热中阻证患者为研究对象, 引入代谢组学方法, 以超高效液相色谱仪与四极杆飞行时间串联质谱仪联用技术(UHPLC-Q-TOF/MS)为平台, 研究慢性乙型肝炎湿热中阻证患者与正常对照组血浆代谢表型的变化, 从分子水平上进一步探讨慢性乙型肝炎湿热中阻证的分子机制. 为慢性乙型肝炎湿热中阻证型的物质基础研究提供现代科学依据.

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象均来自2011-02/2012-01泸州医学院附属中医医院门诊及体检中心, 年龄18-68岁, 男女不限. 研究对象的选取由医院道德委员会批准, 且所有研究对象均填写了知情同意书. 实验分两组: 正常对照组(Ctrl)(体检为无乙型肝炎感染史健康人)、慢性乙型肝炎湿热中阻证组(TM1), 每组20例, 组间在性别、年龄、并发症及临床阶段均无显著性差异(P>0.05). CHB湿热中阻证患者的收集由两名接受过严格培训的副高以上中医师辨证收集. 慢性乙型肝炎诊断标准: 参照2000年中华医学会肝病分会、传染病与寄生虫病学分会修订的《病毒性肝炎防治方案》. 临床符合慢CHB, 并有一种以上HBV-感染标志阳性. CHB中医辨证分型标准按照国家中医药管理局《中医病证诊断疗效标准》制定1991-12中华医学会内科肝病专业委员会天津会议讨论制定的《病毒性肝炎中医辨证标准(试行)》进行病例纳入标准: (1)符合慢性乙型肝炎诊断标准; (2)符合慢性乙型肝炎湿热中阻证: 主证-身目发黄, 色泽鲜明, 苔黄腻; 次证-恶心、厌油, 纳呆; 肋胀脘闷. 病例排除标准: (1)合并其他病毒感染者; (2)年龄<18岁或>68岁者; (3)孕妇及其他药瘾者; (4)急性肝炎、肝硬化、

肝癌及其并发症患者; (5)不符合中医辨证分型标准者; (6)合并其他严重心脑血管、肺、肾和造血系统疾病者. 美国Waters Acquity UPLC超高效液相色谱仪, 美国Waters Q-TOF Premier质谱仪购自美国Waters公司. LC/MS级乙腈购自J. T. Baker公司(USA); HPLC级甲醇购自Merck公司(Darmstadt, Germany); 甲酸购自Fluka公司(Buchs, Switzerland), 亮氨酸-脑啡肽(leucine-enkephalin, LE)标准品购自Sigma公司(USA). 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、球蛋白(globulin , GLO)、总胆红素(total bilirubin, TBIL), 直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)检测试剂盒购自上海荣盛生物制剂厂. 其他试剂均为市售分析纯.

1.2 方法

1.2.1 样品收集及处理: 实验对象不做任何治疗, 记录体检肝功、B超、HBV DNA等检查结果, 并抽取所有实验对象空腹外周血EDTA抗凝, 3000 r/min离心10 min后收集血浆100 μL置于200 μL Eppendorf管中, 置-80 ℃冰箱保存. 所有血浆进行代谢组学分析前, 先在室温下解冻, 震荡1 min. 向100 μL样本中加入400 μL色谱级甲醇∶乙腈 = 1∶1, 漩涡震荡2 min后于4 ℃放置10 min, 4 ℃离心(15000 *g*)15 min, 取上清液400 μL, 4 ℃离心(15000 *g*)10 min, 取200 μL上清液进行LC-MS全谱检测.

1.2.2 UHPLC-MS分析: (1)液相色谱条件: 色谱分离的仪器分析平台为Acquity Ultra Performance LC Q-TOF premie(Waters), 分离色谱柱为Waters ASQUITY UPLC C18色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)及UPLC C18保护柱(2.1 mm × 5 mm). 色谱分离条件为: 柱温为40℃; 流速0.4 mL/min; 流动相组成A: 水+0.1%甲酸, B: 乙腈+0.1%甲酸; 进样量为5 μL, 自动进样器温度4 ℃; (2)质谱条件: 质谱分析分别采用ESI正离子和负离子两种模式进行检测; 以氮气作为雾化、锥孔气; 飞行管检测模式V型. 电喷雾正电离(electrospray Ionization, 简记为ESI+)模式条件为: 毛细管电压(capillary voltage)3 kV、锥孔电压(sampling cone)35 kV、离子源温度(source temperature)100 ℃; 脱溶剂气温度(desolvation temperature)300 ℃、反向锥孔气流(cone gas flow)50 L/h、脱溶剂气流量(desolvation gas flow)600 L/h、萃取锥孔(extraction cone)4 V. 负离子模式(ESI-)条件为: 毛细管电压(capillary voltage)3 kV、锥孔电压50 kV、离子源温度100 ℃; 脱溶剂气温度350 ℃、反向锥孔气流50 L/h、脱溶剂气流量700 L/h、萃取锥孔4 V. 为确保质量的准确性和重复性, 应用亮氨酸-脑啡肽作为锁定质量, 正离子模式下产生[M+H]+离子556.2771 Da, 负离子模式下产生[M-H]-离子554.2615 Da; (3)实验数据分析: 将UPLCQ-TOF-MS获得的原始质谱数据导入MarkerLynx软件包(waters, USA), 进行峰识别、峰对齐和基线矫正等预处理, 最后输出三维矩阵, 即由精确质核比与保留时间组成的变量、样品名称和峰强度/面积. 将处理后的数据矩阵导入Simca-P软件(版本11.5)分别进行主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘方判别分析(OPLS-DA). 对正常对照组和慢性乙型肝炎湿热中阻证组进行模式识别, 并寻找组间较大差异性代谢物, 并对这些物质进行初步鉴定.

统计学处理 所有数据的统计分析在Excel及SPSS11.0软件上进行, 组间比较采用*t*检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组实验室生化指标对比观察 与正常组比较, 慢性乙型肝炎湿热中阻证组血浆中ALT、AST、GLO、TBIL、DBIL、HBV DNA水平均升高($P<0.05$), 总蛋白(total protein, TP)轻度降低($P<0.05$)(表1).

2.2 血浆UPLC/Q-TOF-MS 代谢图谱分析 对所有质控样本(quality control, QC)的总离子流色谱图(TIC)进行检查, 重现性良好, 未发现含有异常总离子流色谱图(TIC)的样本(图1). 由于QC样本均匀分散在整个实验过程中, 说明系统稳定性良好, 数据可靠性良好, 可以满足代谢组学研究的要求.

2.3 两组代谢组学图谱的实验数据对比分析

2.3.1 正交偏最小二乘方-判别分析(OPLS-DA): 采用有监督的多维统计分析方法-正交偏最小二乘方-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)对两组样本之间的差异进行模型分析. 采用(pareto scaling)标度化, 首先对全部数据进行OPLS-DA建模, 然后采用正交信号校正技术(orthogonal signal correction, OSC)滤掉与类别判断正交不相关的变量信息, 保留与类别判断有关的变量, 再进行偏最小二乘方-判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)分析, 发现各组之间在

■相关报道
Debois等认为, 代谢组学是最接近生物表型和最能有效反映细胞个体或群体功能的表征技术.

■创新盘点

本研究通过超高性能液相色谱与质谱(UPLC-Q-TOP/MS)联用技术对比分析慢性乙肝湿热中阻证与正常对照组血浆代谢物水平发现：两组间有明显的代谢图谱分离；慢性乙肝湿热中阻证组比较正常对照组有14种代谢产物主成分差异，如溶血磷脂酰胆碱(C18:3; C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、磷脂酰胆碱(C22:6)、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、甘氨鹅脱氧胆盐-3-硫酸盐等，以上这些差异表观的代谢物成分主要与脂类及胆汁酸代谢相关.

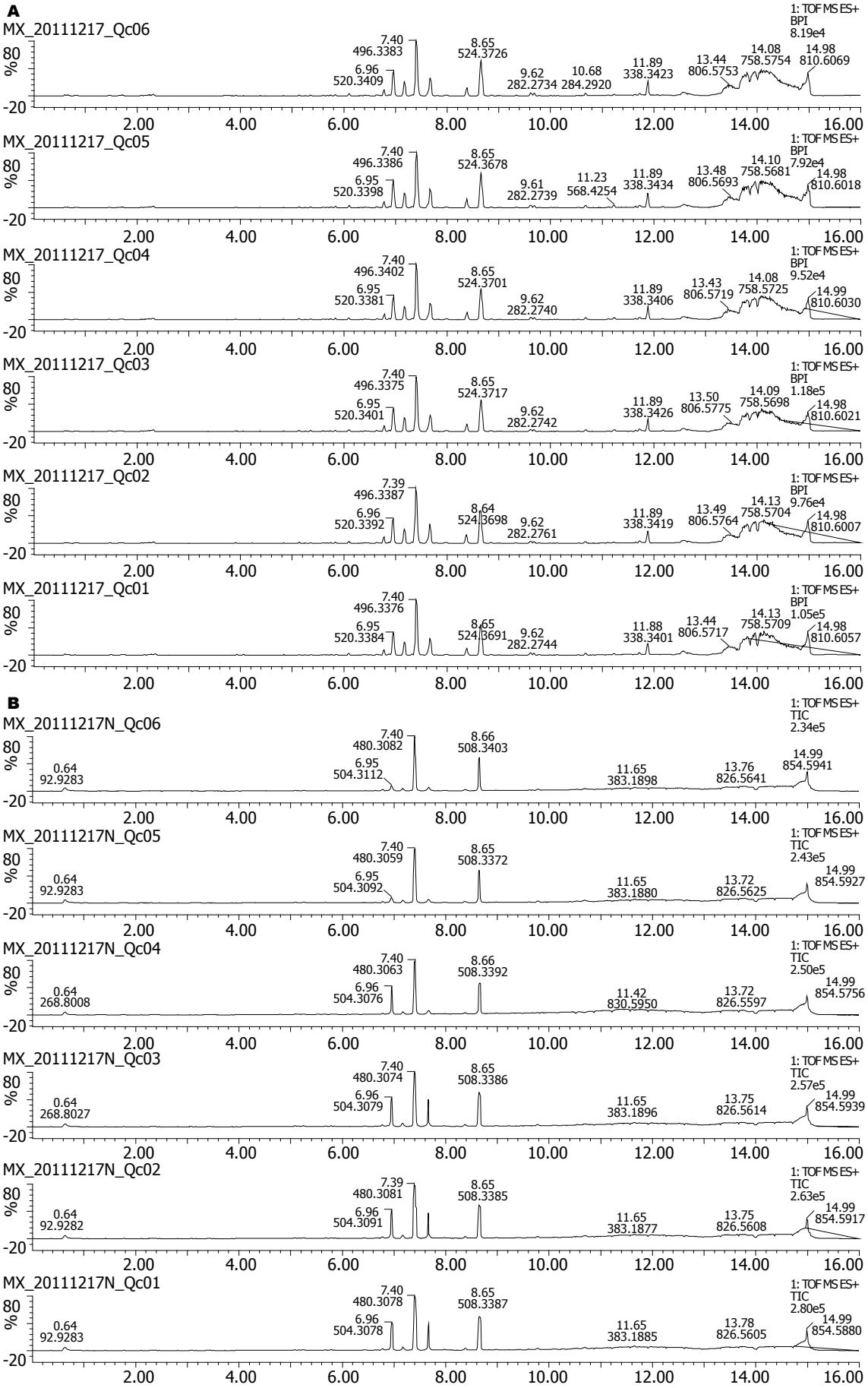


图 1 血浆总离子流色谱图. A: 正离子模式下QC样品的UPLC Q-TOF MS总离子流(TIC)重现性比较; B: 负离子模式下QC样品的UPLC Q-TOF MS总离子流(TIC)重现性比较.

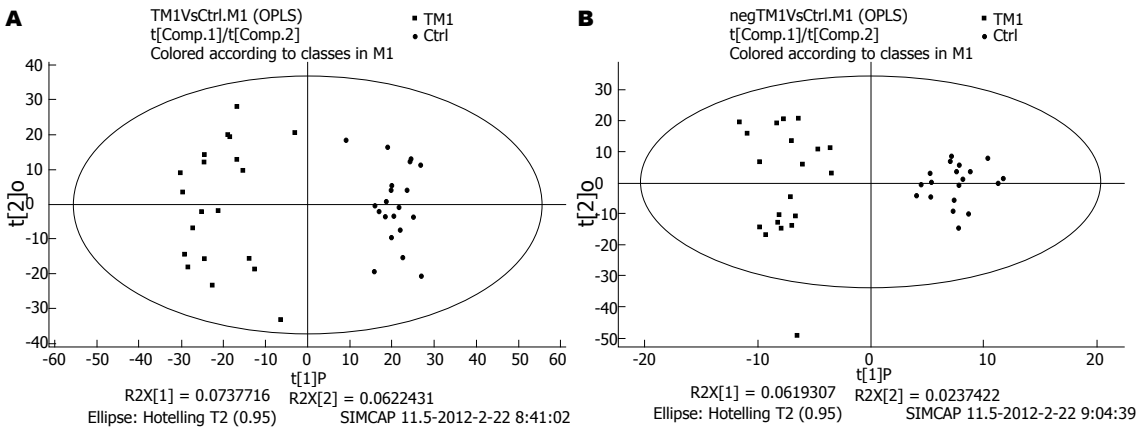


图 2 两组间OPLS-DA分析结果. A: 两组间ESI+模式下OPLS-DA分析; B: 两组间ESI-模式下OPLS-DA分析.

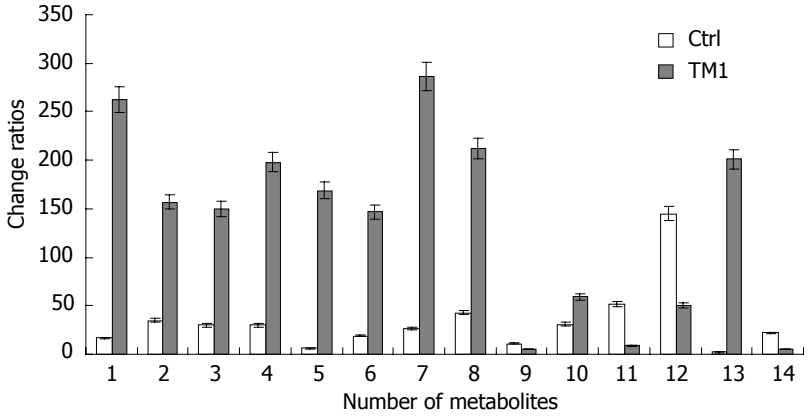


图 3 两组间潜在差异代谢物的变化比率.

表 1 3组样本血浆中生化指标水平比较 (n = 20, mean ± SD)

	正常组	慢性乙型肝炎湿热中阻证组
总蛋白(g/L)	65.12 ± 3.95	54.14 ± 2.74
球蛋白(g/L)	23.58 ± 2.21	31.82 ± 2.55
谷丙转氨酶(U/L)	29.52 ± 7.02	282.62 ± 112.89
天冬氨酸转氨酶(U/L)	32.38 ± 4.87	850.25 ± 140.01
总胆红素(μmol/L)	14.13 ± 2.33	67.14 ± 2.735
直接胆红素(μmol/L)	8.93 ± 1.36	43.92 ± 3.86
HBV DNA (cps/mL)	<1000	$3.6 \times 10^6 \pm 6520.24$

OPLS-DA得分图上具有很好的代谢谱分离, 表明两组样本之间具有显著的代谢差异(图2).

2.3.2 差异性代谢物的鉴定: 采用OPLS-DA模型第一主成分的VIP(variable importance in the projection)值[阈值>2(负离子)或阈值>3(正离子)], 并结合学生氏t检验的P值(阈值<0.05)来寻找差异性表达代谢物, 并将P<0.05的化合物进行二级质谱定性. 差异性代谢物的定性方法为: 根据精确分子量搜索Met lin和HMDB数据库, 搜索质量阈值设定为25 ppm. 最终分析发现: CHB湿热中阻证观察组与正常对照组比较共14种代谢物发生显著性量的改变(P<0.05)(表2, 图3); 其中有4种代谢物相对对照组是降低的(图3), 其余均升高.

3 讨论

本研究以UHPLC-Q-TOF/MS为平台, 对CHB湿热中阻证患者及正常对照组进行血浆代谢谱对比分析发现: 两组间具有很好的代谢谱分离, 表明两组样本之间具有显著的代谢差异, 所以采用此方法进行慢性乙型肝炎湿热中阻证机制的研究是可行的. 进一步对两组数据进行分析发现, 慢性乙型肝炎湿热中阻证组较正常对照组共有14个代谢物发生显著性量的变化(P<0.05), 其中仅α-蒎烯氧化物、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、胆酸葡萄糖醛酸、磷脂酰胆碱(C22:6)4种代谢物与对照组比较为显著性下降

■应用要点
慢性乙型肝炎湿热中阻证组比较正常对照组有14种代谢产物主成分差异, 这些差异代谢物大多数对肝脏有明显的损伤作用. 因此, 这些差异代谢物可能是导致慢性乙型肝炎湿热中阻证严重肝损伤的罪魁祸首, 也是慢性乙型肝炎湿热中阻证发生发展机制的标志性代谢产物.

■同行评价
本文从分子水平上探讨慢性乙肝湿热中阻证的分子机制，可为慢性乙肝湿热中阻证型的物质基础研究提供现代科学依据.

表 2 正常对照组(Ctrl)与观察组(TM1)差异化合物比较

编号	代谢物	离子模式	分子量	*P*值 (TM1VsCtrl)	变化比率 (Ctrl/TM1)	相关代谢途径/功能
1	牛磺鹅脱氧胆酸	ESI−	498.285	0.0015	17/262	胆汁酸代谢
2	溶血磷脂酰胆碱	ESI−	516.294	0.0001	35/157	脂类代谢
3	胆烷酸	ESI−	401.305	0.0001	30/150	胆汁酸代谢
4	甘氨鹅脱氧胆酸−3−葡萄糖醛酸	ESI−	624.338	0.0013	30/198	胆汁酸代谢
5	甘氨鹅脱氧胆盐−3−硫酸盐	ESI−	564.227	0.0015	6/169	胆汁酸代谢
6	2,6−二氨基−4−羟基−5−N−甲基甲酰嘧啶	ESI−	548.228	0.0001	19/147	核苷酸代谢
7	溶血磷脂酰乙醇胺	ESI−	556.331	0.0005	27/286	脂类代谢
8	二羟基雄甾烯酮硫酸	ESI−	383.152	0.0012	43/212	脂类代谢
9	α−蒎烯氧化物	ESI−	151.112	0.0009	11/5	细胞信号转导/膜的稳定性
10	13'−羟基−α−生育酚	ESI−	445.331	0.0014	31/59	脂类代谢
11	胆酸葡萄糖醛酸	ESI−	583.312	0.0004	52/9	胆汁酸代谢
12	磷脂酰胆碱	ESI+	852.563	0.0001	145/50	脂类代谢
13	磷脂酰乙醇胺	ESI+	822.569	0.0021	2/201	脂类代谢
14	溶血磷脂酰胆碱	ESI+	520.339	0.0026	22/5	脂类代谢

外，其余都为显著性上升. 其中牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、胆酸葡萄糖醛酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸等主要与胆汁酸代谢密切相关；溶血磷脂酰胆碱(C18:3)、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、二羟基雄甾烯酮硫酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺(C24:1) 、13'-羟基-α-生育酚等主要与脂类代谢密切相关. 相关研究表明：CHB患者普遍都存在脂类代谢紊乱及胆汁酸代谢紊乱[7]. 可见，慢性乙型肝炎湿热中阻证患者也不例外.

有研究报道，表达乙型肝炎病毒的肝细胞可产生与内质网相关的、包括溶血磷脂在内的内源性抗原脂质，这些内源性抗原脂质是由乙型肝炎病毒诱导分泌的磷脂酶产生的，可诱导自然杀伤T细胞(natural killer T cell, NKT)的激活[8]，从而导致内质网内脂质环境的失衡ER[9]. 本研究发现，CHB湿热中阻证患者中溶血磷脂酰胆碱(C18:3; C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、磷脂酰胆碱(C22:6)、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、13'-羟基-α-生育酚等与脂质代谢相关的代谢成分发生了明显的代谢紊乱，其中溶血磷脂酰胆碱(C18:2)和磷脂酰胆碱(C22:6)为明显降低成分外，其余为升高成分，而溶血磷脂是各种甘油磷脂经水解脱去一个脂酰基后的产物，是一类具有较强表面活性的物质，对血管内皮细胞有直接毒害作用作用，能使红细胞及其他细胞膜破裂，引起溶血或细胞坏死[10-12]. 可见，以上升高的溶血磷脂成分可能是慢性乙型肝炎湿热中阻证肝损伤机制之一.

此外在对肝脏损伤机制的研究过程中，胆盐毒性作用学说一直是大家认可和关注的焦点，特别是疏水性胆汁酸，如胆酸、牛磺鹅脱氧胆酸、鹅脱氧胆酸、甘氨鹅脱氧胆酸、和石胆酸. 大量研究表明疏水性胆汁酸具有很强的细胞毒性损伤作用，在体内外均可诱导肝细胞明显凋亡[13-15]. 本研究发现：CHB湿热中阻证患者中牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、甘氨鹅脱氧胆盐-3-硫酸盐等胆汁酸成分相对健康正常组均显著升高($P<0.05$)，且其中大部分都是疏水性胆汁酸. 可见，这些升高的疏水性胆汁酸成分可能是慢性乙型肝炎湿热中阻证患者肝损伤机制的另一主要原因之一.

总之，以上这些差异表观的代谢物成分主要与脂类及胆汁酸代谢相关，而肝脏在脂类和胆汁酸的代谢中均起着重要作用. 可见，以上这些差异代谢物可能是导致慢性乙型肝炎湿热中阻证严重肝损伤的罪魁祸首，也是CHB湿热中阻证发生发展机制的标志性代谢产物.

4 参考文献

1 Wu B, Shen J, Cheng H. Cost-effectiveness analysis of different rescue therapies in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B in China. *BMC Health Serv Res* 2012; 12: 385 [PMID: 23137013 DOI: 10.1186/1472-6963-12-385]

2 Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985; 317: 489-495 [PMID: 2995835 DOI:

10.1038/317489a0]
3 杜武勋, 朱明丹, 袁宏伟, 冯利民, 朱林平, 刘岩, 周营, 魏聪聪, 张少强. 病证结合, 方证相应的系统−系统的方证相应动态研究. 中国中西医结合杂志 2012; 32: 839-842
4 丁海拔, 盛梅笑. 从组学探讨中医证候本质的研究概况. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 502-504.
5 Nicholson JK, Holmes E, Lindon JC, Wilson ID. The challenges of modeling mammalian biocomplexity. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 1268-1274 [PMID: 15470467 DOI: 10.1038/nbt1015]
6 Debois D, Bralet MP, Le Naour F, Brunelle A, Laprévote O. In situ lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver by cluster TOF-SIMS imaging. *Anal Chem* 2009; 81: 2823-2831 [PMID: 19296690 DOI: 10.1021/ac900045m]
7 Du Z, Zhang L, Liu S. [Application of liquid chromatography-mass spectrometry in the study of metabolic profiling of cirrhosis in different grades]. *Se Pu* 2011; 29: 314-319 [PMID: 21770240 DOI: 10.3724/SP.J.1123.2011.00314]
8 Zeissig S, Murata K, Sweet L, Publicover J, Hu Z, Kaser A, Bosse E, Iqbal J, Hussain MM, Balschun K, Röcken C, Arlt A, Günther R, Hampe J, Schreiber S, Baron JL, Moody DB, Liang TJ, Blumberg RS. Hepatitis B virus-induced lipid alterations contribute to natural killer T cell-dependent protective immunity. *Nat Med* 2012; 18: 1060-1068 [PMID: 22706385 DOI: 10.1038/nm.2811]
9 Satoh O, Umeda M, Imai H, Tunoo H, Inoue K. Lipid composition of hepatitis B virus surface antigen particles and the particle-producing human hepatoma cell lines. *J Lipid Res* 1990; 31: 1293-1300 [PMID: 2169517]
10 Chang MK, Hartvigsen K, Ryu J, Kim Y, Han KH. The pro-atherogenic effects of macrophages are reduced upon formation of a complex between C-reactive protein and lysophosphatidylcholine. *J Inflamm* (Lond) 2012; 9: 42 [PMID: 23114023 DOI: 10.1186/1476-9255-9-42]
11 Esterbauer H, Ramos P. Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1996; 127: 31-64 [PMID: 8533011 DOI: 10.1007/BFb0048264]
12 田庆印, 刘同涛, 李伯勤, 潘其兴, 朱清. 普罗布考对溶血磷脂酰胆碱致培养人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用. 中国动脉硬化杂志 2003; 11 : 211-213
13 陈江, 逯心敏, 朱文静, 郭渝. GCDCA对肝癌SMMC7721细胞诱导分化的影响. 现代检验医学杂志 2011; 26: 89-91
14 Rust C, Bauchmuller K, Bernt C, Vennegeerts T, Fickert P, Fuchsbichler A, Beuers U. Sulfasalazine reduces bile acid induced apoptosis in human hepatoma cells and perfused rat livers. *Gut* 2006; 55: 719-727 [PMID: 16322111 DOI: 10.1136/gut.2005.077461]
15 Jürgens S, Meyer F, Spechler SJ, Souza R. The role of bile acids in the neoplastic progression of Barrett's esophagus - a short representative overview. *Z Gastroenterol* 2012; 50: 1028-1034 [PMID: 22965634]

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 2014年1月8日; 22(1): 114-118
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系

刘彦丽, 靳 元, 付雪丹, 韩 秋

■背景资料
随着科技进步, 彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)和彩色能量血流显像(color power Dopper imaging anglo, CPA)等多普勒超声新技术逐渐被运用于解肿瘤的血供情况, 其无创、不良反应小、操作简便等优势使得在其临床大范围应用. 然而, 愈来愈多的研究证明, 若要提高肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的早期诊断准确性, 需要将影像医学和分子生物学技术结合起来, 只有发现其与生物学指标的相关性, 才有望在临床诊断中发挥早期诊断的作用, 更准确地帮助治疗HCC.

■同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科 黑龙江省大庆市 163453
刘彦丽, 主治医师, 主要从事腹部器官超声诊断的研究.
作者贡献分布: 课题的设计及论文写作由刘彦丽完成; 研究过程及数据分析由靳元完成; 研究过程由付雪丹完成; 实验试剂由韩秋提供.
通讯作者: 刘彦丽, 主治医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科. cheyuchanl@163.com
电话: 0459-5910872
收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2013-11-25
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-08

Relationship between liver ultrasonography and immunohistochemistry indicators in patients with hepatocellular carcinoma

Yan-Li Liu, Yuan Jin, Xue-Dan Fu, Qiu Han

Yan-Li Liu, Yuan Jin, Xue-Dan Fu, Qiu Han, Department of Physical Diagnosis, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Yan-Li Liu, Attending Physician, Department of Physical Diagnosis, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, 35 Aiguo Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. cheyuchanl@163.com
Received: 2013-11-06 Revised: 2013-11-25
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-08

Abstract
AIM: To explore the correlation between immunohistochemistry indexes and two-dimensional ultrasound, color Doppler flow imaging (CDFI), and color power angio (CPA) parameters in patients with hepatocellular carcinoma.

METHODS: Sixty-two patients with hepatocellular carcinoma were included in this study. Two-dimensional ultrasonography was used to observe the morphology, size, border, the echo intensity and internal echo of the liver mass. The CDFI and CPA were used to observed tumor region and the surrounding blood supply. The expression of the p53 and PCNA was detected by the immunohistochemical SABC method. The change in microvessel density was measured. Correlation between radiographic parameters and immunohistochemical indexes was analyzed.

RESULTS: MVD values differed significantly among the groups divided based on the shape, number, echo, borders, uniform values and necrosis degree revealed by two-dimensional ultrasound (all $P < 0.05$). The p53 protein and PCNA expression in patients with multiple tumors, unclear tumor boundary, uneven echo, internal necrosis, or portal vein tumor thrombus was significantly higher than those with single tumors, clear tumor boundary, even echo, the absence of necrosis or portal vein tumor thrombus (all $P < 0.05$). The 53 and PCNA protein expression was significantly higher in patients with metastasis than in those without metastasis (both $P < 0.05$). MVD value, p53 protein and PCNA expression in CDFI grade III tumors were significantly higher than those in CDFI grade I tumors (MVD: 55.26 ± 18.47 *vs* 34.59 ± 11.18, p53 protein: 9/9 *vs* 6/18, PCNA: 9/9 *vs* 12/18, all $P < 0.05$). MVD value in CPA grade I and II tumors were lower compared with CPA grade III tumors (26.58 ± 8.42, 35.43 ± 13.04 *vs* 51.52 ± 16.36). The p53 protein and PCNA expression was significantly higher in CPA grade II and III tumors than in CPA grade I tumors (p53: 21/32, 12/12 *vs* 3/18; PCNA: 29/32, 12/12 *vs* 6/18) (all $P < 0.05$). CDFI and CPA grades were positively correlated with MVD, p53 protein and PCNA expression (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Two-dimensional ultrasound, CDFI and CPA parameters are closely related to the p53 PCNA protein expression and MVD value, which could be used as useful tools for HCC screening and diagnosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Liver ultrasonography; Immunohistochemistry indicators

Liu YL, Jin Y, Fu XD, Han Q. Relationship between liver ultrasonography and immunohistochemistry indicators

in patients with hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 114-118 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/114.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.114

摘要

目的: 探讨肝癌患者二维超声、彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)、彩色能量血流显像(color power Dopper imaging anglo, CPA)与免疫组织化学指标的相关性.

方法: 选择62例肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者为研究对象, 应用二维超声观察肝脏内肿块的形态、大小、边界、回声强度及内部回声情况, 应用CDFI、CPA观察肿瘤区域及周边血供情况, 并采用免疫组织化学SABC法观察p53及增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达情况, 并且测定微血管密度(microvessel density, MVD), 分析影像学参数与免疫组织化学指标的相关性.

结果: 二维超声结果显示, MVD均值在形态、个数、回声、边界、均匀值、坏死程度分组中差异均有统计学意义(P<0.05). 瘤体多发、瘤体边界不清、回声不均、内部伴坏死、伴门静脉癌栓者的p53蛋白及PCNA阳性表达均高于瘤体单发、边界清、内部回声均匀者(P<0.05). 有转移组的MVD值、p53蛋白及PCNA阳性表达率均显著高于无转移组(P<0.05). 不同CDFI分型中, Ⅲ型与Ⅰ型相比, MVD值、p53蛋白及PCNA表达均较高(MVD: 55.26±18.47 *vs* 34.59±11.18, p53蛋白: 9/9 *vs* 6/18, PCNA: 9/9 *vs* 12/18), 差异有统计学意义(P<0.05). 不同CPA分型中, 与Ⅲ型的MVD值相比, Ⅰ型的MVD值与Ⅱ型的MVD值均低于Ⅲ型(Ⅰ型, MVD: 26.58±8.42 *vs* 51.52±16.36, Ⅱ型: 35.43±13.04 *vs* 51.52±16.36)(P<0.05). 与Ⅰ型的p53、PCNA表达相比, Ⅱ型和Ⅲ型的p53蛋白、PCNA表达均高于Ⅰ型(Ⅱ型, p53蛋白: 21/32 *vs* 3/18, Ⅲ型: 12/12 *vs* 3/18)(Ⅱ型, PCNA: 29/32 *vs* 6/18, Ⅲ型: 12/12 *vs* 6/18)(均P<0.05). CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间呈正相关, 差异均有统计学意义(P<0.01).

结论: 二维超声、CDFI、CPA及与MVD、p53蛋白及PCNA有密切关系, 在一定程度上可作为肝癌初筛方法, 对临床肝癌的诊断具有重要价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌; 肝脏超声检查; 免疫组织化学指标

核心提示: 本研究通过分析医学影像学参数以及微血管密度(microvessel density)、p53蛋白和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen)表达的检测结果, 探讨肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系, 并为肝细胞癌的诊断治疗及预后提供理论依据.

刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋. 肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 114-118 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/114.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.114

■相关报道
有研究显示, 肝癌的发生和转移的相关因素可能是新生肿瘤血管, 肝癌的血管分布、血供特点与肝癌的诊断、防治及预后息息相关.

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌, 在我国属于高发病, 其病程短且死亡率高, 已严重威胁着人民的健康[1]. 目前, 关于HCC的发病机制以及早期诊断、治疗和预后的研究正日新月异地发展, 影像医学正成为研究HCC的主要方法之一. 随着科技进步, 彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)与彩色能量血流显像(color power angio, CPA)等多普勒超声新技术逐渐被运用于解肿瘤的血供情况, 其无创、不良反应小、操作简便等优势使得在其临床大范围应用[2]. 然而, 愈来愈多的研究证明, 若要提高HCC的早期诊断准确性, 需要将影像医学和分子生物学技术结合起来, 只有发现其与生物学指标的相关性, 才有望在临床诊断中发挥早期诊断的作用, 更准确地帮助治疗HCC[3]. 本研究通过分析医学影像学参数以及微血管密度(microvessel density, MVD)、p53蛋白和细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)表达的检测结果, 探讨肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系, 并为HCC的诊断治疗及预后提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择已经手术或穿刺活检病理确诊为肝细胞癌患者为研究对象, 共62例, 其中男48例, 女14例, 平均年龄47.80岁±16.10岁. 实验进行前, 患者均已签署知情同意书. 其中, 根据肿瘤直径分小肝癌12例、结节型38例, 巨块型12例; 根据肿瘤有无转移分为转移组22例, 无转移组40例. 所有研究对象均未经介入治疗或化疗, 两组患者的一般资料近似, 差异无统计学意义

■应用要点
肝癌超声技术与细胞因子有着密切的联系，CDFI、CPA不仅能通过简便、无创的操作方法获得肝脏血流信息，并且与分子生物学指标表现出高度的一致性，可能对于肝癌的诊断和治疗有重要的价值.

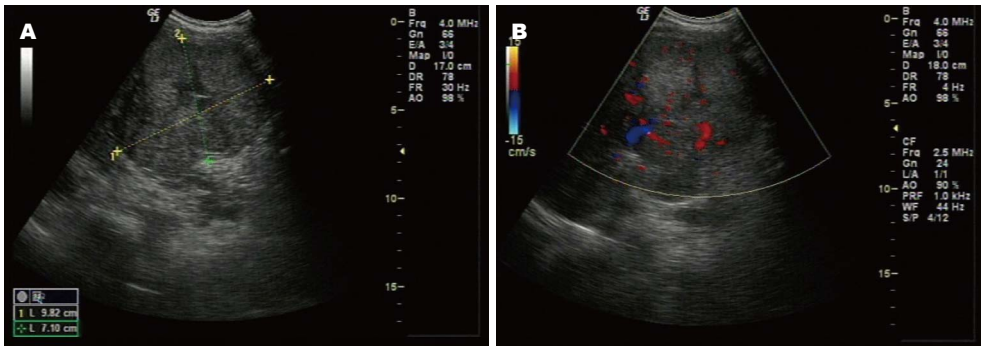


图 1 HCC的典型声像图. A: 二维声像图, 病灶内径: 98.2 mm×71.0 mm; B: 多普勒声像图, 血流较丰富.

表 1 二维超声与MVD、p53蛋白及PCNA表达间的关系

	分类 (n)	微血管密度	t值	P值	P53蛋白表达				Z值	P值	细胞核抗原表达					Z值	P值
					−	+	++	+++			−	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ		
肿瘤直径	小肝癌(12)	20.24±7.78	6.845	0.000	8	1	2	1	29.939	0.000	7	3	2	0	0	5.932	0.018
	结节型(38)	38.56±13.15			19	5	6	8			6	4	4	12	12		
	巨块型(12)	53.43±22.71			5	3	5	3			2	0	3	5	2		
个数	单个(22)	30.28±10.32	3.018	0.003	15	4	3	0	3.745	0.012	10	3	4	3	2	6.872	0.015
	多发(40)	49.34±19.91			11	5	9	15			5	3	5	13	14		
回声	高回声(18)	33.31±15.24	3.224	0.012	8	4	2	4	11.823	0.002	4	4	5	4	1	11.748	0.087
	等回声(12)	37.32±17.89			7	1	2	2			3	2	4	1	2		
	低回声(32)	45.63±20.08			12	6	7	7			9	9	6	5	3		
边界	边界清(36)	25.85±9.21	6.146	0.021	18	8	6	4	7.936	0.033	10	8	10	6	2	6.002	0.026
	边界不清(26)	49.28±18.24			6	4	9	7			5	3	2	7	9		
均匀性	回声均匀(27)	30.72±12.01	4.972	0.018	14	7	4	2	3.753	0.021	9	10	6	2	0	5.637	0.034
	回声不均(35)	46.26±20.32			12	8	6	9			5	4	7	9	10		
是否伴坏死	伴坏死(18)	55.66±25.34	5.384	0.024	3	1	10	4	6.926	0.016	1	1	1	7	8	7.773	0.013
	不伴坏死(44)	32.12±11.06			23	9	6	6			12	9	9	8	6		
是否转移	有转移(22)	50.65±18.92	5.231	0.011	1	4	8	9	10.377	0.027	0	0	1	10	11	4.173	0.045
	无转移(40)	31.34±12.41			23	7	6	4			12	5	9	8	6		

(P>0.05), 可以进行比较. 免疫组织化学SABC试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 检测: 应用GE Logiq P3彩超仪, C5-1超宽频探头, 二维超声观察肝脏内肿块的形态、大小、边界、回声强度及内部回声情况, 常规显示门静脉, 观察内有无癌栓及腹腔、大血管旁有无淋巴结转移. 应用CDFI观察肿块内及周边血供情况, 并分为0、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 4型. 应用CPA观察肿瘤区域血供情况, 并结果分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 3型. 采用免疫组织化学SABC法观察p53及PCNA的表达, 其结果判定按照SABC试剂盒说明书判定, 结果判定标准为: (1)p53蛋白和PCAN均以细胞核呈清晰棕黄色为阳性; (2)p53阳性细胞所占比例分别为4级: <5%为-, 5%-10%为+, <10%-50%为++, >50%为+++; (3)PCNA染色随机计数5个高倍视野约500个癌细胞, 取平均阳性细胞率并分为Ⅰ-Ⅳ级: 10%-25%为Ⅰ级, <25%-50%为Ⅱ级, <50%-75%为Ⅱ级, >75%为Ⅳ级; (4)阳性对照: p53蛋白以表达强阳性的乳腺癌, PCNA以强阳性的结肠癌存档的石腊切片作阳性对照. 并进行微血管密度(MVD)计数[4], 即肝窦内孤立的棕黄色血管内皮细胞或细胞簇代表1条单独的微血管.

1.2.2 HCC的病理分级: 根据Edmondson HCC肿瘤细胞学分级标准, 将62例肝细胞肝癌患者分为Ⅰ-Ⅳ级[5].

统计学处理 数据处理及分析应用统计学软件SPSS17.0, 计量资料均以mean±SD表示, 应用Pearson相关分析, P<0.05为差异有统计学意义.

表 2 CDFI与CD34、p53蛋白及PCNA表达间的关系

CDFI分级	n	MVD值	P53蛋白表达	PCNA表达
0 (11)	11	26.32 ± 8.85	0/11	2/11
Ⅰ (18)	18	34.59 ± 11.18[a]	6/18[a]	12/18[a]
Ⅱ (24)	24	46.64 ± 13.96	21/24	24/24
Ⅲ (9)	9	55.26 ± 18.47	9/9	9/9
F/χ^2值		2.535	1.953	3.684
P值		0.006	0.028	0.014

[a]P<0.05 *vs* CDFI分级Ⅲ. CDFI: 彩色多普勒血流显像; MVD: 微血管密度; PCNA: 增殖细胞核抗原.

表 3 CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系

CPA分级	n	MVD值	p53蛋白	PCNA表达
Ⅰ (18)	18	26.58 ± 8.42[a]	3/18	6/18
Ⅱ (32)	32	35.43 ± 13.04[a]	21/32[c]	29/32[e]
Ⅲ (12)	12	51.52 ± 16.36	12/12[c]	12/12[e]
F/χ^2值		5.531	3.588	2.424
P值		0.021	0.003	0.023

[a]P<0.05 *vs* CPA分级Ⅲ; [c]P<0.05 *vs* CPA分级Ⅰ; [e]P<0.05 *vs* CPA分级Ⅰ. CPA: 彩色能量血流显像; MVD: 微血管密度; PCNA: 增殖细胞核抗原.

2 结果

2.1 二维超声与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系 HCC的典型二维声像图和多普勒声像图如图1所示. 在62例HCC组织中, MVD均值在形态、个数、回声、边界、均匀值、坏死程度分组中比较, 差异均有统计学意义(P<0.05). 瘤体多发、瘤体边界不清、回声不均、内部伴坏死、伴门静脉癌栓者的p53蛋白及PCNA阳性表达均高于瘤体单发、边界清、内部回声均匀者(P<0.05). 有转移组的MVD值、p53蛋白及PCNA阳性表达率均显著高于无转移组(P<0.05)(表1).

2.2 CDFI与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系 不同CDFI分型中, MVD值、p53蛋白及PCNA表达不完全相同, 差异有统计学意义(P<0.05). Ⅲ型与Ⅰ型相比, MVD值、p53蛋白及PCNA表达均较高, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系 不同CPA分型中, MVD值、p53蛋白及PCNA表达不完全相同, 差异有统计学意义(P<0.05). 与Ⅲ型的MVD值相比, Ⅰ型的MVD值与Ⅱ型的MVD值均低于Ⅲ型(P<0.05). 与Ⅰ型的p53蛋白、PCNA表达相比, Ⅱ型和Ⅲ型的p53蛋白、PCNA表达均高于Ⅰ型(P<0.05)(表3).

表 4 CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系

		MVD值	p53	PCNA
CDFI	r值	0.554	0.638	0.543
	P值	0.001	0.000	0.001
CPA	r值	0.623	0.416	0.471
	P值	0.001	0.003	0.000

CDFI: 彩色多普勒血流成像; CPA: 彩色能量血流显像; MVD: 微血管密度; PCNA: 增殖细胞核抗原.

2.4 CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系 CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间呈正相关, 差异均有统计学意义(P<0.01)(表4).

3 讨论

随着科学技术的不断进步, 关于HCC发病机制逐渐被发现, 与各种细胞因子如CD34、p53蛋白及PCNA的关系也被深入研究. 医学影像学、病理学与MVD、p53蛋白和PCNA表达的检测均是探讨HCC的发生、分级、分期、转移和预后评价的重要方法[6-8]. P53蛋白表达的强弱与HCC分化程度相关, 且其表达的阳性物质均位于细胞核内, 也作为HCC诊断及预后的独立指标[9,10]. 而PCNA主要存在于G_1晚期和S期的细胞核中, 也有人将其作为评价肿瘤恶性程度和预后的一项重要指标. 有研究[11,12]显示, 肝癌的发生和转移的相关因素可能是新生肿瘤血管, 肝癌的血管分布、血供特点与肝癌的诊断、防治及预后息息相关.

实验中二维超声结果显示, MVD均值在形态、个数、回声、边界、均匀值、坏死程度分组中比较, 差异均有统计学意义, 瘤体多发、瘤体边界不清、回声不均、内部伴坏死、伴门静脉癌栓者的p53蛋白及PCNA阳性表达均高于瘤体单发、边界清、内部回声均匀者, 有转移组的MVD值、p53蛋白及PCNA阳性表达率均显著高于无转移组(P<0.05), 说明MVD均值越大, p53蛋白和PCNA阳性表达水平越高, HCC组织细胞分化越差, HCC恶性程度越高, 转移的可能越大. 实验中, 不同CDFI分型中, MVD值、p53蛋白及PCNA表达不完全相同, Ⅲ型与Ⅰ型相

■同行评价
本文选题实用, 设计合理, 结果可靠, 讨论丰富, 对临床诊断有很好的参考意义.

比, MVD值、p53蛋白及PCNA表达均较高, 说明CDFI血流分型与细胞因子的表达及MVD值存在一定关系. CDFI能显示HCC的肿瘤双重血供的特点, 并且其血流分型与HCC的分化程度及转移密切相关, 即血流越丰富, 分化程度越低, 转移机会越大[13-15]. CDFI血流分型越高, p53蛋白及PCNA表达程度越高, 可以进一步推断HCC的疾病越严重. CPA 3个型之间的p53蛋白表达差异均有统计学意义, 并且与Ⅲ型的MVD值高于Ⅰ型和Ⅱ型的MVD值; 与Ⅰ型的PCNA表达相比, Ⅱ型的PCNA表达与Ⅲ型的PCNA表达均高于Ⅰ型. 说明CPA血流分型与MVD值及p53蛋白及PCNA有相关性, 类似于CDFI, 分型越高, 各指标的值也越高. 有研究[16-18]认为, CPA是一种新发展起来的彩色多普勒成像技术, 在一定程度上反映肿瘤血管的增生情况, 其不仅能通过增加动态范围以提高对血流的敏感性, 还能避免因血流速度快而发生的混叠. 这与MVD、p53蛋白和PCNA表达提示的病理结果相一致: MVD越大, p53蛋白和PCNA表达程度越高, CPA的血流信号越多, 分化程度越低, 转移几率越高, 从而可以建立CPA的血流信号, MVD值和p53蛋白和PCNA表达的逻辑关系. CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间呈正相关, 表明CDFI、CPA血流分型与MVD值、p53蛋白及PCNA表达程度的相关趋势, 其机制可能为随着癌细胞的不断增长, 肿瘤血管随之迅速增宽, 血流量不断增大, MVD增大, CDFI、CPA分型也发生变化; 与此同时, 对*p53*基因突变、PCNA激活的可能性也增大, 进而出现了p53蛋白及PCNA的高表达, 与超声学分级结果表现出一致性.

总之, 肝癌超声技术与细胞因子有着密切的联系, CDFI、CPA不仅能通过简便、无创的操作方法获得肝脏血流信息, 并且与分子生物学指标表现出高度的一致性, 可能对于肝癌的诊断和治疗有重要的价值.

4 参考文献

1 廖冬梅. CRP、AFP联合CEA及CA199检测用于肝病诊断的临床价值分析. 现代预防医学 2012; 39: 741-744

2 王娇, 刘洋. 医学影像技术探析. 亚太传统医药 2010; 6: 156-157

3 党双锁, 边静, 周芙玲, 高宁, 程延安, 李亚萍. 实验性肝硬化大鼠CD34阳性细胞Fas抗原表达及其意义. 肝脏 2010; 15: 40-42

4 李彦杰, 马毅, 郭志勇, 朱晓峰, 何晓顺. 肝癌肝移植术后复发和转移特点及预后因素分析. 中国实用外科杂志 2012; 32: 655-658

5 董洁. 原发性肝癌的影像学诊断进展. 河南医学研究 2011; 1: 41-43

6 杨浩, 杨连粤. 肝癌术后复发转移相关因素研究进展. 中国实用外科杂志 2012; 32: 868-870

7 Zhu Z, Hao X, Yan M, Yao M, Ge C, Gu J, Li J. Cancer stem/progenitor cells are highly enriched in CD133+CD44+ population in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 2067-2078 [PMID: 19711346 DOI: 10.1002/ijc.24868]

8 金丰, 王东, 杨志祥, 仲召阳, 李雪梅, 王阁, 李梦侠. 358例肝细胞癌综合治疗的预后分析. 临床肿瘤学杂志 2010; 15: 418-424

9 高峰, 杨季红, 刘渤, 马芳, 耿艳, 李建坤. Hpa与PCNA在肝癌中的表达及肝癌患者预后的关系. 河北医药 2013; 35: 122-124

10 周梅, 赵刚, 赵峰, 李景英. P53、Caspase-3和PCNA蛋白在肝细胞癌中的表达及意义. 新疆医科大学学报 2010; 33: 891-894

11 马丽丽, 岳麓, 邱文生. PCNA与AgNOR在肝细胞肝癌中的表达及其关系的研究. 中国医药科学 2011; 1: 213-216

12 林学英, 林礼务, 薛恩生, 何以牧, 高上达, 俞丽云. 超声对2级以上分支门静脉瘤栓的诊断价值. 中国超声医学杂志 2011; 27: 929-931

13 赵维群, 姜东林, 刘小铭, 徐锦. 胆管细胞型肝癌的超声特征探讨. 临床和实验医学杂志 2011; 10: 1603-1604, 1607

14 袁树芳, 吴涛, 苏中振, 郑荣琴, 李凯, 吴莉莉. 原发性肝癌常规超声漏诊原因分析. 中华医学超声杂志(电子版) 2012; 9: 785-787

15 钱林学, 刘玉江, 丁惠国. 小肝癌的影像学诊断进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 479-486

16 毛枫, 王文平, 李超伦, 黄备建, 袁海霞, 丁红. 彩色多普勒超声诊断周围型肝内胆管细胞癌的价值. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 312-314

17 何年安, 章生龙, 叶显俊, 康冰飞, 陈育华, 刘力. 肝脏血管平滑肌脂肪瘤超声声像图特征分析. 实用肝脏病杂志 2013; 16: 144-146

18 郭东蔚. 原发性小肝癌的超声诊断研究. 内蒙古中医药 2012; 31: 1-2

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 119-124
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

PIWIL1在肝细胞癌中的表达及临床意义

范正军, 杨飞龙, 孙 涛, 程 波

范正军, 杨飞龙, 孙涛, 郑州大学第一附属医院肝胆外科 河南省郑州市 450052
程波, 郑州大学第一附属医院急诊外科 河南省郑州市 450052
范正军, 教授, 主任医师, 主要从事肝脏肿瘤、胆道肿瘤、胰腺疾病等方面的研究.
作者贡献分布: 本文文献检索、实验设计由程波指导、孙涛完成; 实验操作、资料分析及论文撰写由程波指导、杨飞龙完成; 选题、指导及审校由范正军完成.
通讯作者: 程波, 住院医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院急诊外科. droider@163.com
电话: 0371-67967117
收稿日期: 2013-09-28 修回日期: 2013-11-04
接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2014-01-08

Clinical significance of expression of PIWIL1 protein in hepatocellular carcinoma

Zheng-Jun Fan, Fei-Long Yang, Tao Sun, Bo Cheng

Zheng-Jun Fan, Fei-Long Yang, Tao Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Bo Cheng, Department of Emergency Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Correspondence to: Bo Cheng, Resident Doctor, Department of Emergency Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. droider@163.com
Received: 2013-09-28 Revised: 2013-11-04
Accepted: 2013-11-11 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To discuss the clinical significance of positive expression of PIWI-like protein-1 (PIWIL1) in hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of PIWIL1 in 47 cases of HCC and matched tumor-adjacent hepatic tissues. Western blot was used to detect the expression of PIWIL1 in 31 fresh HCC tissues and matched tumor-adjacent hepatic tissues. The relationship between PIWIL1 positive expression and clinical features or prognosis of HCC patients was analyzed.

RESULTS: The positive rate of PIWIL1 expression was significantly higher in HCC than in normal liver tissue ($P < 0.05$). PIWIL1 expression was positively correlated with the invasion to the adjacent tissue and the histological differentiation (both $P < 0.05$). PIWIL1 positive cases had a poor prognosis.

CONCLUSION: The high expression of PIWIL1 is related to pathological differentiation and the invasion to the adjacent tissue, as well as to the prognosis of HCC patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Word: Hepatocellular carcinoma; PIWI-like protein-1; Prognosis

Fan ZJ, Yang FL, Sun T, Cheng B. Clinical significance of expression of PIWIL1 protein in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 119-124 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/119.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.119

摘要

目的: 探讨干细胞相关蛋白PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWIL1)在肝细胞癌组织中的表达及临床意义, 并探索其表达与患者预后的关系.

方法: 应用免疫组织化学检测47例肝细胞癌标本中PIWIL1的表达, 免疫印迹(Western blot)法检测31例肝细胞癌组织中PIWIL1的表达, 分析PIWIL1表达与临床特征及预后的关系.

结果: PIWIL1在肝癌组织中高表达, 在正常肝组织中低表达, PIWIL1同肿瘤分化程度、有无临近组织侵犯有关, 与肿瘤大小及甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)水平无关; 其阳性表达预示患者预后较差.

结论: PIWIL1的高表达同病理分化程度、临近组织侵犯相关及患者预后相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

■背景资料
我国每年因肝细胞癌死亡的人数在恶性肿瘤所致死亡中居第2位. 目前对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)癌基因的表达调控机制及基因干扰研究目前已成为热点. PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, *PIWIL1*)为一候选癌基因, 在人类的许多肿瘤中表达, 而在HCC中的研究, 国内外文献报道尚少.

■同行评议者
李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

■研发前沿
人肿瘤睾丸抗原(HIWI)是人体中PIWI的同源物，为Argonaute蛋白家族成员，在人体组织中广泛表达已有证据表明PIWIL1 mRNA的表达水平与肿瘤细胞的侵袭能力相关，*PIWIL1*基因可以作为肝脏肿瘤治疗的潜在靶点. 本课题主要是检测PIWIL1在肝细胞癌中的表达情况，并初步探讨其表达同临床特征及预后的关系.

关键词: 肝细胞癌; PIWIL1; 预后

核心提示: PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWIL1)在肝癌组织中高表达，在正常肝组织中低表达，PIWIL1同肿瘤分化程度、有无临近组织侵犯有关，与肿瘤大小及甲胎蛋白(α-fetoprotein)水平无关；其阳性表达预示患者预后较差.

范正军，杨飞龙，孙涛，程波. PIWIL1在肝细胞癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 119-124 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/119.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.119

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类消化系中最常见的恶性肿瘤之一，具有发病率高、治疗效果欠佳、病死率高等特点，多数患者发现时已处于中晚期，丧失了最佳的治疗时机. 目前，我国每年因肝细胞癌死亡的人数在恶性肿瘤所致死亡中仅次于肺癌居第2位[1]. 肝细胞癌恶性程度高、病情进展迅速、容易早期转移等是造成预后差的主要原因，目前对肝癌的治疗主要是以手术治疗为主，辅以介入化疗栓塞、消融治疗、免疫治疗等的综合治疗，但效果仍不理想.

PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWIL1)，又称人肿瘤睾丸抗原(HIWI)，是人体中PIWI的同源物[2]，为Argonaute蛋白家族成员，在人体组织中广泛表达，包括前列腺、卵巢、脑、肝脏、心脏、肾脏和骨骼肌等[3]. 在人的干细胞自我更新、RNA干扰中发挥至关重要的作用，并影响癌细胞增殖[4]. 已有证据表明PIWIL1的表达水平与肿瘤的分期密切相关，并对患者的预后具有提示意义[5]. *PIWIL1*基因可以作为肝脏肿瘤治疗的潜在靶点. 本课题主要是检测PIWIL1在肝细胞癌中的表达情况，并初步探讨其表达同临床特征及预后的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 47例石蜡包埋肝细胞癌及癌旁组织标本取自郑州大学第一附属医院病理科2011-12/2013-01肝细胞癌患者行术后病理检查标本，12例石蜡包埋正常肝组织标本取自郑州大学第一附属医院病理科2012-11/2013-04肝血管瘤患者行术后病理检查标本，31例肝癌新鲜标本取自郑州大学第一附属医院肝胆外科2012-11/2013-04手术切除的肝癌患者，12例正常肝组织新鲜标本取自郑州大学第一附属医院肝胆外科2012-11/2013-04手术切除的肝血管瘤患者；全部患者术前均未接受其他治疗方法并有完整随访资料；其中石蜡标本男性患者37例，女性患者10例，平均年龄52.32岁±8.57岁，新鲜组织标本男性24例，女性7例，平均年龄51.64岁±10.66岁，所有标本术后病理诊断均为肝细胞肝癌，正常肝组织12例(取自肝血管瘤患者)，其中男性9例，女性3例，平均年龄46.87岁±11.76岁. 兔抗人PIWIL1抗体购自Abcam公司，二抗试剂盒、DAB显色试剂盒、蛋白提取试剂盒、蛋白提取缓冲液、Western blot检测试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司，蛋白Marker、兔抗人多抗β-actin、PVDF膜、ECL化学发光试剂、考马斯亮蓝染液购自美国Sigma公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色法(SABC法): 标本固定、包埋、切片后65 ℃烤30 min，依次脱蜡水化，加3%的双氧水10 min后蒸馏水洗片3次，枸橼酸盐缓冲液中水浴修复抗原后PBS洗2次，5%BSA室温下孵育20 min，加一抗后4 ℃冰箱中过夜；PBS洗3次后加二抗37 ℃孵育25 min，PBS洗3次后加SABC 37 ℃孵育25 min，PBS洗4次，DAB染色、苏木素液复染、脱水、封片、光镜观察.

1.2.2 Western blot检测法: 取冻存组织标100 mg于2 mL EP管中，剪碎组织块后加400 μL裂解液(含PMSF)匀浆，裂解充分后将裂解液移至1.5 mL EP管内，4 ℃下12000 r/min离心5 min，提取上清分装于0.5 mL EP管内，-20 ℃保存；Bradtbrd法蛋白定量；配置5%浓缩胶和10%分离胶，沸水中蛋白变性10 min，加样、恒压120 V电泳后80 V恒压转膜；转膜后用5%的脱脂奶粉室温封闭；加入一抗后4 ℃过夜；TBST液清洗3次后加1∶2000稀释的二抗，室温孵育2 h后TBST清洗3次；ECL后移至暗室曝光、显影清洗、定影.

1.2.3 结果判定: 免疫组织化学采用Greenspan半定量法对细胞染色强度及阳性细胞百分率进行评分，细胞基本不着色(淡黄色)为1分，中等着色(棕黄色)为2分，强着色(棕褐色)为3分，着色细胞占计数细胞百分比率为0者，记0分，<10%为1分，10%-50%为2分，>50%为3分，将每张切片着色程度得分与着色细胞百分率得分相乘，既得阳性系数. 阳性系数为0分者为阴性(-)，1-3分为弱阳性(+)，大于等于4分者为阳性(++)；Western blot

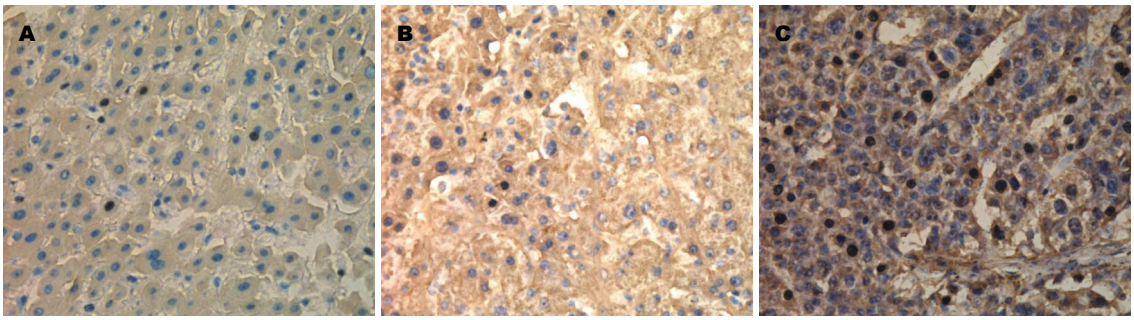


图 1 PIWIL1在各组的表达(×400). A: 正常肝组织; B: 癌旁肝组织; C: 肝癌组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

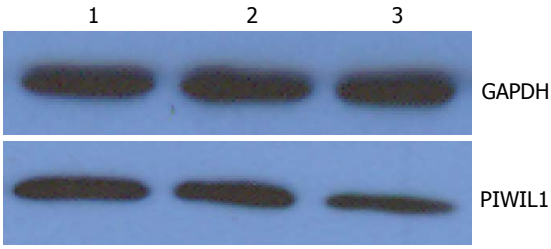


图 2 Western blot结果. 1: 肝细胞癌组织; 2: 癌周组织; 3: 正常肝组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

检测以内参及检测指标得出相对集中的条带为阳性.

1.2.4 生存分析: 根据对所有患者2011-12/2013-06随访结果进行生存时间或无瘤时间的分析, 得出不同PIWIL1表达患者的生存时间或者无瘤时间的差异和生存曲线. 随访采用电话随访或者复查方式进行.

统计学处理 SPSS17.0进行统计学分析, 有序分类计数资料之间的比较以秩和检验, 无序多分类计数资料之间的比较以χ^2检验或Fisher确切概率法, 相关性分析采用Spearman相关分析, 生存分析采用Kaplan-Meier(K-M)法Log-rank检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫组织化学检测PIWIL1在组织中的表达 免疫组织化学染色显示, 在47例HCC组织及癌旁组织、12例正常肝组织中, 均检测到有PIWIL1表达, PIWIL1在胞核胞质均有表达(图1), 其中PIWIL1在3种组织中阳性率分别为93.6%、80.9%、41.7%(表1).

2.2 Western blot检测PIWIL1在组织中的表达 Western blot检测31例癌及癌旁组织和12例正常肝组织示显示PIWIL1在HCC组织同癌旁组织差别具有统计学意义($P<0.05$, 表2); 在癌旁组织同正常肝组织差别无统计学意义($P>0.05$, 表2); PIWIL1在正常肝组织、癌旁组织、HCC组织中的表达水平呈逐渐增高趋势(图2).

表 1 免疫组织化学检测PIWIL1在3种组织中的表达 (*n*)

组织类型	*n*	PIWIL1			*P*值
		−	+	++	
肝癌组织	47	3	16	28	<0.01[b]
癌旁组织	47	9	17	21	<0.05[a]
正常肝组织	12	7	3	2	<0.01[d]

[a]$P<0.05$ *vs* 正常肝组织; [b]$P<0.01$ *vs* 癌旁组织; [d]$P<0.01$ *vs* 肝癌组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

表 2 Western blot检测PIWIL1在3种组织中的表达 (*n*)

组织类型	*n*	PIWIL1		*P*值
		−	+	
肝癌组织	31	9	22	>0.05
癌旁组织	31	14	17	>0.05
正常肝组织	12	9	3	<0.05[a]

[a]$P<0.05$ *vs* 肝癌组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

2.3 PIWIL1在组织中的表达与临床特征的关系 从PIWIL1的表达与临床特征关系的研究中可以看出: PIWIL1在HCC、癌旁组织及正常肝组织中的阳性表达与患者的年龄、性别、甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)水平、肝炎的有无、肿瘤的大小均无相关性($P>0.05$), 而与周围组织侵犯、肿瘤分化程有关($P<0.05$)(表3).

2.4 PIWIL1在组织中表达的相关性 应用统计软件SPSS17.0做统计分析可以看出, 免疫组织化学及Western blot两种方式检测PIWIL1在三种组织中表达的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)(表4), 两种检测方法的结果一致.

2.5 PIWIL1同患者预后的关系 不同PIWIL1表达

■相关报道
目前已经有研究证实PIWIL1同胰腺癌、胃癌、食管癌等密切相关, 而对于其在肝癌中的研究尚少.

■**创新盘点**
把PIWIL1和肝癌患者的预后结合起来，对临床肝癌患者的治疗有一定的参考价值.

表 3 免疫组织化学检测PIWIL1在肝细胞癌组织中阳性表达与临床特征的关系 (*n*)

类别	*n*	PIWIL1			*P*值
		++	+	−	
年龄(岁)					>0.05
21–40	3	1	1	1	
41–80	44	25	14	5	
性别					>0.05
男	37	21	12	4	
女	10	5	3	2	
分化程度					<0.05
高分化	15	3	6	6	
中低分化	32	23	9	0	
AFP(ng/mL)					>0.05
<400	25	13	9	3	
≥400	22	13	6	3	
肝炎					>0.05
有	41	23	12	6	
无	6	3	3	0	
组织侵犯					<0.05
有	9	8	1	0	
无	38	18	14	6	
肿块大小D(cm)					>0.05
D≤2	9	6	2	1	
2<D≤5	28	14	10	4	
5<D≤10	8	5	3	0	
D>10	2	1	0	1	

AFP: 甲胎蛋白; PIWIL1: PIWI样蛋白1.

表 4 免疫组织化学与Western blot检测PIWIL1在3种组织中的表达的差异 *n*(%)

组织类别	PIWIL1		*P*值
	Western blot(+)	免疫组织化学(+)	
肝细胞癌	22(71.0)	44(93.6)	>0.05
癌旁组织	17(54.8)	38(80.9)	
正常肝组织	3(25.0)	5(41.7)	

PIWIL1: PIWI样蛋白1.

表 5 免疫组织化学检测HCC患者不同PIWIL1表达程度的预后差异 (mean ± SD, mo)

时间	PIWIL1		*P*值
	−	+	
生存时间	36.00 ± 0.00	31.39 ± 8.75	>0.05
无瘤生存时间	34.00 ± 4.90	22.56 ± 11.54	<0.05

HCC: 肝细胞癌; PIWIL1: PIWI样蛋白.

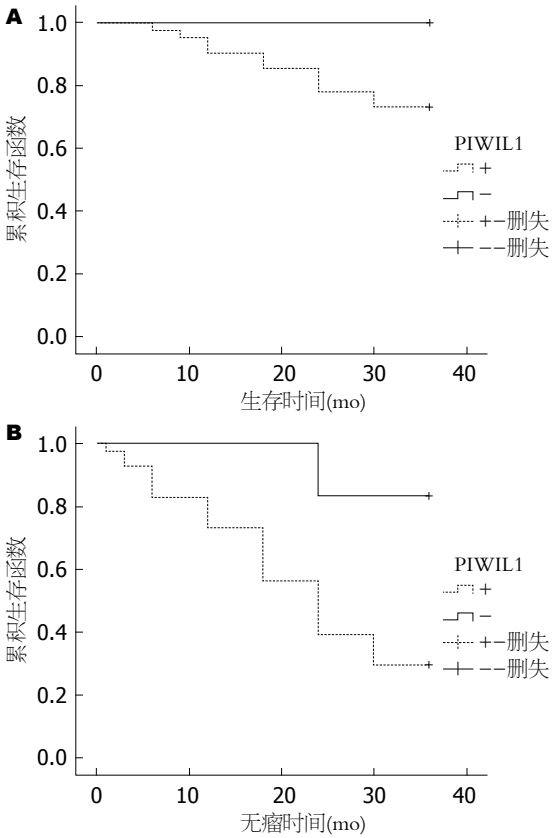


图 3 PIWIL1表达与预后. A: 生存时间; B: 无瘤生存时间. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

患者的生存时间不存在显著性差异(P>0.05), 不同PIWIL1表达患者的无瘤时间存在显著性差异(P<0.05)(表5, 图3).

3 讨论

肝细胞癌具有恶性程度高、病情进展迅速、容易早期转移等特点, 尽管临床上采取多种治疗方式对其加以控制, 但疗效欠佳. 越来越多的证据表明: 肿瘤的发生同体细胞基因组在致癌因素刺激下引起癌基因的激活和抑癌基因的失活继而引起细胞增殖失控、凋亡受阻, 分化异常密切相关[6]. 其中对癌基因的表达调控机制及基因干扰研究目前已成为恶性肿瘤研究中的热点[7], 对于肝癌的研究而言, 今后也有望在此领域取得突破. PIWIL1为新发现的恶性肿瘤相关蛋白, 从属于Argonaute蛋白家族PIWI亚家族, 是小RNA复合体基本成员之一, 生物序列高度保守, 基因定位为12q24.33, 此区域也是TGCT(青年和成年人睾丸生殖细胞癌)发生相关的基因区, *PIWIL1*基因编码一个3.6 kb的mRNA, 并表达为一个全长含有861个氨基酸残基的蛋白PIWIL1[8].

PIWIL1在人体组织中广泛表达, 包括前列腺、卵巢、脑、肝脏、心脏、肾脏和骨骼肌等[9], 在人的干细胞自我更新、RNA 干扰中发挥至关重要的作用, 并影响癌细胞增殖[10], 本实验亦证实PIWIL1在HCC组织、癌旁肝组织、正常肝组织均有表达, 并且在不同组织中表达存在差异性, 免疫组织化学及Western blot均证实PIWIL1在HCC组织中表达程度高于癌旁肝组织, 而免疫组织化学证实PIWIL1在癌旁组织表达高于正常肝组织, Western blot检测未见二者存在明显差别, 可能与Western blot的检测敏感性及样本量有关, 因此可以认为PIWIL1同肝细胞癌的发生发展存在明显的相关性, 对PIWIL1的深入研究可能揭示肝细胞癌的发生及进展过程. 目前已有证据表明PIWIL1 mRNA的表达水平与肿瘤细胞的侵袭能力相关, 从而影响患者的预后[11]. Taubert等[12]发现PIWIL1在软组织肉瘤中高表达提示患者的预后不良, 并认为此种关系可能也会出现于其他恶性肿瘤中; Grochola等[13]发现PIWIL1在胰腺导管腺癌(pancreas ductal adenocarcinoma, PDAC)中表达水平与男性患者的生存期成负相关, PIWIL1在PDAC的发生机制及治疗的研究中可以作为一个潜在的靶点, 本实验通过一定数量的随访研究证实PIWIL1阳性及阴性患者的生存时间不存在明显的差异性, 而二者的无瘤生存时间存在明显的差异, 可见PIWIL1的阳性表达对患者术后的复发转移倾向具有提示意义, 本实验得出不同表达患者生存时间无明显差异可能由于患者术后随访时间较短, 因此可以将PIWIL1在肝细胞癌组织中的表达与否作为提示患者预后的一个参考因素; 何炜等认为PIWIL1在食管癌组织中的高表达同组织分型、临床分期及预后密切相关[14], 本实验也表明PIWIL1的阳性表达同组织的分化程度及周围组织侵犯的有无存在明显的相关性, PIWIL1阳性表达者分化程度较低且具有周围组织侵犯的倾向; Liu等[15]发现在胃癌细胞中PIWIL1与细胞增殖标志物Ki67具有相似的表达形式, 并且通过对PIWIL1的RNA干扰发现AGS胃癌细胞停滞于G_2/M期, 表明PIWIL1在胃癌的发展中起重要的作用, PIWIL1可能作为癌症生物治疗的新靶点; 因此也可能通过对肝细胞癌中PIWIL1表达的控制进而控制肝细胞癌的发生和发展, 但本研究暂未对PIWIL1在肝细胞癌中的作用机制深入研究, 若要证实PIWIL1在肝细胞癌治疗中的作用尚需进一步研究; 本实验通过免疫组织化学和Western blot及临床数据表明PIWIL1同肝细胞癌的发生发展有关, 其表达情况同肝癌患者的预后相关, 因此, 也可以将PIWIL1检测作为肝细胞癌诊断的新靶点, 并通过其表达情况预测患者生存时间. 本课题初步探索PIWIL1在肝细胞癌中的表达情况及同预后的关系, 由于样本量较小, 随访时间较短, 若要明确在肝癌发生中的确切机制及对预后的预测, 仍需进一步大样本深入研究.

■应用要点
通过多种方法检测PIWIL1在肝细胞癌中的表达, 可能提高肿瘤的检出率, 对临床肝癌患者的预后推断也有一定的参考价值.

4 参考文献

1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2013; 1: 2-12

2 谢小燕, 裴雪涛. PIWI家族: 干细胞分裂中的重要调控基因. 生理学进展 2003; 2: 139-141

3 田瑞卿, 刘民, 李欣, 汤华. PIWIL1在不同肿瘤细胞中的差异性表达. 中国生物化学与分子生物学报 2008; 11: 1072-1075

4 姜琳, 潘淑娟, 葛郁芝, 殷勤伟. Argonaute亚族蛋白对人类肿瘤细胞周期的影响. 生物化学与生物物理进展 2008; 12: 1394-1402

5 Zeng Y, Qu LK, Meng L, Liu CY, Dong B, Xing XF, Wu J, Shou CC. HIWI expression profile in cancer cells and its prognostic value for patients with colorectal cancer. *Chin Med J* (Engl) 2011; 124: 2144-2149 [PMID: 21933617]

6 樊嘉, 邱双健. 肿瘤微环境的研究动态与展望. 中华医学杂志 2008; 88: 505-507

7 郑素平. RNA干扰在肿瘤治疗方面的研究进展. 中山大学研究生学刊(自然科学•医学版) 2011; 2: 1-8

8 Qiao D, Zeeman AM, Deng W, Looijenga LH, Lin H. Molecular characterization of hiwi, a human member of the piwi gene family whose overexpression is correlated to seminomas. *Oncogene* 2002; 21: 3988-3999 [PMID: 12037681 DOI: 10.1038/sj.onc.1205505]

9 田瑞卿, 刘民, 李欣, 汤华. PIWIL1在不同肿瘤细胞中的差异性表达. 中国生物化学与分子生物学报 2008; 11: 1072-1075

10 Lee JH, Schütte D, Wulf G, Füzesi L, Radzun HJ, Schweyer S, Engel W, Nayernia K. Stem-cell protein Piwil2 is widely expressed in tumors and inhibits apoptosis through activation of Stat3/Bcl-XL pathway. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 201-211 [PMID: 16377660 DOI: 10.1093/hmg/ddi430]

11 Cox DN, Chao A, Baker J, Chang L, Qiao D, Lin H. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. *Genes Dev* 1998; 12: 3715-3727 [PMID: 9851978]

12 Taubert H, Würl P, Greither T, Kappler M, Bache M, Bartel F, Kehlen A, Lautenschläger C, Harris LC, Kaushal D, Füssel S, Meye A, Böhnke A, Schmidt H, Holzhausen HJ, Hauptmann S. Stem cell-associated genes are extremely poor prognostic factors for soft-tissue sarcoma patients. *Oncogene* 2007; 26: 7170-7174 [PMID: 17525744 DOI: 10.1038/sj.onc.1210530]

13 Grochola LF, Greither T, Taubert H, Möller P, Knippschild U, Udelnow A, Henne-Bruns D, Würl

■同行评价
本文研究设计合理，分析具体，内容有较好的创新性，能把PIWIL1和肝癌患者的预后结合起来，对临床肝癌患者的治疗有一定的参考价值.

P. The stem cell-associated Hiwi gene in human adenocarcinoma of the pancreas: expression and risk of tumour-related death. *Br J Cancer* 2008; 99: 1083-1088 [PMID: 18781170 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604653]
14 何炜，解智慧，王峰，秦艳茹，樊青霞. 干细胞因子HIWI在食管鳞癌中的表达及其与临床预后的关系. 中国肿瘤临床 2012; 19: 1401-1405
15 Liu X, Sun Y, Guo J, Ma H, Li J, Dong B, Jin G, Zhang J, Wu J, Meng L, Shou C. Expression of hiwi gene in human gastric cancer was associated with proliferation of cancer cells. *Int J Cancer* 2006; 118: 1922-1929 [PMID: 16287078 DOI: 10.1002/ijc.21575]

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 2014年1月8日; 22(1): 125-132
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

外周血端粒酶检测对肝细胞癌诊断价值的Meta分析

郑 倩, 姜 政, 赵亚楠

郑倩, 姜政, 赵亚楠, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016
郑倩, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由姜政与郑倩设计; 郑倩与赵亚楠负责资料收集、文献纳入与排除、数据提取、数据分析; 论文写作由郑倩与姜政完成; 姜政审校.
通讯作者: 姜政, 主任医师, 400016, 重庆市渝中区袁家岗医学友谊路1号, 重庆医科大学附属第一医院消化内科.
jiangz1753@163.com
电话: 023-68891218
收稿日期: 2013-10-15 修回日期: 2013-11-10
接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2014-01-08

Diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis

Qian Zheng, Zheng Jiang, Ya-Nan Zhao

Qian Zheng, Zheng Jiang, Ya-Nan Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China
Correspondence to: Zheng Jiang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 1Youyi Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, China. jiangz1753@163.com
Received: 2013-10-15 Revised: 2013-11-10
Accepted: 2013-11-20 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To explore the diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: We searched the literature for studies on the relationship between the detection of telomerase activity in peripheral blood and HCC published in recent ten years. Meta-Disc1.4 statistical software was applied to perform comprehensive quantitative analysis. We discussed the overall diagnostic features of this assay by plotting the summary ROC curve (SROC) and calculating the area under the curve (AUC).

RESULTS: According to selection and exclusion criteria, 12 independent studies were finally selected in this meta-analysis. The random effects model was used for the meta-analysis, which showed that the comprehensive sensitivity was 0.85 (95%CI: 0.82-0.87), specificity was 0.84 (95%CI: 0.81-0.86), comprehensive diagnostic odds ratio was 28.25 (95%CI: 17.90-44.56), average value of the maximum intersection point of the sensitivity and the specificity was 0.8419, AUC was 0.9098, combined positive likelihood ratio was 5.17 (95%CI: 3.96-6.74), and negative likelihood ratio was 0.20 (95%CI: 0.14-0.28).

CONCLUSION: Telomerase activity in peripheral blood can be used as an important index to help diagnose HCC, but more high-quality, large-sized, multi-center studies are still required to evaluate its clinical value.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Telomerase activity; Hepatocellular carcinoma; Diagnosis; Meta-analysis

Zheng Q, Jiang Z, Zhao YN. Diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 125-132 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/125.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.125

摘要

目的: 通过Meta分析方法评价外周血端粒酶活性检测对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)诊断的临床价值.

方法: 检索国内外各类大型数据库近十余年来发表的有关外周血端粒酶活性检测与HCC关系的文献, 应用Meta-Disc1.4软件进行定量综合分析, 合并总灵敏度、总特异度、阳性预测值(positive likelihood ratio, PLR)、阴性预测值(negative likelihood ratio, NLR)、诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR), 同时绘制汇总受试者工作特征曲线(summary ROC curve, SROC)及计算曲线下面积(area under the curve, AUC).

结果: 按照文献纳入及排除标准最终有12项独立研究纳入本次Meta分析, 采用随机效应

■背景资料
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种来源于肝细胞的恶性肿瘤, 在我国其死亡率仅次于肺癌, 目前对于肝癌诊断应用最广的血清学指标为甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP), 但仍有40%的肝癌患者其表达为阴性. 近年来有关外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌的研究颇多, 但其价值不尽相同.

■同行评议者
孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

■研发前沿
虽然外周血端粒酶对于HCC有较高的诊断率，但其结果存在一定的假阴性率，且其实验方法较复杂，检查费用较AFP贵，使其在临床的应用和受到一定限制，但其仍适用于AFP阴性的HCC的诊断.

模型合并总灵敏度为0.85(95%CI: 0.82-0.87)，总特异度为0.84(95%CI: 0.81-0.86)，阳性预测值为5.17(95%CI: 3.96-6.74)，阴性预测值为0.20(95%CI: 0.14-0.28)，诊断比值比为28.25(95%CI: 17.90-44.56). 本次Meta分析显示灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419，ROC曲线下面积为0.9098.

结论: 外周血端粒酶活性检测对HCC有较高的诊断价值，可作为较重要的参考指标之一，但需要更多高质量、大样本、多中心的研究加以验证.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 端粒酶活性; 肝细胞癌; 诊断; Meta分析

核心提示: 本研究通过对12篇国内外关于外周血端粒酶与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)关系的文献进行Meta分析，结果显示外周血对HCC的诊断灵敏度为0.85，总特异度为0.84，阳性预测值(positive likelihood ratio)为5.17，阴性预测值(negative likelihood ratio)为0.20，诊断比值比(diagnostic odds ratio)为28.25. 灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419，曲线下面积(area under the curve)为0.9098，提示此次试验的总体诊断率较高.

郑倩，姜政，赵亚楠. 外周血端粒酶检测对肝细胞癌诊断价值的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 125-132 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/125.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.125

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种来源于肝细胞的恶性肿瘤，占原发性肝癌(primary carcinoma of the liver, PLA)的90%，是全球范围内第5大常见的恶性肿瘤. 在我国每年约有200000例患者死于肝癌，其死亡率仅次于肺癌[1]. 目前肝癌的术前诊断主要依靠影像学检查及血清学检测，影像学检查在肝癌的诊断中具有重要的地位，但对包膜完整、质地均匀、血供不丰富且分化良好的小肝癌有时也会遇到困难[2,3]. 血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是最常用的实验室诊断方法，但仍有40%的肝癌患者血清AFP呈阴性. 近年来有关外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌的研究颇多，但其价值不尽相同. 本文对近10年来有关外周血端粒酶检测与肝细胞癌关系的研究结果进行Meta分析，旨在评估其对肝细胞癌的总体诊断价值.

1 材料和方法

1.1 材料 通过计算机检索EMBASE、MEDLINE等外文数据库及中国生物医学文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、万方数字化全文期刊、重庆维普中文科技期刊全文数据库、CNKI中国知网期刊数据库及CNKI《博硕学位论文》5个中文数据库1989-01/2013-08公开发表的关于外周血端粒酶检测与肝细胞癌关系相关的文献资料，中文检索词为“端粒或端粒酶”、“肝癌”、“外周血或血清或血浆”，英文检索词为“telomerase”、“hepatocellular carcinoma或liver cancer”、“peripheral blood或serum或plasma”，检索策略根据具体数据库调整，采取主题词和自由词检索结合的方式，并对入选研究的参考文献进行网络在线手工检索.

1.2 方法

1.2.1 文献资料纳入标准: (1)研究主题为端粒酶活性(telomerase activity, TA)或者端粒酶逆转录酶(human telomerase transcriptase, hTERT)与肝细胞癌关系的诊断性研究; (2)纳入文献中患病组的定义为HCC组，非患病组的定义为肝脏良性疾病及健康对照组，组间年龄、性别等均衡性较好，具有可比性; (3)从文中能直接或者间接获得外周血端粒酶分别在HCC组和非HCC组的观察人数中的四格表数据; (4)对相同或相似内容的重复报道文献，只选用最新报道者.

1.2.2 文献资料排除标准: (1)诊断标准为非TA或者hTERT; (2)“金标准”或诊断标准未区分HCC组及非HCC组，而有可疑组存在; (3)文献中未直接或者间接提供外周血端粒酶检测在HCC组及非HCC组的观察人数中的真阳性数、假阳性数、假阴性数及真阴性数，仅提供定量分析结果; (4)单纯描述性研究，无对照组; (5)动物实验研究、综述及讲座.

1.2.3 数据提取与质量评价: 各篇文献提取的资料包括: 第一作者、发表年限、中位年龄、HCC组诊断标准、四格表数据等. 对纳入文献采用Cochrane协作网推荐的诊断性试验准确性质量评价工具[4](quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)，分别对14个条目按“是”、“否”、“不清楚”3个判别标准进行评价. 由两名系统评价员独立进行文献评价，有异议时以小组讨论的方式解决.

统计学处理 异质性检验: 运用Meta-Disc1.4软件[5]进行Spearman相关分析检测有无阈值效

表 1 外周血端粒酶检测与HCC关系的文献纳入研究特征

研究	发表年限(年)	中位年龄(岁)	诊断标准/HCC组	TA/hTERT mRNA检测方法	阳性阈值	TP	FP	FN	TN	文献质量评分
邱谢武等[6]	2012	53.3 ± 14.3	临床和病理	FQ-PCR	NR[1]	34	5	6	25	8
战淑慧等[7]	2006	54	临床和病理	PCR-ELISA	$\triangle A(A_{450}-A_{650}$ nm)>0.2	44	11	8	79	8
刘阳等[8]	2012	NR	病理	RT-PCR	1.58	32	19	13	120	7
吴玮等[9]	2004	49	病理	PCR-ELISA	$\triangle A(A_{450}-A_{690}$ nm)>0.2	17	15	3	42	6
隋璐璐等[10]	2011	50	病理	RT-PCR	88 bp、95 bp	24	6	6	24	7
张利国等[11]	2010	51.2 ± 10.4	临床和病理	FQ-PCR	NR	50	2	10	28	8
冯众一等[12]	2007	52	临床和病理	RT-PCR	NR	28	1	2	19	8
Miura等[13]	2010	65	临床和病理	RT-PCR	3.97	273	49	30	286	9
Huang等[14]	2013	51	病理	PCR-ELISA	$A > 0.7$	28	6	2	64	9
Yao等[15]	2006	49	临床和病理	TRAP-ELISA	$A>0.2\triangle A$[1]	115	48	20	139	8
Yang等[16]	2011	51	NR	FQ-PCR	1.87×10^4 copies/μL	38	5	22	45	7
Tatsuma等[17]	2000	NR	临床和病理	PCR-ELISA	NR	16	5	4	15	7

[1]NR: 文献中未报告; TP: 真阳性; FP: 假阳性; FN: 假阴性; TN: 真阴性; HCC: 肝细胞癌.

■相关报道 Yang等运用FQ-PCR方法对HCC组和非HCC组患者血浆端粒酶进行定量分析显示, 血浆hTERT DNA水平与HCC患者肿瘤大小、门静脉癌栓形成和TNM分期相关, 而与淋巴结转移、HBV感染、血清AFP水平无关.若以1.87×10^4 copies/μL为Cut-off值, 其对HCC诊断的灵敏度为64%, 而特异度高达90%.

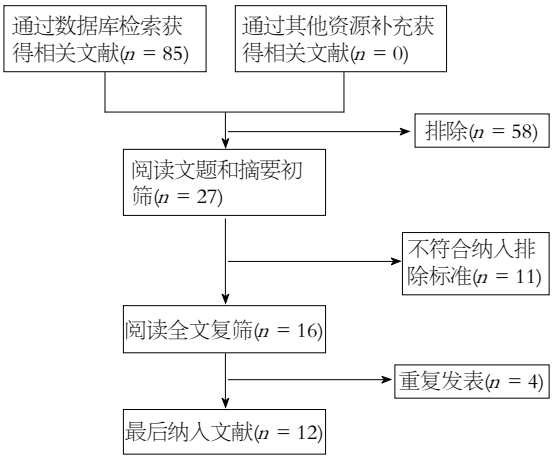


图 1 纳入文献检索流程.

应引起的异质性. 对其他因素所致异质性进行Q检验(χ^2检验), 并通过Meta回归分析及亚组分析探索异质性来源. 如果存在异质性效应(P<0.1), 采用随机效应模型合并灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断比值比, 反之(P>0.1)则采用固定效应模型. 同时根据Moses'线性模型绘制总受试者工作特征曲线, 并计算SROC曲线下面积.

2 结果

2.1 纳入研究的基本情况 按上述检索策略检索到英文文献25篇, 中文文献60篇, 按照纳入标准初步排除58篇, 进一步阅读全文, 剩余文献中不符合纳入排除标准的11篇, 重复发表4篇, 故最后纳入文献共12篇, 其中英文文献5篇, 中文文献7篇, 样本量共计1897例, 其中HCC组839例, 非HCC组1058例, 非HCC组均包括肝脏良性疾病及健康对照, 具体检索过程如图1, 各纳入文献基本特征如表1.

2.2 纳入研究的质量评价 纳入的研究中HCC组均以病理诊断作为金标准, 仅一项研究文中未提及诊断标准. HCC组均为HCC患者, 非HCC组为肝脏良性疾病患者和健康人. 因非HCC组有健康人, 无法进行金标准检查, 所以并不是所有样本均接受金标准检查. 所有文献均未明确是否为盲法设计. 12篇文献明确描述待评价试验的实验步骤、操作方法等, 可在相同条件下重复. 另外, 所有文献均无退出病例, 因此, 第14条不适用, 具体文献质量评分如表2.

2.3 异质性分析 本研究中Spearman相关系数为-0.137, P = 0.671, 提示不存在阈值效应. 通过Q检验测得Q值为24.54, P = 0.0107, 提示入选文献间存在除阈值效应外的阈值效应, 选用随机效应模式合并统计量.

2.4 诊断效率 Meta分析合并效应量时采用随机效应模型, 合并总灵敏度为0.85(95%CI: 0.82-0.87), 总特异度为0.84(95%CI: 0.81-0.86), 阳性预测值(positive likelihood ratio, PLR)为5.17(95%CI: 3.96-6.74), 阴性预测值(negative likelihood ratio, NLR)为0.20(95%CI: 0.14-0.28), 诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR)为28.25(95%CI: 17.90-44.56). 将各项研究的效应指标和合并的结果绘制森林图(图2-3、图4A). 本次Meta分析显示灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419, 曲线下面积(area under the curve,

■**创新盘点**

本研究采用循征医学的方法，汇总分析了国内外近10年外周血端粒酶诊断HCC的价值，减少了因各中心小样本的病例分析而出现的差异，更准确地评价外周血端粒酶对于HCC诊断的临床价值.

表 2 纳入研究的方法学质量评价

纳入研究	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
邱谢武等[6]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
战淑慧等[7]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
刘阳等[8]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	–
吴玮等[9]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	N	S	S	Y	N	–
隋璐璐等[10]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	–
张利国等[11]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
冯众一等[12]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
Miura等[13]	Y	Y	Y	Y	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
Huang等[14]	Y	Y	Y	Y	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
Yao等[15]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	–
Yang等[16]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	–
Tatsuma等[17]	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	–

Y: 是; N: 否; S: 不清楚;1: 疾病谱组成; 2: 选择标准; 3: 金标准; 4: 疾病进展偏倚; 5: 部分参照偏倚; 6: 多重参照偏倚; 7: 混合偏倚; 8: 待评价试验的实施; 9: 金标准的实施; 10: 试验解读偏倚; 11: 金标准解读偏倚; 12: 临床解读偏倚; 13: 难以解释的实验结果; 14: 退出病例.

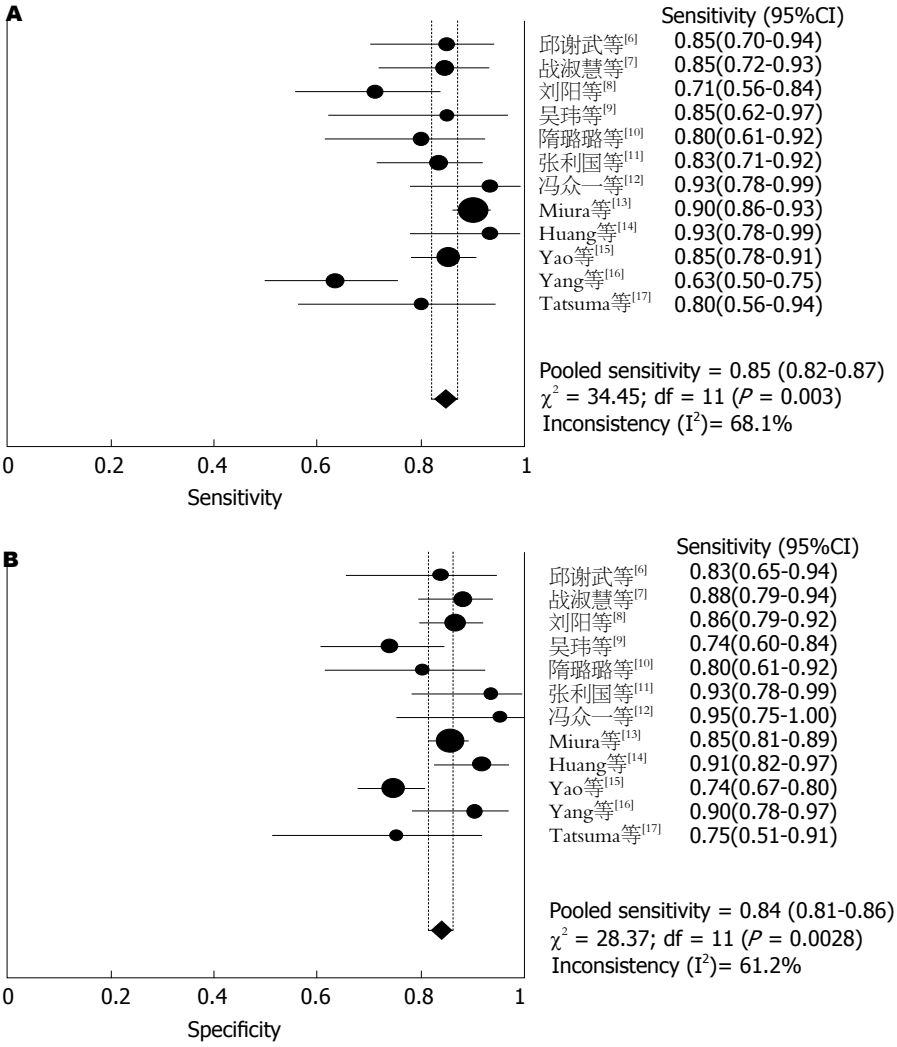
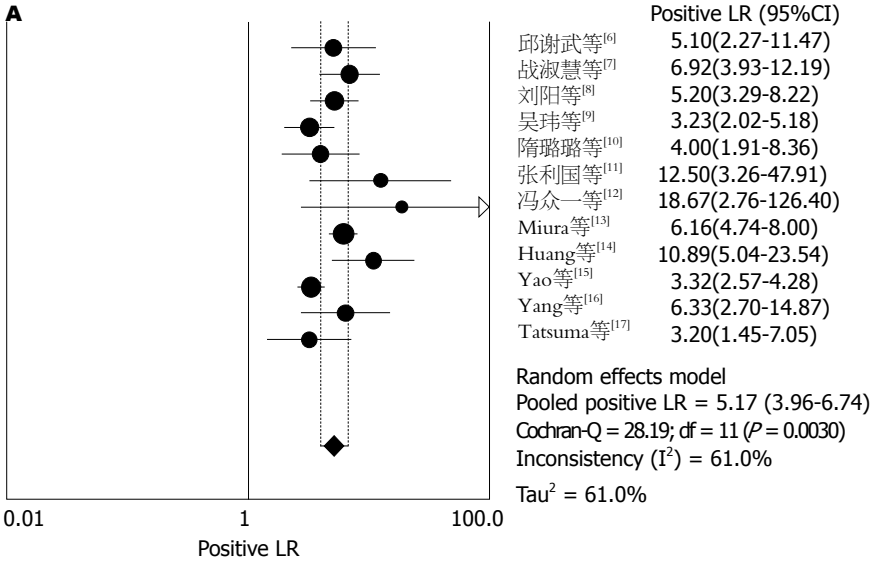


图 2 外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌的灵敏度与特异度森林图. A: 敏感性分析; B: 特异性分析.



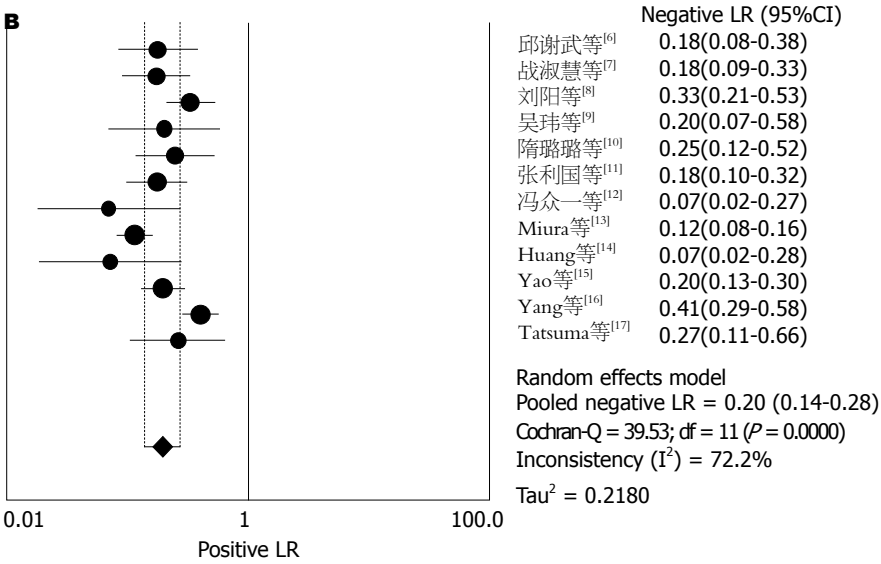
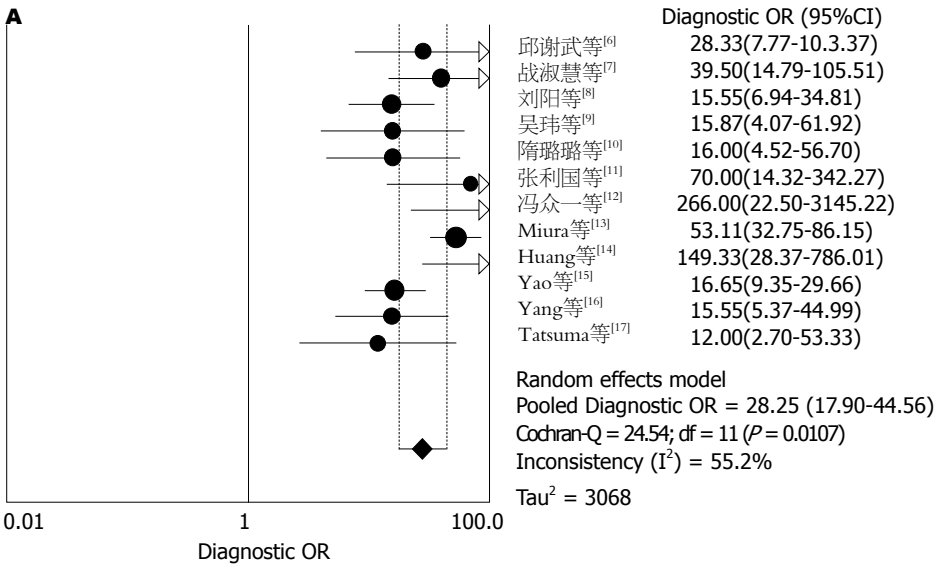


图 3 外周血端粒酶检测诊断HCC的PLR与NLR森林图. A: PLR分析; B: NLR分析. HCC: 肝细胞癌; PLR: 阳性预测值; NLR: 阴性预测值.



■应用要点

临床上若高度怀疑HCC，而影像学无重要发现，血清AFP呈阴性，可运用RQ-PCR、RCR-ELISA、RT-PCR及TRAP-ELISA等方法对患者血清端粒酶进行定量或者定性检测，协助对HCC进行诊断.

■同行评价
本文对国内外有关外周血端粒酶与HCC关系的相关文献进行了meta分析，其研究目的明确，收集的文献较全面，同时制定了严格的纳入及排除标准，分析步骤正确，为外周血端粒酶诊断HCC提供了依据，其研究内容较为重要，有一定的临床应用价值.

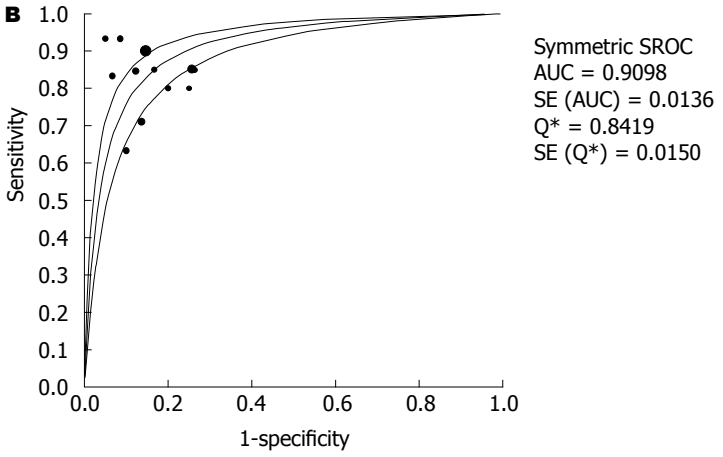


图 4 外周血端粒酶检测诊断HCC的合并DOR的森林图及ROC曲线. A: DOR的meta分析; B: SROC曲线. HCC: 肝细胞癌; DOR: 诊断比值比; SROC: 汇总受试者工作特征曲线.

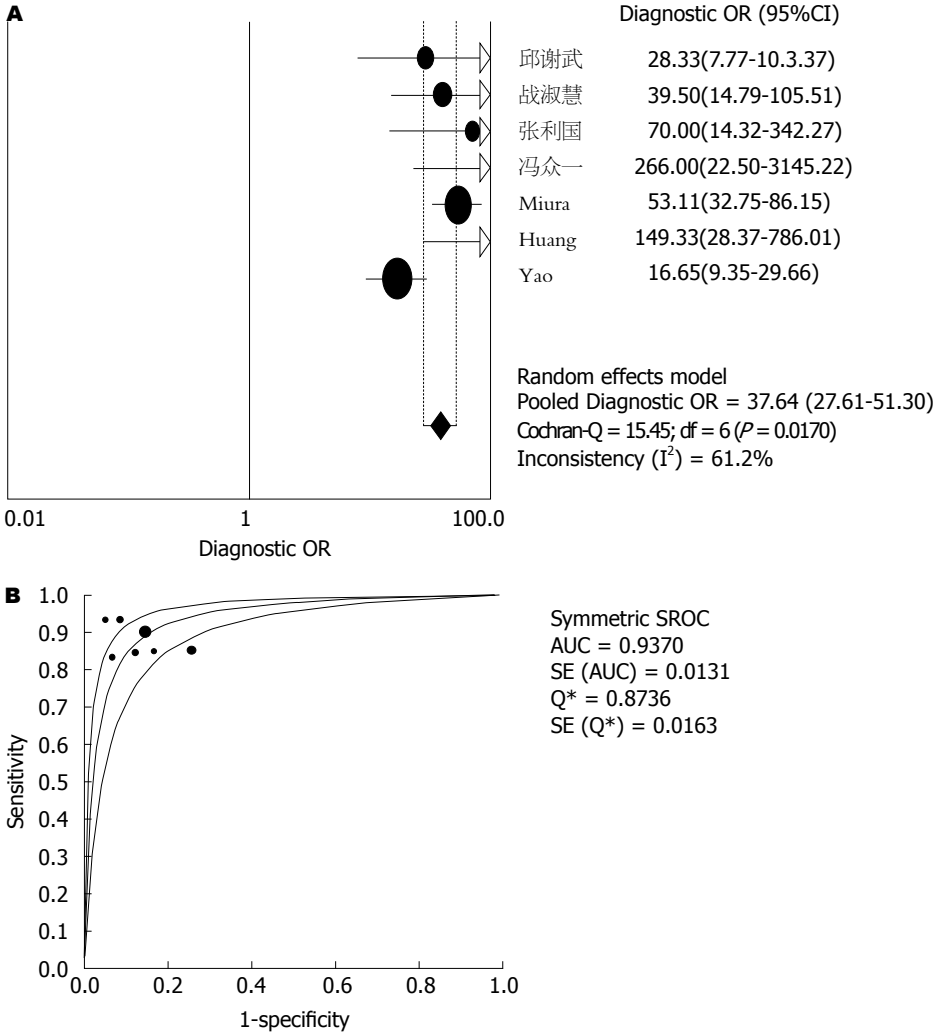


图 5 较高质量外周血端粒酶检测研究诊断HCC研究的合并DOR森林图及ROC曲线. A: DOR的meta分析; B: SROC曲线. HCC: 肝细胞癌; DOR: 诊断比值比; SROC: 汇总受试者工作特征曲线.

AUC)为0.9098(图4B)，提示此次试验的总诊断效率较高.

2.5 Meta回归和亚组分析 考虑端粒酶检测方法、文献质量、样本量为可能异质性来源，进行Meta回归分析，结果显示纳入文献研究质量是导致异质性的来源(P = 0.0267). 剔除较差质

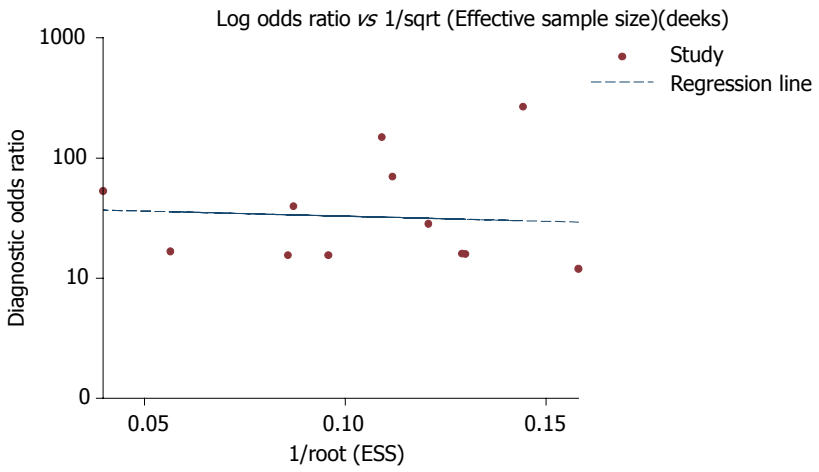


图 6 外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌纳入研究的发表偏倚漏斗图.

量(文献评分≤7分)的研究后, 结果显示剩余研究间无异质性(P = 0.699), 同质性较好, 利用固定效应模型对较高质量研究进行亚组分析显示, 合并DOR为37.64, AUC为0.9370(图5).

2.6 发表偏倚 Deeks检验结果提示纳入的研究基本呈对称分布(P = 0.775), 提示本次Meta分析未检测到明显的发表偏倚(图6).

3 讨论

肝癌为世界上第5大常见癌症, 在我国也是最常见的恶性肿瘤之一, 且死亡率极高. 然而肝癌的早期诊断率如前所述仍然不高, 许多患者早期症状缺乏特异性, 就诊时往往已处于晚期, 肝癌手术切除的5年生存率仅有20%[18]. 因此如何早期诊断肝癌是临床急需解决的问题. 目前对于HCC的诊断应用最广泛的血清学指标是AFP, 其定位在第4号染色体上, 全长约20 kb. Zhou等[19]通过荟萃分析显示, 血清AFP对于HCC诊断的灵敏度为70%, 特异度为89%, DOR为18.00, ROC曲线下面积为0.86. 提示AFP作为HCC诊断的主要肿瘤标志物, 尚有30%-40%肝癌不表达, 成为诊断的盲区.

端粒(telomere)是真核细胞染色体末端的一种特殊结构, 是维持染色体完整性的保护结构. 端粒酶是一种能延长端粒末端的核酸蛋白酶, 维持端粒长度, 甚至可使端粒永生化[20], 其主要成分包括人端粒酶RNA(hTR)、端粒酶相关蛋白(TP1)和人端粒逆转录酶(hTERT). 其中hTERT催化端粒DNA的合成, 决定端粒酶的催化活性. 有研究表明[21,22], 端粒酶在肿瘤组织中检出率为85%-95%. 而非肿瘤组织和各种正常组织中其检出率为4%-6%. 而染色体端粒酶表达异常在肝癌发生过程中也扮演重要角色. 早期研究[23]表明, 肝癌模型的动态研究发现, 在诱导过程中随着鼠肝细胞发生癌变, 端粒酶水平越来越高. Luan等[24]的实验证明HBV蛋白preS2抗原可激活*h-TERT*基因从而促进肝癌细胞的生长.

本次Meta分析入选的12篇研究显示外周血端粒酶检测诊断HCC的总灵敏度0.85(95%CI: 0.82-0.87), 而总特异度0.84(95%CI: 0.81-0.86), 提示平均漏诊率为15%, 平均误诊率为16%, DOR均值为28.25(95%CI: 17.90-44.56), 灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419, AUC为0.9098. 汇总PLR为5.17(95%CI: 3.96-6.74), 提示外周血端粒酶活性检测测定HCC患者结果为阳性的机会较高, 阳性的机会约为非HCC患者的5.17倍. NLR值为0.20(95%CI: 0.14-0.28), 提示若外周血端粒酶活性检测的结果为阴性, 而HCC患者经过其他“金标准”诊断为HCC的概率有20%. 另外, 我们对高质量纳入文献研究进行亚组分析显示, 剔除QUADAS评分≤7的研究后, 剩余研究的同质性较好(P = 0.699), 同时DOR为37.64>28.25, 而AUC为0.9370>0.9098, 说明通过QUADAS评分较高质量的研究对HCC的诊断效率较低质量研究高, 总的来说, 外周血端粒酶检测对于协助HCC的诊断有着重要的价值.

总之, 外周血端粒酶检测诊断HCC的灵敏度、DOR及AUC均高于如前所述的血清AFP对于肝癌的诊断价值, 且相对于经皮肝穿刺端粒酶检测创伤较小, 操作简单, 虽然有一定漏诊率及误诊率, 但临床上仍可用于AFP阴性的HCC的诊断或者可以与AFP联合检测提高诊断效率. 需要注意的是, 由于纳入研究均是分散的小样本病例, 希望通过更多的大样本、多中心、双盲

试验丰富Meta分析的证据，获得更有科学价值的系统评价结果.

4 参考文献

1 杨秉辉, 丛文铭, 周晓. 原发性肝癌规范化诊治专家共识. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 259-269

2 Szklaruk J, Silverman PM, Charnsangavej C. Imaging in the diagnosis, staging, treatment, and surveillance of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 441-454 [PMID: 12540450 DOI: 10.2214/ajr.180.2.1800441]

3 Kamel IR, Bluemke DA. Imaging evaluation of hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: S173-S184 [PMID: 12354834]

4 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. QUADAS的制定: 用于系统评价中评价诊断性研究质量的工具. 中国循证医学杂志 2007; 7: 296-306

5 张天蒿, 钟文昭. Meta-Disc软件在诊断试验Meta分析中的应用. 循征医学 2008; 8: 97-100

6 邱谢武, 于聪慧, 聂洪峰, 王剑飞, 奈超, 王伟. AFP、h-TERT及VEGF基因在肝细胞癌患者外周血中的诊断价值. 世界华人消化杂志 2012; 20: 610-614

7 战淑慧, 李宁, 宣世英, 李清华. 肝癌患者外周血单个核细胞端粒酶活性表达与临床相关性研究. 中国现代医学杂志 2006; 16: 3465-3467

8 刘阳, 胡梅, 吴娅娜, 喻红波. 肝癌患者血清端粒酶逆转录酶mRNA表达研究. 武警后勤学院学报 2012; 21: 161-163

9 吴玮, 姚登福, 邱历伟, 吴信华, 蒋道荣, 于志坚, 卜召祥. 肝癌组织及外周血端粒酶表达对肝癌的诊断和鉴别价值. 胃肠病学和肝病学杂志 2004; 13: 498-501

10 隋璐璐, 刘小方, 许政. 联合检测外周血hTERT mRNA及GGT mRNA-H表达对小肝癌早期诊断的价值. 中国普外基础与临床杂志 2011; 18: 59-62

11 张利国, 周杰, 林建华. 外周血AFP mRNA、h'TERT mRNA检测对肝细胞肝癌患者预后的意义. 山东医药 2010; 50: 5-7

12 冯众一, 付维利, 杨玉龙, 谭文翔. 原发性肝癌血源性微转移检测及临床意义的研究. 中华肝胆外科杂志 2007; 13: 660-662

13 Miura N, Osaki Y, Nagashima M, Kohno M, Yorozu K, Shomori K, Kanbe T, Oyama K, Kishimoto Y, Maruyama S, Noma E, Horie Y, Kudo M, Sakaguchi S, Hirooka Y, Ito H, Kawasaki H, Hasegawa J, Shiota G. A novel biomarker TERTmRNA is applicable for early detection of hepatoma. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 46 [PMID: 20482774 DOI: 10.1186/1471-230X-10-46]

14 Huangl YK, Fan XG, Qiu F, Wang ZM. Combined detection of mRNA expression of Alpha-fetoprotein in peripheral blood and telomerase activity of monocytes in hepatocellular carcinoma patients. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1-5 [PMID: 22773301 DOI: 10.5754/hge12359]

15 Yao DF, Wu W, Yao M, Qiu LW, Wu XH, Su XQ, Zou L, Yao DB, Meng XY. Dynamic alteration of telomerase expression and its diagnostic significance in liver or peripheral blood for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4966-4972 [PMID: 16937491]

16 Yang YJ, Chen H, Huang P, Li CH, Dong ZH, Hou YL. Quantification of plasma hTERT DNA in hepatocellular carcinoma patients by quantitative fluorescent polymerase chain reaction. *Clin Invest Med* 2011; 34: E238 [PMID: 21810382]

17 Tatsuma T, Goto S, Kitano S, Lin YC, Lee CM, Chen CL. Telomerase activity in peripheral blood for diagnosis of hepatoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1064-1070 [PMID: 11059939]

18 Dahiya D, Wu TJ, Lee CF, Chan KM, Lee WC, Chen MF. Minor versus major hepatic resection for small hepatocellular carcinoma (HCC) in cirrhotic patients: a 20-year experience. *Surgery* 2010; 147: 676-685 [PMID: 20004441 DOI: 10.1016/j.surg.2009.10.043]

19 Zhou Y, Yin X, Ying J, Zhang B. Golgi protein 73 versus alpha-fetoprotein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic Meta-analysis. *BMC Cancer* 2012; 12: 17 [PMID: 22244200 DOI: 10.1186/1471-2407-12-17]

20 Hiraoka Y, Haraguchi T. [Mechanism of chromosome protection by telomere and telomerase]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 2010; 55: 104-107 [PMID: 20162857]

21 Rodriguez-Brenes IA, Peskin CS. Quantitative theory of telomere length regulation and cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 5387-5392 [PMID: 20207949 DOI: 10.1073/pnas.0914502107]

22 Herbert GS, Sohn VY, Mulcahy MJ, Champeaux AL, Brown TA. Prognostic significance of reactivation of telomerase in breast core biopsy specimens. *Am J Surg* 2007; 193: 547-550; discussion 550 [PMID: 17434352 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.01.011]

23 吴玮, 姚登福, 吴信华, 陆建新, 邱历伟. 肝细胞癌变过程中端粒酶的表达及动态改变. 中国肿瘤 1999; 8: 375-377

24 Luan F, Liu H, Gao L, Liu J, Sun Z, Ju Y, Hou N, Guo C, Liang X, Zhang L, Sun W, Ma C. Hepatitis B virus protein preS2 potentially promotes HCC development via its transcriptional activation of hTERT. *Gut* 2009; 58: 1528-1537 [PMID: 19651630 DOI: 10.1136/gut.2008.174029]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 133-139
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

血清及胆汁中NGAL对于区分良恶性胆道狭窄的临床意义

韩美玲, 吕志武

韩美玲, 吕志武, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086
韩美玲, 在读硕士, 主要从事消化病学的研究.
作者贡献分布: 课题设计、主要实验、临床资料整理、文章起草由韩美玲完成; 病例选择、样本取材、文章修改和审阅由吕志武完成.
通讯作者: 吕志武, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科.
944377508@qq.com
电话: 0451-86605404
收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-11-12
接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2014-01-08

Serum and bile NGAL for clinically distinguishing malignant biliary strictures from benign biliary strictures

Mei-Ling Han, Zhi-Wu Lv

Mei-Ling Han, Zhi-Wu Lv, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Zhi-Wu Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Street, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. 944377508@qq.com
Received: 2013-10-23 Revised: 2013-11-12
Accepted: 2013-11-27 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To investigate the value of serum and bile neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) for distinguishing malignant strictures caused by cholangiocarcinoma (CCA) or pancreatic cancer from benign biliary strictures.

METHODS: The study was performed prospectively on patients admitted for endoscopic retrograde cholangiopancreatography biliary decompression. Forty-four patients with dilated biliary ducts, including 12 cases of CCA, 8 cases of pancreatic cancer, 1 case of carcinoma of the ampulla, and 23 cases of benign biliary strictures, were enrolled. Their sera and bile were collected to measure NGAL. Routine biochemistry including liver function test and routine blood examination was also performed. Enzyme-linked immunosorbent assay was performed to measure the contents of NGAL in serum and bile samples.

RESULTS: Serum NGAL had no significant value for discriminating malignant and benign biliary strictures (mean, 31.10 ng/mL *vs* 118.35 ng/mL, P = 0.0825). Biliary NGAL levels were significantly raised in the malignant disease group compared with the benign disease group (mean, 199.0 ng/mL *vs* 466.7 ng/mL, P = 0.0215).

CONCLUSION: Measurement of biliary NGAL, not serum NGAL, may differentiate malignant biliary strictures from benign biliary strictures.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Benign biliary strictures; Malignant biliary strictures; Cholangiocarcinoma; Pancreatic cancer; NGAL

Han ML, Lv ZW. Serum and bile NGAL for clinically distinguishing malignant biliary strictures from benign biliary strictures. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 133-139
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/133.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.133

摘要

目的: 研究血清和胆汁中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)对于区分良恶性胆道狭窄的临床价值.

方法: 所研究患者是经内镜下逆行胰胆管造影进行胆道减压的患者. 共44例胆总管扩张患者, 恶性胆道狭窄患者共21例, 其中胆管癌12例, 胰腺癌8例, 壶腹癌1例, 良性胆道狭窄患者23例. 收集患者血清和胆汁并采用酶联免疫吸附试验方法检测其中NGAL的含量, 常规检测其他生化指标如血常规、肝功能等.

结果: 血清NGAL在区分良恶性胆道狭窄患者中没有明显区别, 差异无统计学意义(平均值31.10 ng/mL *vs* 118.35 ng/mL, P = 0.0825). 比起良性胆道狭窄疾病患者, 胆汁NGAL含量在恶性胆道狭窄患者中明显升高, 差异有统计学

■背景资料
胰胆管恶性肿瘤是常见的癌症相关死亡原因之一, 死亡率高, 5年总体存活<5%. 由于胰胆管肿瘤在早期缺乏特异性临床表现, 当患者被确诊时多已经出现远处转移, 因此对于该疾病的早诊较为困难.

■同行评议者
薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

■研发前沿
目前对于恶性胆道梗阻的诊断多依赖于影像学、胆道的细胞采集、胆道活检、血清肿瘤标志物等. 通过细胞刷和活检在胆道狭窄的部位可获得组织学样本, 但是细胞学和组织学检查敏感性一般<60%. 目前最常用的血清肿瘤标志物为糖原-199和癌胚抗原, 因其较低的敏感性和特异性对于胰胆管肿瘤的诊断仍需进一步研究. 因此, 临床中需要更多的可协助准确诊断并鉴别良恶性胆道梗阻的可靠的肿瘤标志物.

意义(平均值199.0 ng/mL *vs* 466.7 ng/mL, P = 0.0215).

结论: 胆汁而非血清中NGAL含量对于鉴别良恶性胆道狭窄患者有临床意义.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 良性胆道狭窄; 恶性胆道狭窄; 胆管癌; 胰腺癌; NGAL

核心提示: 胆汁而非血清中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)含量对于鉴别良恶性胆道狭窄患者有临床意义. 相比较血清而言, 测定胆汁中NGAL的含量所受到外界的影响要小, 一定程度上使其特异性和敏感性高一些.

韩美玲, 吕志武. 血清及胆汁中NGAL对于区分良恶性胆道狭窄的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 133–139 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/133.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.133

0 引言

胰胆管恶性肿瘤是常见的癌症相关死亡原因之一, 死亡率高, 5年总体存活<5%[1,2]. 当患者诊断时多已经出现远处转移或局部浸润[3]. 胆管癌在过去的十几年中发病率在逐年增加[4,5]. 胰胆管肿瘤在早期往往缺乏特异性临床表现, 可仅出现中上腹腹胀、不适、隐痛、纳差、乏力、消瘦等症状, 因此对于该疾病的早诊较为困难, 在后期患者多表现为梗阻性黄疸.

对于胆管癌患者确定诊断是很困难的, 胆道狭窄的原因有很多, 除了恶性胆道狭窄外, 许多良性胆道疾病也有相似的临床表现, 如炎性(自身免疫性、感染性)、基因性的、血管性的等. 延迟的确定诊断和治疗多是因为诊断的不确定性. 外科手术仅仅针对于那些可能治愈的患者, 所以只能应用于一小部分人群[6,7]. 诊断的不确定往往导致处理方面的偏差, 目前对于恶性胆道梗阻的诊断多依赖于影像学(CT、MRI、超声内镜、胰胆管水成像)、胆道的细胞采集、胆道活检、血清肿瘤标志物等[8-10]. 典型的胆管癌常沿着胆管长轴生长[11], 且很少局部聚集, 然而影像学对于观察这一区域的病变往往可准定位, 但在确定良恶性方面帮助较少. 通过细胞刷和活检在胆道狭窄的部位可获得组织学样本, 但是细胞学和组织学检查敏感性一般小于<60%[12]. 蛋白质图谱在发现新的肿瘤标志物方面很有前景[13,14], 但是在人类胆汁中很难成功。虽然人类的胆汁成分十分复杂, 最近有研究证实在人类胆汁中蛋白可以定量, 并且可以提取出蛋白质生物标记物[15-17]. 目前最常用的血清肿瘤标志物为糖原抗体(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)和癌胚抗原, 因其较低的敏感性和特异性对于胰胆管肿瘤的诊断仍需进一步研究. 因此, 临床中需要更多的可协助准确诊断并鉴别良恶性胆道梗阻的可靠的肿瘤标志物.

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)是一24 kDa分泌型糖蛋白, 从激活的中性粒细胞中释放出来, 在人类 *NGAL* 基因定位于9q34. 多种证据表明NGAL诱导了多种人类的癌症, 并且在这些癌症患者中存在NGAL高表达的现象, 比如皮肤癌[18]、甲状腺癌、乳腺癌[19,20]、卵巢癌[21,22]、子宫内膜癌[23]、结肠癌[24]、肺癌[25]、肝癌、胆管癌、食道癌[26]、胃癌[27,28]和胰腺癌[29,30]等. 有报道称在胃癌、胰腺癌和肝细胞癌的患者血清中有NGAL水平增高的现象[31-33]. 之前有研究报道了在胆管癌患者中血清NGAL有较正常患者明显升高的现象, 差异有统计学意义[34,35]. 很少有研究恶性胆道狭窄患者胆汁中NGAL含量的文献报道, 本文就NGAL在良恶性胆道狭窄患者中的含量区别进行研究.

1 材料与方法

1.1 材料 选择于2013-02/2013-06就诊于哈医大二院的梗阻性黄疸的患者. 收集该病患者的逆行性胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancteatography, ERCP)术前周围静脉血, 以及行ERCP检查时收集患者胆汁. 将不符合实验要求的患者予以排除. 排除标准: 因NGAL在急性肾功能衰竭、肾功能不全或慢性胰腺炎的患者中明显增高[30,36,37], 因此以上疾病的患者予以排除. 同时将除胰胆管癌症以外的其他部位的恶性肿瘤、ERCP胆总管插管未成功者排除.

1.2 方法 在患者行ERCP检查之前对患者进行采血至少4 mL, 置于4 ℃的冰箱中约2 h. 待血液凝结后在室温条件下1000 r/min的速度离心10 min, 取上清并置于EP管中密封后置于-80 ℃中保存, 待测量时备用. 在受试者行ERCP检查时, 向胆总管中注入造影剂之前抽出胆汁约5-10 mL, 置于试管中, 随后将试管避光并置于4 ℃冰箱中. 此后用离心机12000 r/min, 离心10 min. 取上清并置于EP管中密封后置于-80 ℃中保存, 待测

表 1 良恶性胆道梗阻患者基本信息以及血液生化指标的比较 (mean ± SD)

指标	分组		P值
	良性组	恶性组	
n	23	21	
年龄(岁)	59.13 ± 10.58	65 ± 10.50	
性别			
男	15	12	
女	8	8	
血红蛋白(g/L)	131.0(125.0 ± 140.5)	129.5(107.5 ± 139.25)	<0.05
ALT(U/L)	46.0(16.0 ± 103.0)	57(35.5 ± 103.25)	
AST(U/L)	26.0(16.0 ± 83.5)	70.5(44 ± 80.25)	
GGT(U/L)	156.0(47.5 ± 568.0)	542.5(232.5 ± 748.75)	<0.05
ALP(U/L)	105.5(78.5 ± 188.25)	189.5(156 ± 358.5)	
总胆红素(μmol/L)	20.7(15.2 ± 44.4)	75.2(39.05 ± 233.075)	<0.05
直接胆红(μmol/L)	16.2(6.65 ± 43.3)	70.25(33.02 ± 218.37)	
血清NGAL(ng/mL)	31.1(9.1 ± 215.325)	118.35(36.65 ± 256.2)	
胆汁NGAL(ng/mL)	199.0(27.9 ± 292.1)	466.7(270.05 ± 102.5)	<0.05

ALP: 碱性磷酸酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; GGT: γ-谷氨酰氨转移酶.

量时备用. 待样本数达到预计值后将血清以及胆汁样本取出后做ELISA分析. ELISA试剂盒购自美国Cloud-Clone Corp.公司, 货品编号为SEB388Hu, 各项操作均严格按照说明进行. 同时患者的丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、γ-谷氨酰氨转移酶等运用速率法进行检测, 血清总胆红素以及直接胆红素运用比色法进行检测.

统计学处理 使用Excel进行数据处理, 分析方法: 计量数据采用mean±SD进行描述, 计数数据采用计数和百分比进行描述; 主要分析指标与疾病是否具有相关性, 采用线性回归, 调整年龄与性别两个因素. 分析过程采用SAS9.3进行分析.

2 结果

2.1 良恶性胆道狭窄患者资料比较 所选取符合实验入组标准的胆道狭窄的患者一共44例, 良性胆道狭窄患者23例, 恶性胆道狭窄患者21例. 良性胆道狭窄的病因包括: 胆总管结石18例、Oddi括约肌功能失调1例、胆道炎性狭窄2例、胆囊管管状腺瘤1例、十二指肠憩室1例等, 恶性胆道狭窄包括胆管癌12例、胰腺癌8例、壶腹癌1例. 在21例恶性胆道狭窄患者中有7例经病理证实, 其余患者均有经影像学诊断为恶性胆道狭窄, 包括彩超、超声内镜、肝胆胰CT/MRI、ERCP检查等. 所有肿瘤患者术前均未做放疗、化疗或免疫治疗. 按照α = 0.05检验水准, 良恶性胆道狭窄患者中血清NGAL含量在两组患者中分别为31.1 ng/mL(9.1 ng/mL±215.325 ng/mL) *vs* 118.35 ng/mL(36.65 ng/mL±256.2 ng/mL), P = 0.0825, 胆汁中NGAL含量在两组患者中分别为199.0 ng/mL(27.9 ng/mL±292.1 ng/mL) *vs* 466.7 ng/mL(270.05 ng/mL±102.5 ng/mL), P = 0.0215. 比起良性组, 恶性组患者血清总胆红素、γ-谷氨酰氨转移酶水平均较高, 血红蛋白水平较低, 差异有统计学意义(P值分别为0.0208、0.0324、0.0416). 年龄、性别、ALT、AST、ALP等生化指标在两组之间无明显差异. 患者良恶性胆道狭窄的基本特征比较如表1, 患者胆汁和血清中NGAL比较情况, 如图1.

2.2 胆汁中NGAL多重线性分析结果 胆汁NGAL的多重线性回归未进行变量筛选的结果如表2. 按照α = 0.05检验水准, 胆汁NGAL在良恶性分组, 同时与总胆红素与直接胆红素呈负相关.

3 讨论

胰胆管恶性肿瘤发病隐匿, 早期发现以及诊断困难, 手术切除率低, 术后死亡率高, 预后差. 至今, 常用于临床检测胆管癌的血清学肿瘤标志物有癌胚抗原和CA19-9. 然而CEA因许在多其

■相关报道
多种证据表明NGAL诱导多种人类的癌症, 并且在这些癌症患者中存在NGAL高表达的现象, 比如皮肤癌、甲状腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、结肠癌、肺癌、肝癌、胆管癌、食道癌、胃癌和胰腺癌.

■**创新盘点**
已经有许多国内外文献报道了NGAL在消化系恶性肿瘤方面的研究, 如胃癌、肝癌、胰腺癌患者血清中NGAL的含量, 但是关于胆汁中的含量目前还比较少.

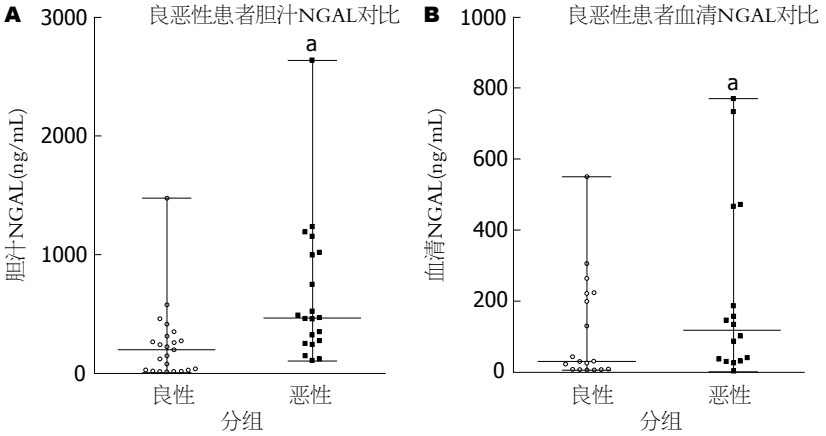


图 1 良恶性胆道狭窄患者胆汁以及血清中NGAL含量的对比情况. A: 良恶性胆道狭窄患者胆汁中NGAL对比情况. $^aP<0.05$ *vs* 良性; B: 良恶性胆道狭窄患者血清中NGAL对比情况. $^aP<0.05$ *vs* 良性.

表 2 胆汁中NGAL多重线性分析结果

	胆汁NGAL
年龄	0.0608
性别	0.9759
血红蛋白	0.4056
ALT	0.6524
AST	0.5749
GGT	0.1840
ALP	0.8518
总胆红素	<0.03
直接胆红素	<0.03

ALP: 碱性磷酸酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; GGT: γ-谷氨酰氨转移酶.

他的消化系统肿瘤、妇产科恶性肿瘤或其他的胆道病理性改变(如胆管炎或肝炎等)也增高, 因此CEA在诊断胆管癌中特异性较差[38]. Leelawat等[39]曾报道了CEA在诊断胆管癌方面的敏感性和特异性分别仅为58.54%和62.50%. 血清CA19-9值的显著升高对胆管良恶性病变有一定的鉴别诊断价值, 但在胆道感染或其他胆管良性病变中CA19-9值亦可显著升高[40], 因此在本研究中并未将CEA、CA19-9列为测量指标, 本研究旨在发现对鉴别良恶性胆道狭窄敏感性和特异性均高的新的肿瘤标志物.

NGAL又称人脂质运载蛋白2[41], NGAL的表达在一些良性和恶性疾病中会出现表达失调的现象. NGAL在肿瘤中的功能从阻止凋亡(在甲状腺癌细胞), 阻止肿瘤浸润和血管再生(在胰腺癌)到增加肿瘤的增殖和转移(在乳腺和结肠癌)[42], 因此近年来NGAL与人类恶性肿瘤的这种多样性的关系越来越受到了人们的重视. 此外, NGAL与基质金属蛋白酶-9(matrix metalloprotease-9, MMP-9)以二硫键形成复合物, 促进MMP-9对细胞基底膜的降解, 从而浸润周围基质, 介导癌细胞转移[43]. 尽管NGAL在肿瘤发生中的准确的机制尚不完全清楚, 但是他确定与人类的一些常见的恶性肿瘤相关, 包括胃癌、食道癌、胰腺癌和胆管癌等. 有报道称比起非肿瘤组织NGAL与MMP-9复合物在胃癌和食道鳞状细胞癌的组织中表达增高[44,45], 同时在乳腺癌组织中, NGAL过表达是患者预后不良的标志, 包括癌组织分化程度低和存在淋巴结转移[20].

胰腺癌是致死率最高的恶性肿瘤之一, 5年存活率低于3.5%[3]. 目前越来越多的证据表明NGAL与胰胆管恶性肿瘤相关[26,46,47], 有报道称[30]在胰腺癌中存在NGAL mRNA过度表达的现象, 在组织学和血清学研究中, 胰腺恶性肿瘤和胰腺炎症患者中NGAL表达明显上调, 但正常胰腺组织中却很少表达($P<0.001$).

NGAL在胆管癌患者中存在表达增高的现象已经有一些研究报道. Nuntagowat等[48]报道在胆管癌患者中通过siRNA可以抑制70%-80%的NGAL mRNA和蛋白的表达.

在胰胆管恶性肿瘤中, 胆汁是一潜在的有着丰富的肿瘤生物标志物的资源. 胆汁从胆道中缓缓流出, 理论上其含有丰富的肿瘤细胞代谢产物. 此外, 胆汁相对容易获得, 多数胆道狭窄的患者都需经逆行性胰胆管造影检查以及相关内镜下治疗, 通过此操作可获取胆汁. 然而在正常胆管组织中无此蛋白的表达, 因此, 推测测量良恶性胆道狭窄患者的胆汁中NGAL的含量可

能有区别. 但目前国内外对胆汁中NGAL检测的文献报道少之又少.

本研究采用酶联免疫吸附法检测了良恶性胆道狭窄患者胆汁中NGAL蛋白表达水平, 结果提示与胆道良性狭窄患者相比, 胆道恶性狭窄患者胆汁中NGAL蛋白有较高的表达水平(平均值466.7 ng/mL *vs* 199.0 ng/mL), 差异有统计学意义(P = 0.0215), 说明检测胆汁中NGAL蛋白对胆道系统肿瘤的诊断具有临床意义. 因此, 根据本研究可推测出, 胆汁中NGAL蛋白含量的检测对肿瘤性质的鉴别诊断具有一定意义. 但是相对于患者血清来说, 患者胆汁的收集更为复杂. 因此本实验同时检测了两组患者血清中NGAL的含量, 检测结果示恶性胆道梗阻患者较良性组高(平均值118.35 ng/mL *vs* 31.10 ng/mL), 但差异没有统计学意义(P = 0.0825), 从另一方面证明了血清中NGAL蛋白含量在鉴别良恶性胆道狭窄的诊断方面临床价值较小. 最近有两项研究报道了血清或者胆汁中NGAL含量在胰胆管恶性肿瘤患者中的临床应用价值. 其中, Leelawat[35]报道了血清中NGAL和CA19-9含量在鉴别良性胆道狭窄和胆管癌方面有临床意义, 差异有统计学意义(P<0.001), 与本研究结果不一致. 然而在其实验中并未将患者胆汁中NGAL的含量进行检测. 另一项研究[34]显示胆汁中NGAL含量在区分良恶性胆道梗阻方面的敏感性为94%, 但在本研究中胆管癌患者数量较少, 众所周知比起胆管癌, 血清CA19-9和胰腺CT对胰腺癌的诊断更为有效.

在本研究中胆汁NGAL多元线性回归分析表明, 胆汁中NGAL含量与总胆红素与直接胆红素呈负相关, 而与其他因素如年龄、性别、血红蛋白、肝功能酶学指标等无明显相关性, 表明NGAL在区分良恶性胆道狭窄方面是一独立的预测指标. 本实验虽然证实检测胆汁中的NGAL蛋白在鉴别诊断胆道良恶性肿瘤等方面有一定的临床应用价值, 但因样本例数较少, 尚需更大样本量的研究结果进一步证实. 此外, 本实验无正常健康人的胆汁中NGAL的检测, 且有个别良性胆道狭窄患者胆汁中NGAL蛋白含量表达较高, 但可能与胆石等刺激胆管局部组织增生相关, 仍需进一步研究.

■应用要点

本研究表明NGAL在区分良恶性胆道狭窄方面是一独立的预测指标. 在鉴别诊断胆道良恶性肿瘤等方面有一定的临床应用价值.

4 参考文献

1 Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 699-708 [PMID: 19806144 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.177]

2 Khan SA, Toledano MB, Taylor-Robinson SD. Epidemiology, risk factors, and pathogenesis of cholangiocarcinoma. *HPB* (Oxford) 2008; 10: 77-82 [PMID: 18773060 DOI: 10.1080/13651820801992641]

3 Chakraborty S, Baine MJ, Sasson AR, Batra SK. Current status of molecular markers for early detection of sporadic pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815: 44-64 [PMID: 20888394 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.09.002]

4 Welzel TM, McGlynn KA, Hsing AW, O'Brien TR, Pfeiffer RM. Impact of classification of hilar cholangiocarcinomas (Klatskin tumors) on the incidence of intra- and extrahepatic cholangiocarcinoma in the United States. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 873-875 [PMID: 16788161]

5 Khan SA, Emadossadaty S, Ladep NG, Thomas HC, Elliott P, Taylor-Robinson SD, Toledano MB. Rising trends in cholangiocarcinoma: is the ICD classification system misleading us? *J Hepatol* 2012; 56: 848-854 [PMID: 22173164 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.1.015]

6 Seehofer D, Kamphues C, Neuhaus P. Management of bile duct tumors. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 2843-2856 [PMID: 18937616 DOI: 10.1517/14656566.9.16.2843]

7 Khan SA, Davidson BR, Goldin RD, Heaton N, Karani J, Pereira SP, Rosenberg WM, Tait P, Taylor-Robinson SD, Thillainayagam AV, Thomas HC, Wasan H. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: an update. *Gut* 2012; 61: 1657-1669 [PMID: 22895392 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301748]

8 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]

9 Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602]

10 Greenhalf W, Grocock C, Harcus M, Neoptolemos J. Screening of high-risk families for pancreatic cancer. *Pancreatology* 2009; 9: 215-222 [PMID: 19349734 DOI: 10.1159/000210262]

11 Weber A, Schmid RM, Prinz C. Diagnostic approaches for cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4131-4136 [PMID: 18636656]

12 Weber A, von Weyhern C, Fend F, Schneider J, Neu B, Meining A, Weidenbach H, Schmid RM, Prinz C. Endoscopic transpapillary brush cytology and forceps biopsy in patients with hilar cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1097-1101 [PMID: 18286693]

13 Farina A, Dumonceau JM, Lescuyer P. Proteomic analysis of human bile and potential applications for cancer diagnosis. *Expert Rev Proteomics* 2009; 6: 285-301 [PMID: 19489700 DOI: 10.1586/epr.09.12]

14 Hanash SM, Pitteri SJ, Faca VM. Mining the plasma proteome for cancer biomarkers. *Nature* 2008; 452: 571-579 [PMID: 18385731 DOI: 10.1038/nature06916]

15 Farina A, Dumonceau JM, Frossard JL, Hadengue A, Hochstrasser DF, Lescuyer P. Proteomic analysis of human bile from malignant biliary stenosis induced by pancreatic cancer. *J Proteome Res* 2009; 8: 159-169 [PMID: 19055478]

16 Alvaro D. Serum and bile biomarkers for cholangio-

■同行评价
本文立题新颖，病例充分，结果准确，统计方法科学有意义，本文有学术价值，具有临床实践意义.

carcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 279-284 [PMID: 19396965]
17 Bonney GK, Craven RA, Prasad R, Melcher AF, Selby PJ, Banks RE. Circulating markers of biliary malignancy: opportunities in proteomics? *Lancet Oncol* 2008; 9: 149-158 [PMID: 18237849]
18 Mallbris L, O'Brien KP, Hulthén A, Sandstedt B, Cowland JB, Borregaard N, Ståhle-Bäckdahl M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a marker for dysregulated keratinocyte differentiation in human skin. *Exp Dermatol* 2002; 11: 584-591 [PMID: 12473066]
19 Nacht M, Ferguson AT, Zhang W, Petroziello JM, Cook BP, Gao YH, Maguire S, Riley D, Coppola G, Landes GM, Madden SL, Sukumar S. Combining serial analysis of gene expression and array technologies to identify genes differentially expressed in breast cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 5464-5470 [PMID: 10554019]
20 Bauer M, Eickhoff JC, Gould MN, Mundhenke C, Maass N, Friedl A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a predictor of poor prognosis in human primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 108: 389-397 [PMID: 17554627]
21 Santin AD, Zhan F, Bellone S, Palmieri M, Cane S, Bignotti E, Anfossi S, Gokden M, Dunn D, Roman JJ, O'Brien TJ, Tian E, Cannon MJ, Shaughnessy J, Pecorelli S. Gene expression profiles in primary ovarian serous papillary tumors and normal ovarian epithelium: identification of candidate molecular markers for ovarian cancer diagnosis and therapy. *Int J Cancer* 2004; 112: 14-25 [PMID: 15305371]
22 Cho H, Kim JH. Lipocalin2 expressions correlate significantly with tumor differentiation in epithelial ovarian cancer. *J Histochem Cytochem* 2009; 57: 513-521 [PMID: 19188485 DOI: 10.1369/jhc.2009.953257]
23 Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Kikuchi N, Konishi I, Seki N, Shiozawa T. Laser-captured microdissection-microarray analysis of the genes involved in endometrial carcinogenesis: stepwise up-regulation of lipocalin2 expression in normal and neoplastic endometria and its functional relevance. *Hum Pathol* 2011; 42: 1265-1274 [PMID: 21334721 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.07.027]
24 Bousserouel S, Kauntz H, Gossé F, Bouhadjar M, Soler L, Marescaux J, Raul F. Identification of gene expression profiles correlated to tumor progression in a preclinical model of colon carcinogenesis. *Int J Oncol* 2010; 36: 1485-1490 [PMID: 20428773]
25 Linnerth NM, Sirbovan K, Moorehead RA. Use of a transgenic mouse model to identify markers of human lung tumors. *Int J Cancer* 2005; 114: 977-982 [PMID: 15645424]
26 Furutani M, Arii S, Mizumoto M, Kato M, Imamura M. Identification of a neutrophil gelatinase-associated lipocalin mRNA in human pancreatic cancers using a modified signal sequence trap method. *Cancer Lett* 1998; 122: 209-214 [PMID: 9464512]
27 Wang HJ, He XJ, Ma YY, Jiang XT, Xia YJ, Ye ZY, Zhao ZS, Tao HQ. Expressions of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in gastric cancer: a potential biomarker for prognosis and an ancillary diagnostic test. *Anat Rec* (Hoboken) 2010; 293: 1855-1863 [PMID: 20730863 DOI: 10.1002/ar.21230]
28 Alpízar YA, Ramírez BS, Fernández DR, Capote AR, Hidalgo GG, Rodríguez RP, Molina LE. HER1-ECD vaccination dispenses with emulsification to elicit HER1-specific anti-proliferative effects. *Hum Vaccin* 2009; 5: 158-165 [PMID: 19246985]
29 Laurell H, Bouisson M, Berthelemy P, Rochaix P, Dejean S, Besse P, Susini C, Pradayrol L, Vaysse N, Buscail L. Identification of biomarkers of human pancreatic adenocarcinomas by expression profiling and validation with gene expression analysis in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration samples. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3344-3351 [PMID: 16733850]
30 Moniaux N, Chakraborty S, Yalniz M, Gonzalez J, Shostrom VK, Standop J, Lele SM, Ouellette M, Pour PM, Sasson AR, Brand RE, Hollingsworth MA, Jain M, Batra SK. Early diagnosis of pancreatic cancer: neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2008; 98: 1540-1547 [PMID: 18392050 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604329]
31 Chan AO, Chu KM, Lam SK, Cheung KL, Law S, Kwok KF, Wong WM, Yuen MF, Wong BC. Early prediction of tumor recurrence after curative resection of gastric carcinoma by measuring soluble E-cadherin. *Cancer* 2005; 104: 740-746 [PMID: 15991243]
32 Reckamp KL, Gardner BK, Figlin RA, Elashoff D, Krysan K, Dohadwala M, Mao J, Sharma S, Inge L, Rajasekaran A, Dubinett SM. Tumor response to combination celecoxib and erlotinib therapy in non-small cell lung cancer is associated with a low baseline matrix metalloproteinase-9 and a decline in serum-soluble E-cadherin. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 117-124 [PMID: 18303430 DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181622bef]
33 Soyama A, Eguchi S, Takatsuki M, Kawashita Y, Hidaka M, Tokai H, Nagayoshi S, Mochizuki S, Matsumoto S, Hamasaki K, Tajima Y, Kanematsu T. Significance of the serum level of soluble E-cadherin in patients with HCC. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1390-1393 [PMID: 18795696]
34 Zabron AA, Horneffer-van der Sluis VM, Wadsworth CA, Laird F, Gierula M, Thillainayagam AV, Vlavianos P, Westaby D, Taylor-Robinson SD, Edwards RJ, Khan SA. Elevated levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in bile from patients with malignant pancreatobiliary disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1711-1717 [PMID: 21670771 DOI: 10.1038/ajg.2011.187]
35 Leelawat K, Narong S, Wannaprasert J, Leelawat S. Serum NGAL to Clinically Distinguish Cholangiocarcinoma from Benign Biliary Tract Diseases. *Int J Hepatol* 2011; 2011: 873548 [PMID: 21994874 DOI: 10.4061/2011/873548]
36 Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, Nicocia G, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 337-344 [PMID: 19176795 DOI: 10.2215/CJN03530708]
37 Tong Z, Kunnumakkara AB, Wang H, Matsuo Y, Diagaradjane P, Harikumar KB, Ramachandran V, Sung B, Chakraborty A, Bresalier RS, Logsdon C, Aggarwal BB, Krishnan S, Guha S. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel suppressor of invasion and angiogenesis in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 6100-6108 [PMID: 18676832 DOI: 10.1158/0008-5472]

38 Hultcrantz R, Olsson R, Danielsson A, Järnerot G, Lööf L, Ryden BO, Wahren B, Broomé U. A 3-year prospective study on serum tumor markers used for detecting cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 1999; 30: 669-673 [PMID: 10207809]
39 Leelawat K, Sakchinabut S, Narong S, Wannaprasert J. Detection of serum MMP-7 and MMP-9 in cholangiocarcinoma patients: evaluation of diagnostic accuracy. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 30 [PMID: 19405942 DOI: 10.1186/1471-230X-9-30]
40 Ker CG, Chen JS, Lee KT, Sheen PC, Wu CC. Assessment of serum and bile levels of CA19-9 and CA125 in cholangitis and bile duct carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 505-508 [PMID: 1657243]
41 Chakraborty S, Kaur S, Guha S, Batra SK. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826: 129-169 [PMID: 22513004 DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.03.008]
42 Roudkenar MH, Halabian R, Ghasemipour Z, Roushandeh AM, Rouhbakhsh M, Nekogoftar M, Kuwahara Y, Fukumoto M, Shokrgozar MA. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin acts as a protective factor against H(2)O(2) toxicity. *Arch Med Res* 2008; 39: 560-566 [PMID: 18662586 DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.05.003]
43 许文燊, 鄢盛恺. 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白–一种新的肾损伤标志物. 临床检验杂志 2011; 29: 1001-764X
44 Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels LJ, Tschesche H, van Duijn W, Zuidwijk K, van der Reijden JJ, Hanemaaijer R, Griffioen G, Lamers CB, Verspaget HW. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1869-1876 [PMID: 17604154]
45 Zhang H, Xu L, Xiao D, Xie J, Zeng H, Wang Z, Zhang X, Niu Y, Shen Z, Shen J, Wu X, Li E. Up-regulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in oesophageal squamous cell carcinoma: significant correlation with cell differentiation and tumour invasion. *J Clin Pathol* 2007; 60: 555-561 [PMID: 17412867]
46 Han H, Bearss DJ, Browne LW, Calaluce R, Nagle RB, Von Hoff DD. Identification of differentially expressed genes in pancreatic cancer cells using cDNA microarray. *Cancer Res* 2002; 62: 2890-2896 [PMID: 12019169]
47 Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Olsen M, Lowe AW, van Heek NT, Rosty C, Walter K, Sato N, Parker A, Ashfaq R, Jaffee E, Ryu B, Jones J, Eshleman JR, Yeo CJ, Cameron JL, Kern SE, Hruban RH, Brown PO, Goggins M. Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. *Am J Pathol* 2003; 162: 1151-1162 [PMID: 12651607]
48 Nuntagowat C, Leelawat K, Tohtong R. NGAL knockdown by siRNA in human cholangiocarcinoma cells suppressed invasion by reducing NGAL/MMP-9 complex formation. *Clin Exp Metastasis* 2010; 27: 295-305 [PMID: 20373132 DOI: 10.1007/s10585-010-9327-y]

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 2014年1月8日; 22(1): 140-143
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术

陈 冬, 朱 峰, 王 敏, 田 锐, 卢文亮, 秦仁义

■背景资料
胰颈部是胰腺肿瘤局部晚期最多见的部位, 同时也是手术难度最大的部位, 以往对于此部位的肿瘤大多放弃. 然而, 手术切除作为唯一有望根治胰腺癌的治疗方式, 我们有必要对这类患者引起重视并进行重新审视, 提出一些新的理念和手术方式, 以改善胰腺癌患者的整体治疗效果.

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科 湖北省武汉市 430030
陈冬, 在读博士, 主要从事胰腺胆道肿瘤方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81071775, 81272659
作者贡献分布: 课题设计由陈冬与秦仁义共同完成; 手术由秦仁义完成; 课题数据收集及统计分析由陈冬、朱峰、王敏、田锐及卢文亮完成; 论文撰写由陈冬与秦仁义完成; 课题监督由秦仁义完成.
通讯作者: 秦仁义, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院.
ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83665314
收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-10-24
接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-08

Pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Wen-liang Lu, Ren-Yi Qin

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Wen-liang Lu, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775 and 81272659
Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-09-23 Revised: 2013-10-24
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To summarize the clinical features of tumors of the neck of the pancreas and investigate the application of selective arteriovenous priority processing and total pancreatic blood occlusion in pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas.

METHODS: Clinical and pathological data for 25 patients with tumors of the neck of the pancreas who underwent pancreatoduodenectomy at our hospital from January 2011 to June 2013 were retrospectively analyzed. Selective arteriovenous priority processing and total pancreatic blood occlusion were performed depending on the patient's features.

RESULTS: This group of patients had no jaundice but suffered from back pain, and 21 of them had severe back pain. During the operation, hard pancreatic texture, dilatation of the pancreatic duct, and various degree of inflammation were visible. All the tumors invaded either arteries or veins. No morbidity was observed. The operative time was 7-8 h, and the blood loss was 600-900 mL. Among all the postoperative mortalities, there were 2 cases of gastrointestinal bleeding, 4 cases of delayed gastric emptying and 3 cases of diarrhea after, and all were treated by conservative management without reoperation. The symptoms of back pain was totally relieved in 10 cases, substantially relived in 13 and partially relieved in 2.

CONCLUSION: Tumors of the neck of the pancreas have no specific symptoms in early stages. The symptom of jaundice appears late. In the late stages of the disease, back pain occurs in all cases, with the dilation of the distal pancreatic duct, a hard texture of the pancreas and severe inflammation. The tumor boundary is not clear, and there is a tendency to involve adjacent vessels. Selective arteriovenous priority processing and total pancreatic blood occlusion can guarantee the safety of the operation and reduce the incidence of postoperative complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatoduodenectomy; Tumor of the neck of the pancreas

Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Lu WL, Qin RY. Pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 140-143
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/140.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.140

摘要

目的: 总结胰颈部肿瘤的临床特点并探讨选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法在胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术(pancreatoduodenectomy, PD)中的应用.

■同行评议者
徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

方法: 回顾性分析我院2011-01/2013-06收治的25例胰颈部肿瘤行胰十二指肠切除术的患者的临床病理资料, 针对每例患者的不同情况分别采用了选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法.

结果: 本组患者中, 25例患者均无黄疸, 但均有不同程度的腰背部疼痛, 其中21例为剧烈的腰背部疼痛, 术中可见胰腺质地硬, 胰管均扩张, 并可见不同程度的炎症表现, 肿瘤基本都累及静脉或者动脉; 25例患者均行PD, 全组无1例术中死亡, 术中出血量600-900 mL, 手术时间7-8 h, 术后消化系出血2例, 胃排空延迟4例, 腹泻3例, 均经保守治疗好转出院, 术后腰背部疼痛完全缓解10例, 明显缓解13例, 部分缓解2例.

结论: 胰颈部肿瘤早期一般无特异症状, 黄疸出现较晚, 甚至至就诊时亦未出现, 晚期均出现腰背部疼痛, 基本都伴有远端胰管扩张, 胰腺质地很硬, 炎症较重, 肿瘤边界不清, 容易累及邻近的重要血管, 手术难度大, 采用选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法能保障手术安全进行, 减少术后并发症的发生.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰颈部肿瘤; 胰十二指肠切除术

核心提示: 胰颈部肿瘤容易累及邻近的重要血管, 手术难度大, 采用选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法能保障手术安全进行, 减少术后并发症的发生.

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义. 胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 140-143 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/140.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.140

0 引言

相对于胰腺头部和体尾部而言, 胰颈部应该是肿瘤局部晚期最多见的部位, 同时也是手术难度最大的部位, 以往对于此部位的肿瘤大多放弃. 然而, 手术切除作为唯一有望根治胰腺癌的治疗方式[1], 我们有必要对这类患者引起重视并进行重新审视, 提出一些新的理念和手术方式, 以改善胰腺癌患者的整体治疗效果. 自2010-01以来, 我们已顺利完成25例胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术, 现将我们的诊治经验报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组男11例, 女14例. 年龄43-67岁, 25例患者均伴有腰背部疼痛, 其中21例为剧烈疼痛. 所有患者术前均采用多排螺旋CT薄层扫描+三维重建评估肿瘤的可切除性及肿瘤与周围血管的关系, 其中7例为门静脉(portal vein, PV)-肠系膜上静脉(superior mesenteric vein, SMV)闭塞, 但尚可安全重建, 肿瘤包绕腹腔动脉干(celiac, CA)和/或肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA)<180º; 10例为PV-SMV可疑受侵, CA/SMA包绕<180º, 其中1例肝动脉(hepatic artery, HA)完全被完全包绕, 但切除后尚可重建; 8例为CA/SMA 270º-360º包绕, 其中6例为PV-SMV可疑受侵, 2例为PV-SMV闭塞.

1.2 方法

1.2.1 选择性动静脉优先处理: 根据术前CT评估及术中探查肿瘤与周围血管的关系, 如果动静脉均被肿瘤累及, 但评估静脉较动脉容易处理, 采用选择性静脉优先处理, 即先沿SMV-PV游离胰头及钩突部, 切断其静脉回流血管, 再处理肿瘤与动脉系统; 若评估静脉较难处理, 则采用动脉优先处理, 即先离断胰头部所有的动脉血供, 最后通过预置SMV、PV、脾静脉(splenic vein, SV)三阻断带或四阻断带(附加肠系膜下静脉, inferior mesenteric vein, IMV)[2,3], 安全处理肿瘤与静脉系统.

1.2.2 全胰头血流阻断法: 先离断胰头部所有动脉血供, 即: (1)肝动脉的分支, 胃右动脉和胃十二指肠动脉; (2)脾动脉的胰腺分支; (3)SMA的分支; (4)钩突系膜小血管. 然后通过预置SMV、PV、SV三阻断带或四阻断带(附加肠系膜下静脉), 安全剥离、切除或重建SMV-PV, 从而整块切除肿瘤.

统计学处理 所有数据均用SPSS13.0软件进行统计学分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床特点 胰颈部肿瘤早期一般无特异症状, 黄疸出现较晚, 甚至至就诊时亦未出现, 晚期均出现腰背部疼痛, 全组患者胰腺质地均较硬, 肿瘤边界不清, 远端胰管扩张, 胰腺周围炎症重, 肿瘤常同时累及PV-SMV和SMA、CA和HA.

2.2 术后并发症 25例患者均行PD, 全组无1例术中死亡, 术中出血量600-900 mL, 手术时间7-8 h, 术后消化系出血2例, 胃排空延迟4例, 腹泻3例, 均经保守治疗好转出院, 术后腰背部疼痛完全缓解10例, 明显缓解13例, 部分缓解2例.

■研发前沿
目前国内外学者认为胰颈部肿瘤容易累积周围重要血管, 手术风险大, 临床治疗效果差, 属于难治性疾病.

■**创新盘点**
本文首次系统地总结了此类疾病的特点，并创新性地提出了选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法的手术方式.

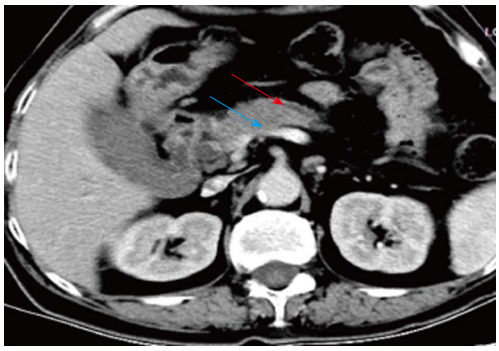


图 1 见胰颈部肿瘤累及门静脉及其与脾静脉汇合处(蓝色箭头)，红色箭头为胰管横断处.

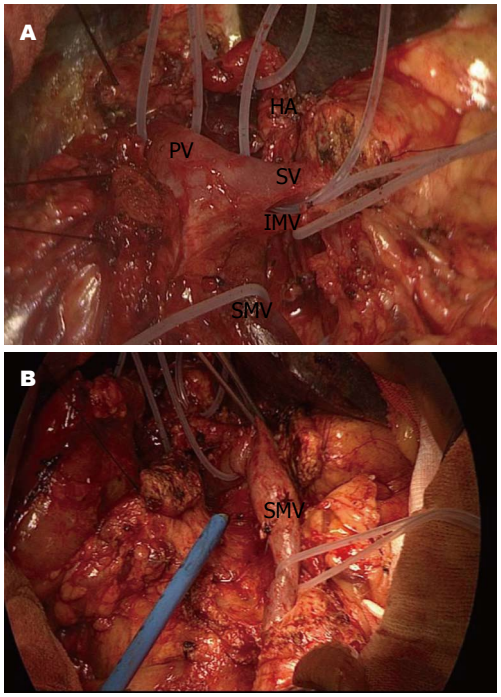


图 2 手术处理. A: 动脉优先处理，胰头全血流阻断法，胰头部动脉血供全部阻断，仅SMV与胰头及钩突相连，预置4阻断带; B: 静脉优先处理，胰头及钩突与SMV完全离断. SMV: 肠系膜上静脉; SV: 脾静脉; PV: 门静脉; IMV: 肠系膜下静脉.

3 讨论

胰颈部肿瘤位于门静脉-肠系膜上静脉-脾静脉正前方，毗邻肝动脉、腹腔动脉干、肠系膜上动脉等重要血管，但距离胆总管较远，患者早期一般无特异性的症状和体征，待出现症状就诊时肿瘤大多已累及这些重要的血管甚至伴有胰管梗阻和胰管高压以及腹膜后神经丛侵犯从而导致患者难以忍受的剧烈的腰背部疼痛. 但此部位的肿瘤手术难度极大，且绝大多数被术前评估为不能切除的病例，故以往对于此类患者基本放弃手术. 要想彻底改善此类患者的治疗状况，我们必须总结疾病的特点，重新调整术前

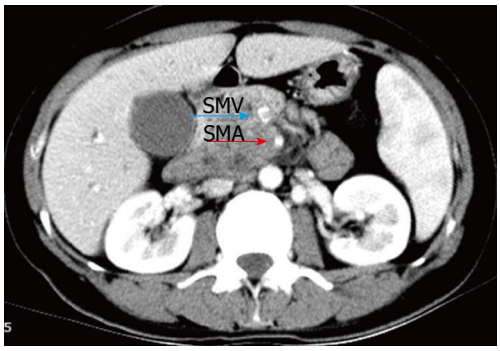


图 3 肿瘤累及SMV及SMA，动静脉系统均很难处理. SMV: 肠系膜上静脉; SMA: 肠系膜上动脉.

评估理念，提高我们的手术技巧.

美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)(2013版)指南没有明确指出胰颈部肿瘤可切除的判定标准，但此部位的肿瘤可向头部或者体部生长，故我们一般参照胰头体部肿瘤的判定标准，即可切除为: 无远处转移，腹腔动脉干和肠系膜上动脉周围有清晰的脂肪层，肠系膜上静脉-门静脉通畅; 可能切除标准为: 严重的单侧或双侧SMV/PV侵犯，肿瘤围绕腹腔动脉干<180º(胰头肿瘤为禁忌症)，围绕SMA<180º，围绕或包裹肝动脉但可以重建，SMV闭塞但仅一小段受累且可以重建. 目前国内外术前评估肿瘤是否侵犯血管的检查手段很多，但尚无金标准，多排螺旋CT薄层扫描+三维血管重建为首选及运用最多的方法[4]，但仍不能完全分辨与血管是侵蚀还是压迫或是炎性粘连[5]，亦不能认为肿瘤累及血管就是恶性[6]，尤其是对于静脉血管的判断还存在一定的缺陷. 国外文献报道，术前CT诊断为血管受侵犯的病例中经手术及术后病检证实约37%-58%的血管标本并未侵犯[7,8]，国内也有类似的文献报道[9]，且即使侵犯，只要血管内膜未受侵，联合血管切除的PD手术效果还是非常满意的[10-12]，随着外科技术的发展，手术的安全性也得到了国内外学者的认可[13-15]，因此我们在进行术前评估时不可过于保守，尤其是对于静脉受累的病例，贸然放弃手术甚至放弃手术探查是不可取的. 另外，对于某些疼痛非常剧烈的患者，虽然已失去了根治切除的机会，但只要患者态度积极，全身情况可，无远处转移及大量腹水，也可尝试姑息性PD[16]. 在本组患者中，有8例患者肠系膜上动脉根部或者腹腔干被肿瘤超过180º包绕，一般情况可，没有远处转移及大量腹水，术前腰背部剧烈疼痛，患者强烈要求手术，经R1胰十二指肠切除术后，疼

痛完全缓解3例, 明显缓解4例, 部分缓解1例, 随访6-18 mo患者均存活, 生活质量明显改善, 生存时间也明显延长, 而且患者经过SMA 360º游离, 仅3例发生术后腹泻, 胃管注入易蒙停(盐酸洛哌丁胺胶囊)后缓解.

胰颈部肿瘤患者就诊时大多已累及周围重要血管, 常常同时累及动静脉系统, 我们可根据术中探查情况决定决定优先处理动脉系统还是静脉系统, 对于SMV-PV-SV受累且评估较难处理的患者(图1), 我们可以采用选择性动脉优先处理及全胰头血流阻断法, 在横结肠系膜根部显露并悬吊SMA和SMV, 将SMA向左上方牵引, 使其与胰头及钩突部之间保持一定的张力, 沿SMA系膜至其根部离断胰腺钩突部系膜血管及SMA分支, 解剖肝十二指肠韧带, 从而离断肝动脉的分支, 胃右动脉和胃十二指肠动脉, 于肿瘤左侧胰管扩张处横断胰腺(保证切缘阴性), 可离断脾动脉的分支, 此时胰头部动脉血供全部离断(图2A), 通过预置SMV、PV、SV三阻断带或四阻断带(附加肠系膜下静脉), 安全剥离、切除或重建SMV-PV, 从而整块切除肿瘤. 如果动脉系统较难处理, 我们采用静脉优先处理(图2B). 如果动静脉均较难处理(图3), 我们则应该采用动脉优先和静脉优先相结合, 先易后难, 同时注意血流控制理念.

总之, 胰颈部肿瘤早期一般无特异症状, 黄疸出现较晚, 甚至至就诊时亦未出现, 晚期均出现腰背部疼痛, 基本都伴有远端胰管扩张, 胰腺质地很硬, 炎症较重, 肿瘤边界不清, 容易累及邻近的重要血管, 手术难度大, 采用选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法能保障手术安全进行, 减少术后并发症的发生.

4 参考文献

1 朱峰, 徐盟, 王敏, 秦仁义. 选择性动静脉优先处理在根治性胰十二指肠切除术中的应用. 中华普通外科学文献(电子版) 2012; 6: 479-483

2 秦仁义, 邹声泉, 裘法祖. 肠系膜上血管或门静脉受压性胰头部恶性肿瘤根治性胰十二指肠切除术的技巧. 中华外科杂志 2008; 46: 366-369

3 秦仁义, 曹鑫彦, 朱峰, 王欣. 胰腺钩突部根治性完整切除的新方法(附306例报告). 中华外科杂志 2010; 48: 1379-1382

4 彭承宏, 金佳斌, 邓侠兴. 联合血管切除的胰头部肿瘤手术合理应用及评价. 中华实用外科杂志 2009; 29: 647-648

5 胡先贵, 邵成浩, 张怡杰, 刘瑞, 周颖奇, 金钢, 唐岩. 联合血管切除的胰十二指肠切除术61例临床分析. 中华肝胆外科杂志 2006; 2: 177-179

6 Leach SD, Lee JE, Charnsangavej C, Cleary KR, Lowy AM, Fenoglio CJ, Pisters PW, Evans DB. Survival following pancreaticoduodenectomy with resection of the superior mesenteric-portal vein confluence for adenocarcinoma of the pancreatic head. *Br J Surg* 1998; 85: 611-617 [PMID: 9635805]

7 Aramaki M, Matsumoto T, Etoh T, Ishio T, Himeno Y, Sasaki A, Yada K, Kawano K, Kitano S. Clinical significance of combined pancreas and portal vein resection in surgery for pancreatic adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 263-266 [PMID: 12630036]

8 Fuhrman GM, Leach SD, Staley CA, Cusack JC, Charnsangavej C, Cleary KR, El-Naggar AK, Fenoglio CJ, Lee JE, Evans DB. Rationale for en bloc vein resection in the treatment of pancreatic adenocarcinoma adherent to the superior mesenteric-portal vein confluence. Pancreatic Tumor Study Group. *Ann Surg* 1996; 223: 154-162 [PMID: 8597509]

9 彭承宏, 程东峰, 周光文, 陶宗元, 陈泉宁, 林晓珠, 扬卫平, 李宏为. 累及肠系膜上静脉的胰腺钩突肿瘤的临床分级及其意义. 中华外科杂志 2006; 44: 317-320

10 郑英键. 带血管切除重建的胰十二指肠切除术治疗胰头癌. 中国普通外科杂志 2005; 11: 721-723

11 Raut CP, Tseng JF, Sun CC, Wang H, Wolff RA, Crane CH, Hwang R, Vauthey JN, Abdalla EK, Lee JE, Pisters PW, Evans DB. Impact of resection status on pattern of failure and survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg* 2007; 246: 52-60 [PMID: 17592291 DOI: 10.1097/01.sla.0000259391.84304.2b]

12 Tseng JF, Raut CP, Lee JE, Pisters PW, Vauthey JN, Abdalla EK, Gomez HF, Sun CC, Crane CH, Wolff RA, Evans DB. Pancreaticoduodenectomy with vascular resection: margin status and survival duration. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 935-949; discussion 949-950 [PMID: 15585381 DOI: 10.1016/j.gassur.2004.09.046]

13 Bachellier P, Nakano H, Oussoultzoglou PD, Weber JC, Boudjema K, Wolf PD, Jaeck D. Is pancreaticoduodenectomy with mesentericoportal venous resection safe and worthwhile? *Am J Surg* 2001; 182: 120-129 [PMID: 11574081 DOI: 10.1016/S0002-9610(01)00686-9]

14 Kawada M, Kondo S, Okushiba S, Morikawa T, Katoh H. Reevaluation of the indications for radical pancreatectomy to treat pancreatic carcinoma: is portal vein infiltration a contraindication? *Surg Today* 2002; 32: 598-601 [PMID: 12111516 DOI: 10.1007/s005950200108]

15 Tuech JJ, Pessaux P, Arnaud JP. Portal vein resection in pancreatic head carcinoma. Part 2: Clinical significance. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 888-891 [PMID: 11462949]

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

■同行评价

本文立题新颖, 具有很高临床价值.

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 2014年1月8日; 22(1): 144-148
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

黄术灌肠液对肠易激综合征患者TNF-α表达的影响

庄李磊, 胡团敏, 黄思付, 黄更新

■背景资料
肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS)是临床上最常见的胃肠功能紊乱性疾病之一, 其发病率高, 目前治疗IBS的药物有限, 且以对症治疗为主, 效果不佳. 近些年来肠道持续性低度炎症与IBS的发生发展关系密切.

庄李磊, 南昌大学医学院 江西省南昌市 330000
胡团敏, 黄思付, 黄更新, 中国人民解放军第180医院消化内科 福建省泉州市 362000
庄李磊, 南昌大学医学院在读消化内科硕士, 主要从事胃肠动力障碍性疾病的研究
南京军区"十一五"医药卫生科研基金资助项目, No. 09MA075
作者贡献分布: 本课题由庄李磊与胡团敏设计; 研究过程由庄李磊、胡团敏、黄思付及黄更新共同操作完成; 数据分析和论文写作由庄李磊与胡团敏完成.
通讯作者: 胡团敏, 主任医师, 硕士生导师, 362000, 福建省泉州市北门外清源山下, 中国人民解放军第180医院.
yihu180@163.com
电话: 0595-28919151
收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-10-25
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Effects of Huangshu enema on serum levels of TNF-α in patients with irritable bowel syndrome

Li-Lei Zhuang, Tuan-Min Hu, Si-Fu Huang, Geng-Xin Huang

Li-Lei Zhuang, Nanchang University School of Medicine, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China
Tuan-Min Hu, Si-Fu Huang, Geng-Xin Huang, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China
Supported by: the "Eleven Five" Nanjing Military Medical Scientific Research Fund, No. 09MA075
Correspondence to: Tuan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Beimenwai Qingquanshan, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@163.com
Received: 2013-10-10 Revised: 2013-10-25
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To investigate the effects of Chinese medicine Huangshu enema (HSE) on the level of tumor necrosis factor-α (TNF-α) in serum of patients with irritable bowel syndrome (IBS) and to explore the underlying mechanism.

METHODS: Sixty IBS patients were randomly divided into an observation group and a control group. The observation group was given Huangshu enema for 10 d, and the control group was given pinaverium bromide tablets for 10 d. The observation group included 18 patients with IBS-D (IBS with diarrhea), 12 patients with IBS-C (IBS with constipation), while the control group included 17 patients with IBS-D and 13 patients with IBS-C. Serum levels of TNF-α and symptom score were measured before and after treatment.

RESULTS: For patients with IBS-D, diarrhea score, abdominal pain score, abdominal distention score, total symptom score and serum level of TNF-α after treatment were significantly lower than those before treatment in the observation group (1.44 ± 0.70 *vs* 2.17 ± 0.79; 1.00 ± 0.77 *vs* 2.22 ± 0.55; 0.73 ± 0.67 *vs* 1.22 ± 0.72; 3.12 ± 1.34 *vs* 5.61 ± 1.42; 42.73 ± 11. 45 *vs* 53.06 ± 6.49, all $P < 0.05$); abdominal pain score after treatment was lower than that before treatment in the control group (1.53 ± 0.62 *vs* 2.24 ± 0.56, $P < 0.05$), but the diarrhea score, abdominal distension score, total symptom score and serum level of TNF-α did not differ significantly between before and after treatment (2.17 ± 0.73 *vs* 2.24 ± 0.75; 1.35 ± 0.49 *vs* 1.29 ± 0.69; 5.00 ± 1.71 *vs* 5.76 ± 1.30; 44.34 ± 10.25 *vs* 50.00 ± 6.75, all $P > 0.05$). For patients with IBS-C, constipation score, abdominal pain score, abdominal distention score and total symptom score after treatment were significantly lower than those before treatment in the observation group (1.42 ± 0.52 *vs* 2.08 ± 0.79; 1.17 ± 0.71 *vs* 2.17 ± 0.58; 0.72 ± 0.52 *vs* 1.17 ± 0.50; 1.08 ± 1.00 *vs* 5.42 ± 3.08, all $P < 0.05$), but serum level of TNF-α showed no significant difference between after and before treatment (23.89 ± 5.92 *vs* 23.94 ± 4.62, $P > 0.05$); abdominal pain score after treatment was lower than that before treatment in the control group (1.46 ± 0.66 *vs* 2.23 ± 0.60, $P < 0.05$), but the constipation score, abdominal distension score, total symptom score and the level of TNF-α showed no significant differences between after and before treatment (2.08 ± 0.76 *vs* 2.15 ± 0.80; 1.30 ± 0.48 *vs* 1.23 ± 0.73; 4.77 ± 1.09 *vs* 5.62 ± 1.26; 22.87 ± 1.64 *vs* 23.53 ± 4.53, all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Huangshu enema can effectively improve the symptoms of IBS, which is

■同行评议者
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

possibly associated with changing serum levels of TNF-α.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Huangshu enema; Irritable bowel syndrome; Tumor necrosis factor-α

Zhuang LL, Hu TM, Huang SF, Huang GX. Effects of Huangshu enema on serum levels of TNF-α in patients with irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 144-148 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/144.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.144

摘要

目的: 探讨中药自组方剂黄术灌肠液对肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS)患者血清肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)表达的影响及其治疗IBS的可能机制.

方法: 将60名IBS患者随机分为观察组和对照组, 观察组运用黄术灌肠液灌肠治疗10 d, 对照组给予匹维溴铵(得舒特)治疗10 d, 其中观察组腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS-D)18例, 便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)12例, 对照组中IBS-D 17例, IBS-C 13例, 并记录治疗前后TNF-α浓度水平及症状积分.

结果: (1)对于IBS-D患者, 观察组治疗后腹泻积分、腹痛积分、腹胀积分及总积分、TNF-α水平明显低于治疗前 (1.44±0.70 *vs* 2.17±0.79; 1.00±0.77 *vs* 2.22±0.55; 0.73±0.67 *vs* 1.22±0.72; 3.12±1.34 *vs* 5.61±1.42; 42.73±11.45 *vs* 53.06±6.49, 均$P<0.05$), 对照组治疗后的腹痛积分低于治疗前(1.53±0.62 *vs* 2.24±0.56, $P<0.05$), 但腹泻积分、腹胀积分及总积分、TNF-α水平与治疗前无明显差异(2.17±0.73 *vs* 2.24±0.75; 1.35±0.49 *vs* 1.29±0.69; 5.00±1.71 *vs* 5.76±1.30; 44.34±10.25 *vs* 50.00±6.75, 均$P<0.05$). (2)对于IBS-C患者, 观察组治疗后便秘、腹痛、腹胀积分及总积分明显低于治疗前(1.42±0.52 *vs* 2.08±0.79; 1.17±0.71 *vs* 2.17±0.58; 0.72±0.52 *vs* 1.17±0.50; 1.08±1.00 *vs* 5.42±3.08, 均$P<0.05$), 但TNF-α水平与治疗前无明显差异(23.89 pg/mL±5.92 pg/mL *vs* 23.94 pg/mL±4.62 pg/mL, $P<0.05$), 对照组治疗后腹痛积分低于治疗前积分(1.46±0.66 *vs* 2.23±0.60, $P<0.05$), 而治疗后的便秘积分、腹胀积分及总积分、TNF-α水平与治疗前无明显差异(2.08±0.76 *vs* 2.15±0.80; 1.30±0.48 *vs* 1.23±0.73; 4.77±1.09 *vs* 5.62±1.26; 22.87 pg/mL±1.64 pg/mL *vs* 23.53 pg/mL±4.53 pg/mL, 均$P<0.05$).

结论: 黄术灌肠液能有效改善肠易激综合征的症状, 并与血清TNF-α浓度水平调节有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 黄术灌肠液; 肠易激综合征; 肿瘤坏死因子-α

核心提示: 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α)通过激活核因子-κB, 进而诱导产物白介素-8趋化因子导致中性粒细胞及淋巴细胞向炎症部位聚集, 导致肠壁渗出增多, 引起腹泻的发生.

庄李磊, 胡团敏, 黄思付, 黄更新. 黄术灌肠液对肠易激综合征患者TNF-α表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 144-148 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/144.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.144

■研发前沿
越来越多的观点认为IBS的发病与肠道黏膜低度炎症、免疫因素密切相关, 肠道持续性低度炎症、免疫因素与IBS发病之间的联系是近年来研究的热点. 肠道持续性低度炎症及免疫激活导致IBS发病的发生机制尚待进一步研究.

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以慢性或反复发作的腹痛伴排便习惯改变为特征的功能性肠病, 并缺乏形态学和生化标志的异常[1], IBS是消化系统常见病、多发病, 全球IBS总患病率在5%-25%之间[2], 大部分亚洲国家的发病率在5%-10%[3], 我国北京地区的发病率约7.62%[4]. IBS的发病机制复杂, 近年来肠黏膜低度炎症及免疫机制是国内外研究的热点. Papadakis等[5]研究发现低浓度的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)在肠黏膜内通过自分泌或旁分泌方式诱发肠黏膜炎症反应, 导致肠系膜血管通透性增强, 渗出增多, 刺激肠壁导致腹痛腹泻的发生. 本实验主要通过观察黄术灌肠液治疗IBS患者前后临床症状及血清TNF-α水平的变化水平, 探讨黄术灌肠液对IBS患者血清TNF-α水平表达的影响及其治疗IBS的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2012-06/2013-06就诊中国人民解放军第180医院消化科门诊及病房的60例患者作为研究对象, 所有患者肠镜检查、生化、大便常规和潜血检查结果均为阴性, 按IBS

■相关报道
霍涛、胡团敏等通过对腹泻型肠易激综合征大鼠回盲部肥大细胞数量以及血清和回盲部肠组织匀浆P物质含量的研究发现肠道激活状态的肥大细胞可能在IBS中所表现的以动力改变、感觉异常为特征的内脏高敏感性病理生理过程中起到关键性作用.

表 1 黄术灌肠液对IBS-D患者症状积分、TNF-α的影响 (n = 18)

时间	腹泻	腹痛	腹胀	总积分	TNF-α(pg/mL)
治疗前	2.17 ± 0.79	2.22 ± 0.55	1.22 ± 0.72	5.61 ± 1.42	53.06 ± 6.49
治疗后	1.44 ± 0.70[b]	1.00 ± 0.77[b]	0.73 ± 0.67[a]	3.12 ± 1.34[b]	42.73 ± 11.45[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 同组治疗前. IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

表 2 黄术灌肠液对IBS-C患者症状积分、TNF-α的影响 (n = 12)

时间	便秘	腹痛	腹胀	总积分	TNF-α(pg/mL)
治疗前	2.08 ± 0.79	2.17 ± 0.58	1.17 ± 0.50	5.42 ± 3.08	23.94 ± 4.62
治疗后	1.42 ± 0.52[b]	1.17 ± 0.71[b]	0.72 ± 0.52[a]	1.08 ± 1.00[b]	23.89 ± 5.92

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 同组治疗前. IBS-C: 便秘型肠易激综合征; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

表 3 匹维溴铵对IBS-D患者症状积分、TNF-α的影响 (n = 17)

时间	腹泻	腹痛	腹胀	总积分	TNF-α(pg/mL)
治疗前	2.24 ± 0.75	2.24 ± 0.56	1.29 ± 0.69	5.76 ± 1.30	50.00 ± 6.75
治疗后	2.17 ± 0.73	1.53 ± 0.62[b]	1.35 ± 0.49	5.00 ± 1.71	44.34 ± 10.25

[b]P<0.01 *vs* 同组治疗前. IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

罗马III标准[6]诊断为IBS, 且近期无感染史, 无服用药物治疗史, 其中男26例, 女34例, 年龄在18-65岁, 平均年龄35.75岁, 腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS-D)患者35例, 便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)患者25例. 入组前均签署知情同意书.自组方剂黄术灌肠液250 mL(大黄、黄芪、黄芩、黄连、白术各15 g, 加水煎制成500 mL). 匹维溴铵(得舒特, 法国苏威制药(批号: H20040759). 人TNF-α定量酶联检测试剂(批号: 01C01)购自上海森雄科技实业有限公司.

1.2 方法 将60例IBS患者随机分为对照组与观察组, 其中对照组中IBS-D组17例, IBS-C组13例, 观察组中IBS-D组18例、IBS-C组12例. 所有患者均在一般治疗(包括心理治疗、改善生活习惯、调节饮食结构等)基础上进行, 对照组均给予匹维溴铵治疗10 d, 观察组给予黄术灌肠液250 mL)连续灌肠10 d, 分别抽取2组治疗前后的血液2 mL, 分离血清, 转入-80℃冰箱保存, 采用ELISA法检测血清TNF-α浓度, 操作严格按照试剂盒说明进行. 症状疗效评价标准: 参照中华中医药学会脾胃病专业委员会制定的分级标准[7]: (1)腹痛和腹胀程度评分: 无症状为0分; 经提示后方觉有症状为轻度 = 1分; 不经提示即有症状为中度 = 2分; 患者主诉为主要症状为重度 = 3分; (2)腹泻的频率评分: 无症状为0分; <3次/d为轻度 = 1分; 3-5次/d为中度 = 2分; 6次/d为重度 = 3分. (3)便秘的频率评分: 排便正常为0分; 排便≥3次/wk为轻度 = 1分; 排便1-2次/wk为中度 = 2分; 排便<1次/wk为重度 = 3分.

统计学处理 计量资料数据均以mean±SD表示, 采用SPSS13.0统计软件包进行统计学处理, 软件包进行统计学处理, 组间比较采用配对t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 黄术灌肠液对IBS-D的症状积分及血清TNF-α浓度的影响 观察组中的IBS-D患者通过黄术灌肠液治疗后其症状积分和TNF-α水平明显较治疗前下降, 差异有统计学意义(P<0.05, 表1).

2.2 黄术灌肠液对IBS-C的症状积分及血清TNF-α浓度的影响 观察组中的IBS-C患者通过黄术灌肠液治疗后其症状积分较治疗前明显下降, 差异有统计学意义(P<0.05), 但TNF-α水平无

表 4 匹维溴铵对IBS-C患者症状积分、TNF-α的影响 ($\bar{x}$ ± s, n = 13)

时间	便秘	腹痛	腹胀	总积分	TNF-α(pg/mL)
治疗前	2.15 ± 0.80	2.23 ± 0.60	1.23 ± 0.73	5.62 ± 1.26	23.53 ± 4.53
治疗后	2.08 ± 0.76	1.46 ± 0.66[a]	1.30 ± 0.48	4.77 ± 1.09	22.87 ± 1.64

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前. IBS-C: 便秘型肠易激综合征; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

明显下降, 差异无统计学意义(P>0.05, 表2).

2.3 匹维溴铵对IBS-D患者症状积分、TNF-α的影响 对照组中的IBS-D患者通过匹维溴铵治疗后其腹痛的症状积分较前明显下降, 差异有统计学意义(P<0.05). 但腹胀、腹泻积分及TNF-α水平无明显下降, 差异无统计学意义(P>0.05, 表3).

2.4 匹维溴铵对IBS-C患者症状积分、TNF-α的影响 对照组中的IBS-C患者通过匹维溴铵治疗后其腹痛的症状积分较前明显下降, 差异有统计学意义(P<0.05). 但腹胀、便秘积分及TNF-α水平无明显下降, 差异无统计学意义(P>0.05)(表4).

3 讨论

IBS发病机制复杂, 近些年来多项研究表明IBS-D患者促炎因子(TNF-α、IL-1、IL-6)水平增加及抑炎因子(IL-10、IL-1RA)水平减少, 导致炎症的持续发展, 提示炎症因子在IBS致病过程中起了重要作用[8-10]. 1975年Carswell等[11]发现接种卡介苗的小鼠注射细菌脂多糖后, 血清中出现一种能使多种肿瘤发生出血性坏死的物质, 将其命名为肿瘤坏死因子TNF. TNF按其结构分两型: TNF-α和TNF-β, 其中由活化的巨噬细胞、单核细胞和T细胞产生的能使肿瘤坏死的因子称为TNF-α, 他是宿主抗革兰氏阴性菌感染免疫的主要介质之一. 本实验研究表明, IBS-D患者血清中的TNF-α的浓度明显高于IBS-C患者血清中的TNF-α浓度, 因此我们认为TNF-α可能参与了IBS-D的发病过程, TNF-α通过激活核因子(nuclear factor κB, NF-κB), 进而诱导产物IL-8趋化因子导致中性粒细胞及淋巴细胞向炎症部位聚集[12], 而中性粒细胞及淋巴细胞释放的炎症因子(TNF-α、IL-1)又是NF-κB的激活剂, 导致局部炎症的持续存在, 导致肠黏膜屏障功能的损害, 渗出增多, 刺激肠黏膜引起腹泻的发生[13]. 研究同时表明TNF-α还可激活并动员未成熟的树突状细胞进入局部淋巴结, 启动病理性的T辅助细胞(Th1)免疫反应[5], 李延青等[14]研究发现IBS-D患者肠黏膜内存在Th1/Th2漂移, Th1反应增强, 便秘型患者Th1/Th2仍趋于平衡状态. 多项研究同时证实IBS患者外周血和结肠组织存在T淋巴细胞的激活, 从而使免疫调节发生异常[15-17], 以上研究表明TNF-α可能通过激活免疫反应参与IBS-D的发生.

目前治疗IBS的药物有限[18-20], 且以对症治疗为主, 效果不佳, 采用中药灌肠治疗IBS具有其独特优势, 避免了药物的肝脏首过效应, 且性质温和, 直达病灶部位, 通过调节肠道微环境改善IBS症状. 我们所采用的"黄术灌肠液"是一自组中药方剂, 主要由大黄、黄芩、黄连、黄芪、白术组成, 该方剂配伍合理, 已获国家发明专利. 研究表明该组方具有调节肠管舒缩功能、改善肠道局部的血液循环及调节肠道功能紊乱等作用[21]. 我们前期动物实验研究发现[22], 黄术灌肠液可减少促炎因子IL-1β表达, 并上调抗炎因子IL-10, 从而纠正抗炎/促炎因子失衡; 并且能够显著降低IBS-D大鼠结肠黏膜肥大细胞的脱颗粒作用[23], 从而治疗IBS-D, 本实验的研究发现, IBS-D患者通过黄术灌肠液治疗后, TNF-α水平明显下降, 而症状积分也明显下降, 因此认为黄术灌肠液治疗IBS-D的部分机制可能是抑制了TNF-α的表达, 从而减轻局部的炎症免疫反应, 达到治疗作用; 而IBS-C患者通过黄术灌肠液治疗后, TNF-α水平虽无明显下降, 但症状积分明显下降. 因此我们推测黄术灌肠液治疗IBS-C可能存在其他作用机制, 需要进一步探讨.

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007, 长沙). 中华消化杂志 2008; 28: 38-41

2 何宛蓉, 张法灿, 梁列. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 83-87

3 Chang FY, Lu CL. Irritable bowel syndrome in the 21stcentury: perspectives from Asia or South-east Asia. *Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 4-12

4 潘国宗, 鲁素彩, 柯美云, 韩少梅,郭慧平,方秀才. 北

■**创新盘点**

中药灌肠近年来成为治疗IBS的一条新的途径, 本文运用自组方剂"黄术灌肠液"灌肠治疗IBS, 实验结果较基础研究更为可靠, 同时阐明中药黄术灌肠液对IBS患者TNF-α表达的影响, 推测黄术灌肠液治疗IBS的可能机制.

■同行评价
本文黄术灌肠液治疗IBS尤其腹泻型IBS有一定效果，且探讨了机制，其结果对IBS临床防治有一定参考意义.

京地区肠易激综合征的流行病学研究: 一个整群、分层、随机的调查. 中华流行病学杂志 2002; 21: 26-29
5 Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology* 2000; 119: 1148-1157 [PMID: 11040201]
6 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479 [PMID: 16678560]
7 赵荣莱. 中医药治疗肠易激综合征探讨. 北京中医 2000; 19: 9-10
8 Rana SV, Sharma S, Sinha SK, Parsad KK, Malik A, Singh K. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine response in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome patients. *Trop Gastroenterol* 2012; 33: 251-256 [PMID: 23923350]
9 Schmulson M, Pulido-London D, Rodriguez O, Morales-Rochlin N, Martinez-García R, Gutierrez-Ruiz MC, López-Alvarenga JC, Robles-Díaz G, Gutiérrez-Reyes G. Lower serum IL-10 is an independent predictor of IBS among volunteers in Mexico. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 747-753 [PMID: 22270083]
10 Mozaffari S, Esmaily H, Rahimi R, Baeeri M, Sanei Y, Asadi-Shahmirzadi A, Salehi-Surmaghi MH, Abdollahi M. Effects of Hypericum perforatum extract on rat irritable bowel syndrome. *Pharmacogn Mag* 2011; 7: 213-223 [PMID: 21969792 DOI: 10.4103/0973-1296]
11 Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72: 3666-3670 [PMID: 1103152]
12 Lampinen M, Carlson M, Sangfelt P, Taha Y, Thörn M, Lööf L, Raab Y, Venge P. IL-5 and TNF-alpha participate in recruitment of eosinophils to intestinal mucosa in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2004-2009 [PMID: 11575456]
13 张茹, 王福贤. 肠易激综合征患者IL-8和TNF-α含量变化的意义. 临床消化病杂志 2004; 16: 167-168
14 李延青, 张海燕, 左秀丽, 袁海鹏, 卢雪峰, 李君曼. 肠易激综合征患者肠黏膜Th1/Th2漂移的研究. 中华消化杂志 2004; 12: 728-731
15 Ohman L, Isaksson S, Lindmark AC, Posserud I, Stotzer PO, Strid H, Sjövall H, Simrén M. T-cell activation in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1205-1212 [PMID: 19367268 DOI: 10.1038/ajg.2009.116]
16 Gwee KA, Collins SM, Read NW, Rajnakova A, Deng Y, Graham JC, McKendrick MW, Moochhala SM. Increased rectal mucosal expression of interleukin 1beta in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. *Gut* 2003; 52: 523-526 [PMID: 12631663 DOI: 10.1136/gut.52.4.523]
17 Khan WI, Collins SM. Gut motor function: immunological control in enteric infection and inflammation. *Clin Exp Immunol* 2006; 143: 389-397 [PMID: 16487236 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02979.x]
18 Bueno L, Fioramonti J, Delvaux M, Frexinos J. Mediators and pharmacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations. *Gastroenterology* 1997; 112: 1714-1743 [PMID: 9136853]
19 Klooker TK, Braak B, Koopman KE, Welting O, Wouters MM, van der Heide S, Schemann M, Bischoff SC, van den Wijngaard RM, Boeckxstaens GE. The mast cell stabiliser ketotifen decreases visceral hypersensitivity and improves intestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 2010; 59: 1213-1221 [PMID: 20650926]
20 Hu XG, Xu D, Zhao Y, Yang XB, Meng J, Shen H, Guo J. The alleviating pain effect of aqueous extract from tong-xie-yao-fang, on experimental visceral hypersensitivity and its mechanism. *Biol Pharm Bull* 2009; 32: 1075-1079 [PMID: 19483318]
21 胡团敏, 黄永德, 张丽婷. 结肠易激综合征128例中药灌肠治疗探讨. 中国现代医生 2008; 46: 29-30
22 胡俊, 胡团敏, 何文钦, 黄永德. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠IL-1β、IL-10表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2188-2191
23 霍涛, 胡团敏, 黄思付. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠肥大细胞与P物质的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 219-223

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 149-152
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

奥沙利铂联合氟尿密啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效

姚彪, 徐 润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬

姚彪, 徐润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬, 贵州省铜仁市第一人民医院肿瘤科 贵州省铜仁市 554300
姚彪, 副主任医师, 主要从事肿瘤临床方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由于姚彪设计; 研究过程由姚彪与徐润完成; 数据分析由魏万高、商妮娅及杨丽芬完成; 写作由于姚彪、徐润、魏万高、商妮娅及杨丽芬共同完成.
通讯作者: 姚彪, 副主任医师, 554300, 贵州省铜仁市解放路87号, 贵州省铜仁市第一人民医院肿瘤科. 4962482@qq.com
收稿日期: 2013-11-20 修回日期: 2013-11-28
接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-08

Qxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate for metastatic colorectal cancer

Biao Yao, Run Xu, Wan-Gao Wei, Ni-Ya Shang, Li-Fen Yang

Biao Yao, Run Xu, Wan-Gao Wei, Ni-Ya Shang, Li-Fen Yang, Department of Oncology, the First People's Hospital of Tongren, Tongren 554300, Guizhou Province, China
Correspondence to: Biao Yao, Associate Chief Physician, Department of Oncology, the First People's Hospital of Tongren, 87 Jiefang Road, Tongren 554300, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com
Received: 2013-11-20 Revised: 2013-11-28
Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To explore the effects of oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate in the treatment of metastatic colorectal cancer.

METHODS: Ninety-six patients with metastatic colorectal cancer were randomly divided into two groups. All patients were treated by oxaliplatin plus fluorouracil. On the basis of this treatment, the experiment group was treated with calcium levofolinate, and the control group was treated with calcium folinate. The clinical effects and adverse reactions were compared, and the influencing factors were analyzed.

RESULTS: The effective rate in the treatment group was higher than that in the control group, but the difference was not statistically significant (29.17% *vs* 20.83%, $P > 0.05$). The incidence of adverse reactions in the two groups also had no significant difference ($P > 0.05$). Although the total effective rate did not differ significantly between the rectal cancer group and the colonic cancer group (31.11% *vs* 19.61%, $P > 0.05$) and between the liver, lung and other groups ($P > 0.05$), a significant difference was noted between the initial treatment group and retreatment group (43.59% *vs* 12.28%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The efficacy of oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate in metastatic colorectal cancer was similar to that of oxaliplatin plus fluorouracil and calcium levofolinate. The efficacy was more significant in patients without previous chemotherapy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oxaliplatin; Fluorouracil; Calcium folinate; Calcium levofolinate; Metastatic colorectal cancer

Yao B, Xu R, Wei WG, Shang NY, Yang LF. Qxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate for metastatic colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 149-152
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/149.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.149

摘要

目的: 探讨奥沙利铂联合氟尿密啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效.

方法: 按照数字随机分组法将我院收治的96例晚期转移性大肠癌患者均分为实验组和对照组, 两组患者均给予奥沙利铂联合氟尿密啶治疗, 实验组患者在此基础上加用左亚叶酸钙治疗, 对照组在此基础上加用亚叶酸钙治疗, 比较两组患者临床疗效及不良反应发生情况, 并分析临床疗效的影响因素.

结果: 实验组治疗有效率和总有效率高于对照组, 但两组比较(29.17% *vs* 20.83%)差异无统计学意义(P>0.05); 两组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 直肠

■背景资料
氟尿嘧啶联合亚叶酸钙治疗晚期大肠癌是临床较为常用的治疗组合. 亚叶酸钙并不具有灭杀肿瘤的能力, 也无明显不良反应, 其与氟尿嘧啶联合应用能够有效提高氟尿嘧啶的临床疗效. 左亚叶酸钙为亚叶酸钙的左旋体, 也是亚叶酸钙发挥功效主要成分.

■同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

■研发前沿
临床上对亚叶酸钙的使用剂量存在较大争议，亚叶酸钙低剂量与高剂量的对照研究表明，两种剂量临床疗效无明显差异，但剂量过低时疗效不能够保证，剂量过高时不良反应发生率有所增加.

组与结肠组患者治疗总有效率比较(31.11% *vs* 19.61%)，差异无统计学意义(P>0.05)；肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较，差异无统计学意义(P>0.05)；初治组与复治组治疗总有效率比较(43.59% *vs* 12.28%)，差异具有显著性(P<0.05).

结论：奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌临床疗效均显著，不良反应发生情况相似，患者既往是否接受化疗对临床疗效影响较大.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：奥沙利铂；氟尿密啶；亚叶酸钙；左亚叶酸钙；转移性大肠癌

核心提示：左亚叶酸钙组与亚叶酸钙组临床疗效、不良反应发生率比较，差异无统计学意义，表明两药临床疗效相似. 直肠组与结肠组患者治疗总有效率比较，差异无统计学意义；肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较，差异无统计学意义；初治组与复治组治疗总有效率比较差异具有显著性. 表明原发部位和转移部位均不会影响治疗效果，而既往是否接受化疗对临床疗效影响较大.

姚彪，徐润，魏万高，商妮娅，杨丽芬. 奥沙利铂联合氟尿密啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 149-152 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/149.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.149

0 引言

大肠癌包括结肠癌和直肠癌，临床发病率和死亡率较高，且随着人们生活方式的改变以及生活水平的提高发病率呈现逐年增高的趋势[1]. 氟尿嘧啶联合亚叶酸钙治疗晚期大肠癌是临床较为常用的治疗组合. 亚叶酸钙并不具有灭杀肿瘤的能力，也无明显不良反应，其与氟尿嘧啶联合应用能够有效提高氟尿嘧啶的临床疗效. 左亚叶酸钙为亚叶酸钙的左旋体，也是亚叶酸钙发挥功效的主要成分. 现对奥沙利铂联合氟尿密啶以及亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效进行比较分析，探讨最佳用药组合报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-08/2013-08我院收治的晚期转移性大肠癌患者96例作为研究对象. 所有患者均经常规实验室检查、病理学检查及CT或MRI检查结合临床症状和体征确诊[2]，患者病灶直径>1 cm，白细胞(white blood cell, WBC)计数≥4.0×10^9/L，中性粒细胞绝对计数(absolute neutrophil count, ANC)≥1.5×10^9/L，血小板计数(blood platelet count, BPC)≥80×10^9/L，血清胆红素和肌酐均低于1.5倍正常值高限，体力状况ECOG评分<2分，预计生存期均超过3 mo[3]. 排除治疗前4 wk内使用其他抗肿瘤药物治疗、有其他恶性肿瘤病史、重要脏器功能障碍以及化疗禁忌症患者. 按照数字随机分组法将96例患者均分为实验组和对照组，两组患者在性别、年龄、病程等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1)，具有可比性.

1.2 方法 两组患者均于治疗第1天给予奥沙利铂200 mg+葡萄糖溶液250 mg静脉滴注，同时连续5 d给予氟尿嘧啶300 mg/m^2+生理盐水500 mL静脉滴注治疗. 实验组在此基础上给予连续5 d左亚叶酸钙100 mg/m^2+生理盐水250 mL静脉滴注治疗[4]；对照组在此基础上给予连续5 d亚叶酸钙100 mg/m^2+生理盐水250 mL静脉滴注治疗. 每3 wk重复1个疗程，2个疗程后评价临床疗效，对治疗有效、一般及无效患者视情况延长治疗1个疗程. 观察指标：所有患者2个疗程后进行常规影像学检查作为疗效评价依据，4 wk后复查确认疗效评价. 比较两组患者临床疗效和不良反应发生情况，并对影响临床疗效的相关因素进行比较分析[5]. 疗效评价标准：显效：肿瘤完全消失，维持4 wk以上；有效：肿瘤两径乘积减少50%以上，维持4 wk以上；一般：肿瘤体积无明显改变或两径乘积减少低于50%或增大低于25%，未出现新病灶；无效：肿瘤两径乘积增大超过25%或出现新病灶[6]. 总有效率 = (显效+有效)/总病例数.

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理，计量资料采用mean±SD表示，差异性比较使用t检验，记数资料比较使用χ^2检验，P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 实验组治疗有效率和总有效率高于对照组，但两组比较差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

2.2 两组患者不良反应发生情况比较 两组患者均发生不同程度食欲减退、恶心、呕吐、腹泻、腹痛、口腔黏膜炎、手指脚趾麻木、脱

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 48)

分组	性别		平均年龄(岁)	病理诊断		原发部位		转移部位			
	男	女		腺癌	其他	直肠	结肠	肝脏	肺	肝脏、肺	其他
实验组	33	15	50.73 ± 9.22	46	2	22	26	26	13	4	5
对照组	32	16	51.18 ± 8.89	46	2	23	25	27	14	4	3

表 2 两组患者临床疗效比较 [n = 48, n(%)]

分组	显效	有效	一般	无效	总有效率(%)
实验组	0(0.00)	14(29.17)	26(54.17)	8(16.67)	29.17
对照组	0(0.00)	10(20.83)	25(52.08)	13(27.08)	20.83

表 3 两组患者不良反应发生情况比较 n(%)

不良反应	实验组	对照组
食欲减退	24(50.00)	28(58.33)
恶心、呕吐	22(45.83)	24(50.00)
腹泻、腹痛	7(14.58)	6(12.50)
口腔黏膜炎	4(8.33)	4(8.33)
手指脚趾麻木	11(22.92)	13(27.08)
脱发	2(4.17)	2(4.17)
乏力	17(35.42)	18(37.50)
白细胞下降	9(18.75)	11(22.92)
血红蛋白下降	7(14.58)	9(18.75)
血小板下降	5(10.42)	7(14.58)
TBIL升高	6(12.50)	4(8.33)
ALT升高	4(8.33)	6(12.50)
BUN升高	0(0.00)	0(0.00)
心电图异常	0(0.00)	0(0.00)
耳聋	0(0.00)	0(0.00)

表 4 转移性大肠癌原发部位与临床疗效的关系比较

原发部位	n	显效	有效	总有效率(%)
直肠	45	0	14	31.11
结肠	51	0	10	19.61

发、乏力、白细胞下降、血红蛋白下降、血小板下降、总胆红素(total bilirubin, TBIL)升高和谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)升高, 均未发生血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、心电图异常和耳聋. 两组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.3 两组患者治疗效果影响因素分析 直肠组与结肠组患者治疗总有效率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表4); 肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表5); 初治组与复治组治疗总有效率比较, 差异具有显著性(P<0.05)(表6).

3 讨论

化疗时晚期大肠癌治疗的重要手段, 其临床应用价值已被广泛认可. 氟尿嘧啶是化疗中常用的基本药物, 临床研究指出其单药治疗大肠癌有效率约为20%[7]. 大量文献报道指出氟尿嘧啶与大剂量亚叶酸钙联合应用可提高治疗大肠癌的有效率, 与单用氟尿嘧啶治疗疗效比较存在显著差异[8]. 因此, 亚叶酸钙在与氟尿嘧啶联合应用中增敏效果确切.

临床研究表明, 亚叶酸钙本身无灭杀肿瘤能力, 患者服用后也不会产生明显不良反应[9]. 其在与氟尿嘧啶联合应用的增敏机制为氟尿嘧啶在人体内可正常代谢成为5-氟-2'-脱氧尿苷酸盐[10], 5-氟-2'-脱氧尿苷酸盐能够与胸苷酸合成酶的巯基以及甲基四氢叶酸的甲叉相互结合, 形成稳定的共价三元复合物, 有效抑制了胸苷酸和三磷酸脱氧腺苷的分泌, 切断了三磷酸脱氧腺苷和DNA的合成, 从而发挥抑制肿瘤细胞繁殖和生长的效果[11]. 正常机体由于还原性叶酸浓度不高, 达不到三原复合物大量形成的要求, 因此导致氟尿嘧啶单独应用时效果不佳[12]. 针对上述情况, 外源性添加亚叶酸钙, 在患者体内转变成为甲基四氢叶酸, 从而促进了共价三元复合物的大量形成, 提高氟尿嘧啶的临床效果. 但临床上对亚叶酸钙的使用剂量存在较大争议, 亚叶酸钙低剂量与高剂量的对照研究表明, 两种剂量临床疗效无明显差异, 但剂量过低时疗效不能够保证, 剂量过高时不良反应发生率有所增加[13,14]. 因此,

■相关报道
临床研究表明, 亚叶酸钙本身无灭杀肿瘤能力, 患者服用后也不会产生明显不良反应.

■应用要点
奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌临床疗效确切，具有较高的临床应用价值.

表 5 转移性大肠癌转移部位与临床疗效的关系比较

转移部位	*n*	显效	有效	总有效率(%)
肝脏	61	0	17	27.87
肺	35	0	4	11.43
其他	8	0	3	37.50

表 6 转移性大肠癌既往化疗情况与临床疗效的关系比较

既往化疗	*n*	显效	有效	总有效率 (%)
初治组	39	0	17	43.59[a]
复治组	57	0	7	12.28

[a]$P<0.05$ *vs* 复治组.

本研究中给予患者中等剂量亚叶酸钙. 由于亚叶酸钙为混旋体, 由左旋体和右旋体按照1∶1比例合成, 其中右亚叶酸钙无活性成分; 而左亚叶酸钙是代谢为甲基四氢叶酸发挥其增敏效果的主要成分[15].

本研究结果显示, 左亚叶酸钙组与亚叶酸钙组临床疗效、不良反应发生率比较, 差异无统计学意义, 表明两药临床疗效相似. 直肠组与结肠组患者治疗总有效率比较, 差异无统计学意义; 肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较, 差异无统计学意义; 初治组与复治组治疗总有效率比较差异具有显著性. 表明原发部位和转移部位均不会影响治疗效果, 而既往是否接受化疗对临床疗效影响较大.

另外, 本研究中两组患者均发生不同程度食欲减退、恶心、呕吐、腹泻、腹痛、口腔黏膜炎、手指脚趾麻木、脱发、乏力、白细胞下降、血红蛋白下降、血小板下降、TBIL升高和ALT升高等不良反应, 但多数患者为Ⅰ-Ⅱ级, 并无严重不良反应发生, 也未出现过敏反应. 表明奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌安全性较高.

总之, 奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌临床疗效确切, 具有较高的临床应用价值.

■同行评价
本文设计尚可, 内容实用, 对临床医师有一定的参考价值.

4 参考文献

1 胡水清, 张玫. 大肠癌筛查研究进展. 中国肿瘤 2012; 21: 363-367
2 朱东, 刘小方, 梁丕霞, 徐有青. 螺旋CT诊断老年大肠癌162例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2951-2954
3 Hazra A, Fuchs CS, Kawasaki T, Kirkner GJ, Hunter DJ, Ogino S. Germline polymorphisms in the one-carbon metabolism pathway and DNA methylation in colorectal cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 331-345 [PMID: 19936946 DOI: 10.1007/s10552-009-9464-2]
4 翟红珍, 台卫平. 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶及亚叶酸钙治疗老年晚期大肠癌患者的临床研究. 北京医学 2012; 34: 4, 14
5 李韧, 曹京旭, 布洁, 宋薇, 史铭, 苏航. 氟尿嘧啶、亚叶酸钙和奥沙利铂联合贝伐单抗治疗转移性结肠癌疗效观察. 武警医学 2009; 20: 224-226
6 陈烜鑫, 顾汉民, 黄建华, 徐道静. 奥沙利铂,亚叶酸钙,5氟尿嘧啶联合治疗进展期胃癌疗效和安全性的临床观察. 中国保健营养 2013; (01): 330
7 王佳蕾, 李进, 秦叔逵, 程颖, 张清媛, 刘天舒, 杨春康, 叶正宝, 徐农, 郑磊贞, 胡春宏, 张沂平, 陶敏, 于志坚, 庄志祥. 雷替曲塞或氟尿嘧啶/亚叶酸钙联合奥沙利铂治疗局部晚期或复发转移性结直肠癌的随机对照多中心Ⅲ期临床试验. 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 06-11
8 Marrelli D, Roviello F, de Manzoni G, Morgagni P, Di Leo A, Saragoni L, De Stefano A, Folli S, Cordiano C, Pinto E. Different patterns of recurrence in gastric cancer depending on Lauren's histological type: longitudinal study. *World J Surg* 2002; 26: 1160-1165 [PMID: 12209247]
9 王慧娟, 张雁山, 董雪山, 张振帅, 潘玉娇. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶/亚叶酸钙治疗晚期大肠癌的疗效观察. 甘肃医药 2011; 30: 497-498
10 黄志荣, 曹齐生, 杜成荣, 丁德权, 何昌霞. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶和亚叶酸钙行新辅助化疗治疗进展期胃癌的疗效研究. 河北医药 2013; 35: 538-539
11 王峰, 秦环龙. 大肠癌microRNA与DNA甲基化修饰相互调控的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 808-814
12 Tournigand C, Cervantes A, Figer A, Lledo G, Flesch M, Buyse M, Mineur L, Carola E, Etienne PL, Rivera F, Chirivella I, Perez-Staub N, Louvet C, André T, Tabah-Fisch I, de Gramont A. OPTIMOX1: a randomized study of FOLFOX4 or FOLFOX7 with oxaliplatin in a stop-and-Go fashion in advanced colorectal cancer--a GERCOR study. *J Clin Oncol* 2006; 24: 394-400 [PMID: 16421419]
13 田忠凯, 郑瑾. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶治疗晚期胃癌的临床疗效. 中外医疗 2010; (28): 98-99
14 赵亚恒. 用奥沙利铂联合氟尿嘧啶和四氢叶酸钙治疗晚期大肠癌的疗效观察. 求医问药(下半月) 2012; 10: 613-614
15 陈志和, 黄灵珍. 奥沙利铂联合5-氟脲嘧啶、亚叶酸钙治疗晚期大肠癌的临床观察. 医学理论与实践 2011; 24: 543-544

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): 153-158
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

清热活血法在痔病术后的用药规律

赵红波, 吴晓晶, 杨 云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁

赵红波, 吴晓晶, 杨云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁, 银川市中医医院肛肠科 宁夏回族自治区银川市 750001
赵红波, 住院医师, 主要从事肛肠病中医药的临床应用与研究.
作者贡献分布: 本文选题与设计由赵红波完成; 文献资料收集与数据分析由吴晓晶与杨云完成; 资料筛选与数据录入由梁同义、葛志明及吴学宁完成; 论文写作与修改由赵红波与吴晓晶共同完成.
通讯作者: 赵红波, 住院医师, 750001, 宁夏回族自治区银川市兴庆区解放西街231号, 银川市中医医院肛肠科.
zhaohb110@163.com
电话: 0951-5045240
收稿日期: 2013-09-04 修回日期: 2013-10-07
接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2014-01-08

Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery

Hong-Bo Zhao, Xiao-Jing Wu, Yun Yang, Tong-Yi Liang, Zhi-Ming Ge, Xue-Ning Wu

Hong-Bo Zhao, Xiao-Jing Wu, Yun Yang, Tong-Yi Liang, Zhi-Ming Ge, Xue-Ning Wu, Traditional Chinese Medicine Hospital of Yinchuan, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China
Correspondence to: Hong-Bo Zhao, Resident Physician, Department of Colorectal Medicine, Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, 231 Liberation West Street, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China. zhaohb110@163.com
Received: 2013-09-04 Revised: 2013-10-07
Accepted: 2013-10-15 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To investigate the medication regularity of the prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery.

METHODS: Clinical studies on heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery were searched from CNKI and CBM databases. A total of 87 papers meeting the criteria were retrieved. Data were extracted to analyze medication frequency, meridian affinity and efficacy, as well as herb-pairs principle using apriori method of connection rule.

RESULTS: In 87 prescriptions, there were 95 Chinese medicines, of which 62 appeared twice. The appearing frequency was 691. The medicine core coefficients of Kushen, Wubeizi and Mangxiao were higher than those of others. With regard to herb meridian affinity, the integrals of liver meridian, stomach meridian, lung meridian and spleen meridian were higher than those of others. With regard to the herb efficacy, the use frequencies of heat-clearing herbs, blood-activating and stasis-dissolving herbs and purgatives herbs were high. With regard to herb pairs, the frequencies of Kushen-Huangbai, Kushen-Danggui and Huangbai-Diyu were high.

CONCLUSION: Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery was obtained by analyzing the core coefficient, meridian affinity and efficacy of herbs, which will provide a theoretical basis for clinical work.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hemorrhoids; Heat-clearing and blood-activating method; Core coefficient; Meridian affinity; Herb pairs; Apriori algorithm

Zhao HB, Wu XJ, Yang Y, Liang TY, Ge ZM, Wu XN. Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 153-158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/153.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.153

摘要

目的: 中药熏洗法在预防和治疗痔病术后并发症疗效显著, 旨在分析探讨清热活血法在痔病术后中的用药规律.

方法: 检索中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)等医学数据库中以清热活血法为主治疗痔病术后的临床研究报道(共检索出87篇符合标准的文献), 收录方剂进行药物使用频率、归经和功效统计分析; 并应用关联规则方法中的Apriori算法分析方剂中药对的配伍规律.

结果: 在87首方剂中, 共出现了95味中药, 其

■背景资料
以清热活血为主的中药熏洗法是预防和减少痔病术后并发症, 增强术后患者耐受性有效治法之一. 通过探讨方剂中单味药物归经及在方剂中的使用频次、配伍规律、组成结构及功效特点, 分析方药取效机制, 为中医药治疗痔病术后并发症临证用药提供新思路.

■同行评议者
郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科

■研发前沿
中医药在疾病发生发展的不同阶段，由于药物的不同配伍而产生不同疗效. 目前，中药单味药及组方的抗炎、止痛、止血、促愈的机制仍缺乏客观量化指标. 因此，要实现中西医结合学科的长足发展和新突破，中医药现代化依然是热点领域.

中出现两次以上中药共62味，出现频次共为691次. 在药物核心系数(H)的统计中，苦参、五倍子、芒硝等药物的应用频次较多；在归经的统计中，归肝、胃、肺、脾经的药味和积分较高；在功效的统计中，以清热药、活血化瘀药、泻下药等使用次数较高；在药对的统计分析中，苦参-黄柏、苦参-当归、黄柏-地榆等药对的使用频率较高.

结论：通过对药物核心系数(H)、归经、功效和药对的使用频率进行统计分析，能较好的发现应用清热活血法在痔病术后进行熏洗治疗的用药规律、配伍组成和临床疗效，为临床治疗痔病术后并发症用药提供理论指导.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：痔病术后；清热活血法；核心系数；归经；药对；Apriori算法

核心提示：痔病术后早期应用清热活血法进行熏洗治疗，使药液直接作用于患处，起到清热燥湿、消肿止痛、生肌止血之功效，有效预防了术后再次出血，水肿和因疼痛引起尿潴留、排便困难等并发症发生，揭示清热活血法中方剂应用配伍规律，是中医药更合理有效的服务于临床.

赵红波，吴晓晶，杨云，梁同义，葛志明，吴学宁. 清热活血法在痔病术后的用药规律. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 153-158
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/153.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.153

0 引言

痔病(内痔、外痔、混合痔)是肛肠病中的常见病、多发病，主要病因是饮食不节、湿热内生、下迫肛门或久蹲久坐、排便怒责、生育过多等，致经脉横解，气血凝滞而成. 现代医学对痔病形成的原因尚无确切定论，目前多认为痔病的发生与肛垫下移、静脉曲张相关. 手术是治疗的重要方法之一，由于肛门直肠特殊的组织解剖结构和相对复杂的生理功能，术后常出现切口疼痛、水肿、出血、创面延期愈合等并发症，增加了患者痛苦，延长住院时间，加重经济负担，影响患者生活质量，必须积极防治.

痔病做为我科的优势病种之一，以清热活血为主的中药熏洗法是痔病术后恢复期的基本治法之一，在预防和减少术后并发症、促进创面愈合、缩短病程、缓解患者痛苦等方面发挥了独到的优势，并在治疗过程中积累了大量临床资料. 本研究通过数据统计，积极探索不同知识背景的学者选用清热活血为主的中药熏洗方在治疗痔病术后恢复期的临证经验、辩证思路及用药规律，分析大量数据后发现隐藏其后的药味归经及在方剂中的使用频次、配伍规律、组成结构及功效特点，从基本的角度探讨方药取效机制和方证体系内在的联系和特征，为中医药治疗痔病术后并发症临证用药提供新思路. 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 根据国际循证医学中心协作网工作手册标准，以“中药熏洗and痔”为主题词检索中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)(1980-01/2012-12)、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)(1980-01/2012-12)中有关运用清热、活血方为主的熏洗法治疗痔病术后恢复期的临床研究报道.

1.2 方法

1.2.1 中医痔病诊断标准：采用2006-06中华医学会外科学分会肛肠外科学组等制定的《痔临床诊治指南》[1].

1.2.2 文献的纳入标准：(1)符合混合痔、内痔、外痔的诊断标准；(2)必须行具体手术治疗，术后伴有疼痛、水肿、出血等并发症发生；(3)有中医症候诊断、治法、方药名和剂量.

1.2.3 文献的排除标准：(1)综述性文献；(2)研究对象是实验动物；(3)没有具体方药、剂量、使用方法和治疗结果；(4)中药为内服、外敷方药；(5)伴有急性传染病，或合并有特异性感染(如结核病、克罗恩病、溃疡性结肠炎等). 共检索出87篇符合标准的文献.

1.2.4 中药数据的标引：在同一类方的统计上，同一首方剂无论出现几次，共计为1次；中药药名主要参照2005版中华人民共和国药典[2]的中药部分进行统一，若本书无该药，则以常用药名统一. 例如“皂刺”统一为“皂角刺”，“川椒”统一为“花椒”，“杠板归”统一为“雷公藤”，“明矾”统一为“白矾”，产地不同的药物都统一为同一个药名.

1.2.5 药物核心系数分析：按照每味中药在整个类方中出现频率的平均值进行确定，此平均值即为该方元的核心系数(H)[3]. 假设某类方由M个方元组成，中药Zi在其中的Ni个类方元中出现(i = 1、2、3、… N)则类方中中药的核心系数为H = Ni/Mi，H的系数越大，表明中药Zi在整个类方中的频率较高，在类方中的贡献较大，为该类方

表 1 药物的核心系数

序号	药名	出现次数	H	序号	药名	出现次数	H
1	苦参	50	0.575	20	血竭	6	0.069
2	五倍子	49	0.563	20	地肤子	6	0.069
3	芒硝	37	0.425	20	栀子	6	0.069
3	大黄	36	0.414	20	泽泻	6	0.069
4	黄柏	36	0.414	21	皂角刺	5	0.057
5	地榆	34	0.391	21	川芎	5	0.057
5	当归	34	0.391	21	侧柏叶	5	0.057
6	白矾	23	0.264	21	紫草	5	0.057
6	蒲公英	23	0.264	21	连翘	5	0.057
8	金银花	20	0.230	21	两面针	5	0.057
9	防风	18	0.207	21	白及	5	0.057
9	赤芍	18	0.207	21	生地	5	0.057
10	冰片	17	0.195	21	土茯苓	5	0.057
11	黄芩	15	0.172	22	鱼腥草	4	0.046
12	乳香	14	0.161	22	艾叶	4	0.046
12	苍术	14	0.161	23	丹皮	3	0.034
13	黄连	13	0.149	23	野菊花	3	0.034
14	马齿苋	12	0.138	23	槐角	3	0.034
14	桃仁	12	0.138	23	丹参	3	0.034
14	甘草	12	0.138	23	槟榔	3	0.034
15	没药	11	0.126	24	仙鹤草	2	0.023
15	花椒	11	0.126	24	黄芪	2	0.023
16	蛇床子	10	0.115	24	三七	2	0.023
17	红花	9	0.103	24	百部	2	0.023
18	紫花地丁	8	0.092	24	川乌	2	0.023
18	白芷	8	0.092	24	姜黄	2	0.023
18	荆芥	8	0.092	24	秦皮	2	0.023
19	槐花	7	0.080	24	虎杖	2	0.023
20	秦艽	6	0.069	24	升麻	2	0.023
20	延胡索	6	0.069	24	白鲜皮	2	0.023
20	薄荷	6	0.069	24	陈皮	2	0.023

■相关报道
常惟智通过方剂量效关联的方法进行归纳和探讨, 从多维角度对方-药-证-症关联进行研究, 着重分析了药对配伍、剂量在文献、药理实验、临床研究等方面的进展, 提出方证相应论, 为中医药临床准确辨证施治提供了科学理论依据.

的核心药物, 反之为该类方的边缘药物.

1.2.6 *药物归经分析*: 参考黄书慧等[4]对类方涉及的每一味药物的归经分析方法, 根据七版《中药学》全国统编教材[5]中对归经记载的顺序予以标注, 然后计算总积分. 设类方中共用到N种归心经的药物, 则归心经的总积分为W = ∑H(H为药物核心系数).

1.2.7 *药物功效分析*: 对87首清热活血方的95味中药按功效予以标注, 计算各类功效中中药的药味及其应用频次.

1.2.8 *药对分析*: 应用关联规则方法中的Apriori[6]计算药对的使用次数和使用频率, 使用频率 = 药对的使用次数/类方的方剂数(87).

统计学处理 利用Excel2003软件把收集到的87首方剂按一定的格式(编号、方剂名、药名、功效、归经、药物分类)建立的数据库为统计元, 分析方法如前述.

2 结果

2.1 *药物核心系数的统计* 87首方剂中出现2次以上中药共有62味, 按药物的核心系数降序排列, 结果表明苦参、五倍子、芒硝、大黄、黄柏等药物的H较高(表1).

2.2 *归经的统计* 87首方剂中的95味药物的归经涉及到十二经, 而入肝经、胃经、肺经、脾经等药味较多, 积分较大(表2).

2.3 *药物功效的统计* 为了解清热活血法中药物的功效, 对87首方剂中的95味药物的功效进行统计分析, 发现清热药、活血化瘀药、泻下药、止血药的使用次数较多(表3).

■创新盘点
本文采用现代统计学多元分析技术探索清热活血法组方中药物核心系数、归经、功效和药对应用频率的内在联系和特征，发现中医药在治疗痔病术后并发症的用药规律、配伍组成和疗效特点，使中医药诊疗过程中辩证更准确，用药更恰当，疗效更佳.

表 2 药物的归经

归经	用药味数	积分	归经	用药味数	积分
心	27	2.821	胃	33	3.243
肾	15	1.571	大肠	27	4.085
肝	57	4.997	膀胱	8	1.379
脾	31	2.924	小肠	4	0.251
胆	8	0.515	三焦	2	0.080
肺	32	2.405	心包	4	0.516

表 3 药物功效的用药种数与使用次数

药类名	用药种数	使用次数	药类名	用药种数	使用次数
清热药	27	243	利水渗湿药	5	16
泻下药	2	73	补虚药	4	49
活血化瘀药	13	76	消食药	0	0
化湿药	2	15	涌吐药	0	0
收涩药	4	52	开窍药	2	18
温里药	1	11	安神药	0	0
理气药	3	4	祛风湿药	8	14
解表药	8	45	平肝息风药	0	0
攻毒杀虫止痒药	2	33	化痰止咳平喘药	2	7
止血药	10	64	拔毒化腐生肌药	1	1
驱虫药	1	3			

2.4 药对的统计 应用关联规则方法中的Apriori计算得到了药对的使用次数和使用频率，使用次数在8次以上的药对(表4).

3 讨论

中药熏洗是中医肛肠外科重要外治法之一，是治疗痔疮的传统方法，熏洗是指借蒸腾之药气熏患处，再将药汤乘热淋洗患部，依靠其药力和热力直接作用于病变部位，使肛门部腠理疏通，气血流畅，从而达到清热燥湿、活血消肿、止血生肌功效. 《外科启玄明·疮疡宜溻浴洗论》云[7]：“凡治疮肿，初起一二日之间，宜药煎汤洗浴熏蒸，不过取其开通腠理，血脉调和，使无凝滞之意，免其痛苦，亦清毒耳”. 痔病手术的患者，多为患病日久，病情较重. 术后虽然祛除了有形之邪，但肌肉受损，脉络断裂，经脉阻滞，气血不畅，致“不荣则痛”和“不通则痛”；加之正气虚，湿热之邪留滞不散，则水肿；又气虚血亏，摄血无力，或淤血阻滞，血不循经，则出血；血虚无以濡养皮肉，则新肉不生，愈合缓慢. 因此，湿热血瘀是痔术后创面的病理基础，正虚与邪实并存，以邪实为主. 所以，在采用具有清热活血作用为主的中药，运用熏洗的方法预防和控制肛肠病术后并发症，有理论依据，疗效可靠. 祖国医学认为痔病术后及时采用清热活血为主的中药熏洗法，配合相关对症治疗和临床护理[8]，其中98%以上患者均能使并发症消除，创面愈合. 本研究通过统计分析了87篇利用清热活血法为主的熏洗方治疗痔病术后恢复期的文献报道，结果表明采用该法共治疗痔病术后恢复期患者5483例，其中治愈4825例，有效576例，无效82例，总有效率为98.50%，也证实清热活血法为主的熏洗疗法是治疗痔病术后恢复期并发症的基本大法.

在药物核心系数的统计中，苦参、五倍子、芒硝、大黄、黄柏、地榆、当归、白矾、蒲公英、金银花的核心系数较大，使用次数较多. 其中苦参、芒硝、大黄、黄柏、蒲公英、金银花清热燥湿，泻火解毒；地榆、当归凉血止血，活血止痛；五倍子、白矾收湿敛疮. 现代医学研究表明：苦参、大黄、黄柏等均具有明显抗炎作用，能抑制炎症早期的水肿、渗出和炎症后期的结缔组织增生，尚具有调节免疫，促进抗体生成，清理创面的作用[9]. 地榆、当归能明

表 4 药对的使用次数与频率

药名	药名	使用次数	使用频率(%)	药名	药名	使用次数	使用频率(%)
苦参	黄柏	32	36.78	苍术	防风	11	12.64
苦参	当归	31	35.63	五倍子	白矾	11	12.64
黄柏	地榆	30	34.48	黄柏	桃仁	10	11.49
苦参	五倍子	29	33.33	黄柏	黄芩	10	11.49
大黄	黄柏	27	31.03	乳香	没药	10	11.49
五倍子	黄柏	27	31.03	五倍子	地榆	9	10.34
五倍子	芒硝	20	22.99	五倍子	冰片	9	10.34
大黄	五倍子	18	20.69	当归	防风	9	10.34
大黄	芒硝	18	20.69	五倍子	防风	9	10.34
苦参	大黄	18	20.69	大黄	黄芩	9	10.34
苦参	芒硝	18	20.69	黄柏	赤芍	9	10.34
黄柏	芒硝	17	19.54	大黄	赤芍	9	10.34
苦参	金银花	16	18.39	大黄	当归	9	10.34
芒硝	白矾	14	16.09	当归	红花	9	10.34
黄柏	防风	14	16.09	当归	乳香	9	10.34
黄柏	金银花	14	16.09	当归	没药	9	10.34
苦参	白矾	14	16.09	防风	苍术	8	9.195
苦参	地榆	13	14.94	黄柏	黄连	8	9.195
五倍子	乳香	12	13.79	芒硝	赤芍	8	9.195
黄柏	当归	12	13.79	金银花	蒲公英	8	9.195
黄柏	白矾	12	13.79	大黄	金银花	8	9.195
苦参	赤芍	11	12.64	五倍子	当归	8	9.195
黄柏	乳香	11	12.64	苦参	桃仁	8	9.195
芒硝	冰片	11	12.64	苦参	乳香	8	9.195
芒硝	蒲公英	11	12.64				

■应用要点

痔病术后早期应用清热活血药物进行中药熏洗, 不仅缓解创面疼痛、减少出血、促进创面愈合, 缩短住院周期, 减少住院费用; 而且, 通过数据分析能真实反映了证-法-方-药之间的相应关系, 进一步提高中医药诊治水平, 具有积极的意义.

显缩短出血和凝血时间, 解除血管痉挛, 降低毛细血管通透性, 抑制炎性介质释放而减轻组织渗出、水肿、出血; 还能在创面形成保护膜, 防止感染和镇痛作用[10]. 五倍子、白矾中的鞣酸能使皮肤黏膜、溃疡等部位的组织蛋白凝固而具有收敛、抑制腺体分泌、减轻炎症反应、减缓感染过程及病理损害[11]. 诸药紧扣病机, 既可清热解毒, 活血化瘀, 又可凉血止血, 消肿生肌, 标本兼顾.

痔病术后恢复期与肝、肺、脾、胃诸脏腑关系密切, 脾胃为“后天之本”, “气血生化之源”, 二者一阴一阳, 互为表里, 共同参与饮食的消化吸收. 脾胃虚则气血生化乏源, 致血随气脱, 或离经之血溢于脉外而出血, 并证见脾虚湿困, 湿热下注而致痔病发生. 肝主疏泄, 助脾胃运化水谷精微, 维持气血、津液的运行. 若肝失疏泄, 气血亏虚, 气机阻滞, 气滞则血瘀, 不通则痛. 肝主藏血, 具有贮藏血液和调节血量功能, 其异常易引起血虚或出血. 肺朝百脉, 主宣发肃降, 将气血津液布散全身, 肺气虚则无力推动血行, 全身经脉失于濡养, 致筋脉横解. 在药物归经的统计中, 我们发现归肝、肺、脾、胃经的药物和积分较高; 在药物功效的统计中, 清热药、活血化瘀药、泻下药、止血药、收涩药的用药次数较高, 提示从肝经、胃经、肺经、脾经、大肠经论治痔病术后创面恢复是有效的临床治疗法则.

长期的医疗实践中, 人们认识到针对一定病证, 结合中药性、味、归经及功效, 把两味中药有机组合, 使药物作用增强, 不良反应减轻, 或产生新的不良作用, 从而形成相对固定的药物搭配-药对. 在治疗本病中经药对分析结果表明部分药对应用频率较高, 如苦参-黄柏, 苦参-当归, 黄柏-地榆, 苦参-五倍子, 其中苦参大苦大寒, 归心、肝、胃、大肠、膀胱经, 清热燥湿, 杀虫止痒, 以清下焦湿热为主; 黄柏性降属阴, 其味厚, 归肾、膀胱、大肠经, 清热燥湿, 泻火解毒, 善清二阴湿热; 二药配伍, 禀至阴之气兼得清寒之性, 使清热燥湿之力尤甚, 清瘀消肿止痛之功更佳. 苦参-当归: 当归为补血活血之圣药, 还能

■同行评价
痔病是肛肠病中的常见病、多发病, 本文探讨清热活血法在痔病术后中的用药规律, 有一定临床价值.

润肠通便. 实验研究表明[12], 二药为伍, 既能抗炎、止痛, 又能改善微循环, 降低血小板的聚集性, 提高皮肤温度, 保护创面, 阻止组织坏死, 促进愈合; 还能改善血液的浓、粘、凝、聚状态, 具有明显抗血栓形成[13]. 黄柏-地榆: 其中地榆性寒入血分, 长于泄热而凉血止血, 又其性下行, 尤易于治下焦出血. 与黄柏配伍, 加强抗菌作用, 尚能缩短出凝血时间, 降低毛细血管通透性, 减少渗出及组织水肿, 两者相得益彰, 协同增效[14]. 苦参-五倍子[15]: 五倍子功能涩肠, 止血, 解毒, 酸涩收敛而能止血, 除湿固脱. 与苦参合用, 既清风湿疮疡脓水, 又能散热毒疮肿, 而收敛止血、消肿生肌.

总之, 中药熏洗法属中医外治法之一, 在疾病发生发展的不同阶段, 由于药物的不同配伍而具有不同治疗作用. 本研究是在在中、西医理论指导下, 利用多元分析技术探讨清热活血法中方剂配伍规律的内在联系, 为临床用药提供理论依据和思路, 具有重要的现实意义. 经统计分析后发现熏洗方中利用清热药和活血化瘀药物的使用频次、药对配伍最多, 对痔病术后预防和缓解并发症疗效确切, 治愈率高, 使用安全, 操作简单. 但目前中药抗炎、止血、促愈的机制只是一个粗浅的轮廓, 仍缺乏客观量化指标, 不利于促进中西医结合学科的长足发展和新突破[16]. 今后在综合运用分子生物学、中药信息学、计算机信息学等交叉学科, 将有利于研究中医基础理论体系的合理性, 能充分反映出证-法-方-药之间的密切联系和方证与药物量效关系[17], 从而使辨证准确, 用药剂量恰当, 疗效自佳, 使中医药资源合理利用, 更有效的指导临床实践.

4 参考文献

1 中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组, 中华中医药学会肛肠病专业委员会, 中国中西医结合学会结直肠肛门病专业委员会. 痔临床诊治指南. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 461-463
2 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010
3 金锐, 林茜, 张冰, 刘欣, 刘森茂, 赵茜, 刘秀兰. 基于Apriori算法的中药气–味–效三维数据关联规则挖掘研究. 中西医结合学报 2011; 9: 794-803
4 黄书慧, 曾薇薇, 邢斌. 二陈汤类方主治病症规律探析. 中华中医药杂志 2010; (3): 428-430
5 高学敏. 中药学. 第二版. 北京: 中国中医药出版社, 2007
6 尚尔鑫, 叶亮, 范欣生, 唐于平, 段金廒. 基于改进关联规则算法的中药药对药味间性味归经功效属性关系的发现研究. 世界科学技术–中医药现代化 2010; 12: 377-382
7 李晶. 痔疮外洗液坐浴治疗混合痔术后水肿50例. 新中医 2007; 39: 72-73
8 孙美春, 李佩芳, 张群, 朱萍. 痔疮患者术后用中药熏洗伤口的疗效观察与护理. 上海护理 2006; 6: 48-49
9 廖波, 袁可, 琚晓. 苦参汤加减对混合痔外剥内扎术后创缘水肿疗效观察. 长春中医药大学学报 2011; 24: 254-255
10 黄河, 陆金根, 曹永清. 促愈汤改善混合痔术后疼痛和水肿的临床观察. 上海中医药杂志 2008; 42: 42-44
11 王丽娜, 陈红锦. 愈创熏洗1号方促进混合痔术后创面愈合临床观察. 吉林中医药 2009; 29: 43-44
12 王锦, 印义琼, 覃清梅. 混合痔外剥内扎术后坐浴方法与切口愈合的相关性研究. 华西医学 2009; 24: 3236-3238
13 马辉, 王曦, 南京燕, 郭鹏. 自制中药洗剂对混合痔术后水肿和疼痛的疗效观察. 广西中医药 2011; 34: 18-19
14 张志强, 王振彪, 焦霞, 张君峰. 三草洗剂对混合痔术后止痛促愈合作用的临床观察. 北京中医药 2010; 29: 863-864
15 徐伟祥, 朱焜, 李永健. 复方大黄汤熏洗治疗混合痔临床研究. 上海中医药杂志 2008; 42: 40-41
16 刘永琦. 系统生物学对中西医结合研究的影响. 中医杂志 2007; 48: 869-871
17 常惟智, 刘树民, 卢芳. 中药药性与功效关联性的研究分析及展望. 时珍国医国药 2009; 20: 633-634

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号.《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H.pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$不能写成tl/2或T , *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^aP<0.05$, $^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$, $^fP<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

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

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行，每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》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》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 2014年1月8日; 22(1): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年1月8日; 22(1): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白岚 教授
南方医院惠侨科

白雪巍 副主任医师
哈尔滨医科大学

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

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

方今女 教授
延边大学医学院预防医学教研部

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

李小荣 教授
中南大学湘雅三医院普外二科

李宗芳 教授
西安交通大学医学院第二附属医院

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

刘亮明 副教授
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

缪应雷 主任医师
昆明医科大学第一附属医院消化内科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

牛英才 研究员
齐齐哈尔医学院医药科学研究所

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

汤静 主管药师
上海交通大学附属第一人民医院药学部

庹必光 教授
遵义医学院附属医院消化科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨建民 教授
浙江省人民医院消化内科

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

庄林 主任医师
昆明市第三人民医院肝病科

张火俊 副教授
长海医院放射科

张力为 副教授
新疆医科大学第一附属医院胸外科

周晓武 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普外科

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

北京大学图书馆

百世登

Baishideng®

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

ISSN 1009-3079

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