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

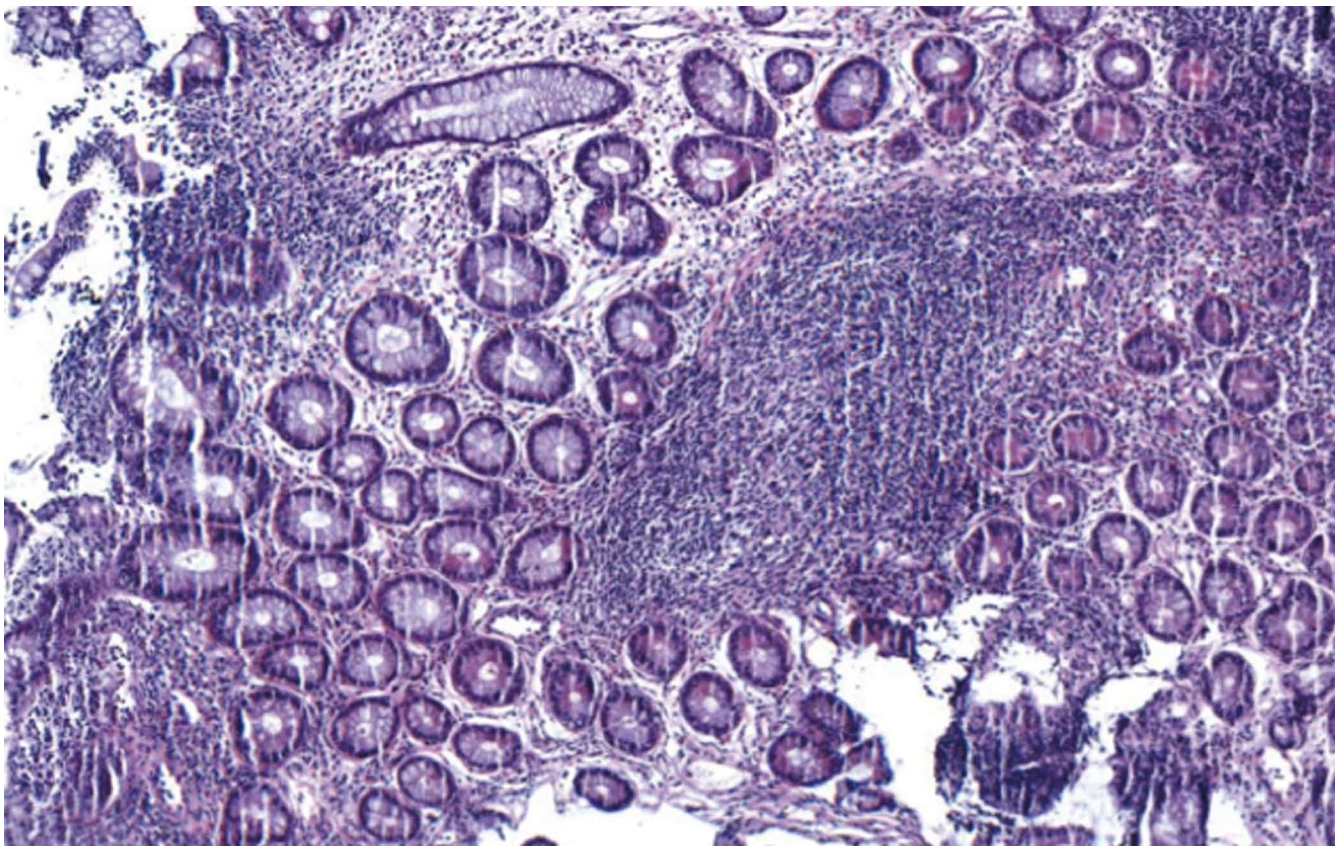
2014 年 3 月 8 日　　第 22 卷　　第 7 期　(Volume 22 Number 7)

www.wjgnet.com

二零一四年三月八日

第二十二卷

第七期



7/2014

《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

07>

9 771009 307056

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
庹必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
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 3 月 8 日　第 22 卷　第 7 期　(总第447期)

述　评

901 长链非编码RNA在结直肠癌中的研究进展
陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利

基础研究

907 紫花牡荆素诱导肝星状细胞凋亡的作用机制
田君湘

临床研究

915 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术治疗源于固有肌层食管黏膜下肿瘤的回顾性分析
闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 陈巍峰

920 自噬调控因子beclin1及mTOR在大肠腺瘤癌变过程中的表达及意义
何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博

文献综述

927 乙型肝炎病毒的复制再活化
阮杰, 李海军, 孙殿兴

933 尿酸与非酒精性脂肪肝的相关性
徐小玲, 贾红

939 成年人慢性便秘流行病学的研究现状
赵劢, 谭至柔

945 PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗中的临床应用
陈晓, 周平

951 针刺治疗慢性肛门直肠痛
陆铤, 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江

研究快报

956 *H. pylori*对人肝正常细胞L-02的作用及其分子机制
刘丽, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉

963 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化
熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁

969 洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对水通道蛋白AQP3和AQP8的影响
吴霜, 程滢瑞, 周锦勇, 吴本升, 陈玉根, 杨柏霖

975 阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用
吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧

982 MK886对人结肠癌细胞SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响
周娟燕, 唐采白, 陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 费素娟

临床经验

988 超声内镜对早期食管癌术前分期准确性的Meta分析
周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷

1000 胃癌患者血清热休克蛋白27、90的检测
袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔

1005 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价
张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪

1010 伴晚期肝硬化终末期肾脏病患者不同透析治疗的临床效果比较
李娟, 程守斌, 周艳玲

1015 鳞状细胞癌抗原SCCA1在肝细胞癌中的表达及意义
李石磊, 高英堂, 单士岗, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 王毅军

1022 难治性肠易激综合征–腹泻型的相关危险因素
洪霞, 古赛

1027 炎症性肠病的临床病理学特点
古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞

1033 单气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值
朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞

1037 无症状体检者结直肠息肉分布特征1990例
陶文武, 高峰

1042 III期直肠癌患者中临床预后的多因素Logistic回归分析
许进军, 甘宁

病例报告	1047 以特殊症状首发起病的克罗恩病2例 杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红
附　　录	Ⅰ－Ⅴ 《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ 2014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	914 《世界华人消化杂志》参考文献 955 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 981 《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) 1014 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 1046 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1050 《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
封面故事	古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞. 炎症性肠病的临床病理学特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1027-1032 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027
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 2014-03-08
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, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
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　手机: 13901166126
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

March 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 7

EDITORIAL

901 Long noncoding RNAs in colorectal cancer
Tao HB, Wan YX, Deng AM, Yan HL

BASIC RESEARCH

907 Mechanisms underlying casticin induced apoptosis of hepatic stellate cells
Tian JX

CLINICAL RESEARCH

915 Submucosal tunneling endoscopic resection of esophageal submucosal tumors originating from the muscularis propria layer: A retrospective analysis
Min H, Chen ZR, Gong F, Wang H, Zhou JD, Chen WF

920 Significance of expression of autophagy related factors beclin1 and mTOR in malignant transformation of colorectal adenoma
He S, Wu SH, Hu JL, Wen FF, Sun CB

REVIEW

927 Reactivation of hepatitis B virus
Ruan J, Li HJ, Sun DX

933 Correlation between uric acid and nonalcoholic fatty liver disease
Xu XL, Jia H

939 Epidemiology of chronic constipation in adults
Zhao M, Tan ZR

945 Application of ^{18}F-FDG PET/CT imaging in stereotactic radiotherapy of colorectal liver metastases
Chen X, Zhou P

951 Treatment of chronic anorectal pain by acupuncture
Lu T, Xu YH, Ding SQ, Ding YJ

RAPID COMMUNICATION

956 Effect of *Helicobacter pylori* infection on growth of normal human liver cells (L-02)
Liu L, Huang ZS, Huang YQ, Zhou XH

963 Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis in mice
Xiong XF, Liu ZH, Liu WD, Ma NF, Shen Y

969 Expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats
Wu S, Cheng YR, Zhou JY, Wu BS, Chen YG, Yang BL

975 17-DMAG protects mice from dextran sulphate sodium induced acute ulcerative colitis
Wu L, Wang FY, Lu YK, Liu J, Lu H, Liu C, Chen CY, Li N, Tao H

982 MK886 inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2
Zhou JY, Tang CB, Chen FX, Liu JQ, Lv XT, Fei SJ

CLINICAL PRACTICE

988 Accuracy of endoscopic ultrasound in preoperative staging of early esophageal cancer: A Meta-analysis
Zhou SS, Yan S, Chen WC, Shi DT, Fu T

1000 Detection of serum HSP27 and HSP90 in patients with gastric carcinoma
Yuan JM, Liu T, Shen JK, Wang TX

1005 Curative effects of peg-interferon α-2a plus ribavirin and ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C patients
Zhang ZM, Yu LF, Li YM, Chen FM, Luo X

1010 Clinical effects of hemodialysis versus peritoneal dialysis in end-stage renal disease patients with advanced cirrhosis
Li J, Cheng SB, Zhou YL

1015 Expression of SCCA1 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance
Li SL, Gao YT, Shan SG, Liang ZH, Zhai DK, Jing L, Liu T, Du Z, Wang YJ

1022 Risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea
Hong X, Gu S

1027 Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease
Gulinaer Abulajiang, Sang W, Shi XL, Zhang W, Li XX

1033 Diagnostic value of single balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding
Zhu M, Zhang J, Tang J, Mao GP, Ning SB, Jin XW, Li YF

1037 Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects
Tao WW, Gao F

1042 Multivariate Logistic regression analysis of prognostic factors for stage III rectal cancer
Xu JJ, Gan N

CASE REPORT	1047 Crohn's disease with special symptoms as initial manifestations: Report of two cases *Yang ZD, Zhang LY, Wang DY, Yao DP, Fu GJ, Li XH*
APPENDIX	Ⅰ－Ⅴ Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* Ⅰ Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	Ⅰ Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Gulinaer Abulajiang, Sang W, Shi XL, Zhang W, Li XX.* Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1027-1032 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027
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 March 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, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, 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 13901166126
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3月8日; 22(7): 901-906
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

长链非编码RNA在结直肠癌中的研究进展

陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利

陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科 上海市 200433
颜宏利, 教授, 主要从事表观遗传学的研究.
作者贡献分布: 本文综述由陶海波与万玉香完成; 颜宏利与邓安梅共同负责审校.
通讯作者: 颜宏利, 教授, 200433, 上海市长海路168号长海医院17号楼1311室, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科. hongliyan@smmu.edu.cn
电话: 021-31162079
收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-02-14
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-08

Long noncoding RNAs in colorectal cancer

Hai-Bo Tao, Yu-Xiang Wan, An-Mei Deng, Hong-Li Yan

Hai-Bo Tao, Yu-Xiang Wan, An-Mei Deng, Hong-Li Yan, Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
Correspondence to: Hong-Li Yan, Professor, Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Room 1311, Building 17, Changhai Hospital, 168 Changhai Road, Shanghai 200433, China. hongliyan@smmu.edu.cn
Received: 2013-12-26 Revised: 2014-02-14
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-08

Abstract
Long noncoding RNAs (lncRNAs) are broadly defined as RNA molecules greater than 200 bp in length and lacking an open reading frame. Recent studies have demonstrated that lncRNAs are widely involved in the regulation of gene expression network at epigenetic, transcriptional and post-transcriptional levels, which may affect cell growth, proliferation, differentiation, metabolism, apoptosis and other important physiological processes. Abnormal expression of lncRNAs is closely associated with the tumor development, invasion, metastasis and prognosis. The development of colorectal cancer is a multi-factor, multi-step process, and abnormal gene expression may play an important role in this process. This review focuses on the current advances in research of lncRNAs in colorectal cancer, with an aim to provide new clues to clinical prevention, diagnosis and treatment of this malignancy.

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

Key Words: LncRNAs; Colorectal cancer

Tao HB, Wan YX, Deng AM, Yan HL. Long noncoding RNAs in colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 901-906 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/901.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.901

摘要
长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过200个核苷酸但无蛋白质编码功能的RNA分子. 近年来许多研究表明其可在表观遗传学、转录及转录后等多个水平参与基因的表达调控, 影响细胞的生长发育、增殖、分化、代谢和凋亡等重要生理过程. lncRNA的异常表达与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移及预后有着密切的关系. 结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程, 而基因表达的异常在其中发挥着重要的作用. 本文就lncRNA在结直肠癌中的作用及研究进展进行综述, 为临床预防、诊断和治疗结直肠癌提供新策略.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: LncRNA; 结直肠癌

核心提示: lncRNA可在表观遗传等多个水平参与基因的表达调控, 影响细胞的增殖和分化, 其异常表达与肿瘤的发生、发展及预后有密切的关系. 结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程, 而基因表达的异常在其中发挥着重要的作用.

陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利. 长链非编码RNA在结直肠癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 901-906 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/901.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.901

0 引言
长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)

■背景资料
lncRNA是一类长度超过200个核苷酸、具有调控基因表达的作用, 但无蛋白质编码功能的RNA分子. lncRNA通过多种调控方式在表观遗传、转录和转录后等多种水平影响细胞的生长发育, 参与肿瘤的发生、发展、转移和预后等过程. 结直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 近年来随着国人生活水平的提高、饮食习惯的改变、人口的老龄化以及结直肠癌普查的开展, 我国结直肠癌的发病率呈明显上升趋势, 严重影响人们的健康和生活质量.

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■研发前沿
结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程，基因表达的异常在其中发挥着重要的作用. 随着对结直肠癌发病机制研究的不断深入，有望发现对其早期诊断、临床分期、个体化治疗、靶向治疗和预后评估起关键作用的新型分子标志物，而lncRNA在此方面具有非常广阔研究和应用前景.

是一类长度超过200个核苷酸、具有调控基因表达的作用, 但无蛋白质编码功能的RNA分子. lncRNA通过多种调控方式在表观遗传、转录和转录后等多种水平影响细胞的生长发育, 参与肿瘤的发生、发展、转移和预后等过程[1,2]. 结直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 近年来随着国人生活水平的提高、饮食习惯的改变、人口的老龄化以及结直肠癌普查的开展, 我国结直肠癌的发病率呈明显上升趋势, 严重影响人们的健康和生活质量. 结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程, 基因表达的异常在其中发挥着重要的作用[3]. 随着对结直肠癌发病机制研究的不断深入, 有望发现对其早期诊断、临床分期、个体化治疗、靶向治疗和预后评估起关键作用的新型分子标志物, 而lncRNA在此方面具有非常广阔的研究和应用前景.

1 lncRNA概述

lncRNA是一类长度超过200个核苷酸但无蛋白质编码功能的RNA分子, 具有高度保守的空间二级结构, 复杂的亚细胞定位, 可位于细胞核内, 也可位于细胞浆内[4]; 而且某些lncRNA的表达还具有组织和时空特异性. lncRNA的产生方式有多种, 目前认为可能有以下几种方式[5,6]: (1)染色体重排; (2)编码蛋白基因结构变化而转变为lncRNA; (3)非编码RNA内部发生串联重复产生相邻的重复序列, 即lncRNA; (4)由非编码基因在复制过程中的反移位产生; (5)基因中插入转座子而产生有功能的lncRNA. 近年来, 越来越多的研究表明lncRNA可通过多种途径调节DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重构和作为miRNA的前体, 参与表观遗传沉默、基因的转录和翻译、细胞周期和细胞凋亡等调控过程.

2 lncRNA与结直肠癌

越来越多的研究表明lncRNA与结直肠癌的发生发展有着密切的关系, 其异常表达可能在肿瘤的发生发展过程中发挥着抑癌基因或促癌基因的作用[7]. Pibouin等[8]在结肠癌细胞系TC7中发现了lncRNA-OCC-1(overexpressed in colon carcinoma-1)的过表达, 通过体外实验证明OCC-1 cDNA可编码数种多肽. lncRNA表达水平上的差异以及某些肿瘤中特异型lncRNA的表达, 预示着lncRNA可作为一些肿瘤临床诊断和治疗的新型分子标志物, 如lncRNA DD3(PCA3)已被证实可作为前列腺癌高度特异的核算分子标志物, 其特异性高于血清前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA). Gibb等[9]研究发现了人类正常组织及癌组织的lncRNA转录谱, 认为在肿瘤中普遍存在lncRNA的异常表达. lncRNA的种类繁多、数量庞大、功能广泛, 目前在结直肠癌的发病机制中研究较多的种类不多(表1), 下面将重点阐述几种常见的lncRNA在结直肠癌中的研究现状.

2.1 MALAT1与结直肠癌 肺腺癌转移相关转录子1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, *MALAT1*)基因定位于11q13.1, 全长8.7 kb, 在正常人组织中广泛表达, 神经组织中表达量最高. 其最早是在早期非小细胞肺癌组织中发现的, 故因此而得名[47]. *MALAT1*基因转录产物的亚细胞定位比较特殊, 主要存在于细胞核内, 细胞质中分布很少. Wilusz等[48]发现MALAT1在转录的过程中可产生一种仅含61个核苷酸的非编码MALAT1相关胞浆小RNA(MALAT1-associated small cytoplasmic RNA, mascRNA), mascRNA可被转运到细胞质中, MALAT1的初级转录产物经过RNA酶剪切可形成mascRNA. 由此可见, MALAT1特殊的亚细胞结构定位决定了其在细胞内功能的多样性, 主要涉及SR蛋白(serine/arginine rich protein, SR protein)的招募和磷酸化、基因的表达调控、mRNA前体的剪切和修饰以及神经突触的形成等重要生理过程.

近年来诸多研究表明, 在结直肠癌、胰腺癌、肝癌和食管癌等多种消化系统肿瘤中均有不同程度的MALAT1异常表达. Xu等[49]发现, 在*MALAT1*基因的3'端存在一段长约1524个核苷酸的特殊序列, 其与结直肠癌细胞SW480、SW620的转移行为直接相关, 通过实验证实下调*MALAT1*基因可有效抑制肿瘤细胞的转移. AKAP9蛋白是γ微管蛋白复合体(γTuRCs)的重要成员, 在纺锤体的极化过程中起着至关重要的作用, 其功能丧失会导致成核失败、中心体与高尔基体复合异常, 进而导致肿瘤发生[50]. 有研究表明*AKAP9*作为*MALAT1*调控基因表达的一种靶基因, 参与了结直肠癌的发生、发展和转移等过程, 有望成为临床检测诊断结直肠癌的新型生物标志物和治疗的新靶点.

2.2 HOTAIR与结直肠癌 HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)定位于12q13.13, 全长2.3 kb, 是第一个被发现的具有反式转录调控作用的lncRNA. 研究表明, HOTAIR可同时结合在多梳抑制复合体2(polycomb

表 1 结直肠癌组织中常见异常表达的lncRNA

lncRNA	基因位点	长度(kb)	生物学功能	参考文献
CCAT1	8q24.21	2.4	上调c-Myc, 促进肿瘤细胞增殖和迁移	[10-12]
H19	11q15.5	2.3	促癌和抑癌双重功能	[13-20]
HOTAIR	12q13.13	2.3	招募PCR2和LSD1复合体到HOXD,沉默HOXD, 促癌	[21-27]
MALAT1	11q13.1	8.7	调节内源性靶基因的可变剪接, 表观遗传水平调控基因表达, 促癌	[28-32]
MEG3	14q32.2	1.6-1.8	促进*P53*基因表达, 抑制肿瘤增值	[33-37]
OCC-1	12q23.3	1.4	促进细胞增殖, 促癌	[38-40]
PTENP1	9p21	3.9	与miRNA竞争性结合调控细胞的生长发育, 缺失可导致肿瘤发生	[41-43]
UCA1	19p13.12	1.4	影响细胞生长发育, 促进肿瘤侵袭	[44-46]

■相关报道

Pibouin等在结肠癌细胞系TC7中发现了lncRNA-OCC-1的过表达, 通过体外实验证明OCC-1 cDNA可编码数种多肽. lncRNA表达水平上的差异以及某些肿瘤中特异型lncRNA的表达, 预示着lncRNA可作为一些肿瘤临床诊断和治疗的新型分子标志物, 如lncRNA DD3(PCA3)已被证实可作为前列腺癌高度特异的核算分子标志物, 其特异性高于血清前列腺特异性抗原. Gibb等研究发现了人类正常组织及癌组织的lncRNA转录谱, 认为在肿瘤中普遍存在lncRNA的异常表达.

repressive complex 2, PRC2)和组蛋白去甲基化酶复合体上, 并介导这2种复合体结合到相应特异性的基因组位点, 分别使染色体组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基化(histone H3 tri-methylated at lysine 27, H3K27me3)和组蛋白H3第4位赖氨酸二甲基化(histone H3 dimethyl Lys4, H3K4me2), 继而导致基因沉默[51]. 临床研究表明, 乳腺癌、结肠癌和肝癌等肿瘤组织中HOTAIR的表达水平与肿瘤的转移、复发以及预后紧密相关[52]. 高表达HOTAIR能够抑制相关肿瘤转移抑制基因的表达, 促进肿瘤的转移和恶变; 而下调HOTAIR的表达则可以降低肿瘤细胞的转移侵袭能力[53].

Kogo等[54]对结直肠肿瘤与HOTAIR之间的关系进行了研究, 发现在结直肠癌组织中HOTAIR的表达水平与结直肠癌术后的预后呈正相关. 体外实验证实上调HOTAIR的表达量能显著增加结直肠肿瘤细胞的侵袭能力; 此外, 通过基因探针富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)发现, HOTAIR可结合并介导PRC2结合于特定的基因位点而使相关的基因沉默, 加速肿瘤细胞的生长、侵袭和转移. Niinuma等[55]研究发现HOTAIR的过表达与胃肠间质瘤的转移有密切关系, 高表达HOTAIR能抑制GIST细胞的侵袭能力, 从而抑制胃肠间质瘤的恶化和转移. 以上现象说明*HOTAIR*基因不仅与上皮细胞来源肿瘤的转移和侵袭能力相关, 而且与间质瘤的侵袭和转移也有密切关系. 通过多因素综合分析表明HOTAIR还可作为预测肿瘤患者生存期的独立危险因素, 拓宽了HOTAIR与肿瘤之间的关系.

2.3 H19与结直肠癌 *H19*基因定位于人类染色体11p15.5, 全长约2.3 kb, 包含5个外显子和4个内含子, 是一种母源性印迹基因. 在*H19*基因的上游4 kb处有一段区域被称为差异甲基化区(differentially methylated domain, DMD), 即印迹控制区(imprinting control region, ICR)[56], 其可参与调控*H19*基因的表达, H19作为印记基因网络的反式调控者参与调节细胞的生长、发育、增殖、分化和凋亡. 近年来, 许多研究表明H19基因的表达异常与食道癌、胃癌、结直肠癌和肝癌等多种消化系肿瘤有关, 其通过多种作用机制在机体内发挥着癌基因和抑癌基因的双重功能[57].

Tsang等[58]在结直肠癌的研究中发现, *H19*基因的促癌作用是通过抑制抑癌基因-视网膜母细胞瘤基因(retinoblastoma, *RB*)的表达来实现的, 而此过程又与miR-675有着密切的关系, 分析发现H19其实是miR-675的前体, H19通过结合于RB mRNA的3'端非翻译区, 抑制mRNA的翻译, 从而抑制*RB*基因的表达, 促进肿瘤细胞的生长. 由此可见, H19在结直肠癌中发挥了类似癌基因的生物学作用. 相反, Yoshimizu等[59]在研究小鼠结肠癌、畸胎瘤和肝癌模型时发现, 敲除*H19*基因后, 肿瘤的生长速度加快, 侵袭转移能力增强, 这表明H19在肿瘤的发生过程中起抑癌基因的作用. 最新的研究显示, P53、HIF1-α和H19之间也存在着一定的相关性, 通过体外实验证实, 在过表达HIF1-α的同时抑制*P53*基因的表达可协同提高肿瘤细胞中H19的表达水平[57].

2.4 MEG3与结直肠癌 母系印记表达基因3(maternally expressed gene 3, *MEG3*)定位于14q32.2, 是第一个被发现具有肿瘤抑制功能的lncRNA. MEG3仅含有10个外显子, 由于剪接方式的不同, 到目前为止共发现12个MEG3表型, 每个表型包含共同的外显子1-3和8-10, 而外显子4-7则有不同的链接方式. 在结构上, 12个不同表型的MEG3均具有3个明显的二级结构域; 功能上, MEG3能与cAMP、P53、鼠双微基因2(murine double mimute 2, *MDM2*)和生长分化因子

■**创新盘点**
本文就lncRNA在结直肠癌中的作用及研究进展进行综述，为临床预防、诊断和治疗结直肠癌提供新策略. 较为全面的描述了lncRNA在结直肠癌发生过程中的病理生理作用. 有较好的创新性.

15(growth differentiation factor 15, GDF15)相互作用，下调MDM2的水平，减少P53降解，同时增加P53与GDF15启动子的结合，促进细胞增殖抑制剂GDF15的转录和翻译，从而抑制肿瘤的发生和发展[60].

已有研究报道，在结直肠癌、肝癌和神经胶质瘤等多种癌症类型中MEG3存在异常CpG甲基化，导致其表达下调甚至缺失，进而导致细胞和血管异常增生，加速肿瘤的转移和恶变[61]. 此外，MEG3本身的表达也受到表观遗传学的调控，其表达的下调或缺失与肿瘤的分级和预后也存在强烈的相关性[62]. 由此可见，MEG3与表观遗传、miRNA之间存在复杂的网络调控关系，而其中的具体调控机制还有待进一步的研究.

3 结论

目前对lncRNA在结直肠癌中的研究还比较少，主要集中在lncRNA的表达及功能方面的研究，lncRNA影响肿瘤的发生、发展、转移和凋亡等机制仍不清楚. 随着人们对lncRNA与结直肠癌关系研究的不断深入，越来越多的lncRNA会相继被发现，其异常表达对结直肠癌的影响机制也将被一步步揭示，而这些异常表达的lncRNA则可能成为结直肠癌早期诊断的重要检测指标. 此外，lncRNA具有天然、无毒性、内源性和多水平调控基因表达等特点，在结直肠癌的分子靶向治疗和药物研发等方面有着巨大的发展空间，有望为恶性肿瘤的预防、诊断、治疗和预后提供新思路，开辟新途径.

4 参考文献

1 Ernst C, Morton CC. Identification and function of long non-coding RNA. *Front Cell Neurosci* 2013; 7: 168 [PMID: 24106460 DOI: 10.3389/fncel.2013.00168]

2 Roberts TC, Morris KV, Weinberg MS. Perspectives on the mechanism of transcriptional regulation by long non-coding RNAs. *Epigenetics* 2013 Oct 22. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24149621 DOI: 10.4161/epi.26700]

3 Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS, Dinger ME. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 2419-2425 [PMID: 23660942 DOI: 10.1038/bjc.2013.233]

4 Louro R, Smirnova AS, Verjovski-Almeida S. Long intronic noncoding RNA transcription: expression noise or expression choice? *Genomics* 2009; 93: 291-298 [PMID: 19071207 DOI: 10.1016/j.ygeno.2008.11.009]

5 Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell* 2009; 136: 629-641 [PMID: 19239885 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.006]

6 Shi X, Sun M, Liu H, Yao Y, Song Y. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *Cancer Lett* 2013; 339: 159-166 [PMID: 23791884 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.06.013]

7 邵永富，蒋孝明，朱梦颖，杨芳，鲁旭文，郭俊明. 长链非编码RNA在消化系统肿瘤发生中的作用. 中国细胞生物学学报 2013; 35: 137-140

8 Pibouin L, Villaudy J, Ferbus D, Muleris M, Prospéri MT, Remvikos Y, Goubin G. Cloning of the mRNA of overexpression in colon carcinoma-1: a sequence overexpressed in a subset of colon carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 133: 55-60 [PMID: 11890990 DOI: 10.1016/s0165-4608(01)00634-3]

9 Gibb EA, Enfield KS, Stewart GL, Lonergan KM, Chari R, Ng RT, Zhang L, MacAulay CE, Rosin MP, Lam WL. Long non-coding RNAs are expressed in oral mucosa and altered in oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 2011; 47: 1055-1061 [PMID: 21835683 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2011.07.008]

10 Kam Y, Rubinstein A, Naik S, Djavsarov I, Halle D, Ariel I, Gure AO, Stojadinovic A, Pan H, Tsivin V, Nissan A, Yavin E. Detection of a long non-coding RNA (CCAT1) in living cells and human adenocarcinoma of colon tissues using FIT-PNA molecular beacons. *Cancer Lett* 2013 Feb 14. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23416875 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.014]

11 Yang F, Xue X, Bi J, Zheng L, Zhi K, Gu Y, Fang G. Long noncoding RNA CCAT1, which could be activated by c-Myc, promotes the progression of gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 437-445 [PMID: 23143645 DOI: 10.1007/s00432-012-1324-x]

12 Alaiyan B, Ilyayev N, Stojadinovic A, Izadjoo M, Roistacher M, Pavlov V, Tzivin V, Halle D, Pan H, Trink B, Gure AO, Nissan A. Differential expression of colon cancer associated transcript1 (CCAT1) along the colonic adenoma-carcinoma sequence. *BMC Cancer* 2013; 13: 196 [PMID: 23594791 DOI: 10.1186/1471-2407-13-196]

13 Ma N, Zhou L, Zhang Y, Jiang Y, Gao X. Intragenic microRNA and long non-coding RNA: novel potential regulator of IGF2-H19 imprinting region. *Evol Dev* 2014; 16: 1-2 [PMID: 24393462 DOI: 10.1111/ede.12057]

14 Monnier P, Martinet C, Pontis J, Stancheva I, Ait-Si-Ali S, Dandolo L. H19 lncRNA controls gene expression of the Imprinted Gene Network by recruiting MBD1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 20693-20698 [PMID: 24297921 DOI: 10.1073/pnas.1310201110]

15 Bi HS, Yang XY, Yuan JH, Yang F, Xu D, Guo YJ, Zhang L, Zhou CC, Wang F, Sun SH. H19 inhibits RNA polymerase II-mediated transcription by disrupting the hnRNP U-actin complex. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830: 4899-4906 [PMID: 23811339 DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.06.026]

16 Carrell DT. Aberrant methylation of the H19 imprinting control region may increase the risk of spontaneous abortion. *Epigenomics* 2013; 5: 23-24 [PMID: 23539767 DOI: 10.1371/journal.pone.0081962]

17 Chen B, Yu M, Chang Q, Lu Y, Thakur C, Ma D, Yi Z, Chen F. Mdig de-represses H19 large intergenic non-coding RNA (lincRNA) by down-regulating H3K9me3 and heterochromatin. *Oncotarget* 2013; 4: 1427-1437 [PMID: 23965803 DOI: 10.1038/nrg3170]

18 Cocchi G, Marsico C, Cosentino A, Spadoni C, Rocca A, De Crescenzo A, Riccio A. Silver-Russell syn-

drome due to paternal H19/IGF2 hypomethylation in a twin girl born after in vitro fertilization. *Am J Med Genet A* 2013; 161: 2652-2655 [PMID: 24038823 DOI: 10.1002/ajmg.a.36145]

19 Feigenberg T, Gofrit ON, Pizov G, Hochberg A, Benshushan A. Expression of the h19 oncofetal gene in premalignant lesions of cervical cancer: a potential targeting approach for development of nonsurgical treatment of high-risk lesions. *ISRN Obstet Gynecol* 2013; 2013: 137509 [PMID: 23984081 DOI: 10.1155/2013/137509]

20 Zhuang M, Gao W, Xu J, Wang P, Shu Y. The long non-coding RNA H19-derived miR-675 modulates human gastric cancer cell proliferation by targeting tumor suppressor RUNX1. *Biochem Biophys Res Commun* 2014 Jan 2. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24388988 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.12.126]

21 Ishibashi M, Kogo R, Shibata K, Sawada G, Takahashi Y, Kurashige J, Akiyoshi S, Sasaki S, Iwaya T, Sudo T, Sugimachi K, Mimori K, Wakabayashi G, Mori M. Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primary hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 946-950 [PMID: 23292722 DOI: 10.3892/or.2012.2219]

22 Sørensen KP, Thomassen M, Tan Q, Bak M, Cold S, Burton M, Larsen MJ, Kruse TA. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker of metastasis in estrogen receptor-positive primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 142: 529-536 [PMID: 24258260 DOI: 10.1007/s10549-013-2776-7]

23 Chen FJ, Sun M, Li SQ, Wu QQ, Ji L, Liu ZL, Zhou GZ, Cao G, Jin L, Xie HW, Wang CM, Lv J, De W, Wu M, Cao XF. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis and poor prognosis. *Mol Carcinog* 2013; 52: 908-915 [PMID: 24151120 DOI: 10.1002/mc.21944]

24 Endo H, Shiroki T, Nakagawa T, Yokoyama M, Tamai K, Yamanami H, Fujiya T, Sato I, Yamaguchi K, Tanaka N, Iijima K, Shimosegawa T, Sugamura K, Satoh K. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e77070 [PMID: 24130837 DOI: 10.1371/journal.pone.0077070]

25 He X, Bao W, Li X, Chen Z, Che Q, Wang H, Wan XP. The long non-coding RNA HOTAIR is upregulated in endometrial carcinoma and correlates with poor prognosis. *Int J Mol Med* 2014; 33: 325-332 [PMID: 24285342 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1570]

26 Li Z, Li C, Liu C, Yu S, Zhang Y. Expression of the long non-coding RNAs MEG3, HOTAIR, and MALAT-1 in non-functioning pituitary adenomas and their relationship to tumor behavior. *Pituitary* 2014 Jan 28. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24469926 DOI: 10.1007/s11033-013-2852-4]

27 Liu Z, Sun M, Lu K, Liu J, Zhang M, Wu W, De W, Wang Z, Wang R. The long noncoding RNA HOTAIR contributes to cisplatin resistance of human lung adenocarcinoma cells via downregualtion of p21(WAF1/CIP1) expression. *PLoS One* 2013; 8: e77293 [PMID: 24155936 DOI: 10.1371/journal.pone.0077293]

28 Gutschner T, Hämmerle M, Diederichs S. MALAT1 -- a paradigm for long noncoding RNA function in cancer. *J Mol Med* (Berl) 2013; 91: 791-801 [PMID: 23529762 DOI: 10.1007/s00109-013-1028-y]

29 Miyagawa R, Tano K, Mizuno R, Nakamura Y, Ijiri K, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y, Mayeda A, Hirose T, Akimitsu N. Identification of cis- and trans-acting factors involved in the localization of MALAT-1 noncoding RNA to nuclear speckles. *RNA* 2012; 18: 738-751 [PMID: 22355166 DOI: 10.1261/rna.028639.111]

30 Han Y, Liu Y, Zhang H, Wang T, Diao R, Jiang Z, Gui Y, Cai Z. Hsa-miR-125b suppresses bladder cancer development by down-regulating oncogene SIRT7 and oncogenic long non-coding RNA MALAT1. *FEBS Lett* 2013; 587: 3875-3882 [PMID: 24396870 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.10.023]

31 Leucci E, Patella F, Waage J, Holmstrøm K, Lindow M, Porse B, Kauppinen S, Lund AH. microRNA-9 targets the long non-coding RNA MALAT1 for degradation in the nucleus. *Sci Rep* 2013; 3: 2535 [PMID: 23985560 DOI: 10.1038/srep02535]

32 Weber DG, Johnen G, Casjens S, Bryk O, Pesch B, Jöckel KH, Kollmeier J, Brüning T. Evaluation of long noncoding RNA MALAT1 as a candidate blood-based biomarker for the diagnosis of non-small cell lung cancer. *BMC Res Notes* 2013; 6: 518 [PMID: 24313945 DOI: 10.1186/1756-0500-6-518]

33 Braconi C, Kogure T, Valeri N, Huang N, Nuovo G, Costinean S, Negrini M, Miotto E, Croce CM, Patel T. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer. *Oncogene* 2011; 30: 4750-4756 [PMID: 21625215 DOI: 10.1038/onc.2011.193]

34 Jia LF, Wei SB, Gan YH, Guo Y, Gong K, Mitchelson K, Cheng J, Yu GY. Expression, Regulation and Roles of MiR-26a and MEG3 in Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Int J Cancer* 2013 Dec 16. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24343426 DOI: 10.1002/ijc.28667]

35 Kameswaran V, Bramswig NC, McKenna LB, Penn M, Schug J, Hand NJ, Chen Y, Choi I, Vourekas A, Won KJ, Liu C, Vivek K, Naji A, Friedman JR, Kaestner KH. Epigenetic Regulation of the DLK1-MEG3 MicroRNA Cluster in Human Type 2 Diabetic Islets. *Cell Metab* 2014; 19: 135-145 [PMID: 24374217 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.11.016]

36 Qin R, Chen Z, Ding Y, Hao J, Hu J, Guo F. Long non-coding RNA MEG3 inhibits the proliferation of cervical carcinoma cells through the induction of cell cycle arrest and apoptosis. *Neoplasma* 2013; 60: 486-492 [PMID: 23790166 DOI: 10.4149/neo_2013_063]

37 Sun M, Xia R, Jin F, Xu T, Liu Z, De W, Liu X. Downregulated long noncoding RNA MEG3 is associated with poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer. *Tumour Biol* 2013 Sep 5. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24006224 DOI: 10.1007/s13277-013-1142-z]

38 Chai B, Li JY, Fritze D, Zhang W, Xia Z, Mulholland MW. A novel transcript is up-regulated by fasting in the hypothalamus and enhances insulin signalling. *J Neuroendocrinol* 2013; 25: 292-301 [PMID: 22935015 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2012.02378.x]

39 Hamzeh Y, Sabbaghi S, Ashori A, Abdulkhani A, Soltani F. Improving wet and dry strength properties of recycled old corrugated carton (OCC) pulp using various polymers. *Carbohydr Polym* 2013; 94: 577-583 [PMID: 23544577 DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.01.078]

40 Zhao H, Ding Y, Tie B, Sun ZF, Jiang JY, Zhao J,

■应用要点

随着人们对lncRNA与结直肠癌关系研究的不断深入, 越来越多的lncRNA会相继被发现, 其异常表达对结直肠癌的影响机制也将被一步步揭示, 而这些异常表达的lncRNA则可能成为结直肠癌早期诊断的重要检测指标. 此外, lncRNA具有天然、无毒性、内源性和多水平调控基因表达等特点, 在结直肠癌的分子靶向治疗和药物研发等方面有着巨大的发展空间, 有望为恶性肿瘤的预防、诊断、治疗和预后提供新思路, 开辟新途径.

■同行评价
本综述较为全面的描述了lncRNA在结直肠癌发生过程中的病理生理作用. 有较好的创新性.

Lin X, Cui S. miRNA expression pattern associated with prognosis in elderly patients with advanced OPSC and OCC. *Int J Oncol* 2013; 43: 839-849 [PMID: 23787480 DOI: 10.3892/ijo.2013.1988]

41 Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 2010; 465: 1033-1038 [PMID: 20577206 DOI: 10.1038/nature09144]

42 Poliseno L, Haimovic A, Christos PJ, Vega Y Saenz de Miera EC, Shapiro R, Pavlick A, Berman RS, Darvishian F, Osman I. Deletion of PTENP1 pseudogene in human melanoma. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 2497-2500 [PMID: 21833010 DOI: 10.1038/jid.2011.232]

43 Wang CC, Huai L, Zhang CP, Jia YJ, Li QH, Chen YR, Tian Z, Tang KJ, Xing HY, Wang M, Wang JX. [Study on expression of PTEN gene and its pseudogene PTENP1 in acute leukemia and correlation between them]. *Zhonghua Xueyexue Zazhi* 2012; 33: 896-901 [PMID: 23363743 DOI: 10.1038/scibx.2013.214]

44 Tsang WP, Wong TW, Cheung AH, Co CN, Kwok TT. Induction of drug resistance and transformation in human cancer cells by the noncoding RNA CUDR. *RNA* 2007; 13: 890-898 [PMID: 17416635 DOI: 10.1261/rna.359007]

45 Fan Y, Shen B, Tan M, Mu X, Qin Y, Zhang F, Liu Y. Long non-coding RNA UCA1 increases chemoresistances of bladder cancer cells by regulating Wnt signaling. *FEBS J* 2014 Feb 5. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24495014 DOI: 10.1111/febs.12737]

46 Yang C, Li X, Wang Y, Zhao L, Chen W. Long noncoding RNA UCA1 regulated cell cycle distribution via CREB through PI3-K dependent pathway in bladder carcinoma cells. *Gene* 2012; 496: 8-16 [PMID: 22285928 DOI: 10.1016/j.gene.2012.01.012]

47 Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, Tidow N, Brandt B, Buerger H, Bulk E, Thomas M, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22: 8031-8041 [PMID: 12970751 DOI: 10.1038/sj.onc.1206928]

48 Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes Dev* 2009; 23: 1494-1504 [PMID: 19571179 DOI: 10.1101/gad.1800909]

49 Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis. *Int J Oncol* 2011; 39: 169-175 [PMID: 21503572 DOI: 10.3892/ijo.2011.1007]

50 谢林英, 胡志燕, 王晓燕, 李祖国. 长非编码MALAT1基因在人鼻咽癌细胞株的表达及生物学意义. 南方医科大学学报 2013; 33: 692-697

51 Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, Shi Y, Segal E, Chang HY. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329: 689-693 [PMID: 20616235 DOI: 10.1126/science.1192002]

52 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076 [PMID: 20393566 DOI: 10.1038/nature08975]

53 Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, Kim S, Safe S. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* 2013; 32: 1616-1625 [PMID: 22614017 DOI: 10.1038/onc.2012.193]

54 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021]

55 Niinuma T, Suzuki H, Nojima M, Nosho K, Yamamoto H, Takamaru H, Yamamoto E, Maruyama R, Nobuoka T, Miyazaki Y, Nishida T, Bamba T, Kanda T, Ajioka Y, Taguchi T, Okahara S, Takahashi H, Nishida Y, Hosokawa M, Hasegawa T, Tokino T, Hirata K, Imai K, Toyota M, Shinomura Y. Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2012; 72: 1126-1136 [PMID: 22258453 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1803]

56 Yang F, Bi J, Xue X, Zheng L, Zhi K, Hua J, Fang G. Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *FEBS J* 2012; 279: 3159-3165 [PMID: 22776265 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08694.x]

57 Zhang L, Yang F, Yuan JH, Yuan SX, Zhou WP, Huo XS, Xu D, Bi HS, Wang F, Sun SH. Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2013; 34: 577-586 [PMID: 23222811 DOI: 10.1093/carcin/bgs381]

58 Tsang WP, Ng EK, Ng SS, Jin H, Yu J, Sung JJ, Kwok TT. Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 350-358 [PMID: 19926638 DOI: 10.1093/carcin/bgp181]

59 Yoshimizu T, Miroglio A, Ripoche MA, Gabory A, Vernucci M, Riccio A, Colnot S, Godard C, Terris B, Jammes H, Dandolo L. The H19 locus acts in vivo as a tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 12417-12422 [PMID: 18719115 DOI: 10.1073/pnas.0801540105]

60 Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *J Mol Endocrinol* 2012; 48: R45-R53 [PMID: 22393162 DOI: 10.1530/JME-12-0008]

61 Balik V, Srovnal J, Sulla I, Kalita O, Foltanova T, Vaverka M, Hrabalek L, Hajduch M. MEG3: a novel long noncoding potentially tumour-suppressing RNA in meningiomas. *J Neurooncol* 2013; 112: 1-8 [PMID: 23307326 DOI: 10.1007/s11060-012-1038-6]

62 Anwar SL, Krech T, Hasemeier B, Schipper E, Schweitzer N, Vogel A, Kreipe H, Lehmann U. Loss of imprinting and allelic switching at the DLK1-MEG3 locus in human hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e49462 [PMID: 23145177 DOI: 10.1371/journal.pone.0049462]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 907-914
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

紫花牡荆素诱导肝星状细胞凋亡的作用机制

田君湘

田君湘, 湘潭市第三人民医院消化内科 湖南省湘潭市 411102
田君湘, 主要从事消化病的临床治疗.
作者贡献分布: 本文由田君湘独立完成.
通讯作者: 田君湘, 主治医师, 411102, 湖南省湘潭市岳塘区板马路20号, 湘潭市第三人民医院消化内科. 373623423@qq.com
收稿日期: 2013-12-20 修回日期: 2014-01-22
接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-08

Mechanisms underlying casticin induced apoptosis of hepatic stellate cells

Jun-Xiang Tian

Jun-Xiang Tian, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Xiangtan City, Xiangtan 411102, Hunan Province, China
Correspondence to: Jun-Xiang Tian, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Xiangtan City, 20 Banma Road, Yuetang District, Xiangtan 411102, Hunan Province, China. 373623423@qq.com
Received: 2013-12-20 Revised: 2014-01-22
Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of casticin on apoptosis of hepatic stellate cells (HSCs) *in vitro* and the possible mechanisms involved.

METHODS: Rat HSC-T6 cells were cultured in high-glucose DMEM and then treated with different concentrations of casticin (0, 0.5, 1.0, and 2.0 μmol/L) for 12, 24 and 48 h. HSC-T6 apoptosis was identified by flow cytometry (FCM) and agarose gel electrophoresis. The mRNA expression of apoptosis-related genes *Fas/FasL* and *Bcl-2* was examined by RT-PCR. The expression of Caspase3 was studied by immunocytochemical staining assay (SABC).

RESULTS: Casticin treatment significantly increased the apoptosis of HSC-T6 in a dose- and time-dependent manner compared with the control group ($P < 0.01$). The highest apoptosis rate was observed in HSC-T6 cells treated with 2.0 μmol/L of casticin for 48 h (55.70% ± 5.56%). An oligonucleosomal DNA ladder was demonstrated by SABC, indicating DNA break in HSC-T6 cells. The expression of Fas/FasL mRNA was increased, while expression of Bcl-2 mRNA was reduced. After HSC-T6 cells were treated with casticin at concentrations of 0.5, 1.0, and 2.0 μmol/L for 48 h, the positive rates of Caspase3 protein expression were 12.78% ± 0.74%, 41.00% ± 1.51% and 71.33% ± 2.68%, respectively. Casticin treatment significantly increased Caspase3 protein expression in a dose- and time-dependent manner compared with the control group ($P < 0.001$).

CONCLUSION: Casticin induced apoptosis of HSC-T6 cells may involve mitochondrial pathways and Bcl-2 family proteins. Casticin might be a potential Chinese medical component for inhibiting liver fibrosis.

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

Key Words: Casticin; Hepatic stellate cell-T6; Apoptotic mechanism; *Fas/FasL*; *Bcl-2*; Caspase3

Tian JX. Mechanisms underlying casticin induced apoptosis of hepatic stellate cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 907-914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/907.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.907

摘要

目的: 探讨紫花牡荆素(casticin)促进肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)-T6凋亡的作用机制.

方法: 用终浓度为0、0.5、1.0、2.0 μmol/L的Casticin作用于HSC-T6, 于12、24、48 h后采用MTT法检测HSC-T6增殖抑制率; 24 h后收集各组细胞, 流式细胞术检测细胞周期及凋亡率; DNA琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡; RT-PCR法检测促凋亡基因*FAS/FASL* mRNA及抑凋亡基因*Bcl-2* mRNA的表达; 免疫组织化学法检测凋亡蛋白Caspase3的表达.

结果: MTT法检测显示, Casticin对HSC-T6有增殖抑制作用, 并存在浓度和时间依赖关系; 流式细胞仪检测HSC-T6凋亡, 发现2.0 μmol/L

■背景资料
肝纤维化是肝硬化的必经阶段, 而肝纤维化取决于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化. 同时人们在研究紫花牡荆素的药理作用时发现其对肝星状的增殖有抑制作用和诱导凋亡作用, 其抗肿瘤方面的作用亦是国内外学者研究的热点和焦点.

■同行评议者
李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

■研发前沿
目前尚缺乏确切有效的抗肝纤维化药物，但中药抗肝纤维化展现良好的发展前景，紫花牡荆素为马鞭草科植物的干燥成熟果实-蔓荆子提取物黄酮类化合物的一种，有着广泛的药理作用，关于其抗肝纤维化的作用，国内外研究甚少.

的Casticin作用48 h后，HSC-T6凋亡率达到最大值55.70%±5.56%，各药物组凋亡率与空白对照组比较，差异有统计学意义(P<0.05). DNA琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡，显示有特征性的DNA梯度带形成. RT-PCR法检测促凋亡基因*FAS/FASL* mRNA表达明显上调，而抑凋亡基因*Bcl-2* mRNA的表达下调. 免疫组织化学法检测凋亡蛋白Caspase3的表达明显增加，当Casticin浓度2.0 μmol/L作用48 h，其表达率71.33%±2.68%，与空白对照组比较，差异有统计学意义(P<0.05).

结论：Casticin诱导HSC-T6细胞凋亡的机制可能是通过上调*Fas/FasL*基因表达，下调*Bcl-2*，促使线粒体通透性增加，再激活Caspase3蛋白诱发细胞凋亡.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：紫花牡荆素；肝星状细胞-T6；凋亡；*Fas/FasL*；*Bcl-2*；Caspase3

核心提示：紫花牡荆素能过抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化，通过上调*Fas/FasL*基因表达，下调*Bcl-2*，促使线粒体通透性增加，再激活Caspase3蛋白诱发细胞凋亡. 其抑制HSC活化作用与抑制肝纤维化，进一步抑制肝癌密切相关.

田君湘. 紫花牡荆素诱导肝星状细胞凋亡的作用机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 907-914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/907.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.907

0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是指过多胶原纤维在肝内沉积，是各种慢性肝病向肝硬变发展的必经阶段. HF的形成是多种细胞、细胞因子及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)相互交错影响的动态变化网络. 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)被公认为是HF形成网络的核心. HSC正常状态下能合成与分泌少量的ECM，各种引起肝脏慢性损伤的病因都可激活HSC. 活化的HSC可以合成大量的胶原、非胶原性糖蛋白、蛋白多糖等，并参与胶原酶及其抑制物的合成及调节，是ECM的主要来源细胞. 因此以HSC作为靶点治疗HF成为当前研究热点[1]. 大量研究已经证实活化HSC数量减少主要通过凋亡途径；减少活化HSC数量有利于HF逆转；诱导活化HSC凋亡是抗HF的有效途径；目前尚缺乏确切有效的抗HF药物；中药抗HF展现良好的发展前景[2,3]. 紫花牡荆素(casticin)为马鞭草科植物的干燥成熟果实-蔓荆子(vitex trifolia L1)提取物黄酮类化合物的一种[4]. 本实验采用流式细胞仪与DNA琼脂糖凝胶电泳分析，证实Casticin对HSC增殖抑制和凋亡诱导作用，同时检测促凋亡基因*FAS*、抑凋亡基因*Bcl-2*与凋亡蛋白酶Caspase3，揭示Casticin对HSC-T6促凋亡作用的可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 肝星状细胞株HSC-T6由上海中医药大学提供，系SV40转染的大鼠HSC，具有活化HSC的表型. Casticin购自成都普瑞法科技开发公司(纯度>98%)；小牛血清为杭州四季青生物制品有限公司生产；甲氮甲唑篮(MTT)购自Sigma公司；二甲基亚砜(DMSO)为美国Amresco公司产品；Fas、Bcl-2引物由上海生工合成；逆转录-多聚酶链反应试剂盒试剂盒购自Promega公司；兔抗大鼠Caspase3单克隆抗体及SABC免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养：肝星状细胞株HSC-T6置37 ℃、50 mL/L CO_2的培养箱中，用含100 mL/L小牛血清以及青链霉素各100 kU/L的DMEM(高糖)培养液培养，倒置显微镜观察细胞生长情况，2.5 g/L胰蛋白酶消化传代，取对数生长期细胞用于实验.

1.2.2 MTT比色法：将Casticin用DMSO助溶，用基础培养基依次对半稀释成3个梯度的母液，调整各浓度中DMSO助溶剂质量浓度相同. 取对数生长期细胞，以每孔0.2 mL(约0.3×10^4个/孔)接种于96孔板，培养24 h待细胞贴壁后，分别加入不同终浓度分别为0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin，对照组加100 μL完全培养基，另设空白对照组(只加培养基，无细胞). 每个剂量组设5个复孔，其中DMSO终浓度为2.5 g/L，将各组细胞继续培养12、24、48 h. 在规定时间，每孔加入20 μL MTT(5 g/L)，继续培养4 h后倾去培养液，加入DMSO 0.2 mL/孔，平板震荡器振荡5 min，充分溶解蓝紫色颗粒，空白孔调零，用酶标仪以490 nm波长测定各组细胞吸光度(A)值，细胞增殖抑制率 = (1-实验组平均A值/对照组平均A值)×100%. 重复上述实验5次.

1.2.3 流式细胞术分析细胞周期及检测凋亡率：采用PI荧光染色法. 将Casticin作用24 h后的各组培

养瓶内HSC收集于离心管中, 贴壁的细胞消化后与原瓶的悬浮细胞混合, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 冷磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2-7.4)洗涤2次, 调整为1×10^6/mL, 预冷700 mL/L乙醇(注意边加边振荡, 以免细胞成团), 4 ℃过夜, PBS洗涤2次去除固定液, 加200 μL RNA酶, 37 ℃水浴30 min, 300目尼龙网过滤, 再加800 μL PI染色液混匀, 4 ℃避光染色30 min, 每组重复4次, 上机检测. 采用流式细胞仪对样品进行检测, 每次计细胞数6000个, 记录激发波长488 nm处红色荧光, 流式细胞仪分析不同DNA含量的细胞分布, 用分析软件CellQuest检测凋亡率, 低于G_1期的细胞(亚G_1期)为凋亡细胞, 其占细胞总数的比例为凋亡细胞比例. 用ModFilLT软件进行处理, 计算各周期细胞比例.

1.2.4 琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡: 用TBE(1 mmol/L EDTA, pH 8.0, 45 mmol/L Tris-硼酸)缓冲液配制1.8%琼脂糖凝胶. 在微波炉内煮沸至琼脂糖溶解, 待冷却至60 ℃时, 加入溴化乙锭(10 mg/mL)使其终浓度为0.5 g/L, 混匀后灌胶, 待胶凝因后放入含TBE电泳液的电泳槽内, 使TBE液盖过凝胶, 取10-15 μL提取的各组DNA样品液与上样缓冲液(含0.25%溴酚兰, 4%蔗糖)按4∶1比例混匀后点样, 60 V电泳1 h, 用紫外线透射仪观察梯形条带, 并摄影.

1.2.5 RT-PCR测定Casticin对HSC-T6基因*Fas* mRNA和*Bcl-2* mRNA表达: Fas上游引物为5'-ATCACAAAGGACAGGCAC-3', 下游引物为5'-TAGGGTTCAGGACTTTCA-3', 大小364 bp; Bcl-2上游引物为5'-CGGGAGGAGCACATTCA-GA-3', 下游引物为5'-AGTAGAAGGCAGAC-CAGAC-3', GAPDH上游引物为5'-ACCA-CAGTCCATGCCATCAC-3', 下游引物为5'-TC-CACCACCCTGTTGCTG-3', 大小450 bp, 均由上海生工合成. 提取细胞总RNA, 采用Promega试剂盒逆转录为cDNA. 逆转录条件: 42 ℃ 10 min, 95 ℃ 5 min, 4 ℃ 5 min, 瞬时离心后4 ℃保存. -20 ℃保存. 取逆转录产物进行PCR, 检测Fas mRNA和Bcl-2 mRNA表达, β-actin为内参照. PCR复合扩增条件: 95 ℃预变性4.5 min, 94 ℃变性60 s, 54 ℃退火60 s, 72 ℃延伸60 s, 共35个循环, 最后72 ℃延伸10 min. 用Gel-Doc1000型紫外凝胶图像分析仪自带软件分析Fas、Bcl-2和β-actin的扩增条带, 计算Fas、Bcl-2 mRNA表达的抑制率(survivin mRNA/β-actin mRNA)为1.

1.2.6 用免疫细胞化学法检测Caspase3蛋白的表达: 蒸馏水洗细胞爬片3 min×3次, 0.3%H_2O_2甲醇液室温浸泡30 min, 以灭活内源性过氧化物酶, PBS洗2 min×3次, 滴加正常小牛血清, 室温下20 min, 以封闭非特异性抗原. 弃去多余血清, 滴加兔抗大鼠Caspase3单克隆抗体, 湿盒内4 ℃夜, PBS洗2 min×3次, 滴加生物素化二抗, 湿盒内37 ℃温箱30 min, PBS洗5 min×3次, 滴加链霉新合素一过氧化物酶复合物, 湿盒内室温苏木素复染, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 光镜下观察, 阳性细胞为胞膜呈棕黄色. 以PBS代替抗大鼠Caspase3抗体作为阴性对照. 其结果判断: 以16D目镜测微网在400倍放大下计数网格中的阳性细胞数, 每例计数10个网格, 计算阳性细胞的百分率, 并根据每张盖玻片阳性细胞着色深浅计分, 无着色为0分(阴性), 浅黄色为1分(弱阳性), 棕黄色为2分(阳性), 棕褐色为3分(强阳性). 然后根据两者积分的乘积进行统计分析.

统计学处理 各组实验数据用mean±SD表示, 采用SPSS统计软件进行单因素方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MTT 对照组细胞体外生长活跃, 经0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin作用12、24、48 h后, HepG2细胞生长均有不同程度地减慢, 与阴性对照组比较, 不同浓度的Casticin对HSC的增殖抑制率显著升高($P<0.01$)(表1).

2.2 流式细胞仪检测细胞凋亡 用0.5、1.0、2.0 μmol/L共3种浓度的Casticin处理生长良好的肝星状细胞株12、24、48 h, 设空白对照组, 流式细胞仪检测细胞凋亡率. 结果显示, 随Casticin作用浓度和时间的增加, 凋亡率逐渐升高, 呈现量效与时效关系, 实验组与空白对照组比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$), 实验组之间不同浓度和不同时间比较差异均有统计学意义($P<0.05$); 空白对照组HSC经培养后也出现凋亡, 说明活化细胞可发生自发性凋亡. 流式细胞仪检测凋亡图表明在G_0/G_1期前出现亚二倍体峰即细胞凋亡率, 随着药物浓度的增加及作用时间的延长, 该峰呈上升趋势(表2, 图1, 2).

2.3 琼脂糖凝胶电泳检测细胞凋亡 琼脂糖凝胶电泳结果显示, 在118 bp外均可见到均匀一致的*β-actin*基因的条带; 各组在364 bp处均可见到Fas/FasL mRNA表达, 空白组HSC弱表达, 即不同浓度Casticin处理后, 其表达呈剂量依赖性增强(图3A), 其中空白组与Casticin组0.5、1.0、2.0

■相关报道
国内研究表明紫花牡荆素可以促进肺癌细胞的凋亡, 而Caspase3的抑制剂zDEVD-FMK抵消其促凋亡作用, 并发现其能下调Bcl-xl, 下调Bax及清除Bid, 从而促进肺癌细胞的凋亡.

■**创新盘点**
本文使用MTT法检测紫花牡荆素对HSC-T6增殖的抑制作用, 流式细胞仪及DNA琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡. 同时使用RT-PCR法检测Fas/FasL mRNA和Bcl-2 mRNA的表达情况. 进一步使用免疫组织化学法检测凋亡蛋白Caspase3表达, 从而证实紫花牡荆素能促进HSC-T6的凋亡, 抑制其活化.

表 1 不同浓度Casticin作用于肝星状细胞 12、24、48 h后各组凋亡率(n = 3, mean ± SD, %)

分组	12 h	24 h	48 h
对照组	2.43 ± 0.40	4.38 ± 0.51	5.89 ± 0.39
0.5 μmol/L	11.43 ± 3.91[abcd]	20.88 ± 2.07[bd]	35.43 ± 5.04[bd]
1 μmol/L	22.71 ± 3.56[ac]	33.39 ± 3.56	41.95 ± 3.92
2 μmol/L	32.28 ± 2.44[ac]	44.32 ± 3.55	55.70 ± 5.56

[a]P<0.05 *vs* 24 h; [c]P<0.05 *vs* 48 h; [b]P<0.01 *vs* 1.0 μmol/L组; [d]P<0.01 *vs* 2.0 μmol/L组.

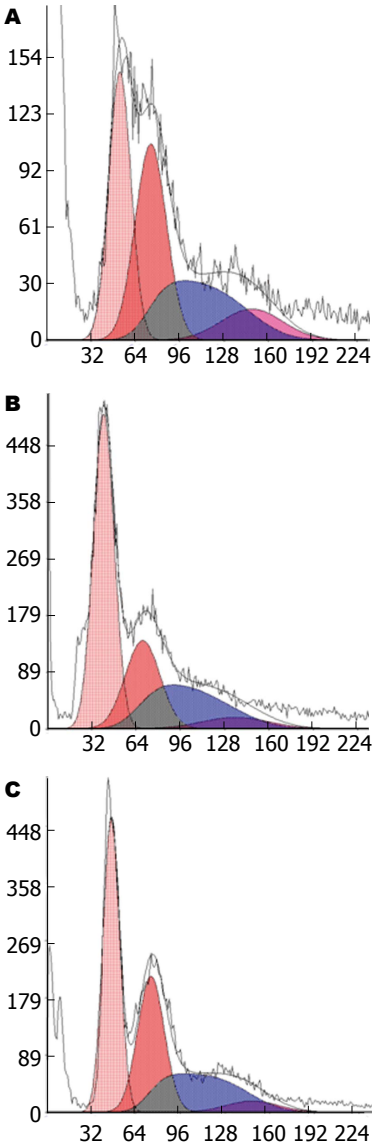


图 1 不同浓度的Casticin作用于肝星状细胞各组凋亡情况. A: 0.5 μmol/L; B: 1.0 μmol/L; C: 2.0 μmol/L.

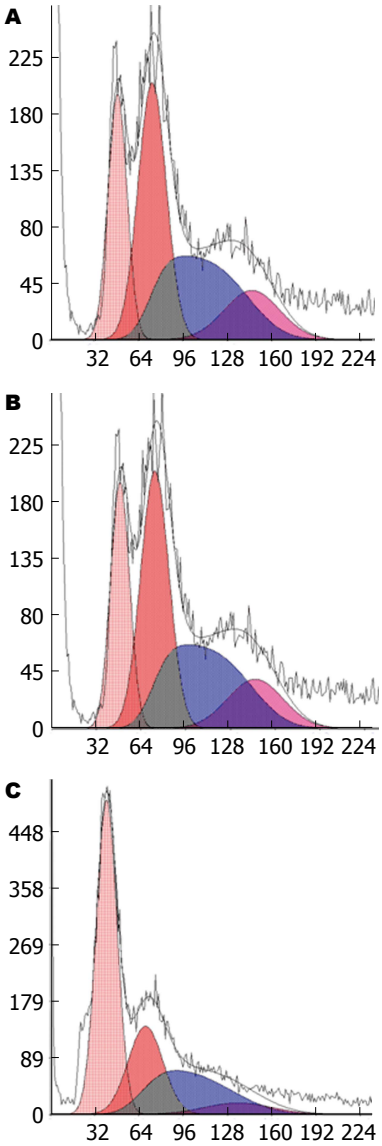


图 2 1.0 μmol/L Casticin作用12、24、48 h后肝星状细胞凋亡情况. A: 12 h; B: 24 h; C: 48 h.

μmol/L比较均有统计学意义(P<0.05); 各药物组之间比较均有差异(P<0.05).

2.4 Casticin对HSC促凋亡基因*Fas/FasL*的影响

2.4.1 不同浓度Casticin对HSC Fas/FasL mRNA表达的影响: 琼脂糖凝胶电泳结果显示, 在118 bp外均可见到均匀一致的*β-actin*基因的条带; 各组在364 bp处均可见到Fas/FasL mRNA表达, 空白组HSC弱表达, 即不同浓度Casticin处理后, 其表达呈剂量依赖性增强(图3B), 其中空白组与Casticin 0.5、1.0、2.0 μmol/L比较均有统计学意义(P<0.05); 各药物组之间比较均有差异(P<0.05).

2.4.2 Casticin处理不同时间对HSC Fas/FasL

表 2 不同浓度的Casticin作用肝星状细胞12、24、48 h后各组凋亡率 (n = 3, mean ± SD, %)

分组	12 h	24 h	48 h
空白对照	2.47 ± 0.40	4.38 ± 0.51	5.89 ± 0.39
0.5 μmol/L	11.43 ± 3.91[ae]	20.88 ± 2.07[ae]	35.43 ± 5.04[ae]
1 μmol/L	22.71 ± 3.56[ac]	33.39 ± 3.56[ac]	41.95 ± 3.92[ac]
2 μmol/L	32.28 ± 2.44[ac]	44.32 ± 3.55[a]	55.70 ± 5.56[a]

[a]P<0.05 *vs* 空白对照组; [c]P<0.05 *vs* 24, 48 h; [e]P<0.05 *vs* 1.0, 2.0 μmol/L组.

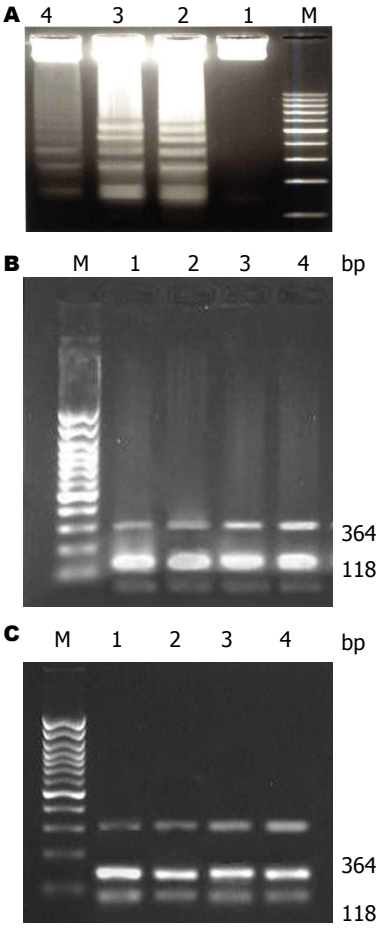


图 3 不同浓度Casticin或1.0 μmol/L Casticin处理HSC后Fas/FasL mRNA的表达. A: 不同浓度的Casticin处理HSC后Fas/FasL mRNA的表达. M: 500 bp DNA marker; 1: 空白组; 2: 0.5 μmol/L组; 3: 1.0 μmol/L; B: 不同浓度Casticin处理HSC后Fas/FasL mRNA的表达. M: 500 bp DNA marker; 1: 空白组; 2: 0.5 μmol/L组; 3: 1.0 μmol/L组; C: 1.0 μmol/L Casticin处理HSC 12、24、48 h后Fas/FasL mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: 12 h组; 3: 24 h组; 4: 48 h组. M: 500 bp DNA marker. HSC: 肝星状细胞.

mRNA的表达的影响: 实验选定1.0 μmol/L Casticin作为最佳处理浓度, 观察莪术油处理HSC不同的时间(12、24、48 h)后, 其对细胞Fas/FasL mRNA水平的影响. 实验结果表明细胞Fas/FasL mRNA的表达随时间延长而增强, 呈时间依赖性(图3C). 空白组与不同时间组比较有显著差异(P<0.05). 不同时间组内进行比较有差异(P<0.05).

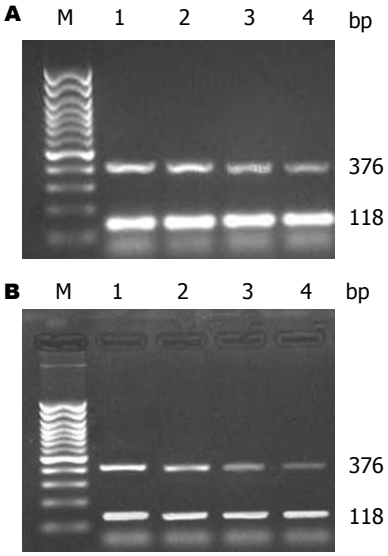


图 4 不同浓度Casticin或1.0 μmol/L Casticin不同时间作用于HSC后Bcl-2 mRNA/Bcl-2 mRNA的表达. A: 不同浓度Casticin作用于HSC后Bcl-2 mRNA的表达. M: 500 bp DNA Marker; 1: 空白组; 2: 0.5 μmol/L组; 3: 1.0 μmol/L组; B: 1.0 μmol/L Casticin作用HSC12、24、48 h后Bcl-2 mRNA的表达水平. 1: 空白对照组; 2: 12 h组; 3: 24 h组; 4: 48 h组; M: marker. HSC: 肝星状细胞.

2.5 Casticin对HSC促凋亡基因*Bcl-2*的影响

2.5.1 不同浓度Casticin对HSC Bcl-2 mRNA表达的影响: 琼脂糖胶电泳结果显示, 在118 bp处均可见到均匀一致的*β-actin*基因的条带; 各组在376 bp处均可见到Bcl-2 mRNA表达, 空白组HSC强表态, 不同浓度Casticin处理后, 空白组及Casticin 0.5、1.0、2.0 μmol/L之间比较均有统计学意义(均P<0.05), 药物组两两比较均有统计学意义(P<0.05)(图4A).

2.5.2 Casticin处理不同时间对HSC Bcl-2 mRNA的影响: 实验选定1.0 μmol/L Casticin作为最佳处理浓度, 观察Casticin处理HSC不同时间(12、24、48 h)后Bcl-2 mRNA表达水平的影响. 结果显示, 即随Casticin作用时间延长, 细胞Bcl-2 mRNA表达呈时间依赖性减弱(图4B). 与空白组比较有显著差异(P<0.05), 不同时间比较均有差异(P<0.05).

■应用要点
通过研究紫花牡荆素对HSC中Fas/FasL、Bcl-2及凋亡蛋白Caspase3表达的影响, 探讨紫花牡荆素抗肝纤维化的作用机制, 为中药在临床上用于肝纤维化治疗提供理论指导和实验依据.

■同行评价
肝纤维化是肝硬化的必经阶段，而肝纤维化取决于HSC的活化，目前尚缺乏确切有效的抗肝纤维化药物，中药抗肝纤维化展现良好的发展前景，本文通过研究紫花牡荆素对HSC中Fas/FasL、Bcl-2及凋亡蛋白Caspase3表达的影响，探讨紫花牡荆素抗肝纤维化的作用机制，为紫花牡荆素在临床上用于肝纤维化治疗提供理论指导和实验依据.

表 3 Casticin作用肝星状细胞-T6后各组凋亡蛋白酶Caspase3的阳性细胞表达率 (mean±SD, %)

分组	12 h	24 h	48 h
空白对照组	2.19 ± 0.51	4.75 ± 0.26	5.75 ± 0.34
20 μmol/L	8.53 ± 0.46[ace]	9.98 ± 0.55[a]	12.78 ± 0.73[a]
40 μmol/L	14.51 ± 0.45[acegi]	27.43 ± 1.84[agi]	41.00 ± 1.54[agi]
60 μmol/L	28.93 ± 2.37[ace]	39.12 ± 1.19[a]	71.34 ± 2.68[a]

[a]P<0.05 *vs* 空白对照组; [c]P<0.05 *vs* 24 h; [e]P<0.05 *vs* 48 h; [g]P<0.05 *vs* 20 μmol/L组; [i]P<0.05 *vs* 60 μmol/L组.

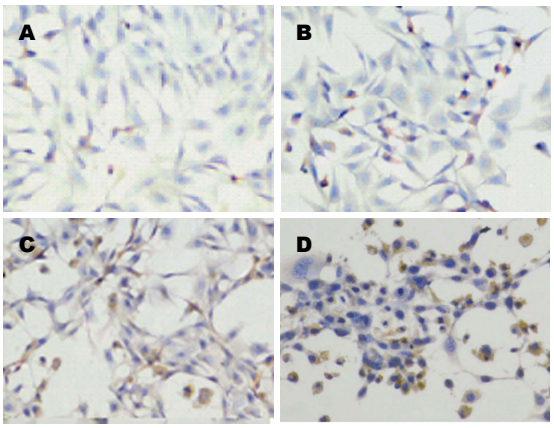


图 5 Casticin作用肝星状细胞-T6后各组凋亡蛋白酶Caspase3的表达(×400). A: 空白对照组; B: 0.5 μmol/L; C: 1.0 μmol/L; D: 2.0 μmol/L.

2.6 Casticin对HSC凋亡蛋白酶Caspase3的影响 采用免疫细胞化学法检测凋亡蛋白酶Caspase3, 0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin处理HSC-T6细胞12、24、48 h后, 细胞爬片的Caspase3蛋白免疫组化染色结果显示: 正常对照片中仅有少量细胞在细胞核中表Caspase3蛋白, 表现为细胞核有棕黄色颗粒沉积, 细胞浆及无阳性染色; 而0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin处理的细胞核中着色逐渐增多(图5); 各组Caspase3阳性率如表3, Caspase3阳性率随Casticin浓度增加及时间的延长逐渐升高, 呈现量效关系. 与空白对照组比较, 均有统计学差异(P<0.05). 组间比较P<0.01.

3 讨论

HSC作为胶原纤维和其他非胶原纤维基质蛋白的主要来源, 其活化、增殖是肝纤维化发生、发展的中心环节[5]. 当肝脏损伤使HSC活化后, 活化HSC大量增殖, 合成分泌大量ECM, 并且使组织金属蛋白酶抑制物表达增高, 胶原酶的活性降低, 造成胶原酶讲解障碍, ECM大量沉积导致肝纤维化的发生、发展[6]. 肝纤维化的损伤因素去除后常能自发逆转, HSC凋亡是此过程的关键HSC由于在肝纤维化发生、发展中的重要作用, 已成为研究肝纤维化治疗的主要靶细胞[7], 抑制HSC的活化, 促进HSC凋亡是治疗HF的理想途径[8].

大量研究已经证实, 活化HSC数量减少主要通过凋亡途径, 减少活化HSC数量有利于HF逆转, 诱导活化HSC凋亡是抗HF的有效途径, 目前尚缺乏确切有效的抗HF药物, 中药抗HF展现良好的发展前景. 迄今为止, 紫花牡荆素促进HSC株凋亡的作用机制仍不清楚. Casticin为马鞭草科植物的干燥成熟果实-蔓荆子. 提取物黄酮类化合物的一种. 各种黄酮类化合物具有广泛的抗肿瘤作用. 其相对分子质量为374.34 kDa分子式$C_{19}H_{18}O_8$. Casticin具有抗急性炎症[9], 抗菌作用, 雌激素活性[10], 止痛及抑制高催乳素血症, 并且对心血管疾病、呼吸系统也显示出一定的疗效. 目前Casticin抗肿瘤方面的作用是国内外学者研究的热点和焦点[11,12]. Casticin诱导HSC凋亡的分子机制不明确, 国内外也无相关的文献报道. 本实验用不同浓度Casticin作用于体外培养的大鼠HSC-T6, 观察HSC凋亡情况. 使用流式细胞分析法结果Casticin诱导HSC凋亡呈时间剂量依赖性, 各药物组凋亡率与空白对照组比较, 均存在统计学差异(P<0.05). 当Casticin 2.0 μmol/L作用HSC-T6 48 h, HSC-T6凋亡达到最大值55.70%±5.56%. 琼脂糖凝胶电泳中检测到有特征性DNA梯度带形成, 说明Casticin能引起细胞基因组DNA断裂, 更进一步证明Casticin能诱导体外HSC发生凋亡. 流式细胞术与琼脂糖凝胶电泳法结果表明Casticin可明显促进HSC凋亡, 作用强度呈剂量一时间依赖趋势.

HSC凋亡是一个受基因调控的主动过程, 可能由若干相关基因共同完成. FasL与靶细胞膜上特异的受体Fas结合, 启动凋亡程序, 导致细胞凋亡, 是促细胞凋亡的主要途径. Bcl-2是Bcl家族中的重要成员, *Bcl-2*基因是重要的凋亡抑制基因, 可影响细胞的生存, 对肿瘤细胞的增生有促进作用[13]. *Bcl-2*基因及其表达蛋白可以抑制多

种组织细胞凋亡, 延长细胞寿命, 被人称为“存活基因”[14]. 他主要通过自身二聚或与Bax等蛋白形成异二聚体来发挥其调控细胞凋亡的功能. Bcl-2确切抗凋亡机制尚未完全明了, 其可能机制: (1)抑制线粒体释放促凋亡蛋白; (2)抑制促凋亡蛋白bax的细胞毒性; (3)直接的抗氧化作用; (4)影响细胞的跨膜转运, 改变钙离子分布, 调节钙离子激活内切酶和谷氨酰转移酶; (5)Bcl-2阻止p53诱导的细胞凋亡[11,15-17]. 在多数HCC中Bcl-2高表达, 其阳性率明显高于癌前组织, 且HCC分化越低, Bcl-2表达越高[18,19]. Chang等[20]用pcDNA3-Bcl-2转染Fas表达阳性的BCL-7404肝癌细胞, 过度表达的Bcl-2抑制了Fas介导的细胞凋亡, 同时发现, 高表达的bax并不能对抗Bcl-2对Fas介导的细胞凋亡的抑制, 而bax是Bcl-2与Fas凋亡途径的一个重要调节物[9,21]. 同时人们研究紫花牡荆素的抗肿瘤作用过程中显示Bcl-2的下调是诱导肿瘤细胞的凋亡的关键, 若肿瘤细胞内过度表达Bcl-2, 则无法诱导其凋亡[10].

Fas是细胞凋亡信号受体, 当Fas与其特异性配体FasL相结合后, 进一步转导凋亡信号兵诱导细胞凋亡, 其与免疫逃逸机制密切相关, 因此Fas/FasL信号通路可能成为下一个肿瘤治疗目标[22-24]. 本实验采用RT-PCR检测了促凋亡基因*Fas/FasL*及抑凋亡基因*Bcl-2* mRNA的表达. 结果显示药物作用组的HSC-T6细胞*Fas/Fas*基因表达上调, *Bcl-2*表达下调, 呈浓度与时间依赖性, 与对照组相比有显著的差异(P<0.05). Casticin诱导HSC发生凋亡可能是通过作用凋亡基因实现的. Caspase家族在介导细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用, 其中Caspase3为关键的执行分子, 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶, 他在凋亡信号传导的许多途径中发挥功能[25,26]. 免疫细胞化学检测表明各药物作用组的HSC-T6细胞对Caspase3蛋白表达增加, 呈时间剂量依赖性, 与空白对照组比较, 均存在统计学差异(P<0.05), 各药物组间两两比较存在统计学差异(P<0.05). 说明Casticin诱导HSC发生凋亡最终可能是通过Caspase3执行的. 本研究结果进一步证实Casticin有诱导HSC-T6细胞凋亡作用, 其机理可能是通过上调促凋亡基因*Fas/FasL*表达, 下调抑凋亡基因*Bcl-2*, 促使线粒体通透性增加, 链锁激活Caspase3蛋白诱发细胞凋亡. 然而, HSC激活及凋亡机制复杂, 是否存在别的凋亡途径、凋亡基因与凋亡因子参与, 有待进一步研究阐明.

4 参考文献

1 Saile B, Matthes N, El Armouche H, Neubauer K, Ramadori G. The bcl, NFkappaB and p53/p21WAF1 systems are involved in spontaneous apoptosis and in the anti-apoptotic effect of TGF-beta or TNF-alpha on activated hepatic stellate cells. *Eur J Cell Biol* 2001; 80: 554-561 [PMID: 11561906]

2 Neubauer K, Saile B, Ramadori G. Liver fibrosis and altered matrix synthesis. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 187-193 [PMID: 11264572]

3 Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-S53 [PMID: 12591185 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00429-4]

4 Lin S, Zhang H, Han T, Wu JZ, Rahman K, Qin LP. In vivo effect of casticin on acute inflammation. *Zhongxiyi Jiehe Xuebao* 2007; 5: 573-576 [PMID: 17854563 DOI: 10.3736/jcim20070520]

5 Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C, Arthur MJ. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 102: 538-549 [PMID: 9691091 DOI: 10.1172/JCI1018]

6 Issa R, Williams E, Trim N, Kendall T, Arthur MJ, Reichen J, Benyon RC, Iredale JP. Apoptosis of hepatic stellate cells: involvement in resolution of biliary fibrosis and regulation by soluble growth factors. *Gut* 2001; 48: 548-557 [PMID: 11247901 DOI: 10.1136/gut.48.4.548]

7 Gressner AM. The cell biology of liver fibrogenesis - an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell Tissue Res* 1998; 292: 447-452 [PMID: 9582401]

8 Wu J, Zern MA. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis. *J Gastroenterol* 2000; 35: 665-672 [PMID: 11023037]

9 Shen JK, Du HP, Yang M, Wang YG, Jin J. Casticin induces leukemic cell death through apoptosis and mitotic catastrophe. *Ann Hematol* 2009; 88: 743-752 [PMID: 19139893 DOI: 10.1007/s00277-008-0677-3]

10 Haïdara K, Zamir L, Shi QW, Batist G. The flavonoid Casticin has multiple mechanisms of tumor cytotoxicity action. *Cancer Lett* 2006; 242: 180-190 [PMID: 16387422 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.11.017]

11 Kobayakawa J, Sato-Nishimori F, Moriyasu M, Matsukawa Y. G2-M arrest and antimitotic activity mediated by casticin, a flavonoid isolated from Viticis Fructus (Vitex rotundifolia Linne fil.). *Cancer Lett* 2004; 208: 59-64 [PMID: 15105046 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.01.012]

12 Wang HY, Cai B, Cui CB, Zhang DY, Yang BF. [Vitexicarpin, a flavonoid from Vitex trifolia L., induces apoptosis in K562 cells via mitochondria-controlled apoptotic pathway]. *Yaoxue Xuebao* 2005; 40: 27-31 [PMID: 15881322]

13 Moreno A, Figueras A, Lloveras B, Escobedo A, Griera E, Sierra A, Fabra A. Apoptosis in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast J* 2001; 7: 245-248 [PMID: 11678802 DOI: 10.1046/j.1524-4741]

14 Zamzami N, Brenner C, Marzo I, Susin SA, Kroemer G. Subcellular and submitochondrial mode of action of Bcl-2-like oncoproteins. *Oncogene* 1998; 16: 2265-2282 [PMID: 9619836 DOI: 10.1038/sj.onc.1201989]

15 Shin S, Sung BJ, Cho YS, Kim HJ, Ha NC, Hwang JI, Chung CW, Jung YK, Oh BH. An anti-apoptotic

protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7. *Biochemistry* 2001; 40: 1117-1123 [PMID: 11170436 DOI: 10.4161/cc.23407]
16 Iwamoto H, Sakai H, Tada S, Nakamuta M, Nawata H. Induction of apoptosis in rat hepatic stellate cells by disruption of integrin-mediated cell adhesion. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 83-89 [PMID: 10402063 DOI: 10.1016/S0022-213(99)90057-4]
17 Letsas KP, Frangou-Lazaridis M, Skyrlas A, Tsatsoulis A, Malamou-Mitsi V. Transcription factor-mediated proliferation and apoptosis in benign and malignant thyroid lesions. *Pathol Int* 2005; 55: 694-702 [PMID: 16271081 DOI: 10.1016/S0022-2143(99)90057-4]
18 Rossé T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998; 391: 496-499 [PMID: 9461218 DOI: 10.1038/35160]
19 Guo XZ, Shao XD, Liu MP, Xu JH, Ren LN, Zhao JJ, Li HY, Wang D. Effect of bax, bcl-2 and bcl-xL on regulating apoptosis in tissues of normal liver and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 1059-1062 [PMID: 12439925]
20 Chang YC, Xu YH. Expression of Bcl-2 inhibited Fas-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma BEL-7404 cells. *Cell Res* 2000; 10: 233-242 [PMID: 11032175 DOI: 10.1038/sj.cr.7290052]
21 George J, Banik NL, Ray SK. Bcl-2 siRNA augments taxol mediated apoptotic death in human glioblastoma U138MG and U251MG cells. *Neurochem Res* 2009; 34: 66-78 [PMID: 18357521 DOI: 10.1007/s11064-008-9659-z]
22 Tian J, Pan F, Li J, Ma Y, Cen H, Pan HF, Pan YY, Ye DQ. Association between the FAS/FASL polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 945-951 [PMID: 22631677 DOI: 10.7312JCP.2012.13.3.945]
23 Villa-Morales M, Fernández-Piqueras J. Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 85-101 [PMID: 22239437 DOI: 10.1517/14728222.2011.628937]
24 Suzuki A, Ito T, Kawano H, Hayashida M, Hayasaki Y, Tsutomi Y, Akahane K, Nakano T, Miura M, Shiraki K. Survivin initiates procaspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene* 2000; 19: 1346-1353 [PMID: 10713676 DOI: 10.1038/sj.onc.1203429]
25 Lei XY, Zhong M, Feng LF, Zhu BY, Tang SS, Liao DF. siRNA-mediated Bcl-2 and Bcl-xl gene silencing sensitizes human hepatoblastoma cells to chemotherapeutic drugs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 450-456 [PMID: 17439414 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2007.04593.x]
26 Cheng SQ, Wang WL, Yan W, Li QL, Wang L, Wang WY. Knockdown of survivin gene expression by RNAi induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 756-759 [PMID: 15655839]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 915-919
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术治疗源于固有肌层食管黏膜下肿瘤的回顾性分析

闵 寒, 陈志荣, 龚 菲, 王 皓, 周俊东, 陈巍峰

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 南京医科大学附属苏州医院 江苏省苏州市 215001
闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 苏州市立医院东区消化内科 江苏省苏州市 215001
周俊东, 苏州市立医院东区肿瘤实验室 江苏省苏州市 215001
陈巍峰, 复旦大学附属中山医院内镜中心 上海市 200032
闵寒, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤靶向治疗的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81372433
苏州市科教兴卫基金资助项目, No. SWKQ1026
作者贡献分布: 主要数据分析和文章起草由闵寒完成; 病例选择及操作由闵寒、陈志荣、龚菲、王皓及陈巍峰完成; 课题设计、文章修改和审阅由闵寒、周俊东及陈志荣完成.
通讯作者: 陈志荣, 主任医师, 硕士生导师, 215001, 江苏省苏州市白塔西路16号, 南京医科大学附属苏州医院, 苏州市立医院东区消化内科. czr88188@163.com
电话: 0512-62364012
收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-16
接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-08

Submucosal tunneling endoscopic resection of esophageal submucosal tumors originating from the muscularis propria layer: A retrospective analysis

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Jun-Dong Zhou, Wei-Feng Chen

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Jun-Dong Zhou, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China
Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), Suzhou 215001, Jiangsu Province, China
Jun-Dong Zhou, Cancer Laboratory, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), Suzhou 215001, Jiangsu Province, China
Wei-Feng Chen, Endoscopy Center, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81372433; and Suzhou Science and Education Youth Health Foundation, No. SWKQ1026
Correspondence to: Zhi-Rong Chen, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), 16 Baita Road, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China. czr88188@163.com
Received: 2013-11-25 Revised: 2014-01-16
Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To evaluate the safety and efficacy of submucosal tunneling endoscopic resection (STER) for esophageal submucosal tumors (SMTs) originating from the muscularis propria layer.

METHODS: Between April 2012 and August 2013, 5 patients with esophageal SMTs originating from the muscularis propria layer were treated by STER. The key steps were as follows: (1) creating a submucosal tunnel to uncover the tumor; (2) resecting the tumor en bloc by endoscopic resection techniques; and (3) closing the mucosal incision site after the tumor was removed.

RESULTS: STER was successfully performed in all 5 cases (success rate: 100%). The mean tumor size was 1.6 cm (range, 1.0-2.5 cm). The mean procedure time was 108.6 min (range, 80-138 min). The average hospital stay was 5.8 d (range, 5-7 d). The mean number of clips used was 7 (5-9). Pathological diagnosis of the tumors was leiomyoma (4/5) and mesenchymal tumor (1/5) with lateral and basal resection margins free of tumor tissue. During the procedure, one patient developed subcutaneous emphysema, who recovered after conservative treatment. No residual or recurrent tumors were detected during the 6-mo (4 patients) and 12-mo (1 patient) follow-up period.

CONCLUSION: STER seems to be a safe and effective procedure for treatment of esophageal SMTs originating from the muscularis propria layer, but its indications need to be further investigated.

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

Key Words: Esophagus submucosal tumors; Submucosal tunneling endoscopic resection; Muscularis propria layer

■背景资料
食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)的诊断率逐年上升, 但对于其处理方式存在着较多争议.传统外科治疗创伤较大, 近年来, 各种内镜下手术方式开始应用于食管SMTs治疗.

■同行评议者
李小荣, 教授, 中南大学湘雅三医院普外二科

■研发前沿
内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)切除食管黏膜下肿瘤与其他内镜下切除技术相比，能极大减少并发症的发生率，保障了此类病人的治疗安全，但对于这项技术开展的适应症仍存在争议.

Min H, Chen ZR, Gong F, Wang H, Zhou JD, Chen WF. Submucosal tunneling endoscopic resection of esophageal submucosal tumors originating from the muscularis propria layer: A retrospective analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 915-919 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.915

摘要

目的: 回顾性分析内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)治疗来源于固有肌层食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)的安全性和有效性.

方法: 选取2012-04/2013-08行STER治疗，来源于固有肌层食管SMTs的患者5例. 具体步骤如下: (1)建立黏膜下隧道暴露肿瘤; (2)完整剥离肿瘤; (3)移除肿瘤，关闭隧道口.

结果: 采用STER成功切除所有黏膜下肿瘤，完整切除率100%; 切除病灶直径1.0-2.5 cm，平均1.6 cm; 操作时间80-138 min，平均108.6 min; 住院天数5-7 d，平均5.8 d; 关闭隧道口用金属钛夹5-9枚，平均7枚. 术后病理诊断为平滑肌瘤4例，间叶源性肿瘤1例，切缘均为阴性. 发生皮下气肿1例，予保守治疗好转. 4例完成6 mo、1例完成12 mo随访，无一例出现病变残留或复发.

结论: STER治疗来源于固有肌层的食管SMTs是安全有效的，值得临床推广并需进一步探究其适应症.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管黏膜下肿瘤; 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术; 固有肌层

核心提示: 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection)技术在切除来源于固有肌层的食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors)有着独特的优势，是安全有效的，但作为一种新技术在适应症的选择上仍需谨慎对待，随着技术的发展和病例数的积累，需要与外科手术方式进行前瞻性对照研究.

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 陈巍峰. 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术治疗源于固有肌层食管黏膜下肿瘤的回顾性分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 915-919 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.915

0 引言

随着消化内镜技术的发展，特别是超声内镜检查的普及，食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)的诊断率逐年上升[1-4]，但对于其处理方式存在着较多争议. 鉴于其存在的潜在恶性和误诊可能，目前较多文献倾向于早期切除，但传统外科治疗创伤较大[5-7]，近年来，各种内镜下手术方式开始应用于食管SMTs治疗. 传统的内镜下技术，如内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)和内镜黏膜下挖除术(endoscopic submucosal excavation, ESE)若发生穿孔后果严重[3,4,8-12]. 为了能更安全有效地开展治疗，2011年复旦大学附属中山医院首先报道了采用内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)切除食管SMTs[13]. 近期相关研究证实与其他内镜下切除技术相比，该技术能极大减少并发症的发生率，保障了此类患者的治疗安全[14-16]，但对于这项技术开展的适应症仍存在争议[17]. 本研究回顾性分析2012-04/2013-08就诊于南京医科大学附属苏州医院消化内科的5例源于固有肌层食管SMTs的STER治疗病例，为临床推广提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-04/2013-08南京医科大学附属苏州医院(苏州市立医院东区)消化内科经胃镜和超声胃镜诊断为食管SMTs患者28例. 超声胃镜证实来源于固有肌层的5例，纳入本项研究. 其中男性3例，女性2例，年龄37-59岁，平均47.2岁. 病变位于食管中段3例，下段2例. 超声胃镜显示病变来源于浅肌层4例，深肌层1例，病变内部均呈低回声. 所有入组病例术前均签署知情同意书及手术同意书，告知可能获得的益处和风险. GIF-Q260胃镜，D-201.11802透明帽，EU-M2000内镜超声系统: 微超声探头采用UM-2R(12 MHz)和3R(20 MHz)，KD-640L三角刀，KD-620LR HOOK刀，KD-611L IT刀，NM- 200L-0423注射针，SD-5L/6L-1圈套器，FD-410LR热活检钳，HX-610-135L金属止血钛夹，日本Olympus公司. ICC-200高频电切装置和APC2氩离子凝固器，德国ERBE公司.

1.2 方法

1.2.1 STER: 气管插管麻醉后患者轻度左侧卧位，低流量吸氧2-3 L/min，保持呼吸道通畅，并在术前半小时予以静脉抗生素预防感染. 安装透明帽于胃镜头端，具体操作步骤如下: (1)建立黏膜下隧道. 在肿瘤近口侧直线距离约5 cm处以2 mL靛胭脂、1 mL肾上腺素和100 mL生理盐水

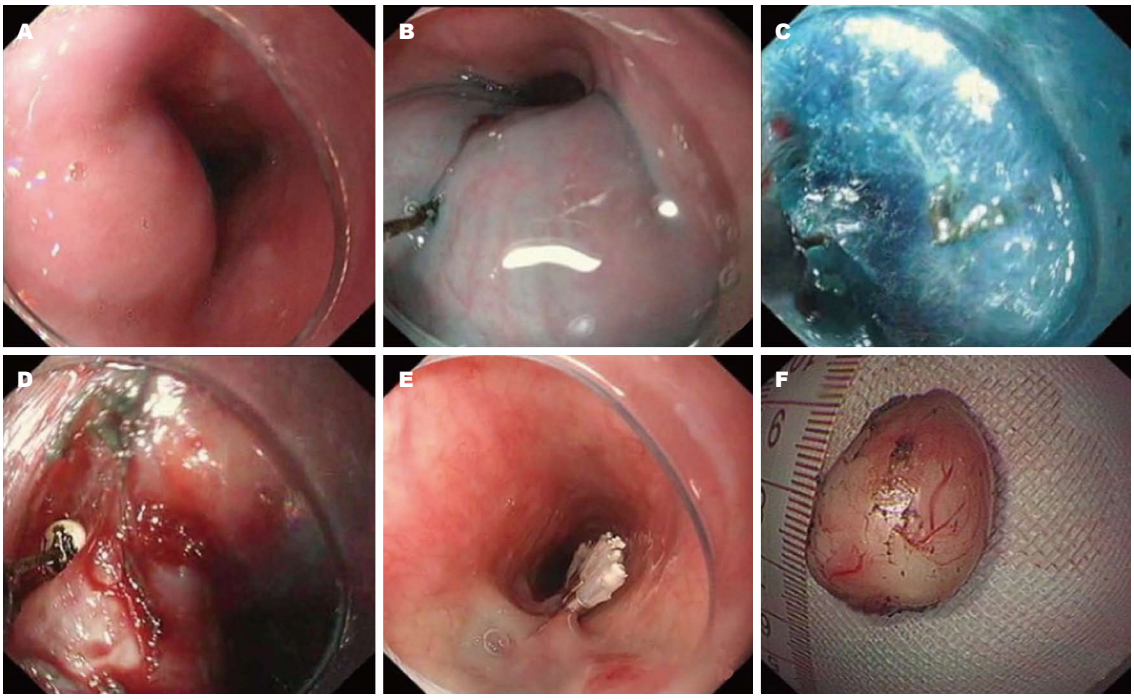


图 1 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术操作过程. A: 食管黏膜下肿瘤; B: 黏膜下注射后开隧道口; C: 建立黏膜下隧道; D: 剥离肿瘤; E: 关闭隧道口; F: 切除后肿瘤.

■相关报道
Choi等认为尽管目前报道STER治疗食管SMTs是安全有效的, 但由于缺乏与外科手术方式的对照研究, 在选择上仍需要谨慎.

的混合液进行黏膜下注射, 黏膜隆起后以三角刀纵形切开约2 cm. 内镜借助透明帽沿切口进入黏膜下, 反复黏膜下注射并用三角刀逐步分离黏膜下层, 在黏膜层和肌层之间建立隧道直至暴露瘤体. 建立隧道过程中需反复退出隧道以及时了解病灶位置, 避免隧道偏离方向. 如无法寻找到瘤体, 需要重新读片排除其他原因, 必要时中止手术; (2)剥离肿瘤. 应用IT刀及Hook刀沿瘤体周围切开, 与周围组织分离, 完整剥离肿瘤, 注意要保持瘤体包膜的完整性, 避免损伤食管外膜, 术中监测气道压力及颈部有无皮下积气体征; (3)关闭隧道. 切除后瘤体以圈套器取出, 如瘤体过大无法取出隧道, 可扩大隧道口. 取出后使用灭菌蒸馏水反复冲洗隧道, 以热活检钳电凝或氩离子凝固术处理出血灶和显露的小血管. 确认隧道内无出血, 将隧道内液体和气体吸尽, 退出隧道, 直视下用6-10枚钛夹对缝黏膜切口, 关闭隧道口. 切除后病灶送病理.

1.2.2 *术后处理和随访*: 术后观察患者有无胸闷、气急, 监测血压、脉氧等生命体征. 使用质子泵抑制剂、抗生素和止血药. 术后禁食1 d, 如第2天无不适, 可进食流质. 术后6、12 mo复查胃镜及超声胃镜, 观察创面愈合情况及病变有无残留或复发.

2 结果

本研究5例病灶均通过STER成功切除(图1), 完整切除率为100%; 切除病灶直径为1.0-2.5 cm, 平均1.6 cm; 操作时间(从黏膜下注射至黏膜隧道切口缝合完成)为80-138 min, 平均108.6 min; 关闭隧道口所用金属钛夹5-9枚, 平均7枚. 术后病理诊断为平滑肌瘤4例, 间叶源性肿瘤1例(未行免疫组织化学), 切缘均为阴性.

术中均有少量出血, 出血量50-120 mL, 经过电凝和氩离子凝固术均成功止血. 1例出现皮下气肿, 予以低流量吸氧和抗感染治疗后3 d体征消失, 行胸片检查无异常. 术后无一例出现迟发性消化系出血或纵隔感染, 无一例出现隧道内积血或感染. 术后第2天患者均能进食流质, 住院天数5-7 d, 平均5.8 d. 4例完成6 mo的随访、1例完成12 mo的随访, 切口均愈合良好, 未发现病变残留或复发.

3 讨论

食管SMTs是一种常见的食管黏膜下肿物, 以平滑肌瘤为主. 食管SMTs患者一般临床无特殊症状, 常经胃镜及超声胃镜诊断. 尽管超声胃镜对病变的大小、层次有很高的评估价值[1-3], 但目前对于病变良恶性的鉴别尚缺乏有效的无创手

■创新盘点
本文不仅对该技术应用的安全性和有效性进行了回顾性研究, 而且深入地对治疗适应症和存在的争议进行了探讨.

段, 且存在误诊可能[18], 因此目前大都建议尽早切除明确病理[5,6,15].

对于来源于固有肌层食管SMTs的治疗以往一般采用外科手术[5-7], 但创伤较大, 对于无症状患者风险效益比争论较多. 近年来通过内镜技术的发展, 可以通过ESD、ESE等技术完成该类病变的内镜下切除[8-12]. 但由于病变与肌层关系密切, 极易发生穿孔, 且出现的穿孔创面难以进行有效闭合, 后果严重. 为了克服一般内镜切除技术的缺点, STER技术由经口内镜下贲门括约肌切断术发展而来[19-21]. 其通过隧道内剥离病灶, 既能完整切除肿瘤, 又能通过完整的“黏膜安全瓣”降低术后出现食管瘘和胸腔感染的可能[13,22-24]. 本研究5例病变均通过STER技术成功切除, 完整切除率100%, 且无一例术后严重并发症的发生, 这一结果和国内外相关研究结果是相符合的[13-16,25,26], 说明这项技术对于治疗来源于固有肌层的食管SMTs还是安全有效的. 但STER作为一种新兴的内镜技术, 发展时间较短, 仍存在一些值得继续探究的问题. 主要有以下几点: (1)适应症: 对于STER的适应症, 目前尚没有明确. 从现有的临床报道看有以下几点限制: 病变大小一般在3 cm以下, 如过大只能分片取出, 极易发生隧道内种植[16,17]. 本研究切除病灶直径1.0-2.5 cm, 平均1.6 cm, 均能完整切除并取出; 由于需要在病灶近口侧端约5 cm处建立隧道, 所以一般病灶位置以中下段为主, Choi等[17]认为病灶位置应低于食管上括约肌下方5 cm; 辅助检查提示肿瘤边界清楚, 质地均匀; 无消化系外侵犯和胸腹腔转移征象; (2)穿孔的处理: 术中如损伤食管外膜或穿孔常出现如皮下气肿、气胸或纵隔气肿等临床症状. 现有文献报道发生率约0-16.7%[15,16,26], 本项研究中1例出现皮下气肿, 可能与术中食管外膜损伤有关. 使用CO_2气泵可以加快气体的吸收, 因此CO_2气泵对于安全开展STER非常重要; (3)出血的估计和处理: 对于出血的估计, Kikuchi等[27]研究发现超声胃镜对于黏膜下血管的分级可以很好的估计胃ESD术中出血的可能性, 是否这也同样适用于食管SMTs还有待进一步研究. 对于出血的术中处理, 本研究出血量50-120 mL, 均成功止血, 但有个别报道出血量可达500 mL[28], 可能与病变位置有关, 但仍需要术中避免和及时处理大血管[29]; (4)保持“黏膜安全瓣”的完整性: 安全瓣的完整性是该技术开展的核心, 如果术中黏膜面发生破损, 病灶无法明确分离, 应及时中止手术或尽早采用黏膜缝合技术[14]. 同时避免为了定位肿瘤而进行的不必要的黏膜面注射和标记等操作, 以防造成潜在的穿孔风险.

总之, STER技术在切除来源于固有肌层的食管SMTs有着独特的优势, 是安全有效的, 但作为一种新技术在适应症的选择上仍需谨慎对待[17]. 本研究纳入的研究较少, 有一定局限性, 随着病例数的积累和技术的发展, 需要进一步与外科手术方式(如单纯胸腔镜、胃镜联合胸腔镜等)[30]进行前瞻性对照研究, 并对于远期疗效以及适应症不断探究.

4 参考文献

1 陈广侠, 姜葵, 王邦茂, 方维丽, 刘文天, 郑忠青. 超声内镜对上消化道黏膜下隆起型病变的诊断价值. 中国内镜杂志 2012; 18: 55-58

2 邹传鑫, 谢明, 戴绍军, 汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21: 484-489

3 朱薇, 辛小敏, 郭文, 白杨, 程天明, 姚永莉, 智发朝, 刘思德. 食管黏膜下肿物的特性以及超声内镜的诊断和治疗意义. 胃肠病学 2013; 18: 163-165

4 Landi B, Palazzo L. The role of endosonography in submucosal tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 679-701 [PMID: 19744633 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.05.009]

5 马超, 赵辉, 张磊, 李运, 刘军, 李剑锋, 王俊. 食管平滑肌瘤的微创手术治疗. 中国微创外科杂志 2004; 4: 23-25

6 刘铭, 杨康, 廖克龙, 曾会昌, 王明荣. 食管平滑肌瘤的诊断和手术治疗的特点. 第三军医大学学报 2005; 27: 2467-2468

7 刘峰, 张志庸, 李单青, 李力. 食管平滑肌瘤的诊断及外科处理. 现代预防医学 2007; 34: 2577-2578

8 周平红, 姚礼庆, 徐美东, 陈巍峰, 钟芸诗, 马黎丽, 张轶群, 秦新裕. 消化道黏膜下肿瘤的内镜黏膜下挖除术治疗. 中国医疗器械信息 2008; 14: 3-5,9

9 孙会会, 陈莹, 许树长, 王志荣, 张霞. 内镜黏膜下剥离术在上消化道相关病变的应用. 中国内镜杂志 2012; 18: 799-804

10 洪捷敏, 林琪, 尹雪, 张佩翡, 沈炜鋆, 沃海娜. 内镜黏膜下剥离或挖除术治疗消化道黏膜下肿瘤. 现代实用医学 2013; 25: 260-261, 313

11 曾斌, 戴勇, 廖爱军, 石巍. 超声内镜诊断食管黏膜下肿瘤并行内镜下微创治疗的疗效观察. 中国内镜杂志 2012; 18: 942-945

12 杨维忠, 温必盛, 赖雪珍, 庞华兰, 徐艺华, 陈晓莉. 内镜黏膜下挖除术治疗食管固有肌层肿瘤12例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3569-3571

13 徐美东, 姚礼庆, 周平红, 蔡明琰, 钟芸诗, 陈巍峰, 张轶群, 马丽黎, 秦文政, 胡健卫, 任重, 陈世耀. 经黏膜下隧道内镜肿瘤切除术治疗源于固有肌层的上消化道黏膜下肿瘤初探. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 606-610

14 Inoue H, Ikeda H, Hosoya T, Onimaru M, Yoshida A, Eleftheriadis N, Maselli R, Kudo S. Submucosal endoscopic tumor resection for subepithelial tumors in the esophagus and cardia. *Endoscopy* 2012; 44: 225-230 [PMID: 22354822 DOI: 10.1055/

s-0031-1291659]
15 Ye LP, Zhang Y, Mao XL, Zhu LH, Zhou XB, He SQ, Chen JY, Jin X. Submucosal tunnelling endoscopic resection for the treatment of esophageal submucosal tumours originating from the muscularis propria layer: an analysis of 15 cases. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 119-123 [PMID: 22989470 DOI: 10.1016/j.dld.2012.08.010]
16 Gong W, Xiong Y, Zhi F, Liu S, Wang A, Jiang B. Preliminary experience of endoscopic submucosal tunnel dissection for upper gastrointestinal submucosal tumors. *Endoscopy* 2012; 44: 231-235 [PMID: 22354823 DOI: 10.1055/s-0031-1291720]
17 Choi HS, Chun HJ. Usefulness of tunnel dissection for upper gastrointestinal submucosal tumors. *Endoscopy* 2012; 44: 801; author replies 802, 803 [PMID: 22833027 DOI: 10.1055/s-0032-1309845]
18 贾国葆, 周艳, 吴亮, 黄智铭. 食管间叶源性肿瘤的胃镜、超声内镜、免疫组织化学和临床病理特征. 中华消化杂志 2013; 33: 507-512
19 Inoue H, Minami H, Kobayashi Y, Sato Y, Kaga M, Suzuki M, Satodate H, Odaka N, Itoh H, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Endoscopy* 2010; 42: 265-271 [PMID: 20354937 DOI: 10.1055/s-0029-1244080]
20 王爽, 刘冰熔. 贲门失弛缓症的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 75-81
21 彭芊芊, 戴文华, 王伟飞, 岳辉. 经黏膜下隧道内镜肿瘤切除术在食管肿瘤治疗中的进展. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 478-480
22 Sumiyama K, Gostout CJ, Rajan E, Bakken TA, Knipschield MA. Transesophageal mediastinoscopy by submucosal endoscopy with mucosal flap safety valve technique. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 679-683 [PMID: 17383463]
23 Sumiyama K, Tajiri H, Gostout CJ. Submucosal endoscopy with mucosal flap safety valve (SEMF) technique: a safe access method into the peritoneal cavity and mediastinum. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2008; 17: 365-369 [PMID: 18972253 DOI: 10.1080/13645700802528512]
24 Khashab MA, Saxena P, Valeshabad AK, Chavez YH, Zhang F, Akshintala V, Aguila G, Inoue H, Pasricha PJ, Neuhaus H, Kalloo AN. Novel technique for submucosal tunneling and endoscopic resection of submucosal tumors (with video). *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 646-648 [PMID: 23352498 DOI: 10.1016/j.gie.2012.11.011]
25 徐进康, 陆喜荣, 徐宏伟, 许邹华. 经黏膜下隧道内镜切除术治疗食管黏膜下肿瘤5例临床分析. 胃肠病学 2012; 17: 678-680
26 焦春花, 杨树平, 李学良, 丁静, 许迎红, 陶桂, 陈莉, 张道权, 何湘. 经黏膜下隧道内镜切除术治疗食管中下段黏膜下肿瘤的初步探索. 中华医学杂志 2013; 93: 2388-2391
27 Kikuchi D, Iizuka T, Hoteya S, Yamashita S, Nakamura M, Kuroki Y, Mitani T, Fujimoto A, Matsui A, Nishida N, Yahagi N. Usefulness of endoscopic ultrasound for the prediction of intraoperative bleeding of endoscopic submucosal dissection for gastric neoplasms. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 68-72 [PMID: 21175796 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06412.x]
28 徐美东, 陆巍, 李全林, 周平红, 钟芸诗, 陈巍峰, 张轶群, 姚礼庆. 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术在胃固有肌层肿瘤中的应用与评价. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 671-674
29 Yoshida N, Naito Y, Kugai M, Inoue K, Wakabayashi N, Yagi N, Yanagisawa A, Yoshikawa T. Efficient hemostatic method for endoscopic submucosal dissection of colorectal tumors. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4180-4186 [PMID: 20806436]
30 钟芸诗, 时强, 郭卫刚, 任重, 陈涛, 姚礼庆. 胸腔镜辅助下隧道内镜切除食管固有肌层肿瘤. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 404-405

■同行评价
本文为微创治疗食管固有肌层肿瘤的推广应用提供了一定的临床研究依据.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 920-926
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

自噬调控因子beclin1及mTOR在大肠腺瘤癌变过程中的表达及意义

何 双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博

■背景资料
目前,自噬作为一种新的程序性死亡方式受到越来越多的关注,而随着结直肠癌的发病率不断增高,深入探讨自噬与结直肠癌发病机制之间的关系,为结直肠癌的有效防治提供新的方向,具有重要的社会意义.

何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博, 滨州医学院病理学教研室 山东省滨州市 256603
何双, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259
作者贡献分布: 本课题由何双与吴淑华设计; 研究过程由何双、胡金龙、温菲菲及孙晨博共同操作完成; 研究所用试剂由吴淑华提供; 切片阅片与结果判读由吴淑华、何双及胡金龙完成; 本论文写作由何双完成.
通讯作者: 吴淑华, 教授, 主任医师, 研究生导师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院病理科.
wsh6108@126.com
电话: 0543-3258654
收稿日期: 2013-12-31 修回日期: 2014-01-20
接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-08

Significance of expression of autophagy related factors beclin1 and mTOR in malignant transformation of colorectal adenoma

Shuang He, Shu-Hua Wu, Jin-Long Hu, Fei-Fei Wen, Chen-Bo Sun

Shuang He, Shu-Hua Wu, Jin-Long Hu, Fei-Fei Wen, Chen-Bo Sun, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China
Supported by: Scientific and Technological Project of Shandong Province, No. 2010GSF10259
Correspondence to: Shu-Hua Wu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. wsh6108@126.com
Received: 2013-12-31 Revised: 2014-01-20
Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To investigate the significance of expression of autophagy regulatory molecules beclin1 and mTOR in the malignant transformation of colorectal adenoma.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of beclin1, mTOR and LC3-B in 30 cases of normal colorectal mucosa, 60 cases of low-grade intraepithelial neoplasia (LGIN), 60 cases of high-grade intraepithelial neoplasia (HGIN) and 80 cases of colorectal carcinoma.

RESULTS: The expression of both beclin1 and LC3-B in colorectal cancer was significantly higher than that in LGIN and normal mucosa ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the expression of beclin1 between colorectal cancer and HGIN ($P > 0.05$). The expression of mTOR in colorectal cancer was significantly higher than that in normal mucosa, LGIN and HGIN ($P < 0.05$), but no significant difference was found between LGIN and HGIN. In colorectal cancer, the expression of both beclin1 and LC3-B was related to tumor size; the expression of mTOR was associated with tumor size and depth of invasion; the expression of beclin1, mTOR and LC3-B in LGIN and HGIN was not related to clinicopathologic characteristics. There was a positive correlation between the expression of beclin1 and LC3-B in LGIN, HGIN and colorectal carcinoma ($r = 0.390, 0.306, 0.443$, $P < 0.05$). The expression of mTOR was not related to that of LC3-B in LGIN, but mTOR expression was positively associated with LC3-B expression in both HGIN and colorectal cancer ($r = 0.284, 0.223$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Autophagy may play a critical role in the malignant transformation of colorectal adenoma.

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

Key Words: Adenoma transformation; Autophagy; Beclin1; mTOR; LC3-B

He S, Wu SH, Hu JL, Wen FF, Sun CB. Significance of expression of autophagy related factors beclin1 and mTOR in malignant transformation of colorectal adenoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 920-926 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/920.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.920

摘要

目的: 研究自噬相关因子beclin1、mTOR及LC3-B在大肠腺瘤癌变过程中的表达差异, 并

■同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

探讨与临床病理因素之间的相关性.

方法: 采用免疫组织化学方法, 在结直肠60例低级别上皮内瘤变腺瘤(low-grade intraepithelial neoplasia, LGIN)、60例高级别上皮内瘤变腺瘤(high-grade intraepithelial neoplasia, HGIN)、80例腺瘤癌变组织及30例正常黏膜组织中检测beclin1、mTOR及LC3-B的表达, 并分析其相关性以及与临床病理因素的关系.

结果: (1)beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组中的表达明显高于LGIN组及正常肠黏膜(P<0.05), 但与HGIN组无差别(P>0.05), mTOR在腺瘤癌变组中的表达高于其他3组(P<0.05), 在HGIN与LGIN组中的表达无统计学意义(P>0.05), 但均高于正常肠黏膜组(P<0.05); (2)在腺瘤癌变组中, beclin1与LC3-B表达与肿瘤的大小有关, mTOR及表达与肿瘤的大小及浸润有关, 而在LGIN腺瘤组与HGIN腺瘤组三者与各临床病理因素无相关性; (3)beclin1与LC3-B两者在LGIN腺瘤组、HGIN腺瘤组及腺瘤癌变组中的表达均呈正相关(r = 0.390、r = 0.306、r = 0.443, P<0.05); mTOR与LC3-B在HGIN腺瘤组及腺瘤癌变组中的表达呈正相关(r = 0.284、r = 0.223, P<0.05), 而在LGIN腺瘤组中无相关.

结论: 自噬及其调控因子beclin1、mTOR可能在大肠腺瘤恶性转化中发挥重要作用, 与腺瘤癌变进展密切相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腺瘤癌变; 自噬; Beclin1; mTOR; LC3-B

核心提示: 本文应用免疫组织化学的方法检测beclin1、mTOR及LC3-B在腺瘤-腺癌序列中的表达, 有助于阐释在腺瘤癌变过程的不同阶段中自噬发挥的重要作用, 且通过相关性分析, 有助于阐明自噬调控过程的优势靶点, 为进一步的临床应用提供理论基础.

何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博. 自噬调控因子beclin1及mTOR在大肠腺瘤癌变过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 920-926 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/920.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.920

0 引言

结直肠癌, 又称大肠癌, 是人类常见的恶性肿瘤之一. 研究表明大多数大肠癌来自腺瘤的恶变, 其中由腺瘤演变为腺癌的过程约10-15年[1]. 因此, 研究大肠腺瘤演变为癌的演进过程及其机制, 对于早期预测腺瘤恶变, 有效防止腺瘤恶变, 具有重要的临床意义. 近年来发现肿瘤的发生不仅与细胞的增殖、凋亡有关, 并且与细胞的自噬有关, 自噬作为一种新的程序性细胞死亡方式其生物学意义以及与肿瘤的关系受到越来越多关注[2-6]. 研究表明在大肠癌、食管癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌等多种肿瘤中都存在不同程度的自噬现象[7-11]. 本研究应用免疫组织化学的方法, 在结直肠正常黏膜、低级别上皮内瘤变腺瘤(low-grade intraepithelial neoplasia, LGIN)、高级别上皮内瘤变腺瘤(high-grade intraepithelial neoplasia, HGIN)及腺瘤癌变病例中同步检测自噬关键因子beclin1、mTOR及LC3-B的表达情况, 探讨自噬及其调控因子beclin1与mTOR在结直肠腺瘤癌变发生发展中所发挥的作用.

■研发前沿
研究表明, 自噬在肿瘤发生发展中发挥着双重作用. 一方面, 自噬能保护及促进肿瘤细胞生存扩散; 另一方面, 自噬又能抑制其发展和转移, 及杀伤肿瘤细胞. 因此, 明确自噬在不同类型肿瘤及同一肿瘤不同发展阶段中发挥的作用, 成为亟待研究的问题.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-01/2012-08于滨州医学院附属医院病理科肠镜、手术切除的LGIN 60例, HGIN 60例, 腺瘤癌变病例80例, 正常结直肠黏膜(距肿瘤旁≥5 cm)30例. 根据2010年消化系统肿瘤WHO分类标准[1], 所选病例切片由2位资深病理专家重新阅片分类, 其中所选LGIN及HGIN病例均为管状腺瘤, 腺瘤癌变组病例为在同一肿瘤中存在浸润性结直肠癌和管状腺瘤, 或是先前存在的管状腺瘤转变为浸润性结直肠癌病例. 所有病例均为首次发现, 术前未经放疗及化疗. LGIN组、HGIN组与腺瘤癌变组的平均年龄分别为50.4、57.6和61.8岁. 全部标本均经40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm连续切片. beclin1兔多克隆抗体购自abcam公司(ab55878), 稀释浓度为1∶150. mTOR兔多克隆抗体购自abcam公司(ab2723), 稀释浓度为1∶200. LC3-B鼠单克隆抗体购自Santa Cruz公司(sc-271625), 稀释浓度为1∶50. 柠檬酸, 通用型二抗及DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司. beclin1、mTOR及LC3-B的阳性对照分别为绒癌、睾丸癌及正常脑组织, 均采用PBS代替一抗作为阴性对照.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 采用EnVision法免疫组织化学步骤进行. 操作方法如下: 将4 μm厚石蜡切片经二甲苯, 梯度乙醇脱蜡至水后, 进行柠檬酸修复(热修复2 min), 滴加一抗, 4 ℃过夜. PBS洗涤后, 滴加通用型二抗, 37 ℃孵育30 min, DAB

■相关报道
研究表明在大肠癌、食管癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌等多种肿瘤中都存在不同程度的自噬现象. 自噬与凋亡共存与同一细胞中, 两者相互拮抗或促进, 相互制衡, 受到一些相同因子的共同调控和影响.

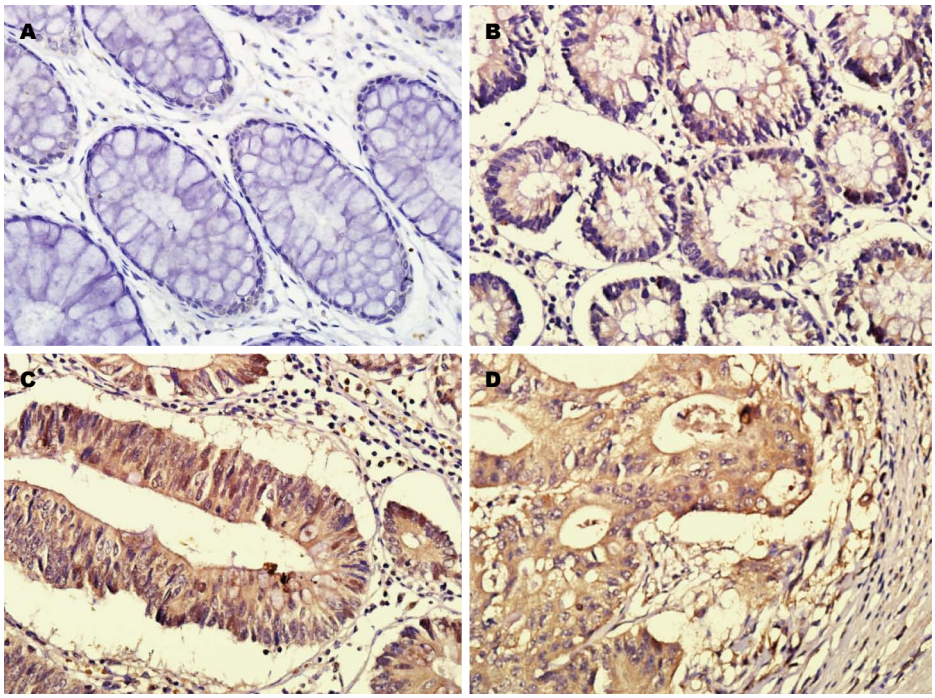


图 1 beclin1在不同病变组织中表达(免疫组织化学EnVision法, ×400). A: 正常大肠黏膜组beclin1呈阴性表达; B: LGIN组beclin1呈阳性表达; C: HGIN组beclin1呈强阳性表达; D: 腺瘤癌变组beclin1呈强阳性表达. LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

表 1 beclin1, mTOR与LC3-B在不同病变组织中的阳性表达*n*(%)

分组	*n*	beclin1	mTOR	LC3-B
正常组	30	1(3.3)	4(13.3)	2(6.6)
LGIN组	60	27(45.0)	19(31.7)	21(35.0)
HGIN组	60	41(68.3)	24(40.0)	37(61.7)
腺瘤癌变组	80	60(75.0)	45(56.3)	53(66.3)

LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

显色(beclin、mTOR显色时间为2 min, LC3-B显色时间为3 min), 苏木素复染后, 盐酸乙醇分化, 脱水后中性树胶封片.

1.2.2 结果判定: beclin1、mTOR和LC3-B阳性时为细胞质黄色-棕褐色颗粒. 采用染色强度与阳性细胞的百分率相结合的判定标准. 染色强度: 不着色为0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 黄褐色3分. 阳性细胞所占百分比: 阳性细胞数<5%计为0分, 5%-30%计为1分, 31%-60%计为2分, ≥60%计为3分. 两者乘积为染色总分, 阴性(-): 0分, 弱阳性(+): 1-4分, 中度阳性(++): 5-8分, 强阳性(+++): 9-12分.

统计学处理 使用SPSS18.0统计软件, 不同分组间蛋白的表达差异及各蛋白与临床病理因素之间的关系采用χ^2检验; 不同分组间蛋白之间的表达相关性采用Spearman相关性分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 beclin1、mTOR与LC3-B在不同病变组织中的表达情况 beclin1、mTOR与LC3-B在正常肠黏膜, LGIN组、HGIN组及腺瘤癌变组中呈不同程度的阳性表达(图1-3, 阳性表达率如表1). 经多组二分类资料两两卡方检验比较, beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组、HGIN组、LGIN组中的表达高于正常肠黏膜组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在HGIN组与腺瘤癌变组中其表达差异无统计学意义; mTOR在腺瘤癌变组中的表达高于其他3组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在HGIN组与LGIN组, 表达差异无统计学意义($P>0.05$), 但均高于正常肠黏膜组($P<0.05$).

2.2 beclin1、mTOR及LC3-B在不同病变组织中的表达与临床病理因素之间的关系 beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组中的表达与肿瘤的大小有关, 其中长径≥5 cm的肿瘤中高表达, 而与性别、年龄、分化程度、TNM分期等特征无关; mTOR与肿瘤的大小及浸润深度相关, 在长径≥5 cm以及侵及外膜的腺癌中高表达, 而与性别、年龄、分化、有无淋巴转移等均无关(表2).

beclin1、mTOR和LC3-B在LGIN组与HGIN

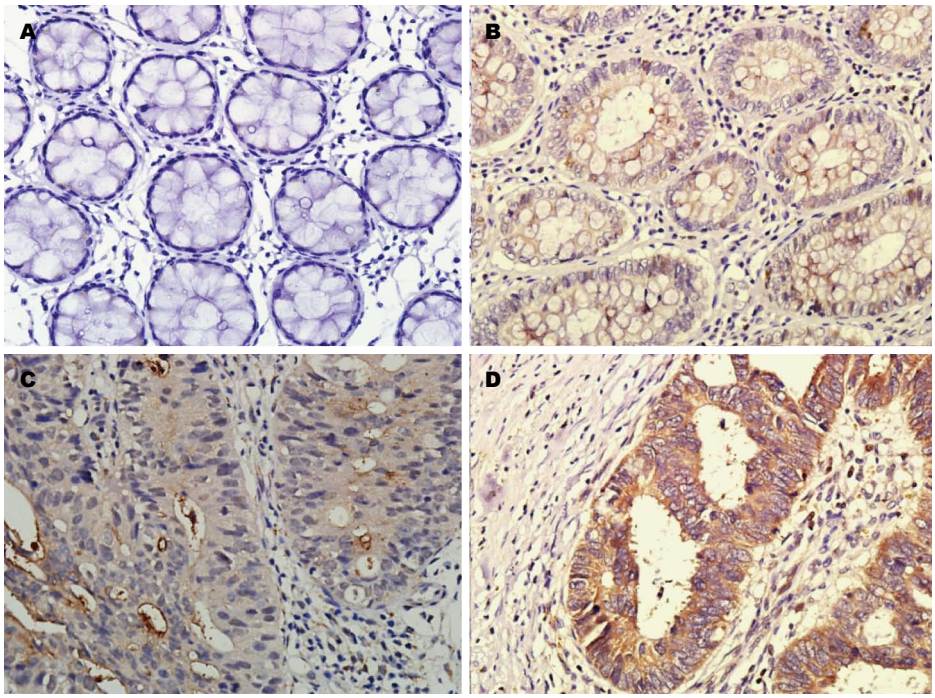


图 2 mTOR在不同病变组织中表达(免疫组织化学EnVision法 × 400). A: 正常大肠黏膜组mTOR呈阴性表达; B: LGIN组mTOR呈阳性表达; C: HGIN组mTOR呈阳性表达; D: 腺瘤癌变组mTOR呈强阳性表达. LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

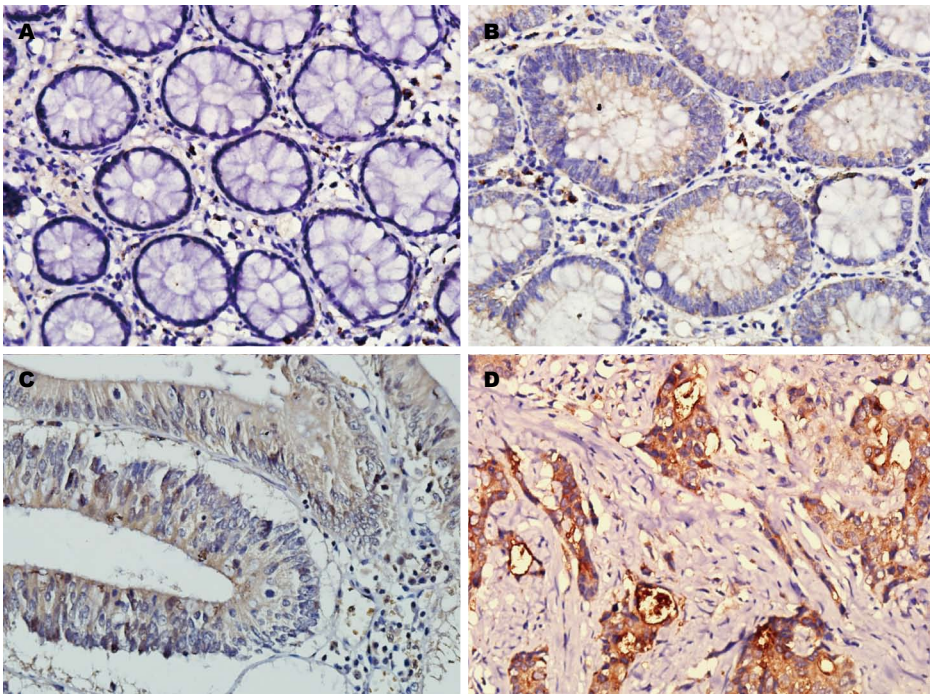


图 3 LC3-B在不同病变组织中表达(免疫组织化学EnVision法 × 400). A: 正常大肠黏膜组LC3-B呈阴性表达; B: LGIN组LC3-B呈阳性表达; C: HGIN组LC3-B呈阳性表达; D: 腺瘤癌变组LC3-B呈强阳性表达. LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

组中, 与性别、年龄、直径、部位、数目等均无关.

2.3 在不同病变组织中beclin1、 mTOR与 LC3-B表达的相关性 Beclin1与LC3-B两者在LGIN组、HGIN组及腺瘤癌变组中的表达均呈正相关(r = 0.390、r = 0.306、r = 0.443, P<0.05). mTOR与LC3-B在高级别腺瘤组及腺瘤癌变组中的表达呈正相关(r = 0.284、r = 0.223, P<0.05), 而在LGIN中无相关. beclin1与mTOR两者在LGIN组、HGIN组及腺瘤癌变组中的表达均呈正相关

■创新盘点

本文在腺瘤-腺癌序列不同阶段中检测beclin1、mTOR及LC3-B的表达情况, 探讨自噬及其调控因子在结直肠癌发生发展中发挥的作用, 并探讨自噬过程中其调控因子beclin1及mTOR之间的关系.

■同行评价
本文有一定的创新性和科学性，实验设计合理，结果可信，对临床研究结直肠癌的发生发展有一定的参考意义.

表 2 腺瘤癌变组中beclin1、mTOR与LC3-B的表达与在临床病理因素的相关性

临床病理因素	*n*	Beclin1(+)	*P*值	mTOR(+)	*P*值	LC3-B(+)	*P*值
年龄(岁)			0.696		0.755		0.571
<60	35	27		19		22	
≥60	45	33		26		31	
性别			0.660		0.263		0.962
男	59	45		31		39	
女	21	15		14		14	
肿瘤长径(cm)			0.012		0.001		0.017
<5	31	19		10		23	
≥5	49	42		35		45	
肿瘤部位			0.897		0.413		0.817
结肠	43	32		26		28	
直肠	37	28		19		25	
分化程度			0.967		0.171		0.134
高分化	44	33		29		26	
中低分化	36	27		20		27	
浸润深度			0.433		0.015		0.655
未达外膜	10	6		1		6	
外膜	50	38		45		47	
淋巴结转移			0.145		0.164		0.456
无转移	49	34		32		34	
转移	31	26		18		19	
TNM分期			0.895		0.553		0.456
Ⅰ+Ⅱ期	49	37		32		49	
Ⅲ+Ⅳ期	31	21		18		31	

表 3 beclin1、mTOR与LC3-B在结直肠不同病变组织中表达的相关性

分组	*n*	beclin1与LC3-B		mTOR与LC3-B		beclin1与mTOR	
		*r*值	*P*值	*r*值	*P*值	*r*值	*P*值
LGIN组	60	0.390	0.002	0.252	0.052	0.465	0.001
HGIN组	60	0.306	0.017	0.284	0.028	0.503	0.000
腺瘤癌变组	80	0.443	0.000	0.223	0.047	0.248	0.033

LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

($r = 0.465$、$r = 0.503$、$r = 0.248$, $P<0.05$)(表3).

3 讨论

自噬是以胞质内出现双层膜结构包裹长寿命蛋白和细胞器的自噬体为特征的细胞“自我消化”的一系列生化过程[2,3]. 研究表明, 自噬活性异常与肿瘤的发生发展密切相关[5,12]. 一方面, 自噬能在不利生存环境中提高肿瘤细胞对应激的耐受能力, 维持其生存; 另一方面, 自噬又能在肿瘤发展的不同阶段抑制其发展和转移, 过度的自噬能诱导细胞的自噬性细胞死亡, 杀伤肿瘤细胞[3,13].

LC3-B是自噬发生过程的一种关键蛋白, 定位于前自噬泡和自噬泡膜表面, 被认为是自噬活动的特异性标志[10]. beclin1既是一种候选的抑癌基因, 在细胞的生长、凋亡、细胞自噬等方面起着桥梁作用[14-16], 又是参与自噬的特异性基因, 是自噬发生的正性调控分子. beclin1与LC3-B在绝大多数人类恶性肿瘤如卵巢癌, 肺癌, 乳腺癌, 胰腺癌[7,8]等表达缺失, 但是在食管癌、胃癌、浸润性大肠癌[9-11]等肿瘤中呈高表达. Qu等[17]发现beclinl$^{+/-}$杂合缺失的鼠的自发性肿瘤的发生率升高, 且自噬活性明显下降. 目前beclin1及LC3-B在大肠腺瘤癌变过程不同病变

组织中的表达及其相关性尚不清楚. 本实验发现, 在腺瘤癌变过程中, beclin1、LC3-B的表达不仅与肿瘤的进展程度呈正相关, 并且在病变的不同阶段两者均呈正相关. Beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组中的表达明显高于LGIN及正常肠黏膜, 但与HGIN无差别, 提示在腺瘤-腺癌序列过程中存在*beclin1*基因的活化, 并促进了自噬的发生, 参与了肿瘤的发生发展. 其机制可能为在肿瘤发生的早期, 肿瘤由良性向恶性的转变过程中, *beclin1*基因活化, 诱导了肿瘤细胞自噬现象的发生, 增强了肿瘤细胞抵御不利生存因素影响的能力[11,18], 推动正常肠黏膜向LGIN-HGIN转化, 使细胞进入去分化的状态. 本实验同时发现在腺瘤癌变组中, beclin1与LC3-B在直径>5 cm的病变组中呈高表达, 但与肿瘤的分化程度, 浸润深度及淋巴转移等均无相关. 该结果提示, 在肿瘤的进展阶段, 随肿瘤的不断生长, 体积变大, 肿瘤中央区域开始出现缺血缺氧, 自噬水平被持续激活, 导致肿瘤细胞因过度自我消耗而死亡. 此时, 自噬作为一种程序性死亡方式, 杀伤肿瘤细胞[19,20], 在一定程度上抑制了肿瘤发展.

*mTOR*作为一种癌基因, 不仅在调节细胞增殖和凋亡方面具有重要作用, 而且在自噬诱导阶段发挥负性调控作用, 被称为自噬作用的门控分子[21]. 研究表明mTOR在肺癌、肝癌、乳腺癌、大肠癌和子宫内膜癌等中均存在mTOR的高表达和持续活化[22-24]. Narita等[25]发现, 使用mTOR抑制剂能增加LC3-B的表达. 本研究发现, mTOR不仅在腺瘤癌变组中的表达高于其他3组($P<0.05$), 而且在HGIN与LGIN组中的表达均高于正常肠黏膜组($P<0.05$). 同时, 相关性分析结果显示mTOR与LC3-B在HGIN与腺瘤癌变组中, 呈正相关的趋势. 本实验结果显示, 在腺瘤-腺癌序列中, 自噬调控基因mTOR对自噬现象的抑制作用效果不显著. 而mTOR在腺瘤癌变过程中表达增高, 可以提高细胞增殖活性, 抑制凋亡, 增加细胞由G_1期向S期转换[21], 在正常肠黏膜向LGIN以及HGIN向腺癌的恶性转变过程中, 发挥一定的推动作用. 在腺瘤癌变组中, mTOR在侵及外膜的肿瘤中高表达, 表明mTOR不仅参与了结直肠癌的发生, 还参与了其浸润、进展.

beclin1与mTOR作为正向和负向调节细胞自噬的因子, 二者之间的关系目前尚不清楚. 本研究在结直肠腺瘤癌变过程中发现beclin1与mTOR表达同时升高, 且呈正相关关系, 而自噬发生的标记分子LC3-B表达亦升高. 表明在此过程中, beclin1发挥了对自噬的促进作用, 而mTOR对自噬的抑制作用未占主导地位. 我们认为, 自噬的调控途径中Class Ⅰ P13K与Class Ⅲ P13K发挥重要作用, beclin1与mTOR分属于这两条不同的途径, 两者在腺瘤癌变过程中所表现出的正相关, 可能为二者分别伴随PI3K/AKT/mTOR通路与Class Ⅲ P13K/ beclin1复合物的增高而增高[26-30]. 然而beclin1与mTOR之间是否存在某种交互作用和相互影响, 有待进一步研究. 自噬的调控机制十分复杂, 目前尚未研究清楚, 在结直肠腺瘤癌变过程中beclin1与mTOR同时增高的相关分子机制, 还需进一步深入研究.

细胞的自噬现象贯穿于细胞生长的全过程, 其对细胞的作用具有两面性, 既可以为细胞生存创造有利条件, 又能诱发自噬性细胞死亡, 促进细胞凋亡. 本研究提示, 自噬在结直肠腺瘤癌变早期促进了肿瘤的发生与恶化, 而在肿瘤晚期阶段, 持续活化的自噬则诱导自噬性细胞死亡, 杀伤肿瘤细胞. 进一步阐明自噬对结直肠腺瘤癌变过程发挥作用的分子机制, 有助于揭示肿瘤发生、发展的规律, 并能指导肿瘤的临床诊治.

4 参考文献

1 周晓军, 樊祥山. 解读2010年消化系统肿瘤WHO分类(Ⅰ). 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 341-346

2 Klionsky DJ. Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve. *Autophagy* 2008; 4: 740-743 [PMID: 18567941]

3 Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 814-822 [PMID: 20811353 DOI: 10.1038/ncb0910-814]

4 Eskelinen EL, Saftig P. Autophagy: a lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 664-673 [PMID: 18706940]

5 Guo JY, Xia B, White E. Autophagy-mediated tumor promotion. *Cell* 2013; 155: 1216-1219 [PMID: 24315093 DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.019]

6 Fantin VR, Abraham RT. Self-eating limits EGFR-dependent tumor growth. *Cell* 2013; 154: 1184-1186 [PMID: 24034240 DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.040]

7 Gong C, Bauvy C, Tonelli G, Yue W, Deloménie C, Nicolas V, Zhu Y, Domergue V, Marin-Esteban V, Tharinger H, Delbos L, Gary-Gouy H, Morel AP, Ghavami S, Song E, Codogno P, Mehrpour M. Beclin 1 and autophagy are required for the tumorigenicity of breast cancer stem-like/progenitor cells. *Oncogene* 2013; 32: 2261-2272, 2261-2272 [PMID: 22733132 DOI: 10.1038/onc.2012.252]

8 Fujii S, Mitsunaga S, Yamazaki M, Hasebe T, Ishii G, Kojima M, Kinoshita T, Ueno T, Esumi H, Ochiai A. Autophagy is activated in pancreatic cancer cells and correlates with poor patient outcome. *Cancer Sci* 2008; 99: 1813-1819 [PMID: 18616529 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00893.x]

9 Műzes G, Tulassay Z, Sipos F. Interplay of autophagy and innate immunity in Crohn's disease: a key immunobiologic feature. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4447-4454 [PMID: 23901219]

10 Yoshioka A, Miyata H, Doki Y, Yamasaki M, Sohma I, Gotoh K, Takiguchi S, Fujiwara Y, Uchiyama Y, Monden M. LC3, an autophagosome marker, is highly expressed in gastrointestinal cancers. *Int J Oncol* 2008; 33: 461-468 [PMID: 18695874 DOI: 10.3892/ijo_00000028]

11 Sato K, Tsuchihara K, Fujii S, Sugiyama M, Goya T, Atomi Y, Ueno T, Ochiai A, Esumi H. Autophagy is activated in colorectal cancer cells and contributes to the tolerance to nutrient deprivation. *Cancer Res* 2007; 67: 9677-9684 [PMID: 17942897 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1462]

12 Shoji-Kawata S, Sumpter R, Leveno M, Campbell GR, Zou Z, Kinch L, Wilkins AD, Sun Q, Pallauf K, MacDuff D, Huerta C, Virgin HW, Helms JB, Eerland R, Tooze SA, Xavier R, Lenschow DJ, Yamamoto A, King D, Lichtarge O, Grishin NV, Spector SA, Kaloyanova DV, Levine B. Identification of a candidate therapeutic autophagy-inducing peptide. *Nature* 2013; 494: 201-206 [PMID: 23364696]

13 Yang SY, Winslet MC. Dual role of autophagy in colon cancer cell survival. *Ann Surg Oncol* 2011; 18 Suppl 3: S239 [PMID: 21603870]

14 He C, Levine B. The Beclin 1 interactome. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22: 140-149 [PMID: 20097051 DOI: 10.1016/j.ceb.2010.01.001]

15 Wei Y, Zou Z, Becker N, Anderson M, Sumpter R, Xiao G, Kinch L, Koduru P, Christudass CS, Veltri RW, Grishin NV, Peyton M, Minna J, Bhagat G, Levine B. EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. *Cell* 2013; 154: 1269-1284 [PMID: 24034250 DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.015]

16 Guo GF, Jiang WQ, Zhang B, Cai YC, Xu RH, Chen XX, Wang F, Xia LP. Autophagy-related proteins Beclin-1 and LC3 predict cetuximab efficacy in advanced colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4779-4786 [PMID: 22147978]

17 Qu X, Yu J, Bhagat G, Furuya N, Hibshoosh H, Troxel A, Rosen J, Eskelinen EL, Mizushima N, Ohsumi Y, Cattoretti G, Levine B. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest* 2003; 112: 1809-1820 [PMID: 14638851 DOI: 10.1172/JCI200320039]

18 Liang C, Feng P, Ku B, Dotan I, Canaani D, Oh BH, Jung JU. Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 688-699 [PMID: 16799551]

19 Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, Tang D. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ* 2011; 18: 571-580 [PMID: 21311563 DOI: 10.1038/cdd.2010.191]

20 Yu L, Alva A, Su H, Dutt P, Freundt E, Welsh S, Baehrecke EH, Lenardo MJ. Regulation of an ATG7-beclin 1 program of autophagic cell death by caspase-8. *Science* 2004; 304: 1500-1502 [PMID: 15131264]

21 Mirzoeva OK, Hann B, Hom YK, Debnath J, Aftab D, Shokat K, Korn WM. Autophagy suppression promotes apoptotic cell death in response to inhibition of the PI3K-mTOR pathway in pancreatic adenocarcinoma. *J Mol Med* (Berl) 2011; 89: 877-889 [PMID: 21678117 DOI: 10.1007/s00109-011-0774-y]

22 Efeyan A, Zoncu R, Chang S, Gumper I, Snitkin H, Wolfson RL, Kirak O, Sabatini DD, Sabatini DM. Regulation of mTORC1 by the Rag GTPases is necessary for neonatal autophagy and survival. *Nature* 2013; 493: 679-683 [PMID: 23263183 DOI: 10.1038/nature11745]

23 Bao XX, Xie BS, Li Q, Li XP, Wei LH, Wang JL. Nifedipine induced autophagy through Beclin1 and mTOR pathway in endometrial carcinoma cells. *Chin Med J* (Engl) 2012; 125: 3120-3126 [PMID: 22932192]

24 Kim DD, Eng C. The promise of mTOR inhibitors in the treatment of colorectal cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 2012; 21: 1775-1788 [PMID: 22978346 DOI: 10.1517/13543784.2012.721353]

25 Narita M, Young AR, Arakawa S, Samarajiwa SA, Nakashima T, Yoshida S, Hong S, Berry LS, Reichelt S, Ferreira M, Tavaré S, Inoki K, Shimizu S, Narita M. Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes. *Science* 2011; 332: 966-970 [PMID: 21512002 DOI: 10.1126/science.1205407]

26 Johnson SM, Gulhati P, Rampy BA, Han Y, Rychahou PG, Doan HQ, Weiss HL, Evers BM. Novel expression patterns of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway components in colorectal cancer. *J Am Coll Surg* 2010; 210: 767-776, 776-778 [PMID: 20421047 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2009.12.008]

27 Pandurangan AK. Potential targets for prevention of colorectal cancer: a focus on PI3K/Akt/mTOR and Wnt pathways. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2201-2205 [PMID: 23725112]

28 Zhu BS, Yu LY, Zhao K, Wu YY, Cheng XL, Wu Y, Zhong FY, Gong W, Chen Q, Xing CG. Effects of small interfering RNA inhibit Class I phosphoinositide 3-kinase on human gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1760-1769 [PMID: 23555164]

29 高向前, 吴淑华, 李扬扬, 曹璋, 纪洪. 结直肠癌与不同上皮内瘤变腺瘤中PI3Kp110β的表达及临床意义. 临床与实验病理学杂志 2012; 28: 518-521

30 孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 661-666

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 927-932
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

乙型肝炎病毒的复制再活化

阮 杰, 李海军, 孙殿兴

阮杰, 李海军, 孙殿兴, 白求恩国际和平医院全军肝病中心 河北省石家庄市 050082
阮杰, 主要从事乙型肝炎病毒分子生物学的研究.
作者贡献分布: 本文综述由阮杰完成; 李海军与孙殿兴审校.
通讯作者: 孙殿兴, 主任医师, 050082, 河北省石家庄市桥西区中山西路398号, 白求恩国际和平医院全军肝病中心.
sundianxing@hotmail.com
收稿日期: 2013-12-19 修回日期: 2014-01-05
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

Reactivation of hepatitis B virus

Jie Ruan, Hai-Jun Li, Dian-Xing Sun

Jie Ruan, Hai-Jun Li, Dian-Xing Sun, Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China
Correspondence to: Dian-Xing Sun, Chief Physician, Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital, 398 Zhongshan West Road, Shijiazhuang 050082, Qiaoxi District, Hebei Province, China. sundianxing@hotmail.com
Received: 2013-12-19 Revised: 2014-01-05
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

Abstract
Reactivation of hepatitis B is characterized by the abrupt recurrence or the rise of hepatitis B virus (HBV) DNA in the serum of patients with previously inactive or resolved HBV infection, which frequently occurs during or after cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy; however, most of these cases are subclinical and only detected until activated liver disease. Several randomized controlled trials have shown that HBV reactivation can be prevented by antiviral prophylaxis. Thus, patients who are to receive cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy should be screened for present and previous hepatitis B infection, and hepatitis B surface antigen positive patients should receive antiviral prophylaxis.

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

Key Words: Hepatitis B virus; Chemotherapy; Immunosuppressive; Nucleoside analogues

Ruan J, Li HJ, Sun DX. Reactivation of hepatitis B virus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 927-932 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/927.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.927

摘要
乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制再活化是指非活动性或已治愈的HBV感染患者血清中HBV DNA再度出现或升高, 这一现象常发生在应用化疗药物或者免疫抑制剂治疗期间或之后, 然而大多数病例临床症状并不明显, 直至发展为活动性肝炎时才被发现. 一些随机对照试验建议通过口服抗病毒药物, 可有效预防HBV复制再活化的发生. 因此, 接受化疗药物或者免疫抑制剂治疗的患者均应筛查是否有现症或者既往HBV感染, 若乙型肝炎表面抗原阳性, 就应该接受抗病毒药物治疗.

© 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; 化疗; 免疫抑制剂; 核苷类似物

核心提示: 在接受免疫抑制剂或者化疗药物治疗的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染患者中, HBV复制再活化是其共同的并发症, 通过口服核苷类似物可有效预防HBV复制再活化的发生.

阮杰, 李海军, 孙殿兴. 乙型肝炎病毒的复制再活化. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 927-932 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/927.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.927

0 引言
慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染可动态划分为4个特征性阶段, 这个过程单向进行, 依赖于病毒自身、肝细胞和宿主免疫系统之间相互作用[1]. 若打破这一平衡, 那么就有可能改变HBV慢性感染自然史并且有可能出现HBV复制再活化.

HBV复制再活化的特征性标志是非活动性或已治愈的HBV感染患者血清中HBV DNA

■背景资料
乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制再活化常发生在应用化疗药物或者免疫抑制剂治疗期间或之后, 可导致急性肝炎, 甚至发展成急性肝衰竭, 使接受化疗或者免疫抑制剂治疗的患者疗程中断, 对患者的预后极其不利. 大多数病例临床症状并不明显, 直至发展为活动性肝炎时才被发现. 通过口服抗病毒药物可有效预防HBV复制再活化的发生.

■同行评议者
杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■研发前沿
关于HBV复制再活化发生的机制还不明确，目前认为是由多种因素相互作用的结果，包括宿主、病毒以及治疗因素．然而体外实验证明，一些化疗药物或者免疫抑制剂可直接促进HepG2.2.15细胞分泌HBV DNA，这一现象的分子生物学机制也在研究之中．

再度出现或升高，常常伴随肝脏炎症活动，这种现象可自发形成，但多数是由于应用化疗药物、免疫抑制剂或者免疫功能低下所引起，可导致急性肝炎，甚至发展成急性肝衰竭或者死亡[2-5]．然而，大多数病例临床症状并不明显，或者直至发展为活动性肝炎时才被发现．Wands等[6]描述了2种独立的临床情况：(1)乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性患者血清HBsAg滴度增高；(2)乙型肝炎表面抗原阴性但乙型肝炎表面抗体(hepatitis B surface antibody, 抗-HBs)和乙型肝炎核心抗体(hepatitis B core antibody, 抗-HBc)阳性患者血清中抗-HBs水平下降并且再次出现HBsAg(血清转换逆转)．

HBV复制再活化常常导致接受化疗或者免疫抑制剂治疗的患者疗程中断，这对患者的预后极其不利，但可通过口服抗病毒药物进行预防[5]．再活化也显示了HBV的基本特征，尽管有病毒清除的证据，但可使HBV维持长期的隐匿性复制．HBV复制再活化不易识别，其复杂的病毒学和生物学特征使得直到出现临床症状才被重视，这就需要对HBV复制再活化有一个广泛的认识．

1 HBV复制再活化的病毒学和临床特征

典型的HBV复制再活化可分为3个阶段[7]：(1)HBV复制增强；(2)出现肝脏损伤；(3)恢复．

HBV复制再活化起始于HBV复制的增强，这一现象很快出现在应用免疫抑制剂或抗肿瘤药物之后．通过检测血清中HBV DNA，可评估HBV复制的水平．在乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阴性患者中，这一现象也会出现．当免疫抑制剂停药或减量并且出现肝细胞损伤或发生肝脏炎症时，第2阶段也即将开始，主要表现为血清转氨酶水平升高，一些严重的病例会出现明显的症状，期间，HBV DNA水平开始下降．在第3阶段，HBV复制再活化开始恢复，主要表现为肝脏损伤消退和HBV血清标志物回落至基线水平．

然而，并不是所有的患者都遵循这3个阶段．一些病例中，HBV DNA可升至很高水平，但是没有证据表明出现免疫重建和肝脏损伤，患者转氨酶水平正常，他们大多数是维持免疫抑制的患者，如器官、骨髓移植[8,9]，而另外一些病例中，肝脏炎症持续并最终发展为慢性肝炎[7]．

2 HBV复制再活化的风险因素

HBV复制再活化是多种因素相互作用的结果，包括宿主、病毒以及治疗因素，多因素分析显示：男性[10]、青年[10]、化疗前丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平[11]、化疗前HBeAg或HBV DNA阳性[12]均可增加再活化风险．另一个影响HBV复制再活化的风险因素是疾病的类型，淋巴瘤患者的风险高于实体肿瘤患者，这也许是由于血液系统疾病自身导致高水平的免疫抑制，或者是化疗在血液恶性肿瘤中的应用[10]，而且如果联用皮质激素，发生再活化以及肝炎甚至重症肝炎的风险也将增加[13]．

早期研究认为化疗前病毒水平并不能预测HBV复制再活化[10,14,15]，但是通过对接受常规剂量和高剂量化疗药物的患者进行研究发现，化疗前高HBV复制水平能增加其发生的可能性[16]．肝内cccDNA(covalently closed circular DNA)对HBV复制再活化也有重要的临床意义[17]，研究证明HBV可在已治愈患者的肝脏或者外周血单核细胞中继续保持复制能力[18,19]．

3 发生HBV复制再活化的情形

HBV复制再活化可发生在多种情况下，当病毒发生突变产生耐药性或突然停用抗病毒药物时，病毒复制会突然增强[20,21]；轻微或非活动性HBV感染患者应用免疫抑制剂或者发生免疫缺陷也可发生[22,23]；癌症以及血液系统恶性肿瘤患者应用化疗药物[24,25]；自身免疫性疾病患者应用免疫调剂剂[26]；器官移植，如心、肺、肾[8,27,28]，尤其是发生在骨髓[9]或者肝移植[29,30]，均可导致HBV复制再活化．

3.1 癌症患者应用化疗药物后HBV复制再活化

癌症患者应用抗肿瘤药物可引起HBV复制再活化[3,31]，这一情形在使用皮质激素以及蒽环类药物时更容易出现[10,12,13]，也许是由于HBV DNA含有糖皮质激素反应元件[32]，体外实验也证明，蒽环类药物可刺激HepG2.2.15细胞分泌HBV DNA[33]．蒽环类药物和皮质激素常用于血液系统肿瘤和乳腺癌的治疗，这也解释了为什么这些患者经常发生这一现象[13,14]．一项前瞻性研究发现超过60%的HBV复制再活化发生在接受化疗的HBsAg阳性患者[2]．肝内cccDNA是病毒复制的关键，可用于预测接受化疗的HBsAg阳性患者HBV复制再活化[17]．在HBsAg阴性而抗-HBc或抗-HBs阳性并且接受化疗的患者中，也可以发生这一现象．来自台湾的一项研究发现有6%的HBsAg阴性B细胞淋巴瘤患者发生HBV复制再活化[34]．

3.2 良性疾病应用免疫抑制剂后HBV复制再活化 HBV复制再活化不仅限于接受化疗药物治疗的癌症患者, HBsAg或者抗-HBc阳性并且患有自身免疫性疾病的患者在接受单一免疫抑制药物治疗后也能诱导HBV复制和肝炎活动, 尽管其发生率低于应用化疗药物治疗的癌症患者[26]. 在应用硫唑嘌呤和皮质激素的患者中, HBV复制再活化并不常见, 但是有长期应用甲氨蝶呤诱导HBV复制的报道[35,36]. 很少有文献指出单独使用皮质激素可致HBV复制再活化, 更多的病例发生在应用更强效的免疫抑制剂之后, 如抗肿瘤坏死因子α(英夫利昔单抗)[26], 已有很多关于Still病、Crohn病、类风湿性关节炎和强直性脊柱炎应用英夫利昔单抗之后导致HBV复制再活化的报道[26,37-39].

3.3 器官移植与HBV复制再活化 实体器官移植通常需要长期使用免疫抑制剂, 所以这些患者很容易发生HBV复制再活化. 在应用抗病毒药物进行预防之前, 肾脏移植患者再活化发生率可达50%至94%[27,28,40], 心脏移植后再活化发生率同样较高[8]. 肝移植时, 如果器官供体HBsAg阳性, 更多情况是抗-HBc阳性, 而受体HBsAg阴性, 也能够发生HBV复制再活化. 有许多非HBV感染患者在接受抗-HBc阳性而HBsAg阴性供肝者肝脏之后发生HBV复制再活化的病例[29,41]. 这些病例说明HBV感染可以是隐匿性的, 并且可以在感染已恢复的患者肝脏中保持复制能力[18,19]. 正因为如此, 抗-HBc阳性供体血清中即使没有HBsAg, 其肝脏也不能被用于肝移植, 除非接受肝移植的患者感染HBV或者同意接受长期抗病毒药物治疗[42].

3.4 骨髓移植与HBV复制再活化 也有一些接受骨髓移植后发生HBV复制再活化的病例. 典型的同种异体骨髓移植术中, 受体骨髓被高剂量的化疗药物去除, 然后被注入的供体骨髓所取代, 因此常发生很强的免疫抑制. HBV复制再活化通常发生在接受骨髓移植并且HBsAg阳性的患者[43]. 另外, 血清转换逆转也常发生, 但经常不被察觉[9,44]. 一项回顾性研究发现, 血清中抗-HBc阳性而HBsAg阴性的患者在接受骨髓移植术后有很高的几率再次出现HBV DNA和HBsAg, 来自德国的6例患者中有3例发生(50%)[44], 而来自日本的14例患者中有7例发生(50%)[9]. 一系列研究证明, 骨髓移植患者抗-HBs活性逐渐丧失, 移植术后1-3年抗体下降到不被检出水平. 随着抗-HBs逐渐下降, HBV DNA再次出现而且不断增加, 血清中也将再次出现HBsAg. 因此, 建议接受骨髓移植的患者检查HBsAg、抗-HBs和抗-HBc, 若阳性建议接受抗病毒药物治疗.

4 HBV复制再活化的治疗及预防

干扰素, 具有抗病毒和免疫调节双重作用. 然而, 由于其通过扩大免疫介导的肝细胞损伤增加化疗期间发生致命性肝炎的可能性, 限制了干扰素的使用.

核苷类似物, 可抑制HBV复制, 目前是用于治疗慢性HBV感染的主要药物. 一些临床对照试验[45]和Meta分析[46,47]显示, 接受化疗药物治疗的患者若应用核苷类似物进行预防, 可降低HBV复制再活化、肝炎的发生率以及HBV相关肝损伤的死亡率.

这里有两个关于HBsAg阳性并且接受化疗药物治疗的恶性淋巴瘤患者用拉米夫定预防HBV复制再活化的前瞻性、随机对照试验, 这两项研究均来自亚洲, 一项来自香港[48], 一项来自台湾[45], 研究对象均为HBsAg阳性并且接受化疗药物治疗的淋巴瘤患者. 来自香港研究随机选择30例入组患者给予预防性拉米夫定(接收化疗药物治疗前1 wk开始应用, 100 mg/d, 化疗药物治疗结束后6 wk停用). 再活化标准是血清HBV DNA水平升高10倍, 肝炎标准是ALT水平上升3倍. 对照组15例患者中有8例发生再活化(53%), 这15例患者均未给予拉米夫定预防性治疗. 8例再活化患者中有7例发生肝炎(88%), 其中2例为黄疸型肝炎(25%), 有1例死亡(12%).

来自台湾的研究在设计上与香港的研究相似, 在这个多中心试验中, 52例新近诊断并且HBsAg阳性的非霍奇金淋巴瘤患者随机给予预防性或者治疗性拉米夫定. 预防组在化疗药物治疗前1 wk开始口服拉米夫定(100 mg/d), 并持续至化疗完成后2 mo. 治疗组在治疗期间若血清ALT水平升高即给予拉米夫定治疗. 接受拉米夫定预防性治疗的26例患者中, 仅有3例发生HBV复制再活化, 而对照组25例患者中有14例发生. 对照组中发生HBV复制再活化的患者中部分发生肝炎, 发生率为82%, 其中5例患者为黄疸型肝炎. 相反, 预防组中发生HBV复制再活化的患者肝脏炎症轻微, 没有1例为黄疸型肝炎. 发生HBV复制再活化的患者中有2例尽管应用拉米夫定治疗, 但是发现为隐匿性拉米夫定耐药, 而且在治疗之前未被发现. 更重要的是, 在治疗之后, HBV复制再活化和肝炎常常停止, 这一现象

■相关报道

乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阴性而抗乙型肝炎核心抗体(hepatitis B core antibody, 抗-HBc)阳性, 甚至乙型肝炎表面抗体(hepatitis B surface antibody, 抗-HBs)阳性的患者应用化疗药物或者免疫抑制剂后, 也能够发生HBV复制再活化, 血清中将再次出现HBsAg和HBV DNA, 研究也证明HBV可在已治愈患者的肝细胞中继续保持复制能力, 说明肝内cccDNA对HBV复制再活化有重要的临床意义.

■创新盘点
HBsAg阳性患者在接受化疗药物或者免疫抑制剂后，有很高的风险发展成为HBV复制再活化，然而抗HBs阳性患者在应用化疗药物或者免疫抑制剂后，也能够发生HBV复制再活化，体外实验也证明，一些化疗药物或者免疫抑制剂可直接诱导HBV DNA复制增强，说明HBV DNA自身因素在HBV复制再活化中扮演重要角色.

在预防组中发生率为19%，在治疗组中发生率为14%. 另外，也观察到在预防性治疗之后发生HBV复制再活化的病例中，3例患者最终发展为黄疸型肝炎，并且2例死于肝衰竭.

这些研究清晰地证明，预防性应用拉米夫定可降低HBV复制再活化以及肝炎的发生率；来自台湾的试验有更加严密的设计和随访，显示通过预防性应用拉米夫定并不能完全阻断HBV复制再活化，也许是因为拉米夫定耐药，而且持续口服拉米夫定至停止化疗后2 mo不能完全阻止HBV复制再活化延迟发生.

其他一些HBV复制再活化高发生风险的情形，如骨髓移植、实体器官移植、HIV感染、自身免疫性疾病应用免疫调节剂，虽然没有关于抗病毒预防的前瞻性研究，但是一些病例显示，如果给予预防性治疗，可减少HBV复制再活化的发生[26,49,50]. 来自亚洲、欧洲以及北美的专家也一致建议，在有HBV复制再活化风险的情况下，应该使用抗病毒药物预防[51-54].

5 结论

在接受免疫抑制剂或者化疗药物治疗的HBV感染患者中，HBV复制再活化是其共同的并发症. 所有接受化疗，以及接受免疫抑制剂或者器官移植治疗的患者均应筛选是否有现症或者既往HBV感染(HBsAg、抗HBc). 如果HBsAg阳性，就应该评估是否有抗HBV治疗的适应症，如果发现应该去治疗，那么在开始应用化疗药物或者免疫抑制剂之前就开始给予口服抗HBV药物，这一治疗方案应该持续至整个化疗药物治疗期间. 如果是非活动性HBsAg携带状态或者HBV免疫耐受期，在化疗或者免疫抑制剂治疗之前也应该接受抗病毒预防. 血清中抗HBc阳性而HBsAg阴性的患者，如果进行器官移植或者使用更加强效、疗程更长的化疗药物和免疫抑制剂，也应该考虑抗病毒预防.

大量关于预防性使用拉米夫定的研究推荐抗病毒预防应持续至化疗完成后1-2 mo. 接受骨髓移植或抗T淋巴细胞或抗B淋巴细胞治疗的患者，还有那些化疗前高病毒滴度的患者，抗病毒治疗也应延长. 通常免疫抑制剂是长期使用，那么抗病毒预防也应与其相伴随.

核苷类似物的预防性治疗已极大地降低了HBV复制再活化的发生率和总死亡率. 然而，并不是所有接受化疗药物或者免疫抑制剂治疗的患者都发展为HBV复制再活化，并且拉米夫定治疗也有其潜在的缺点，长期使用核苷类似物的患者有很高耐药发生率.

目前，对于HBV复制再活化的机制已有较好的认识，一些新型抗病毒药物的使用，如：恩替卡韦、替诺福韦，也希望有助于改善接受化疗而且HBV血清学标志物阳性癌症患者的预后.

6 参考文献

1 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]

2 Kohrt HE, Ouyang DL, Keeffe EB. Systematic review: lamivudine prophylaxis for chemotherapy-induced reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1003-1016 [PMID: 16984494 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03081.x]

3 Ikeda M. Reactivation of hepatitis B virus in patients receiving chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43: 8-16 [PMID: 23183929 DOI: 10.1093/jjco/hys191]

4 Hwang JP, Lok AS. Management of patients with hepatitis B who require immunosuppressive therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013 Nov 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24247262 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.216]

5 Oketani M, Ido A, Uto H, Tsubouchi H. Prevention of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive therapy or chemotherapy. *Hepatol Res* 2012; 42: 627-636 [PMID: 22686858 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.00998.x]

6 Wands JR, Chura CM, Roll FJ, Maddrey WC. Serial studies of hepatitis-associated antigen and antibody in patients receiving antitumor chemotherapy for myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. *Gastroenterology* 1975; 68: 105-112 [PMID: 1054319]

7 Hoofnagle JH. Reactivation of hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: S156-S165 [PMID: 19399803 DOI: 10.1002/hep.22945]

8 Ko WJ, Chou NK, Hsu RB, Chen YS, Wang SS, Chu SH, Lai MY. Hepatitis B virus infection in heart transplant recipients in a hepatitis B endemic area. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 865-875 [PMID: 11502409]

9 Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K, Kahata K, Chuma M, Mori A, Kondo T, Toyoshima N, Ota S, Kobayashi S, Hige S, Toubai T, Tanaka J, Imamura M, Asaka M. Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation* 2005; 79: 616-619 [PMID: 15753855]

10 Yeo W, Chan PK, Zhong S, Ho WM, Steinberg JL, Tam JS, Hui P, Leung NW, Zee B, Johnson PJ. Frequency of hepatitis B virus reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy: a prospective study of 626 patients with identification of risk factors. *J Med Virol* 2000; 62: 299-307 [PMID: 11055239]

11 Yeo W, Lam KC, Zee B, Chan PS, Mo FK, Ho WM, Wong WL, Leung TW, Chan AT, Ma B, Mok TS,

Johnson PJ. Hepatitis B reactivation in patients with hepatocellular carcinoma undergoing systemic chemotherapy. *Ann Oncol* 2004; 15: 1661-1666 [PMID: 15520068 DOI: 10.1093/annonc/mdh430]
12 Yeo W, Zee B, Zhong S, Chan PK, Wong WL, Ho WM, Lam KC, Johnson PJ. Comprehensive analysis of risk factors associating with Hepatitis B virus (HBV) reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Br J Cancer* 2004; 90: 1306-1311 [PMID: 15054446 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601699]
13 Cheng AL, Hsiung CA, Su IJ, Chen PJ, Chang MC, Tsao CJ, Kao WY, Uen WC, Hsu CH, Tien HF, Chao TY, Chen LT, Whang-Peng J. Steroid-free chemotherapy decreases risk of hepatitis B virus (HBV) reactivation in HBV-carriers with lymphoma. *Hepatology* 2003; 37: 1320-1328 [PMID: 12774010 DOI: 10.1053/jhep.2003.50220]
14 Yeo W, Chan PK, Hui P, Ho WM, Lam KC, Kwan WH, Zhong S, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation in breast cancer patients receiving cytotoxic chemotherapy: a prospective study. *J Med Virol* 2003; 70: 553-561 [PMID: 12794717 DOI: 10.1002/jmv.10430]
15 Jang JW, Choi JY, Bae SH, Kim CW, Yoon SK, Cho SH, Yang JM, Ahn BM, Lee CD, Lee YS, Chung KW, Sun HS. Transarterial chemo-lipiodolization can reactivate hepatitis B virus replication in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 41: 427-435 [PMID: 15336446 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.05.014]
16 Zhong S, Yeo W, Schroder C, Chan PK, Wong WL, Ho WM, Mo F, Zee B, Johnson PJ. High hepatitis B virus (HBV) DNA viral load is an important risk factor for HBV reactivation in breast cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *J Viral Hepat* 2004; 11: 55-59 [PMID: 14738558]
17 Hui CK, Bowden S, Jackson K, Au WY, Fong DY, Lie AK, Chim CS, Liang R, Lau GK. Clinical significance of intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients who received cytotoxic chemotherapy. *Blood* 2005; 105: 2616-2617 [PMID: 15746088 DOI: 10.1182/blood-2004-09-3402]
18 Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 1996; 2: 1104-1108 [PMID: 8837608]
19 Catterall AP, Murray-Lyon IM, Zuckerman AJ, Harrison TJ. Southern hybridisation analysis of HBV DNA in peripheral blood leucocytes and of different cell types: changes during the natural history and with interferon-alpha therapy in patients with hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 1994; 43: 269-275 [PMID: 7931189]
20 Zoulim F, Locarnini S. Optimal management of chronic hepatitis B patients with treatment failure and antiviral drug resistance. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 116-124 [PMID: 23286855 DOI: 10.1111/liv.12069]
21 Seang S, Thibault V, Valantin MA, Katlama C. Adjustment of antiretroviral regimen may lead to HBV reactivation even in patients with past HBV infection serological profile. *J Infect Chemother* 2013; 19: 987-989 [PMID: 23380971 DOI: 10.1007/s10156-013-0560-6]
22 Lok AS, Ward JW, Perrillo RP, McMahon BJ, Liang TJ. Reactivation of hepatitis B during immunosuppressive therapy: potentially fatal yet preventable. *Ann Intern Med* 2012; 156: 743-745 [PMID: 22586011 DOI: 10.7326/0003-4819-156-10-201205150-00013]
23 Wijaya I, Hasan I. Reactivation of hepatitis B virus associated with chemotherapy and immunosuppressive agent. *Acta Med Indones* 2013; 45: 61-66 [PMID: 23585411]
24 Tsutsumi Y, Kawamura T, Saitoh S, Yamada M, Obara S, Miura T, Kanamori H, Tanaka J, Asaka M, Imamura M, Masauzi N. Hepatitis B virus reactivation in a case of non-Hodgkin's lymphoma treated with chemotherapy and rituximab: necessity of prophylaxis for hepatitis B virus reactivation in rituximab therapy. *Leuk Lymphoma* 2004; 45: 627-629 [PMID: 15160930]
25 Ling WH, Soe PP, Pang AS, Lee SC. Hepatitis B virus reactivation risk varies with different chemotherapy regimens commonly used in solid tumours. *Br J Cancer* 2013; 108: 1931-1935 [PMID: 23652302 DOI: 10.1038/bjc.2013.225]
26 Esteve M, Saro C, González-Huix F, Suarez F, Forné M, Viver JM. Chronic hepatitis B reactivation following infliximab therapy in Crohn's disease patients: need for primary prophylaxis. *Gut* 2004; 53: 1363-1365 [PMID: 15306601 DOI: 10.1136/gut.2004.040675]
27 Marcellin P, Giostra E, Martinot-Peignoux M, Loriot MA, Jaegle ML, Wolf P, Degott C, Degos F, Benhamou JP. Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology* 1991; 100: 1432-1434 [PMID: 2013388]
28 Chen GD, Gu JL, Qiu J, Chen LZ. Outcomes and risk factors for hepatitis B virus (HBV) reactivation after kidney transplantation in occult HBV carriers. *Transpl Infect Dis* 2013; 15: 300-305 [PMID: 23473005 DOI: 10.1111/tid.12065]
29 Dehghani SM, Taghavi SA, Geramizadeh B, Nikeghbalian S, Derakhshan N, Malekpour A, Malek-Hosseini SA. Hepatitis B recurrence after liver transplantation: a single center experiences and review the literature. *Hepat Mon* 2013; 13: e6609 [PMID: 23483668 DOI: 10.5812/hepatmon.6609]
30 Na GH, Kim DG, Han JH, Kim EY, Lee SH, Hong TH, You YK, Choi JY. Prevention and risk factors of hepatitis B recurrence after living donor liver transplantation. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 151-156 [PMID: 24117684 DOI: 10.1111/jgh.12403]
31 Saitta C, Musolino C, Marabello G, Martino D, Leonardi MS, Pollicino T, Altavilla G, Raimondo G. Risk of occult hepatitis B virus infection reactivation in patients with solid tumours undergoing chemotherapy. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 683-686 [PMID: 23490344 DOI: 10.1016/j.dld.2013.01.022]
32 Tur-Kaspa R, Burk RD, Shaul Y, Shafritz DA. Hepatitis B virus DNA contains a glucocorticoid-responsive element. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 1627-1631 [PMID: 3006059]
33 Hsu CH, Hsu HC, Chen HL, Gao M, Yeh PY, Chen PJ, Cheng AL. Doxorubicin activates hepatitis B virus (HBV) replication in HBV-harboring hepatoblastoma cells. A possible novel mechanism of HBV reactivation in HBV carriers receiving systemic chemotherapy. *Anticancer Res* 2004; 24: 3035-3040 [PMID: 15517913]
34 Chen MH, Hsiao LT, Chiou TJ, Liu JH, Gau JP, Teng HW, Wang WS, Chao TC, Yen CC, Chen PM. High

■应用要点

核苷类似物的预防性治疗已极大地降低了HBV复制再活化的发生率和总死亡率. 然而, 并不是所有接受化疗药物或者免疫抑制剂治疗的患者都发展为HBV复制再活化, 并且核苷类似物治疗也有其潜在的缺点, 长期使用核苷类似物的患者有很高耐药发生率.

■同行评价
本文综述HBV感染者使用化疗药物或者免疫抑制剂治疗后再活化现象，对临床工作有一定指导意义.

prevalence of occult hepatitis B virus infection in patients with B cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2008; 87: 475-480 [PMID: 18327583 DOI: 10.1007/s00277-008-0469-9]

35 Mok MY, Ng WL, Yuen MF, Wong RW, Lau CS. Safety of disease modifying anti-rheumatic agents in rheumatoid arthritis patients with chronic viral hepatitis. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 363-368 [PMID: 10895374]

36 Ito S, Nakazono K, Murasawa A, Mita Y, Hata K, Saito N, Kikuchi M, Yoshida K, Nakano M, Gejyo F. Development of fulminant hepatitis B (precore variant mutant type) after the discontinuation of low-dose methotrexate therapy in a rheumatoid arthritis patient. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 339-342 [PMID: 11229464 DOI: 10.1002/1529-0131(200102)44]

37 Michel M, Duvoux C, Hezode C, Cherqui D. Fulminant hepatitis after infliximab in a patient with hepatitis B virus treated for an adult onset still's disease. *J Rheumatol* 2003; 30: 1624-1625 [PMID: 12858469]

38 Ostuni P, Botsios C, Punzi L, Sfriso P, Todesco S. Hepatitis B reactivation in a chronic hepatitis B surface antigen carrier with rheumatoid arthritis treated with infliximab and low dose methotrexate. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 686-687 [PMID: 12810441]

39 Wendling D, Auge B, Bettinger D, Lohse A, Le Huede G, Bresson-Hadni S, Toussirot E, Miguet JP, Herbein G, Di Martino V. Reactivation of a latent precore mutant hepatitis B virus related chronic hepatitis during infliximab treatment for severe spondyloarthropathy. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 788-789 [PMID: 15834064 DOI: 10.1136/ard.2004.031187]

40 Park SK, Yang WS, Lee YS, Jung HH, Chang JW, Choi HJ, Han DJ, Park JS. Outcome of renal transplantation in hepatitis B surface antigen-positive patients after introduction of lamivudine. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2222-2228 [PMID: 11682671]

41 Prieto M, Gómez MD, Berenguer M, Córdoba J, Rayón JM, Pastor M, García-Herola A, Nicolás D, Carrasco D, Orbis JF, Mir J, Berenguer J. De novo hepatitis B after liver transplantation from hepatitis B core antibody-positive donors in an area with high prevalence of anti-HBc positivity in the donor population. *Liver Transpl* 2001; 7: 51-58 [PMID: 11150423 DOI: 10.1053/jlts.2001.20786]

42 Terrault N. Management of hepatitis B virus infection in liver transplant recipients: prospects and challenges. *Clin Transplant* 2000; 14 Suppl 2: 39-43 [PMID: 10965963]

43 Hsiao LT, Chiou TJ, Liu JH, Chu CJ, Lin YC, Chao TC, Wang WS, Yen CC, Yang MH, Tzeng CH, Chen PM. Extended lamivudine therapy against hepatitis B virus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 84-94 [PMID: 16399572 DOI: 10.1016/j.bbmt.2005.09.001]

44 Knöll A, Boehm S, Hahn J, Holler E, Jilg W. Reactivation of resolved hepatitis B virus infection after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 925-929 [PMID: 15004543 DOI: 10.1038/sj.bmt.1704457]

45 Hsu C, Hsiung CA, Su IJ, Hwang WS, Wang MC, Lin SF, Lin TH, Hsiao HH, Young JH, Chang MC, Liao YM, Li CC, Wu HB, Tien HF, Chao TY, Liu TW, Cheng AL, Chen PJ. A revisit of prophylactic lamivudine for chemotherapy-associated hepatitis B reactivation in non-Hodgkin's lymphoma: a randomized trial. *Hepatology* 2008; 47: 844-853 [PMID: 18302293 DOI: 10.1002/hep.22106]

46 Loomba R, Rowley A, Wesley R, Liang TJ, Hoofnagle JH, Pucino F, Csako G. Systematic review: the effect of preventive lamivudine on hepatitis B reactivation during chemotherapy. *Ann Intern Med* 2008; 148: 519-528 [PMID: 18378948]

47 Katz LH, Fraser A, Gafter-Gvili A, Leibovici L, Tur-Kaspa R. Lamivudine prevents reactivation of hepatitis B and reduces mortality in immunosuppressed patients: systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat* 2008; 15: 89-102 [PMID: 18184191 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2007.00902.x]

48 Lau GK, Yiu HH, Fong DY, Cheng HC, Au WY, Lai LS, Cheung M, Zhang HY, Lie A, Ngan R, Liang R. Early is superior to deferred preemptive lamivudine therapy for hepatitis B patients undergoing chemotherapy. *Gastroenterology* 2003; 125: 1742-1749 [PMID: 14724827]

49 Hui CK, Lie A, Au WY, Ma SY, Leung YH, Zhang HY, Sun J, Cheung WW, Chim CS, Kwong YL, Liang R, Lau GK. Effectiveness of prophylactic Anti-HBV therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with HBsAg positive donors. *Am J Transplant* 2005; 5: 1437-1445 [PMID: 15888052 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.00887.x]

50 Tsutsumi Y, Tanaka J, Kawamura T, Miura T, Kanamori H, Obara S, Asaka M, Imamura M, Masauzi N. Possible efficacy of lamivudine treatment to prevent hepatitis B virus reactivation due to rituximab therapy in a patient with non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2004; 83: 58-60 [PMID: 14513286 DOI: 10.1007/s00277-003-0748-4]

51 Weinbaum CM, Mast EE, Ward JW. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S35-S44 [PMID: 19399812 DOI: 10.1002/hep.22882]

52 Liaw YF, Leung N, Kao JH, Piratvisuth T, Gane E, Han KH, Guan R, Lau GK, Locarnini S. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283 [PMID: 19669255 DOI: 10.1007/s12072-008-9080-3]

53 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-662 [PMID: 19714720 DOI: 10.1002/hep.23190]

54 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57: 167-185 [PMID: 22436845 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 933-938
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

尿酸与非酒精性脂肪肝的相关性

徐小玲, 贾 红

徐小玲, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
徐小玲, 贾红, 泸州医学院循证医学中心 四川省泸州市 646000
贾红, 泸州医学院流行病与统计学教研室 四川省泸州市 646000
徐小玲, 主要从事代谢性疾病的防治.
达能营养中心膳食营养研究与宣教基金资助项目, No. DIC 2013-03
作者贡献分布: 本文综述由徐小玲完成; 贾红审校.
通讯作者: 贾红, 教授, 646000, 四川省泸州市忠山路319号, 泸州医学院流行病与统计学教研室. jhong_lz@163.com
收稿日期: 2014-01-01 修回日期: 2014-01-14
接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-08

Correlation between uric acid and nonalcoholic fatty liver disease

Xiao-Ling Xu, Hong Jia

Xiao-Ling Xu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Xiao-Ling Xu, Hong Jia, Evidence-based Medical Center of Luzhou Medical School, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Hong Jia, Epidemiology and Statistics, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Supported by: Danone Nutrition Center Dietary Nutrition Research and Education Fund, No. DIC2013-03
Correspondence to: Hong Jia, Professor, Epidemiology and Statistics, Luzhou Medical College, 319 Zhongshan Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. jhong_lz@163.com
Received: 2014-01-01 Revised: 2014-01-14
Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-08

Abstract
Uric acid (UA) is the end product of purine metabolism and serum uric acid (SUA) level is maintained by the balance between uric acid production and excretion. With the increase in the number of liver disease patients around the world, the number of studies about UA and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is also increasing. According to these studies, high SUA is closely related to the occurrence and development of NAFLD. Therefore, a further understanding of the relationship between UA and NAFLD will be helpful for NAFLD diagnosis and treatment. In this paper, we review the relationship between UA and NAFLD.

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

Key Words: Uric acid; Nonalcoholic fatty liver disease; Insulin resistance; Oxidative stress

Xu XL, Jia H. Correlation between uric acid and nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 933-938 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/933.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.933

摘要
尿酸(uric acid, UA)是嘌呤在肝脏的最终代谢产物, 产生和排泄共同维持着人体血清尿酸的平衡. 随着世界各国肝脏疾病患者数量的增加, 近期关于UA与非酒精性脂肪肝(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的研究日益增多. 据研究显示高血清尿酸(serum uric acid, SUA)与NAFLD的发生与发展密切相关, 因此对UA和NAFLD关系的深入研究将会为NAFLD的诊断和治疗提供一个崭新的平台. 本文对近几年国内外关于UA与NAFLD的研究进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 尿酸; 非酒精性脂肪肝; 胰岛素抵抗; 氧化应激

核心提示: 尿酸(uric acid, UA)在非酒精性脂肪肝(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生机制的某些环节中起到一定的作用, 目前主要的假说是"二次打击学说", 然而UA是NAFLD的危险因素, 或UA本身就是其发生机制的一个组成部分现阶段尚不明确. 但是各国研究结果明确显示, UA浓度增高导致NAFLD的患病率增加, 肝脏损害程度加重.

徐小玲, 贾红. 尿酸与非酒精性脂肪肝的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 933-938 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/933.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.933

0 引言
非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种慢性肝脏疾病[1]. 随着人们生活

■背景资料
随着世界各国肝脏疾病患者数量的增加, 尤其是非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的增多, 各国研究者对其进行了大量的大样本的流行病学研究, 结果显示NAFLD患者中尿酸含量较高, 故认为尿酸可能与NAFLD的发生有密切关系, 并具有一定的临床意义.

■同行评议者
迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科

■研发前沿
尿酸(uric acid, UA)是嘌呤在肝脏的最终代谢产物, 其作用于NAFLD发生的某些环节, 增高与NAFLD的发生和发展密切相关. UA在人体血液中的某个浓度范围, 可以警示或减少NAFLD的发生还有待进一步研究. 此外, UA是NAFLD的危险因素, 或UA本身就是其发生机制的一个组成部分尚不明确, 仍需进一步研究.

水平的提高, 正如不断增加的流行性代谢疾病, 如肥胖、胰岛素抵抗和代谢综合征(metabolic syndrome, MS)等[2], NAFLD成为一个新兴且棘手问题, 而且其患病率在未来将不断增加. 国内研究显示NAFLD在成人中的患病率约15%[3], 国外相关研究显示在美国等西方国家NAFLD患病率约20%-30%[4,5], 且与患者生存率和死亡率密切相关[4]. Xu等[6]报道非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的死亡率超过30%. Edmison等[7]研究显示NASH患者中, 15%-20%发展为肝硬化, 而在这些发展为肝硬化的患者中, 30%-40%死于肝脏相关的疾病. NAFLD的死亡率除了与肝硬化有关, 还与其增加了心血管疾病发生的风险有关[8]. 近年来, NAFLD与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、代谢综合征等相关的研究屡见不鲜, 但越来越多的研究显示SUA作为一个新颖的危险因素, 其浓度升高与NAFLD的发生和进展相关[9-11]. 本文就UA与NAFLD的关系进行简单综述.

1 非酒精性脂肪肝

根据酒精摄入水平, 脂肪肝分为酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver disease, AFLD)和NAFLD[12][无饮酒史或饮酒折合乙醇量<140 g/wk(女性<70 g/wk)[13]]. 在病理生理学的范畴, NAFLD不只是一种单纯的肝脏疾病, 而是一个多方面的生理和生化事件, 包括基因[14]、环境[15]、新陈代谢[16]和压力相关因素[17], 尤其与全身代谢紊乱密切相关, 但是确切的危险因素尚未被完全阐明. 2002年美国肝脏疾病研究学会NASH专题会认为NAFLD是一种遗传-环境-代谢应激相关性疾病, 是MS在肝脏的表现[18]. 故NAFLD被定义为是一种与IR及遗传易感性相关的代谢应激性肝脏损伤[18], 其由一系列的病理类型组成, 包括非酒精性单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、NASH及其相关肝硬化[5].

2 尿酸的代谢机制

UA是细胞新陈代谢及食物中嘌呤核苷酸的代谢终产物, 其通过嘌呤脱氢酶或氧化酶降解嘌呤形成. 人体每天产生的UA总量2/3-3/4经肾脏由尿液排泄, 其余经肝胆系统排入肠道, 被肠道菌群分解. 后者是肾功衰时尿酸排泄的主要途径. 肾脏清除尿酸包括远曲小管的滤过、重吸收、肾小管的分泌和分泌后再吸收4个部分. 有研究表明, 尿酸的分泌和重吸收是通过离子交换转运系统来实现的. UA的生成和排泄维持着人体内SUA的平衡[19], 生成增多或清除减少都会导致SUA浓度增高. 前者包括外源性嘌呤摄入过多、内源性嘌呤产生过多以及嘌呤代谢增加; 后者包括: (1)各种原因导致的肾小球滤过率下降; (2)肾小管对UA重吸收增加; (3)乳酸或酮酸抑制离子交换转运系统, 使肾小管分泌尿酸被抑制. 血清尿酸浓度由UA的合成、分泌、再吸收决定, 而这些可能与代谢因素、肾脏因素及遗传变异相关[20]. Onat等[21]研究表明高尿酸血症常见于中央型肥胖和高甘油三酯血症等代谢综合征或其组成部分患者身上.

3 UA与NAFLD的关系

近几年, 国内外对UA与NAFLD两者的关系进行了大量研究, 主要是流行病学研究. SUA浓度采用生化仪检测, 而NAFLD诊断标准则采用《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》(2010年修订版)[13]. 尽管肝活检是诊断NAFLD及其分级的金标准, 然而近期研究和临床实践中却采用一个实用而可靠的方法-超声[22,23], 其使用形态学检查来诊断NAFLD, 不是因为其无创、便捷而被广泛采用, 而是因为它检测肝脂肪变形的精确度能被大家认可, 且新的诊断标准巩固了超声诊断该疾病的效能[20,24]. Saverymuttu等[25]报道, 超声诊断肝脂肪变性的准确度在94%以上, 精确度在84%以上.

近几年许多国家(如中国、美国、韩国等)对UA与NAFLD发生和发展的相关性进行了流行病学研究, 主要是横断面研究. 研究人群包括高尿酸血症患者、NAFLD或非NAFLD的成年人、伴或不伴2型糖尿病者、2-17岁儿童和青少年及绝经前和绝经后妇女等. 辛国秋等[26]对246例NAFL者和246例年龄匹配的门诊健康体检排除脂肪肝者进行研究, 所纳入的158例高尿酸血症患者中, NAFL 114例, 占该组总病病例数的46.34%; 无NAFL 39例, 占该组病例总病病例数17.89%. 将所有研究对象SUA值四分位处理(1: 男性≤334 mol/L, 女性≤272 mol/L; 2: 男性335-381 mol/L, 女性273-311 moL/L; 3: 男性382-425 mol/L, 女性312-356 mol/L; 4: 男性≥426 mol/L, 女性≥357 mol/L), NAFL患病率依次为11.91%、27.74%、47.67%、85.04%, 后三组患病率分别是第1组(SUA浓度最低)的2.33倍、4.00倍和7.14倍. NAFLD组中SUA平均浓度为376.52 μmol/L±12.63 μmol/L, 非NAFLD

组中SUA平均浓度为323.49 μmol/L±12.95 μmol/L. 从以上结果可看出NAFLD中SUA水平较非NAFLD高, 且随UA水平增高, NAFLD患病率成倍增长. Logistic回归分析证明高尿酸血症(hyperuicemic, HUA)是NAFLD的独立危险因素. 秦恳等[27]通过对36000例18岁以上人群调查显示, HUA的总患病率为18.17%, 而NAFLD患者HUA为39.41%, 且身体质量指数(body mass index, BMI)、甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)、丙氨酸氨基转换酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转换酶(aspartate amino transferase, AST)、肌酐(serum creatinine, Scr)等随SUA的升高而递增, HDL-C随SUA的升高而递减, 故认为HUA与NAFLD的发生和发展有显著关系, 并与代谢紊乱密切相关. Xu等[9]对6890例平均年龄44.4岁非NAFLD的中国人进行的为期3年横断面研究, 也是据SUA水平将被研究者分为5组(男性: 1, ≤295 mmol/L; 2, 296-332 mmol/L; 3, 333-367 mmol/L; 4, 368-409 mmol/L; 5, >410 mmol/L; 女性: 1, ≤205 mmol/L; 2, 206-232 mmol/L; 3, 233-262 mmol/L; 4, 263-298 mmol/L; 5, >299 mmol/L), 通过观察基线水平的SUA与NAFLD的发病率在分级和剂量效应中发现, 3年中NAFLD的累积发病率在5组中分别为7.2%、9.5%、11.5%、13.8%和17.2%. 基线水平的SUA和NAFLD的发生成正相关, 其余4组和第1组相比, NAFLD的风险比分别是1.32、1.60、1.92和2.34. 这些结果表明SUA水平是一个独立危险NAFLD发生的因素, 且随着其水平提高其发生风险增加. 该研究中COX风险评估结果也证实了SUA浓度是NAFLD发生的独立危险因素. Ryu等[10]对5741例20-59岁无脂肪肝及引起肝脏疾病主要危险因素的韩国男人进行的纵向研究研究结果显示, 在控制了BMI和大量的代谢因素情况下, 增高血清尿酸水平是超声诊断的脂肪肝的一个危险因素. 当尿酸作为一个持续变量, 其每增高1 mg/dL, 脂肪肝的风险比为1.11. Hwang等[11]对9019例韩国人进行横断面研究, 结果显示最高尿酸组与最低组相比, NAFLD发生的相对危险度(odds ratio, OR)值男性为1.46, 女性为2.13. 故认为即使在正常范围内增加SUA浓度也与NAFLD的发生有独立的联系. Lee等[28]对4954例平均年龄在40.0岁±5.9岁的无肝脏疾病的韩国的回顾性队列研究中, 多变量分析结果表明SUA水平和NAFLD的发展成正相关. Sirota等[29]对10732例美国非2型糖尿病的成年人的代表性样本进行横断面研究, 研究结果显示男性、高血压和中心型肥胖者为主具有较高尿酸水平, 而这些人群同时也具有较高的甘油三酯, 较低的HDL-C, 较高的IR以及较低的估算的肾小球率过滤. 按UA水平和性别将被研究者各分为4组(男性: ≤5.2 mg/dL, 5.3-6.0 mg/dL, 6.1-6.9 mg/dL, 和>6.9 mg/dL; 女性: ≤3.7 mg/dL, 3.8-4.5 mg/dL, 4.6-5.3 mg/dL, 和>5.3 mg/dL), 即使UA在正常范围内, 随其浓度增加, 超声诊断的脂肪肝总患病率由27.3%上升到46.6%. 回归分析结果显示在没有控制混杂因素的情况下, SUA浓度每增长1.0 mg/dL NAFLD的风险增加38%. 故提出UA浓度升高是超声诊断的NAFLD的独立危险因素, 且NAFLD损害严重程度随尿酸的增高而加重. Petta等[30]对166例依从性好的NAFLD患者进行研究显示在单变量分析中, 高BMI、大腰围、高血糖和胰岛素水平、高尿酸水平、高尿酸血症等导致中重度的脂肪变性; 多变量logistic回归分析表明, 即使只有高稳态模型评估法(homeostasis model assessment, HOMA)高尿酸血症和小叶炎症, 三者仍然具有显著关系. 在多变量分析中, 用连续变量UA替代分类变量高尿酸血症, 所得到的结果相似. 李明珍等[31]在对1007例伴有或不伴有2型糖尿病NAFLD住院患者的回顾性分析中, 发现伴NAFLD组较不伴NAFLD组年龄低、2型糖尿病病程短, 其BMI、SUA、ALT、AST均升高, 而AST/ALT、尿酸清除率均降低. 经统计学分析, SUA水平和NAFLD间有统计学关联, 且NAFLD发生风险随SUA水平升高而增加, 趋势差异有统计学意义(P<0.05). Moon[32]研究结果表明, 在绝经后妇女中, NAFLD患者UA高于非NAFLD, 但在绝经前妇女中无此现象. 在绝经前妇女中, UA在有无代谢综合征的人群中无差别, 在控制年龄的情况下,绝经后妇女UA在有代谢综合征的人群较高. 雌激素的影响可能能解释这种差别. Vos等[33]在对2-17岁儿童及青少年的研究中发现, 患有NAFLD的儿童及青少年含糖饮料的消费比较低, 而尿酸可能会影响身体总糖类的消耗, 故认为尿酸与NASH有显著联系, 但仍需进一步证实. 此外, 部分研究者还论证了在健康成年人中SUA水平是NAFLD的一个独立危险因素以及其被作为评估NAFLD一个补充措施[34,35]. 综上研究结果显示NAFLD患者SUA水平较健康者高; SUA水平增高是NAFLD发生的危险因素, 在较高SUA水平, NAFLD的患病率增加, 且随SUA水

■相关报道
Sirota等研究显示, 即使UA在正常范围内, NAFLD的患病率随其浓度增高而增加, 且肝脏损害严重程度也随其增高而加重. 这是近几年各国研究的热点.

■创新盘点
本文就UA在人体血液中的浓度与NAFLD的发生和发展相关性着手，综述了各国对UA与NAFLD相关性研究的大样本流行病学调查研究，分析UA浓度增高与NAFLD发生和发展的密切联系，以及从机制反面进一步证实这种相关性.

平的增高而增加. 但这些研究大多是横断面研究，不能强有力地说明SUA和NAFLD之间的因果关系，故需要进一步的队列研究及动物或细胞实验加以证明.

4 UA与NAFLD相互作用的机制

NAFLD是一个多方面的生理和生化事件，包括基因、环境、新陈代谢和压力相关因素，但在近年研究中发现HUA与NAFLD的发生和进程相关. 现阶段对UA和NAFLD关系最可信的解释为Day等[36]提出的“二次打击”学说. 在这个理论中，IR导致脂肪在肝脏中的储积和肝脂肪变是第一次“打击”. 由于IR、过度炎症反应、饮酒和肥胖等，使得肝细胞对炎症反应和损伤因素的易感性增高，更易受到进一步的损害. IR促进外周脂肪组织分解，促使游离脂肪酸流入肝脏[37]；同时，NAFLD患者肝细胞中脂肪沉积，脂肪酸合成增加，进而葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G-6-Pase)活性增高，肝糖异生增强，同时胰岛素对G-6-Pase抑制减少，导致IR，如此恶性循环. 任习芳等[38]研究发现，单纯NAFL组存在肥胖、血清转氨酶、血脂代谢、空腹血糖及胰岛素敏感性异常，当其合并T2DM后，血清转氨酶、血脂进一步升高，IR程度加剧.

几乎所有的NAFL患者都存在肝脏的IR，且其严重程度与NAFL的发展和预后有关[39]. IR导致脂肪在肝细胞内沉积主要通过以下两个途径：脂质过多症和高胰岛素血症. IR使血清FFA增多，增多的FFA导致肝细胞线粒体氧化超载，由此增加了肝细胞内脂肪酸的储存[40]. 此外，动物实验证明FFA在肝脏中被合成甘油三酯，或在线粒体、过氧化物酶体或微粒体中被氧化，而氧化产物是有害物质，其能引起肝脏的损伤，导致后续的肝硬化[7]；同时，增多的FFA又可通过抑制胰岛素的信号传导并减少胰岛素的清除，加重IR. 此外，高胰岛素血症和IR促进肝脏合成TG，当肝中合成TG速度超过了分泌TG入血的速度时，便出现肝中TG堆积，参与形成脂肪肝.

氧化应激促使脂质过氧化和炎症反应形成第二次“打击”，这两种应激源对NAFLD的发生和进展有重要作用. UA反应细胞的更新速度，在细胞外环境中具有抗氧化作用，可能对疾病有一定的保护作用[41,42]；当其进入细胞内作用于特定的转运蛋白，具有促炎作用，同时具有促氧化作用，诱导炎症因子和生长因子的释放[43,44]. UA作为促炎因子是炎症反应过程的一部分，且增高白介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等水平[45]，诱导肝脏炎症反应、肝细胞变性坏死、肝纤维化发生[46]. 氧化应激所导致的SUA水平增高则是代谢紊乱的反映.

NALDA导致SUA增高的原因如下：IR可使氧化应激增强，进而促进尿酸合成[38]；IR可引起肾素-血管紧张素系统亢进，血管紧张素Ⅱ产生增多，其可降低肾血流量，减少尿酸排泄；在肾脏中，UA与钠离子有共同的转运系统，胰岛素可通过减少钠-氢交换而减少钠离子的排泄水平从而减少UA的排泄[47]；IR可导致NAFLD产生，而NAFLD可使IR程度加剧，故可推测NAFLD可导致SUA增高. 此外，NAFLD患者中TG增加，TG合成增加将加速SUA的生产和积累[48]. 李雨浓[49]研究指出在NAFLD患者血清中TG的含量高于非NAFLD，梁勇前等[50]研究结果与其相同.

总之，UA和NAFLD相互作用，而IR是代谢综合征的主要发病机制，也是发生NAFLD的起始因子及中心环节，其在这个恶性循环中起着重要作用.

5 结论

SUA与NAFLD的关系复杂，通过近几年的研究，正常范围内HUA与NAFLD的发生有密切关系已明确，且HUA可能与NAFLD的严重程度相关，但UA是NAFLD的危险因素，或UA本身就是其发生机制的一个组成部分还尚无定论. 部分研究虽已证明SUA与NAFLD发生和进展的关系，但没有量化二者之间的关系；此外，尿酸控制在什么范围能减少FALDA的发生，这个水平的UA的身体其他系统有无损伤，暂无研究. 故将来仍需要进一步的流行病学研究及实验研究来验证. UA和NAFLD的相关研究大多是人口基数较大的横断面研究，而队列研究较少，故二者之间的因果尚不清楚. 未来还需要大量的研究进一步证明两者之间更深层次的关系，以便临床中运用对尿酸的检查来筛查和随访NAFLD患者，找到新的途径治疗和延缓NAFLD的进程.

6 参考文献

1 申红，王曼曼，曾龙驿，舒冏， 穆攀伟. 2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝与血清尿酸的关系. 内蒙古中医药 2012; 31: 86-87

2 Gu D, Reynolds K, Wu X, Chen J, Duan X, Reynolds RF, Whelton PK, He J. Prevalence of the metabolic syndrome and overweight among adults in China. *Lancet* 2005; 365: 1398-1405 [PMID: 15836888 DOI:

10.1016/S0140-6736(05)66375-1]
3 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
4 Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 113-121 [PMID: 16012941]
5 Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231 [PMID: 11961152 DOI: 10.1056/NEJMra011775]
6 Xu C, Yu C, Ma H, Xu L, Miao M, Li Y. Prevalence and risk factors for the development of nonalcoholic fatty liver disease in a nonobese Chinese population: the Zhejiang Zhenhai Study. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1299-1304 [PMID: 23567356 DOI: 10.1038/ajg.2013.104]
7 Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. *Clin Liver Dis* 2007; 11: 75-104, ix [PMID: 17544973 DOI: 10.1016/j.cld.2007.02.011]
8 Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2010; 363: 1341-1350 [PMID: 20879883 DOI: 10.1056/NEJMra0912063]
9 Xu C, Yu C, Xu L, Miao M, Li Y. High serum uric acid increases the risk for nonalcoholic Fatty liver disease: a prospective observational study. *PLoS One* 2010; 5: e11578 [PMID: 20644649 DOI: 10.1371/journal.pone.0011578.]
10 Ryu S, Chang Y, Kim SG, Cho J, Guallar E. Serum uric acid levels predict incident nonalcoholic fatty liver disease in healthy Korean men. *Metabolism* 2011; 60: 860-866 [PMID: 20863537 DOI: 10.1016/j.metabol.2010.08.005]
11 Hwang IC, Suh SY, Suh AR, Ahn HY. The relationship between normal serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 386-391 [PMID: 21394307 DOI: 10.3346/jkms.2011.26.3.386.]
12 张华捷, 庄辉, 刘学恩. 脂肪肝的流行病学研究进展. 中华流行病学杂志 2004; 25: 630-632
13 范建高. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 现代医药卫生 2011; 27: 641-644
14 Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395 [PMID: 15565570 DOI: 10.1002/hep.20466]
15 Suzuki A, Lindor K, St Saver J, Lymp J, Mendes F, Muto A, Okada T, Angulo P. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2005; 43: 1060-1066 [PMID: 16140415 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.06.008]
16 Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728 [PMID: 16287793 DOI: 10.7326/0003-4819-143-10-200511150-00009]
17 Roskams T, Yang SQ, Koteish A, Durnez A, DeVos R, Huang X, Achten R, Verslype C, Diehl AM. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Pathol* 2003; 163: 1301-1311 [PMID: 14507639 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63489-X]
18 Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-1219 [PMID: 12717402 DOI: 10.1053/jhep.2003.50193]
19 Álvarez-Lario B, Macarrón-Vicente J. Uric acid and evolution. *Rheumatology* (Oxford) 2010; 49: 2010-2015 [PMID: 20627967 DOI: 10.1093/rheumatology/keq204]
20 de Oliveira EP, Burini RC. High plasma uric acid concentration: causes and consequences. *Diabetol Metab Syndr* 2012; 4: 12 [PMID: 22475652 DOI: 10.1186/1758-5996-4-12.]
21 Onat A, Uyarel H, Hergenç G, Karabulut A, Albayrak S, Sari I, Yazici M, Keleş I. Serum uric acid is a determinant of metabolic syndrome in a population-based study. *Am J Hypertens* 2006; 19: 1055-1062 [PMID: 17027827 DOI: 10.1016/j.amjhyper.2006.02.014]
22 de Alwis NM, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S104-S112 [PMID: 18304679 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.009]
23 Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009; 49: 306-317 [PMID: 19065650 DOI: 10.1002/hep.22603.]
24 Hamaguchi M, Kojima T, Itoh Y, Harano Y, Fujii K, Nakajima T, Kato T, Takeda N, Okuda J, Ida K, Kawahito Y, Yoshikawa T, Okanoue T. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2708-2715 [PMID: 17894848 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01526.x]
25 Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J* (Clin Res Ed) 1986; 292: 13-15 [PMID: 3080046 DOI: 10.1136/bmj.292.6512.13]
26 辛国秋, 唐悦, 唐先富. 血清尿酸水平与非酒精性脂肪肝发病的相关性研究. 西南国防医药 2010; 20: 1295-1297
27 秦恳, 马秀英, 周婷, 张帆, 吴琴琴, 曾莉, 杨英, 黄燕, 邹天富, 李李, 王佑娟. 成人非酒精性脂肪肝与高尿酸血症关系的研究. 华西医学 2012; 27: 226-229
28 Lee JW, Cho YK, Ryan M, Kim H, Lee SW, Chang E, Joo KJ, Kim JT, Kim BS, Sung KC. Serum uric Acid as a predictor for the development of nonalcoholic Fatty liver disease in apparently healthy subjects: a 5-year retrospective cohort study. *Gut Liver* 2010; 4: 378-383 [PMID: 20981217 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.3.378]
29 Sirota JC, McFann K, Targher G, Johnson RJ, Chonchol M, Jalal DI. Elevated serum uric acid levels are associated with non-alcoholic fatty liver disease independently of metabolic syndrome features in the United States: Liver ultrasound data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Metabolism* 2013; 62: 392-399 [PMID: 23036645 DOI: 10.1016/j.metabol.2012.08.013.]
30 Petta S, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, Craxì A. Hyperuricemia is associated with histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 757-766 [PMID: 21790685 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04788.x]

■应用要点

UA浓度增高与NAFLD发生和发展密切相关，对二者相关性进一步的验证因果关系的队列研究以及量化指标的实验室研究，以便临床中运用对UA的检查来筛查和随访NAFLD患者，找到新的途径治疗和延缓NAFLD的进程.

■**同行评价**
本文综述了UA和NAFLD相关性的流行病学研究和实验室研究，从大样本的调查结果和机制两方面全面分析了UA和NAFLD的关系，在临床上对NAFLD的筛查和治疗将提供一种新方法，以便减少其发病率和延缓其肝功能恶化的进程.

31 李明珍, 郝久营, 孙丽荣. 2型糖尿病患者血尿酸水平与非酒精性脂肪肝的相关性研究. 中华内分泌代谢杂志 2012; 28: 215-216

32 Moon SS. Relationship between serum uric acid level and nonalcoholic fatty liver disease in pre- and postmenopausal women. *Ann Nutr Metab* 2013; 62: 158-163 [PMID: 23406781 DOI: 10.1159/000346202]

33 Vos MB, Colvin R, Belt P, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Schwimmer JB, Tonascia J, Unalp A, Lavine JE. Correlation of vitamin E, uric acid, and diet composition with histologic features of pediatric NAFLD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 90-96 [PMID: 22197855 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318229da1a.]

34 Lee YJ, Lee HR, Lee JH, Shin YH, Shim JY. Association between serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Korean adults. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 175-180 [PMID: 19961393 DOI: 10.1515/CCLM.2010.037]

35 Li Y, Xu C, Yu C, Xu L, Miao M. Association of serum uric acid level with non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *J Hepatol* 2009; 50: 1029-1034 [PMID: 19299029 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.021]

36 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70599-2]

37 Cardoso AS, Gonzaga NC, Medeiros CC, Carvalho DF. Association of uric acid levels with components of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease in overweight or obese children and adolescents. *J Pediatr* (Rio J) 2013; 89: 412-418 [PMID: 23791233 DOI: 10.1016/j.jped.2012.12.008]

38 任习芳, 艾耀伟, 潘志红, 刘修莉, 陈畅, 龚发良. 非酒精性脂肪肝血尿酸水平与胰岛素抵抗的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2410-2413

39 王广华, 刑象斌. 非酒精性脂肪肝发病机制研究进展. 中国康复理论与实践 2004; 10: 243-244

40 蔡葵, 何玉怡. 非酒精性脂肪肝与脂代谢紊乱及胰岛素抵抗的关系. 江西医学检验 2006; 24: 335-336

41 Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78: 6858-6862 [PMID: 6947260 DOI: 10.1073/pnas.78.11.6858]

42 Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381-1478 [PMID: 15383655]

43 Kang DH, Han L, Ouyang X, Kahn AM, Kanellis J, Li P, Feng L, Nakagawa T, Watanabe S, Hosoyamada M, Endou H, Lipkowitz M, Abramson R, Mu W, Johnson RJ. Uric acid causes vascular smooth muscle cell proliferation by entering cells via a functional urate transporter. *Am J Nephrol* 2005; 25: 425-433 [PMID: 16113518]

44 Kanellis J, Watanabe S, Li JH, Kang DH, Li P, Nakagawa T, Wamsley A, Sheikh-Hamad D, Lan HY, Feng L, Johnson RJ. Uric acid stimulates monocyte chemoattractant protein-1 production in vascular smooth muscle cells via mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase-2. *Hypertension* 2003; 41: 1287-1293 [PMID: 12743010 DOI: 10.1161/01.HYP.0000072820.07472.3B]

45 Amin KA, Kamel HH, Abd Eltawab MA. The relation of high fat diet, metabolic disturbances and brain oxidative dysfunction: modulation by hydroxy citric acid. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 74 [PMID: 21569551 DOI: 10.1186/1476-511X-10-74]

46 阎彩凤, 向红丁, 平凡, 陈伟. 不同类型非酒精性脂肪肝与糖脂代谢的相关分析. 中国慢性病预防与控制 2006; 14: 345-348

47 赵莹莹, 郝久营, 李凤敏, 刘春梅, 李明珍, 孙丽荣. 伴非酒精性脂肪肝的2型糖尿病患者的临床特点及与血清尿酸水平的关系. 中国慢性病预防与控制 2011; 19: 57-59

48 Choi SS, Diehl AM. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 295-300 [PMID: 18460922 DOI: 10.1097/MOL.0b013e3282ff5e55]

49 李雨浓. 非酒精性脂肪性肝病与尿酸关系的探讨. 中国医学创新 2012; 9: 3-5

50 梁勇前, 陈容平, 杨锐, 胡德龙, 张桦. 非酒精性脂肪性肝病相关危险因素分析. 广东医学 2013; 34: 1855-1856

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 939-944
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

成年人慢性便秘流行病学的研究现状

赵 劢, 谭至柔

赵劢, 谭至柔, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
赵劢, 在读硕士, 主要从事胃肠动力障碍性疾病的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013143
作者贡献分布: 本文综述由赵劢完成; 谭至柔审校.
通讯作者: 谭至柔, 主任医师, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科. zhirout@126.com
电话: 0771-5356501
收稿日期: 2013-11-09 修回日期: 2014-01-17
接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-08

Epidemiology of chronic constipation in adults

Mai Zhao, Zhi-Rou Tan

Mai Zhao, Zhi-Rou Tan, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2010GXNSFA013143
Correspondence to: Zhi-Rou Tan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhirout@126.com
Received: 2013-11-09 Revised: 2014-01-17
Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-08

Abstract
Chronic constipation is a common gastrointestinal motility disorder worldwide, having a significant impact on quality of life and affecting both physical and emotional health. The development of economy and the improvement in living standards have led to an increase in the incidence of constipation, which has aroused the concern of the medical staff and patients. At present, there have been only scattered data about chronic constipation in adults. This review aims to elucidate the epidemiology of chronic constipation in adults.

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

Key Words: Chronic constipation; Epidemiology

Zhao M, Tan ZR. Epidemiology of chronic constipation in adults. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 939-944
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/939.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.939

摘要
慢性便秘是世界范围内常见的胃肠动力疾病, 其影响着人们的生活及其身心健康. 随着经济的发展, 人们生活水平的提高, 因便秘而就诊的患者越来越多, 越发引起医务人员及患者的关注. 目前文献报道关于成年人慢性便秘的流行病学资料较零散, 本文通过复习国内外相关文献, 对成年人慢性便秘的流行病学研究现状作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性便秘; 流行病学

核心提示: 慢性便秘(chronic constipation, CC)在国内外均有着较高的患病率, 性别、年龄、社会经济地位、文化程度、职业、精神心理因素、体质量指数等与便秘密切相关, 但由于研究对象、研究方法、样本量及诊断标准等缺乏统一标准, 难以得到CC真实的流行病学资料.

赵劢, 谭至柔. 成年人慢性便秘流行病学的研究现状. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 939-944 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/939.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.939

■背景资料
随着人们生活水平的提高, 便秘患者的就医意识逐步增强, 引起医务人员的重视. 当前, 关于便秘的流行病学资料较零散, 不利于人们对该疾病的认识.

0 引言
便秘(constipation)是一种常见的病症, 主要表现为排便次数每周少于3次、粪便干硬和/或排便困难. 排便困难包括排便费力、排出困难、排便不尽感、排便费时及需手法协助排便[1,2]. 慢性便秘(chronic constipation, CC)是指便秘的病程至少为6 mo. 对于大多数患者, 便秘是一种令人烦恼, 但并不威胁生命或导致衰弱的疾病; 但对某些患者群体, 比如老年人, 便秘是一个严重的健康问题. 随着经济的发展、生态环境的恶化、生活节奏的加快及饮食习惯的改变等因素影响, CC的患病率逐步上升. 2003年我国在江西

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■研发前沿
本文阐述了成年人慢性便秘的总体患病率和年龄、性别、地区分布的特点，并对慢性便秘的危险因素及相关因素进行了分析.

南昌召开了全国便秘专题研讨会，制定了中国慢性便秘诊治流程；随着罗马III标准的制定，中华医学会在2007年修订了“中国慢性便秘的诊治指南”. 近年来，CC的危害及治疗逐步得到重视，对CC的研究逐步深入. 2013年中华医学会再次对“指南”进行相关修订，对便秘的定义、诊断、治疗等进行了修改，增加了特殊人群便秘的治疗原则及便秘治疗药物的循证医学依据等. 目前关于成年人的慢性便秘的流行病学资料较零散，本文通过复习国内外相关文献，对成年人CC的流行病学研究现状简要综述.

1 慢性便秘的总体患病率

由于便秘病因复杂、临床症状的个体差异性大、各研究单位对诊断标准程度的把握不同以及调查内容缺乏统一性，流行病学方面的报道结果各不相同. 一项系统评价资料显示，世界各地报道的成年人慢性便秘的患病率在2.5%-79%之间[3]，最高的患病率(79%)为芬兰针对长期住院老人的调查结果. Peppas等[4]对欧洲及大洋洲人群便秘的系统评价资料指出，21份研究中超过半数显示患病率为8%-26%，长期住院的男性老人患病率高达81%. 有资料显示北美CC的患病率为1.9%-27.2%，均数为14.8%[5]，诊断标准包括自述症状及罗马标准. 加拿大报道的结果为2%-27%[6]. 而在亚洲地区，伊朗的便秘患病率波动在1.4%-37.0%，功能性便秘(functional constipation, FC)患病率为2.4%-11.2%，最高的患病率(37%)发生在医务人员中[7]. 韩国普通人群患病率分别为3%-9%[8,9]. 目前文献所报道我国成年人普通人群便秘的患病率为3.19%-11.6%[10-14]. 其中，向国春等[10]对重庆18岁以上社区人群使用罗马Ⅱ标准调查结果为3.19%，而患病率11.6%为阚志超等使用自定义便秘诊断调查所得结果[14]. 国内对功能性便秘的研究亦较多，一项多地区大样本的调查显示，FC患病率为6%[15]；上海地区18岁以上普通人群的FC患病率为2.9%[16]；Lu等[17]对台湾地区调查结果显示，FC患病率为8.5%，其中便秘型肠易激综合征患病率为2.7%；香港的FC患病率较大陆高，为14.3%[18].

2 慢性便秘的年龄分布

国外大部分研究认为CC的患病率与年龄有相关. Sanchez等[6]的研究指出，CC的患病率随着年龄的增长而升高，65岁以后尤为明显. 一项对美国Hammond城市调查显示，50岁以后，便秘患病率随着年龄增长缓慢递增，70岁以后，患病率显著上升[5]. 在我国也有一系列关于老年人便秘的报道，其结果与国外基本一致. 李增金等[19]对北京部分地区60岁以上老年人进行调查，结果显示总患病率为20.3%，60、65、70岁组与85岁组比分别为$P<0.025$、$P<0.025$、$P = 0.05$. 南昌市的调查结果显示，≥60岁组患病率为8.3%，显著高于其他年龄各年龄组($P<0.001$)[20]. 针对我国多地区的功能性便秘流行病学调查显示，60-80岁的个体患FC的可能性与30-39岁的个体相比存在明显差异，年龄大者更容易患FC[15]. 目前尚缺乏对年龄的统一分类方法，有不少文献指出，年龄与便秘患病率无相关性[21-24]，年龄分组组距大可能是影响因素之一[24].

3 慢性便秘的地区分布

根据目前报道的流行病学调查结果，CC的患病率地区之间有很大差异. 其可能与便秘的诊断标准、调查的对象及不同年龄段选取等因素有关. Mugie等[3]报道世界各地成年人CC患病率为2.5%-79.0%；包括未成年人的统计数据：欧洲为0.7%-79.0%(中位数19.2%)，大洋洲4.4%-30.7%(中位数19.7%)，亚洲11.4%-32.9%(中位数10.8%)，北美3.2%-45.0%(中位数16%)，南美洲26.8%-28.0%，南非为29.2%. 总体来看，亚洲与欧洲、大洋洲及北美洲相比，CC患病率最低. 在我国，调查显示便秘的发生有明显的地域性. 于普林等[25]对全国6个城市(北京、上海、广州、成都、西安、沈阳)≥60岁老年人便秘情况进行调查，结果显示北方地区患病率明显高于南方(17.5% *vs* 7.0%，$P<0.01$). 便秘的患病率还显示出城乡差别，农村患病率明显高于城市[12,17,19,26,27]，但也有少数研究显示不同结果. 西安的调查结果为城市患病率(16.8%)高于农村(10.2%)[28]，沧州的结果为城市居民的便秘患病率14.5%，明显高于农村居民7.4%[29]. 朱兰等[30]对全国七省(市)18984例成年女性进行功能性便秘的调查显示，城市女性FC患病率为15.2%，农村为10.4%，两地患病率差异有统计学意义.

4 慢性便秘的性别分布

绝大多数调查研究显示，女性CC的患病率高于男性. 多数调查表明女性与男性的CC患病率比值为1.01-3.77[5,31]. 墨西哥的一项Meta分析资料显示，男女的便秘患病率比例为1∶3[32]. 美国的调查结果显示女性总体患病率为16%，明显高

于男性的12%[33]. 国内1项多地区大样本调查研究显示, 功能性便秘女性患病率为8%, 明显高于男性的4%, $P<0.001$[15]. 郭晓峰等[34]对北京地区成年人慢性便秘的调查表明男女患病率之比为1∶4.59($\chi^2 = 55.33$, $P<0.001$); 南昌市的调查结果表明女性患病率3.88%显著高于男性的2.16%($P = 0.004$), 男女之比为1∶1.8[20]. 左振魁等[35]对郑州市区8个居民小区采用罗马III标准进行调查, 年龄范围2-92岁, 结果显示女性CC患病率21.32%, 明显高于男性的15.05%, 差异有统计学意义($P<0.01$). 一项针对北京多家医院消化内科门诊就诊的CC患者进行调查, CC患者中女性人数为男性的3.04倍, 在重度便秘CC患者中女性为男性的2.78倍[36]. 但有少数研究认为性别与CC的患病率无明显相关[11,12,21]. 熊理守等[12]对广东社区人群进行的一项调查显示, 男性患病率为3.6%, 女性患病率为4.4%, 差异无显著性($P = 0.217$). 虽然在对儿童便秘的研究中有文献报道男童患病率比女童高[37,38], 但在成人便秘中尚未有类似报道.

5 慢性便秘的危险因素及相关因素

5.1 性别 以上已述女性为便秘的危险因素, 但造成CC患病率的性别差异的机制尚不明确, 可能的原因有很多. 不同性别患者就诊的意愿及是否愿意接受调查可能存在差异, 女性可能更能意识到并愿意诉说自己的症状. 加拿大一项调查显示, 通过多元回归分析, 在过去3 mo中, 自述有便秘症状的女性CC患者更愿意选择去医院就诊(OR = 2.47, $P<0.01$), 且远远高于男性患者(35.6% *vs* 19.5%, $P<0.05$)[39]. 目前普遍认为孕激素的增加会减慢小肠及结肠转运, 导致月经周期中黄体期及妊娠期间便秘的发生. 有研究显示患有CC的女性, 与对照组对比, 常有孕激素受体过度表达[40]. 另外, 盆底功能障碍被认为是女性CC的高危因素之一, 长期用力排便亦可导致盆底功能障碍, 如压力性尿失禁、盆底器官脱垂等. 研究显示有症状的盆腔脏器脱垂的患者梗阻性便秘患病率明显高于没有脏器脱垂者[41,42]. 女性妊娠及分娩过程会造成对盆底组织的损失, 以及盆腔手术所致的盆底神经肌肉受损, 都是导致女性便秘的重要原因. 有研究显示, 盆腔手术及产程延长均是便秘的独立影响因素[43].

5.2 文化程度 不少国外学者认为文化程度的高低与便秘的患病率呈负相关[44,45], 亦有文献提出CC的患病率随受教育程度的增加而上升[33]. 国内关于这方面的文献报道较少, 但调查结果呈现出与国外的结果基本一致, 各家结论各不相同. 熊理守等[12]对广东社区人群慢性便秘的调查显示, CC的患病率随着文化程度的升高而下降, Logistic回归分析结果显示文盲或小学文化是CC的危险因素(OR = 2.16, 95%CI: 1.24-3.76). 天津市成年人慢性便秘的调查结果为小学文化程度者CC患病率明显高于其他患者($\chi^2 = 11.421$, $P<0.001$), 有显著差异[14]. 广州市的调查结果显示, 大学或以上文化者便秘患病率为4.1%, 中学文化者为3.6%, 小学或低于小学文化者为3.3%, 但三者间比较无显著性差异($\chi^2 = 0.617$, $P = 0.735$)[46]. 也有不同结果. 沈峰等[16]对上海市社区成年居民功能性便秘进行调查, 结果显示高等教育组的患病率显著高于其他组($\chi^2 = 27.604$, $P = 0.000$). 造成各家调查结论不相一致的原因尚不明确, 可能与各家使用的CC诊断标准、所属地区、饮食习惯及生活方式等不同有关.

5.3 社会经济地位 国外有不少关于社会经济地位对CC患病率的影响, 认为经济地位的高低与便秘患病率呈负相关[44,47-49]. Bytzer等[47]对澳大利亚25-64岁成年人的调查中, 根据自定义便秘标准, 将调查对象经济地位分为5个等级, 经济地位由高到低的各阶层患病率分别为6.3%、8.7%、9.6%、10.3%、10.2%. 但国内尚未有这方面的文献报道.

5.4 职业 目前有不少关于职业与慢性便秘之间关系的文献, 以国内多见, 但因职业的多样性、调查内容的不统一, 各文献报道的结果不一. 阚志超等[14]对天津市的研究显示, 军人及警察CC患病率为21.3%, 显著高于其他行业人员. 北京地区的研究显示无业和离退休人员的患病率最高, 其次为工人、干部和知识分子[34]. 南昌和合肥地区的研究亦认为无业和离退休人员患病率最高, 差异有统计学意义[20,50]. 对广东社区成年人的调查中显示无业者和农民的患病率最高[12], 但未提到差异是否有统计学意义. 杭州市城区的调查结果提示学生和医护人员的患病率最高, 分别为22.92%和28.57%, 商人最低(6.67%)[51]. 郑州市的调查结果与杭州市的相一致, 认为医护人员(28.57%)、干部(22.49%)、学生(21.33%)便秘患病率最高[35]. 总之, 各家报道均显示CC与职业之间有相关性. 其中, 表明无业人员及离退休人员CC的患病率最高的研究最多, 其次为学生及医护人员. 其原因可能与老年人CC患病率高、不良生活方式及工作学习压力大等因素有关.

■相关报道
Mugie等综述世界范围儿童和成年人便秘的患病率及其相关因素, 认为性别、年龄、社会经济地位和受教育程度在不同程度上影响了便秘的患病率.

■创新盘点
本文系统地阐述成年人慢性便秘的流行病学特点.

5.5 生活方式和饮食习惯 现报道中, 关于生活方式和饮食习惯与慢性便秘的关系意见不一. 饮食方面, 进食较少的纤维素食物、少渣饮食、进食量少、液体摄入减少、饮用较多咖啡会增加便秘的发生[3,52-54]. 魏柏等[55]认为相对于大量饮水者而言, 饮水少成为便秘危险因素的OR值为1.780, 饮水多少对便秘的影响有明显差异性. 郑州市和合肥地区的调查均显示, 嗜食辛辣饮食是慢性便秘发生的危险因素[35,50]. 也有不同意见. 有研究指出饮水量、粗细粮、蔬菜、鱼虾、肉、牛奶、豆制品及服用抗生素和非甾体抗炎药与便秘的发生无显著关系[11,20,34,50]. 六安市及南昌市的调查均显示, 喜食生蔬菜、肥肉和进食量大可降低便秘发生的危险性[11,20]. 但也有文献报道纤维素的摄入及增加膳食纤维无助改善便秘情况[56]. 生活方式方面, 长时间静坐被认为是便秘的危险因素[17,50], 体育运动少者更容易患便秘[44]. 但亦有报道指出, 增加运动量无助于改善便秘[57].

5.6 精神心理因素 精神心理因素是影响胃肠功能的重要因素, 精神心理异常与胃肠功能性疾病相关联已是不争的事实. 众多研究认为, 焦虑、抑郁及生活不良事件是便秘的危险因素. Cheng等[18]的研究发现, 便秘患者焦虑、抑郁积分明显高于对照组, 且在女性患者更多见. 上海市的调查显示焦虑及失眠是功能性便秘的危险因素, OR值分别为2.83、2.443[16]. 唐伟等[11]的研究表明, 慢性便秘患者焦虑自评量表及抑郁自评量表积分与对照组相比, P均<0.001, 差异有显著性. 北京市的调查提出, 经常精神紧张、工作疲劳、情绪不好, 或曾受过重大的精神打击与便秘的发生相关联, 是便秘的危险因素[34]. 但是, 便秘亦可作为一种躯体化症状伴随焦虑和/或抑郁等精神心理障碍的发生而出现, 目前关于两者间的因果关系尚无定论. 便秘可能是精神心理障碍的一个躯体化症状, 亦可能是便秘导致或加重精神心理障碍.

5.7 其他 影响CC的因素有很多, 除上述因素外, 目前研究较多的还有便秘家族史、体质量指数(body mass index, BMI)、烟酒史、居住环境等. 较多的研究指出, 有阳性便秘家族史的人群比无家族史的人群发生便秘的可能性明显升高[11,15,50]. 杭州市的调查结果表明, 有阳性便秘家族史是便秘的危险因素, 其OR值为4.070[51]. 此在儿童的慢性便秘研究中更为常见, 可能与遗传因素及生活环境等有关. 关于BMI与便秘的研究亦不少, 现认为在体质量超标的情况下, BMI与便秘患病率呈负相关[3,15]. 广东市的调查提出, 身体质量指数偏低者更倾向于发生慢性便秘, BMI<18.5 kg/m^{2}时的OR值为2.15, 95%CI: 1.12-3.02[12]. 朱兰等[30]的调查显示腰围≥80 cm是成年女性功能性便秘发生的保护因素, 肥胖者出现便秘的可能性更低. 烟酒史对便秘的影响亦是一个研究热点, 但多数研究认为烟酒史与便秘的患病率无明显相关[3,17,35]. 但国内有研究提出, 女性吸烟大于10支/d是慢性便秘的危险因素, OR值为4.81, P = 0.001, 而男性无论吸烟与否或多少都与便秘无关[34]. 此为少数人的观点. 另外, 尚有研究提出, 居住环境影响便秘的发生, 生活在人口密集的社区可能增加便秘发生的风险[58]. 除此之外, 既往有肠道感染史、妊娠、腹部手术史、降压调脂药物的使用等均为慢性便秘的危险因素[30,35,50].

6 结论

慢性便秘是世界范围内的一种常见病, 其在国内外均有着较高的患病率. 由于CC的临床表现及病因多样性、发病机制复杂, 目前尚缺乏诊断CC的统一标准. 目前在全球范围有较多关于CC的流行病学研究报道, 但由于研究对象、研究方法、样本量及诊断标准等不一致, 难以得到真实的CC的流行病资料. 近年来, 随着人们对CC的认识加深, 因CC而就诊的患者越来越多, 其占用的医疗资源愈加不容忽视. 2013年中国慢性便秘诊治指南提出, 慢性便秘的诊断主要基于症状, 可借鉴罗马III标准中功能性便秘诊断标准, 再次修订了CC的分级诊治流程. 此对今后慢性便秘的流行病调查、诊断、治疗等有着重要指导意义.

7 参考文献

1 Gallegos-Orozco JF, Foxx-Orenstein AE, Sterler SM, Stoa JM. Chronic constipation in the elderly. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 18-25; quiz 26 [PMID: 21989145 DOI: 10.1038/ajg.2011.349]

2 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]

3 Mugie SM, Benninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of constipation in children and adults: a systematic review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 3-18 [PMID: 21382575 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.010]

4 Peppas G, Alexiou VG, Mourtzoukou E, Falagas ME. Epidemiology of constipation in Europe and Oceania: a systematic review. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 5

[PMID: 18269746 DOI: 10.1186/1471-230X-8-5]
5 Higgins PD, Johanson JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 750-759 [PMID: 15089911 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04114.x]
6 Sanchez MI, Bercik P. Epidemiology and burden of chronic constipation. *Can J Gastroenterol* 2011; 25 Suppl B: 11B-15B [PMID: 22114752]
7 Iraji N, Keshteli AH, Sadeghpour S, Daneshpajouhnejad P, Fazel M, Adibi P. Constipation in Iran: SEPAHAN Systematic Review No. 5. *Int J Prev Med* 2012; 3: S34-S41 [PMID: 22826768]
8 Jeong JJ, Choi MG, Cho YS, Lee SG, Oh JH, Park JM, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Han SW, Choi KY, Chung IS. Chronic gastrointestinal symptoms and quality of life in the Korean population. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6388-6394 [PMID: 19009657 DOI: 10.3748/wjg.14.6388]
9 Jun DW, Park HY, Lee OY, Lee HL, Yoon BC, Choi HS, Hahm JS, Lee MH, Lee DH, Kee CS. A population-based study on bowel habits in a Korean community: prevalence of functional constipation and self-reported constipation. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1471-1477 [PMID: 16832618 DOI: 10.1007/s10620-006-9087-3]
10 向国春, 龙庆林, 刘利, 孙英姿, 房殿春. 重庆市人群便秘患病率流行病学研究. 重庆医学 2004; 33: 1541-1541
11 唐伟, 王巧民, 李明忠, 陈久红, 张旭. 六安市慢性便秘流行病学调查. 安徽医药 2008; 12: 426-429
12 熊理守, 陈曼湖, 陈惠新. 广东省社区人群慢性便秘的流行病学研究. 中华消化杂志 2004; 24: 488-491
13 郭晓峰, 柯美云, 潘国宗, 韩少梅, 方秀才, 鲁素彩, 郭慧平. 北京地区成人慢性便秘整群, 分层, 随机流行病学调查及其相关因素分析. 中华消化杂志 2002; 22: 637-638
14 阚志超, 姚宏昌, 龙治平, 刘之武, 韩玉山, 张志广, 王东旭, 杨强, 丁刚. 天津市成年人慢性便秘调查及相关因素分析. 中华消化杂志 2004; 24: 612-614
15 Zhao YF, Ma XQ, Wang R, Yan XY, Li ZS, Zou DW, He J. Epidemiology of functional constipation and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome: the Systematic Investigation of Gastrointestinal Diseases in China (SILC). *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1020-1029 [PMID: 21848795 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04809.x]
16 沈峰, 周惠清, 陈光榆, 范建高, 宗春华, 王志坚, 张颖, 李定国. 上海市社区成年居民功能性便秘的流行病学调查. 中华流行病学杂志 2012; 33: 296-300
17 Lu CL, Chang FY, Chen CY, Luo JC, Lee SD. Significance of Rome II-defined functional constipation in Taiwan and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 429-438 [PMID: 16842471 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02949.x]
18 Cheng C, Chan AO, Hui WM, Lam SK. Coping strategies, illness perception, anxiety and depression of patients with idiopathic constipation: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 319-326 [PMID: 12895216 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01663.x]
19 李增金, 于普林, 时秋宽, 姜中央, 楮德法, 吕锡珠. 北京市部分地区城乡老年人便秘的现况调查. 中国老年学杂志 2000; 20: 1-2
20 吕农华, 谢勇, 黄德强, 王崇文, 袁兆康, 胡锦文, 李钢生, 熊文坚. 南昌市部分人群中慢性便秘的流行病学调查分析. 中国实用内科杂志 2005; 25: 236-237
21 Chang JY, Locke GR, Schleck CD, Zinsmeister AR, Talley NJ. Risk factors for chronic constipation and a possible role of analgesics. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 905-911 [PMID: 17988275 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00974.x]
22 Wald A, Mueller-Lissner S, Kamm MA, Hinkel U, Richter E, Schuijt C, Mandel KG. Survey of laxative use by adults with self-defined constipation in South America and Asia: a comparison of six countries. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 274-284 [PMID: 19832728 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04169.x]
23 Garrigues V, Gálvez C, Ortiz V, Ponce M, Nos P, Ponce J. Prevalence of constipation: agreement among several criteria and evaluation of the diagnostic accuracy of qualifying symptoms and self-reported definition in a population-based survey in Spain. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 520-526 [PMID: 14977649 DOI: 10.1093/aje/kwh072]
24 Drossman DA, Li Z, Andruzzi E, Temple RD, Talley NJ, Thompson WG, Whitehead WE, Janssens J, Funch-Jensen P, Corazziari E. U.S. householder survey of functional gastrointestinal disorders. Prevalence, sociodemography, and health impact. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1569-1580 [PMID: 8359066 DOI: 10.1007/BF01303162]
25 于普林, 李增金, 郑宏, 朱汉民, 李玺, 何钦成, 王静思, 袁凯瑜, 姜中央, 段春波. 老年人便秘流行病学特点的初步分析. 中华老年医学杂志 2001; 20: 132-134
26 史红, 韩斐, 周铭心. 新疆汉族和少数民族居民慢性功能性便秘患病情况流行病学调查分析. 时珍国医国药 2009; 20: 1872-1873
27 王静思, 李幼平. 成都城乡几种常见老年病流行病学调查. 中国慢性病预防与控制 1999; 7: 267-269
28 李玺, 王学良. 西安城乡几种常见老年病流行病学调查. 西安医科大学学报 1998; 19: 609-612
29 李梅岭, 何洪芹, 陈信, 王文进, 王健莉, 张曼丽. 沧州城乡居民便秘的流行病学调查. 现代预防医学 2011; 38: 603-605.
30 朱兰, 郎景和, 王静怡, 韩少梅, 徐涛, 刘春燕, 李琳, 柯美云. 七省(市)城乡成年女性功能性便秘的流行病学调查. 中华医学杂志 2009; 89: 2513-2515
31 Irvine EJ, Ferrazzi S, Pare P, Thompson WG, Rance L. Health-related quality of life in functional GI disorders: focus on constipation and resource utilization. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1986-1993 [PMID: 12190165 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05843.x]
32 Remes Troche JM, Remes Troche JM, Tamayo de la Cuesta JL, Raña Garibay R, Huerta Iga F, Suarez Morán E, Schmulson M. [Guidelines for diagnosis and treatment of constipation in Mexico. A) Epidemiology (meta-analysis of the prevalence), pathophysiology and classification]. *Rev Gastroenterol Mex* 2011; 76: 126-132 [PMID: 21724488]
33 Stewart WF, Liberman JN, Sandler RS, Woods MS, Stemhagen A, Chee E, Lipton RB, Farup CE. Epidemiology of constipation (EPOC) study in the United States: relation of clinical subtypes to sociodemographic features. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3530-3540 [PMID: 10606315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01642.x]
34 郭晓锋, 柯美云, 潘国宗. 北京地区成年人慢性便秘流行病学调查及其相关因素分析. 基础医学与临床 2001; 21: 106-107
35 左振魁, 韩佳瑞. 郑州市区居民便秘流行病学调查. 中国肛肠病杂志 2012; 32: 50-52
36 吴嘉煖, 刘晓红, 刘巍, 柯美云, 方秀右. 女性慢性便秘的特点分析: 多中心横断面临床调查. 中华医学杂志

■应用要点

综述国内外目前对慢性便秘流行病学特点的各家观点, 为防治便秘提供参考资料, 对临床治疗便秘有指导意义.

■同行评价
该课题针对便秘进行流行病学研究及综述，材料详尽，数据及统计分析客观，结果可信，结论可靠，有临床指导意义.

2009; 89: 1255-1258

37 Del Ciampo IR, Galvão LC, Del Ciampo LA, Fernandes MI. [Prevalence of chronic constipation in children at a primary health care unit]. *J Pediatr* (Rio J) 2002; 78: 497-502 [PMID: 14647731 DOI: 10.1590/S0021-75572002000600010]

38 Loening-Baucke V. Chronic constipation in children. *Gastroenterology* 1993; 105: 1557-1564 [PMID: 8224663 DOI: 10.1016/0016-5085(93)90166-A]

39 Pare P, Ferrazzi S, Thompson WG, Irvine EJ, Rance L. An epidemiological survey of constipation in canada: definitions, rates, demographics, and predictors of health care seeking. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 3130-3137 [PMID: 11721760 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.05259.x]

40 Xiao ZL, Pricolo V, Biancani P, Behar J. Role of progesterone signaling in the regulation of G-protein levels in female chronic constipation. *Gastroenterology* 2005; 128: 667-675 [PMID: 15765402 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.12.001]

41 Varma MG, Hart SL, Brown JS, Creasman JM, Van Den Eeden SK, Thom DH. Obstructive defecation in middle-aged women. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2702-2709 [PMID: 18340532 DOI: 10.1007/s10620-008-0226-x]

42 Chen GD, Hu SW, Chen YC, Lin TL, Lin LY. Prevalence and correlations of anal incontinence and constipation in Taiwanese women. *Neurourol Urodyn* 2003; 22: 664-669 [PMID: 14595611 DOI: 10.1002/nau.10067]

43 Perry CP. Relationship of gynecologic surgery to constipation. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1999; 6: 75-78 [PMID: 9971856 DOI: 10.1016/S1074-3804(99)80045-0]

44 Wald A, Scarpignato C, Mueller-Lissner S, Kamm MA, Hinkel U, Helfrich I, Schuijt C, Mandel KG. A multinational survey of prevalence and patterns of laxative use among adults with self-defined constipation. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 917-930 [PMID: 18644012 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03806.x]

45 Howell SC, Quine S, Talley NJ. Low social class is linked to upper gastrointestinal symptoms in an Australian sample of urban adults. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 657-666 [PMID: 16716963 DOI: 10.1080/00365520500442567]

46 尉秀清, 陈曼湖. 广州市居民功能性便秘流行病学调查. 胃肠病学和肝病学杂志 2001; 10: 150-151

47 Bytzer P, Howell S, Leemon M, Young LJ, Jones MP, Talley NJ. Low socioeconomic class is a risk factor for upper and lower gastrointestinal symptoms: a population based study in 15 000 Australian adults. *Gut* 2001; 49: 66-72 [PMID: 11413112 DOI: 10.1136/gut.49.1.66]

48 Wolfsen CR, Barker JC, Mitteness LS. Constipation in the daily lives of frail elderly people. *Arch Fam Med* 1993; 2: 853-858 [PMID: 8111515 DOI: 10.1001/archfami.2.8.853]

49 Sandler RS, Jordan MC, Shelton BJ. Demographic and dietary determinants of constipation in the US population. *Am J Public Health* 1990; 80: 185-189 [PMID: 2297063 DOI: 10.2105/AJPH.80.2.185]

50 叶飞, 王巧民, 胡莹. 合肥地区部分健康体检人群慢性便秘调查及相关因素分析. 安徽医学 2011; 32: 251-253

51 刘智勇, 杨关根, 沈忠, 何文英, 何芳, 袁玥旻. 杭州市城区便秘流行病学调查. 中华消化杂志 2004; 24: 435-436

52 Lindberg G, Hamid SS, Malfertheiner P, Thomsen OO, Fernandez LB, Garisch J, Thomson A, Goh KL, Tandon R, Fedail S, Wong BC, Khan AG, Krabshuis JH, LeMair A. World Gastroenterology Organisation global guideline: Constipation--a global perspective. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 483-487 [PMID: 21666546 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31820fb914]

53 López Cara MA, Tárraga López PJ, Cerdán Oliver M, Ocaña López JM, Celada Rodríguez A, Solera Albero J, Palomino Medina MA. Constipation in the population over 50 years of age in Albacete province. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 449-459 [PMID: 16948544 DOI: 10.4321/S1130-01082006000600006]

54 熊理守, 王艺霖, 陈旻湖. 慢性便秘的定义和流行病学. 临床消化病杂志 2013; 25: 230-235

55 魏柏, 余保平. 大学生便秘情况的流行病学调查及危险因素分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2006; 15: 167-169.

56 Voderholzer WA, Schatke W, Mühldorfer BE, Klauser AG, Birkner B, Müller-Lissner SA. Clinical response to dietary fiber treatment of chronic constipation. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 95-98 [PMID: 8995945]

57 Tuteja AK, Talley NJ, Joos SK, Woehl JV, Hickam DH. Is constipation associated with decreased physical activity in normally active subjects? *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 124-129 [PMID: 15654791 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.40516.x]

58 Murakami K, Okubo H, Sasaki S. Dietary intake in relation to self-reported constipation among Japanese women aged 18-20 years. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 650-657 [PMID: 16340942 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602365]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 945-950
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗中的临床应用

陈 晓, 周 平

陈晓, 周平, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科 北京市 100142
陈晓, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的基础与临床研究.
作者贡献分布: 本文综述由陈晓完成; 周平审校.
通讯作者: 周平, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科.
zhouping4946@163.com
收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2014-01-04
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

Application of ^{18}F-FDG PET/CT imaging in stereotactic radiotherapy of colorectal liver metastases

Xiao Chen, Ping Zhou

Xiao Chen, Ping Zhou, Department of Radiation Oncology, the General Hospital of the Air Force, PLA, Beijing 100142, China
Correspondence to: Ping Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Radiation Oncology, the General Hospital of the Air Force, PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhouping4946@163.com
Received: 2013-05-06 Revised: 2014-01-04
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

Abstract
Colorectal cancer (CRC) is a common digestive malignant tumor. Liver metastasis is a frequent event in CRC patients. Although there has been a consensus about the treatment of CRC primary tumor, the treatment of CRC liver metastasis is in great dispute. Emerging recommendation is that CRC liver metastases do not absolutely indicate systemic metastasis, so patients with CRC liver metastases should be treated appropriately. A good therapeutic effect can enhance the curative effect and life quality. This article is intended to discuss the application of PET/CT in the precise radiotherapy of colorectal liver metastases.

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

Key Words: Colorectal cancer; Liver metastases; Stereotactic radiotherapy; PTE/CT

Chen X, Zhou P. Application of ^{18}F-FDG PET/CT imaging in stereotactic radiotherapy of colorectal liver metastases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 945-950 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/945.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.945

摘要
结直肠癌是消化系常见恶性肿瘤之一, 极易发生肝转移, 针对其原发灶的治疗日臻完善, 肝转移灶的治疗却存在较大争议, 现已证实结直肠癌发生肝转移并不等同于全身性播散, 治疗效果良好可显著延长患者生存、提高生活质量, 本文旨在总结结直肠癌肝转移病灶治疗手段的同时重点阐述放射治疗作为局部治疗手段的独具优势及PET/CT在精确放疗中的临床应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠癌; 肝转移; 立体定向放射治疗; PET/CT

核心提示: 结直肠癌肝转移并不等同于全身性播散, 肝转移局部控制可显著延长患者生存、改善生活质量, PET/CT精确定位结合中国特色体部伽马刀(γ-SBRT)治疗结直肠癌肝转移病灶效果良好, 是一种值得期待的治疗方案.

陈晓, 周平. PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 945-950 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/945.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.945

■背景资料
结直肠癌在我国高发, 肝转移是影响其生存、生活质量的关键因素, 本文旨在论述结直肠癌肝转移病灶治疗手段的同时重点阐述放射治疗作为局部治疗手段的独具优势及PET/CT在精确放疗中的临床应用.

0 引言
结直肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 发病率在所有肿瘤中占第3位[1], 据统计, 2008年全球新发病例数超过120万例, 死亡人数高达60万例[2]. 在我国结直肠癌的发病率及死亡率仅次于肺、胃、肝癌, 高居第4位, 患病人数正在逐年增加, 近几年, 每年约有10万例死于结直肠癌, 目前对于结直肠癌原发灶的治疗日臻完善与规范. 由

■同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

■研发前沿
国内外文献均已证实立体定向放射治疗针对肝转移病灶效果良好；但肝脏呼吸动度大、病灶有一定隐匿性，目前常用CT、MRI、PET/CT、PET/MRI等技术行放疗定位，各有利弊，合理选择放疗定位技术、明确病变靶区勾画范围尤为重要.

于结直肠癌极易发生肝转移，而对肝转移病灶治疗方法的选择却存较大争议[3]，全身治疗以化疗及生物靶向治疗为主，而以氟尿嘧啶为基础，联合伊立替康或奥沙利铂成为主要化疗方案. 2012年结直肠癌NCCN指南更新，明确指出XELOX方案作为结直肠癌辅助化疗1类推荐方案，卡培他滨凭借其确切的疗效和良好的耐受性，单药方案提升至早期直肠癌同步放化疗1类推荐，并成为指南优选方案，对不能耐受大剂量化疗的晚期肠癌患者亦为推荐方案之一. 生物靶向治疗方面也有蓬勃发展，2012年FDA批准Regorafenib和aflibercept两款新药用于转移性结肠直肠癌的治疗，期间更有研究表明，即使疾病进展，使用贝伐单抗仍有生存获益. 2012年ASCO会议报道的VELOUR研究Ⅲ期临床试验表明预先应用贝伐单抗治疗伊立替康阿柏西普治疗奥沙利铂失败后转移性结直肠癌患者的总生存及无进展生存期可有显著受益. TML研究Ⅲ期对随机分组的820例患者分别给予化疗联合/不联合贝伐单抗治疗，结果发现贝伐单抗可改善总体生存(11.2 mo *vs* 9.8 mo)，说明贝伐单抗联合二线治疗方案有获益潜力，而且抗VEGF相关性不良反应不会随贝伐单抗治疗的延续而增加. 此外，CORRECT试验将760例对标准方案无效的患者纳入研究，随机分为瑞格非尼(regorafenib)组和安慰剂组，发现瑞格非尼使得患者总生存得到改善(6.5 mo *vs* 5 mo, HR = 0.79, 95%CI: 0.66-0.94, P = 0.0038)，其最常见的不良反应疲劳、腹泻等可以耐受. 总之，这些靶向药物为既往治疗失败的晚期结直肠癌患者提供了新的选择. 另一方面，有大量研究表明，早期发现并根治结直肠癌肝转移病灶，可明显改善患者生存及生活质量，目前肝转移病灶的局部治疗手段主要包括手术、放疗、射频消融等. 其中随着放疗设备的改善，定位技术的提高，放疗方案的精进，放疗效果的显著，放疗毒性的降低，使得结直肠癌肝转移病灶的放射治疗逐渐被人们所接受，2011年《NCCN结直肠癌临床实践指南》新增款目，指出对于肝脏或者肺转移病灶数目不多者，应该将放射治疗考虑在内，并推荐使用三维适形放疗、调强放疗、立体定向放射治疗. 立体定向放射技术(stereotactic body radiotherapy)治疗结直肠癌全身转移病灶国内外均有报道，Ernst-Stecken等[4]、Lee等[5]、Rusthoven等[6-8]采用SBRT治疗肺转移癌在降低肺放射性损伤的同时提高了局控率和生存率，Chawla等[9]2009使用SBRT治疗肾上腺转移瘤在良好疗效的同时未见2级或以上毒性. Kang等[10]使用中位剂量42 Gy治疗结直肠癌单器官转移病灶，3-5年局控率达到66%和24%急性1-2级毒性反应59例中发生24例，晚期4级毒性反应发生2例(3%). 与2001年Herfarth等[11]报道的疗效和毒性相比，2010年斯坦福大学的Goodman等[12]采用SBRT技术将26例肝肿瘤患者的40个病灶(19例为肝转移病灶)治疗起始剂量18 Gy，以4 Gy递增至30 Gy，中位随访时间17 mo，局部控制率77%，2年存活率50.4%，无1例出现剂量限制性毒性，其中9例出现1级急性反应，1例2级急性毒性反应，2例晚期胃肠道毒性，在提高疗效的同时降低毒性反应. 可见SBRT治疗结直肠癌肝转移疗效好、毒性低. 体部伽马刀属中国自主研发产品，极具中国特色，是一种填充式三维适形放疗技术，放大镜原理聚焦射线后在肿瘤中心形成高剂量区域，根据肿瘤深度和大小调整高剂量区域位置并决策单靶点/多靶点拟合，形成环环递增的高剂量靶区，其剂量分布有梯度大，衰减快的显著特点，使得正常组织受量较少[13]，疗效好. 对于伽马刀这种精确放疗而言，定位方式的选择尤其关键，本文旨在总结结直肠癌肝转移病灶局部治疗手段的同时重点阐述PET/CT在精确放疗中的应用.

1 结直肠癌肝转移病灶“不得不治”

肝脏是消化系恶性肿瘤最常见的转移部位，是结直肠癌转移的第一站，多为结直肠癌原发病灶→肝静脉→肝脏→肺等这一转移模式[14]，有研究表明，结直肠癌患者超过25%确诊时伴发肝转移，通常3年内另有20%的患者会出现异时性肝转移[15]，至少50%的患者5年内出现肝转移. 若肝转移瘤得不到治疗，患者1年生存率约31%，2年生存率约7.9%，4年生存率约0.9%[16,17]，相反若能得到有效治疗，肿瘤完全切除是绝对预后预测因子，日本一系列研究表明若能局部控制，其5年生存率为51%；另外一597例行结直肠癌肝转移灶的根治性切除研究报道其5年生存率为33%，10年生存率为24%，60例存活的患者中57例无瘤生存[18]. 可见目前手术是结直肠癌肝转移主要治疗手段，可是一旦出现肝转移只有8%-27%的患者可能有手术机会，未能手术的其5年生存率接近0%[16,19]，转移病灶的发生和发展往往是主要致死原因. 过去认为肝转移患者已属晚期，未予积极治疗，多数患者短期内死亡，

现已证实结直肠癌发生肝转移并不等同于全身性播散, 多数病例在一定时间内仅限于肝脏转移, 而且治疗效果良好可显著延长患者生存, 并能减少肝转移致腹水、肝区疼痛等生存质量下降. 虽然经过化疗其中位生存时间可从6-12 mo提高到20 mo[20-24], 但仍不能让人满意. 所以我们应积极的研发针对肝转移病灶的先进的治疗措施. 值得注意的是乳腺癌、胃癌、胆囊癌、胰腺癌、泌尿生殖系统肿瘤、黑色素瘤、肉瘤等肝转移病灶的切除并没取得理想的效果, 是否积极治疗存有争议, 其中机制仍不明确.

2 新的治疗手段“层出不穷”

近些年来, 随着人们对肝转移病灶了解的不断深入, 涌现出很多针对肝转移病灶的微创治疗方法, 如射频消融[25]、局部冷冻等, 使肝转移患者生存有所提高. 随着现在放疗器械及技术的进步, 使放射治疗对于肝转移瘤的局部控制体现其独到优势, 逐渐成为一种可靠的临床治疗手段. 复习国内外关于肝脏肿瘤放射治疗的文献报道, 肝癌现代放射治疗主要包括3DCRT、IMRT、IGRT和质子放疗. Kim等[26]对10例不宜手术的结直肠癌肝转移患者行三维适形放疗, 其3年生存率达40%, 局部控制率达60%, 研究表明其对小病灶的局控率要优于大病灶. 王俊杰等人在实行放射性粒子组之间永久置入治疗肝转移癌方面也进行了深入的研究并取得了良好的疗效[27], Cianni等[28]对41例结直肠癌肝转移患者进行钇-90的选择性内放射治疗(SIR-Spheres), 随访可见2例CR, 17例PR, 14例SD, 8例PD, 中位生存时间达354 d, 中位无进展生存时间279 d.

3 立体定向放射治疗“独树一帜”

众所周知, 肝脏属放射敏感器官, 常规放疗受正常肝组织耐量限制而达不到理想疗效, 立体定向放射治疗(stereotactic body radiation therapy, SBRT)弥补了常规放疗这一缺陷. 在实现病灶最大治疗剂量的同时有效的保护周围正常组织. 一项前瞻性的临床Ⅰ/Ⅱ期研究表明立体定向放射治疗原发性和转移性肝癌术后的126例患者其生活质量有所降低, 但这一暂时性的下降不能确定其临床意义, 6 mo后其生活质量水平恢复正常, 进一步表明总体缓和效益是值得期待的[29]. 体部γ刀是一种三维适形填充式放疗技术, 根据肿瘤深度, 调整高剂量点位置, 使射线聚焦后肿瘤中心位于高剂量区域, 平衡肿瘤体积大小, 评估后采用单靶点或多靶点拟合方式, 形成一个环环紧扣的高剂量靶区分布, 其剂量分布特点类似于粒子植入, 治疗计划优化以后可使周边正常组织的受照范围小, 受照剂量低, 50%剂量线定义为处方剂量, 使靶区内剂量分布变化梯度增大、肿瘤中心区可获得更高剂量[30], 这一优势使伽马刀实现立体定向放射治疗从而进入肝转移病灶治疗领域. 同时有研究表明, 对于慢增殖肿瘤(如结直肠癌等), SBRT的生物学效应是常规分次放疗的3倍, 通过控制呼吸运动, 暴露的正常组织进一步减少, 更加有利于疗效的提高[26].

4 目前定位手段CT“一家独大”

立体定向放射治疗由于其射线聚焦原理需要精确定位, 国产伽马刀在这一方面略有缺陷, 大多采用CT模拟定位实现, 欧洲使用SBRT治疗肺癌的建议中指出, 应结合PET-CT等先进手段进一步提供高放射剂量及精度而提高疗效并保护周围正常组织[31]. Wang等[32]研究表明通过“变形算法”等手段提高疗效及保护正常组织. Guckenberger等[33]认为二维或三维适形方法并不能满足保护正常组织的需要, 并提出现代放射治疗技术的规划和使用要在审视和使用这些技术的理论和临床数据支持的情况下, 不遗余力的提高正常组织的保护. 可见运用先进技术和器械实现放射治疗的精准是全世界的共同目标.

5 合理采用PET/CT定位及治疗“福泽一方”

PET/CT在消化系肿瘤诊断及疗效观察中的临床价值很高, 有研究表明^{18}FDG PET/CT可以灵敏的检测高代谢胃癌原发灶, 其敏感性可达94%, 平均标准摄取值(standardized uptake value, SUV)7.0(0.9-27.7), 除外实质较少的黏液腺癌和印戒细胞癌(其常表现低摄取或无摄取); ^{18}FDG PET/CT显像可以显示胰腺肿瘤的位置、大小、形态, 并根据病灶对^{18}F-DG的浓聚程度鉴别良恶性, 有资料显示^{18}F-DG PET/CT显像对胰腺癌诊断的灵敏度介于71%-100%, 平均(中位数)82%; 准确性介于85%-93%; 可见^{18}F-DG PET/CT显像对消化系统肿瘤临床分期、判断预后、观察疗效及检测复发具有重要临床价值. ^{18}F-DG PET/CT还可以很好地判断结直肠癌肝转移情况, 灵敏度和特异性可分别达到90%和85%. 过去结直肠癌的分期通常在外科医生进行腹部探查和病理医生对手术标本进行检查之后进行,

■相关报道

随着对结直肠癌肝转移机制理解的不断深入, 针对肝转移病灶的局部治疗手段层出不穷, 肝脏有其特性, 怎样选择合理治疗方法是争论焦点之一. 异病同治、同病异治, 怎样实现真正的个体化治疗从而使患者最大获益是主要研究方向.

■创新盘点
本文就有关PET/CT在消化系肿瘤诊断及治疗进行相关综述，客观总结各种治疗手段在结直肠癌肝转移病灶中的临床应用，结合自身研究成果，引用国内外文献支持，有一定的临床意义，科学性及可读性较强.

内镜检查和CT一直作为首选. 但由于CT和超声由于结构分辨率有限，经常低估肝转移灶的发生[34]. 在精确放疗主导的今天略显不足，欧洲及北美很多肿瘤放疗中心已采用PET/CT定位技术实现精确靶区勾画，我国于金明院士也早已提出“生物靶区”这一概念，复习目前文献，利用PET/CT定位实现放射治疗多以3DCRT、IMRT在头颈部、肺部肿瘤的应用为主而且使用广泛. 中国特色伽马刀实现SBRT的PET/CT定位技术罕见报道. 经过大量临床实践，我们体会其主要优势表现在以下方面：提供的信息要明显多于单独使用CT或单独使用PET，比较准确的鉴别PET图像中生理性与病理性放射性摄取，从而提高了病变的诊断能力，对恶性病灶的准确定位，可以为治疗提供更准确的参考信息，对手术清扫范围、放疗照射范围的界定也有很大帮助. ^{18}F-DG PET/CT对肝原发，特别是肝细胞肝癌的检出率低，但其对肝转移病灶检出率高，当转移瘤>1 cm时其检出率约为97%[35]. 目前研究表明：螺旋CT以不同层厚扫描不同形状静止物体能较好体现真实体积；快速螺旋CT扫描运动物体三维重建后其体积具有随机性，同扫描时相，物体形状等有关；建议在肺癌放疗定位实践中多次扫描(至少3次)融合体积代表内靶区(ITV)；其中PET生物影像能更全面反映运动物体的轨迹，能够较好地代表放射治疗计划中的ITV[36]，足见PET/CT在放疗领域应用前景广泛. PET/CT图像可指导医生GTV的勾画，在保证了PET/CT融合图像与定位图像的相对一致，减少了融合图像的误差的情况下取得良好效果[37]. 我国学者对PET/CT在放射治疗定位中的应用也进行了探索，取得了一定的进展[38-40]. 国外亦有采用此种方式实现局部推量的临床应用[41]. 空军总医院夏廷毅等采用全身伽马刀立体定向放射治疗52例胰腺癌的原发灶的完全缓解率(complete response, CR)19.2%，部分缓解率(partial response, PR)69.2%，总有效率(CR+PR)88.4%. Ⅱ-Ⅳ期1、2年总生存率分别为56.5%和23.1%. Ⅱ期1、2年生存率分别为76.9%和46.7%；已超过外科手术切除的效果，明显改善了胰腺癌的局控率和生存率，建立了中国模式的全身γ-刀治疗胰腺癌的临床规范，在现代肿瘤放疗技术治疗胰腺癌方面取得重大进步. 与此同时，在临床工作中还开展了结直肠癌肝转移病灶的伽玛刀治疗，均提示疗效显著[13,30]，体部伽马刀作为中国特色的立体定向放射治疗技术，以大剂量、小分割的现代肿瘤放射治疗模式，通过PET/CT精确定位，达到结直肠癌肝转移病灶根治性放疗，同时实现了多病灶的同步化治疗，提高治疗效果、缩短治疗时间，改善患者预后，在考虑肿瘤自身放射生物学因素外有效地保护了周围正常组织器官及其功能. 实施规范化结直肠癌肝转移病灶根治放疗期间结合肿瘤组织学及生物学特性，利用合理的定位方式，在保护正常组织的基础上，尽可能给予肝转移病灶毁灭性打击. 为今后真正实现肿瘤的个体化放疗奠定了一定的基础，为放射治疗的组织学、生物学计量模式改进提供了一定的依据. 可见PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗值得临床推广应用.

PET/CT在消化系统肿瘤诊断及疗效观察中的临床价值很高，主要表现在以下3个方面：提供的信息要明显多于单独使用CT或单独使用PET，比较准确的鉴别PET图像中生理性与病理性放射性摄取，从而提高了病变的诊断能力，对恶性病灶的准确定位，可以为治疗提供更准确的参考信息，对手术清扫范围、放疗照射范围的界定也有很大帮助. ^{18}F-DG PET/CT对肝原发，特别是肝细胞肝癌的检出率低，但其对肝转移病灶检出率高，当转移瘤>1 cm时其检出率约为97%[26]. 目前研究表明：螺旋CT以不同层厚扫描不同形状静止物体能较好体现真实体积；快速螺旋CT扫描运动物体三维重建后其体积具有随机性，同扫描时相，物体形状等有关；建议在肺癌放疗定位实践中多次扫描(至少3次)融合体积代表ITV；其中PET生物影像能更全面反映运动物体的轨迹，能够较好地代表放射治疗计划中的内靶区(ITV)[31]，足见PET/CT在放疗领域应用前景广泛[42]. PET/CT图像可指导医生GTV的勾画，在保证了PET/CT融合图像与定位图像的相对一致，减少了融合图像的误差的情况下取得良好效果[32]. 我国学者对PET/CT在放射治疗定位中的应用也进行了探索，取得了一定的进展[43-45]. 国外亦有采用此种方式实现局部推量的临床应用[46]. PET/CT定位结合SBRT治疗肺癌、宫颈癌等屡见报道[47-49]，但治疗结直肠癌肝转移病灶并不多见. 我们期待PET/CT精确定位指导立体定向放射治疗结直肠癌肝转移这种治疗手段有更多的数据支持，以期能为以PET/CT精确定位为依托，立体定向治疗为手段，治疗结直肠癌肝转移提供新的临床策略.

6 结论

肝脏是结直肠癌常见转移部位, 在治疗原发灶的同时应对肝转移病灶的诊治予以重视, 其治疗效果直接决定了患者生存及生活质量, 在全身治疗得到迅猛发展的同时, 针对肝转移灶的治疗日新月异, SBRT显现了一定的优势, 在目前CT定位主导放疗的今天, 合理采用PET/CT可减少损伤、提高疗效. 可见, PET/CT精确定位结合中国特色的体部伽马刀(γ-SBRT)治疗结直肠癌肝转移病灶不失为一种值得期待的治疗方案. 此外, 需要更多的数据支持及临床研究探索其肝转移机制, 以期最终实现真正意义上的个体化治疗.

7 参考文献

1 Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684 DOI: 10.3322/canjclin.55.1.10]

2 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]

3 许剑民, 钟芸诗. 结直肠癌肝转移外科治疗争议与共识. 中国实用外科杂志 2011; 31: 991-993

4 Ernst-Stecken A, Lambrecht U, Mueller R, Sauer R, Grabenbauer G. Hypofractionated stereotactic radiotherapy for primary and secondary intrapulmonary tumors: first results of a phase I/II study. *Strahlenther Onkol* 2006; 182: 696-702 [PMID: 17149575]

5 Le QT, Loo BW, Ho A, Cotrutz C, Koong AC, Wakelee H, Kee ST, Constantinescu D, Whyte RI, Donington J. Results of a phase I dose-escalation study using single-fraction stereotactic radiotherapy for lung tumors. *J Thorac Oncol* 2006; 1: 802-809 [PMID: 17409963]

6 Rusthoven KE, Hammerman SF, Kavanagh BD, Birtwhistle MJ, Stares M, Camidge DR. Is there a role for consolidative stereotactic body radiation therapy following first-line systemic therapy for metastatic lung cancer? A patterns-of-failure analysis. *Acta Oncol* 2009; 48: 578-583 [PMID: 19373699 DOI: 10.1080/02841860802662722]

7 Rusthoven KE, Kavanagh BD, Burri SH, Chen C, Cardenes H, Chidel MA, Pugh TJ, Kane M, Gaspar LE, Schefter TE. Multi-institutional phase I/II trial of stereotactic body radiation therapy for lung metastases. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1579-1584 [PMID: 19255320 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.6386]

8 Rusthoven KE, Kavanagh BD, Cardenes H, Stieber VW, Burri SH, Feigenberg SJ, Chidel MA, Pugh TJ, Franklin W, Kane M, Gaspar LE, Schefter TE. Multi-institutional phase I/II trial of stereotactic body radiation therapy for liver metastases. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1572-1578 [PMID: 19255321 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.6329]

9 Chawla S, Chen Y, Katz AW, Muhs AG, Philip A, Okunieff P, Milano MT. Stereotactic body radiotherapy for treatment of adrenal metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 71-75 [PMID: 19250766 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.10.079]

10 Kang JK, Kim MS, Kim JH, Yoo SY, Cho CK, Yang KM, Yoo HJ, Seo YS, Lee DH, Kang HJ, Kim YH, Shin US. Oligometastases confined one organ from colorectal cancer treated by SBRT. *Clin Exp Metastasis* 2010; 27: 273-278 [PMID: 20373133 DOI: 10.1007/s10585-010-9325-0]

11 Herfarth KK, Debus J, Lohr F, Bahner ML, Rhein B, Fritz P, Höss A, Schlegel W, Wannenmacher MF. Stereotactic single-dose radiation therapy of liver tumors: results of a phase I/II trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 164-170 [PMID: 11134209]

12 Goodman KA, Wiegner EA, Maturen KE, Zhang Z, Mo Q, Yang G, Gibbs IC, Fisher GA, Koong AC. Dose-escalation study of single-fraction stereotactic body radiotherapy for liver malignancies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78: 486-493 [PMID: 20350791 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.08.020]

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

14 殷蔚伯, 肿瘤放射治疗学(第四版). 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 1207-1208

15 W.斯凯波奇[德], R.S.布瑞斯利[德]. 胃肠与肝脏肿瘤. 北京: 上海科学技中国中医药出版社, 2006: 346-347

16 McKay A, Dixon E, Taylor M. Current role of radiofrequency ablation for the treatment of colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2006; 93: 1192-1201 [PMID: 16983740 DOI: 10.1002/bjs.5581]

17 Wood TF, Rose DM, Chung M, Allegra DP, Foshag LJ, Bilchik AJ. Radiofrequency ablation of 231 unresectable hepatic tumors: indications, limitations, and complications. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 593-600 [PMID: 11005558 DOI: 10.1007/BF02725339]

18 Biasco G, Derenzini E, Grazi G, Ercolani G, Ravaioli M, Pantaleo MA, Brandi G. Treatment of hepatic metastases from colorectal cancer: many doubts, some certainties. *Cancer Treat Rev* 2006; 32: 214-228 [PMID: 16546323]

19 Saltz LB. Metastatic colorectal cancer: is there one standard approach? *Oncology* (Williston Park) 2005; 19: 1147-1154; discussion 1154, 1147-1154; 1160 [PMID: 16255132]

20 W.斯凯波奇[德], R.S.布瑞斯利[德]. 胃肠与肝脏肿瘤. 北京: 上海科学技中国中医药出版社, 2006: 353-356

21 Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 1999; 230: 309-318; discussion 318-321 [PMID: 10493478]

22 Jaffe BM, Donegan WL, Watson F, Spratt JS. Factors influencing survival in patients with untreated hepatic metastases. *Surg Gynecol Obstet* 1968; 127: 1-11 [PMID: 5657778]

23 Bengmark S, Hafström L. The natural history of primary and secondary malignant tumors of the liver. I. The prognosis for patients with hepatic metastases from colonic and rectal carcinoma by laparotomy. *Cancer* 1969; 23: 198-202 [PMID: 5763253 DOI: 10.1002/1097-0142(196901)23]

24 Chang AE, Schneider PD, Sugarbaker PH, Simpson C, Culnane M, Steinberg SM. A prospective randomized trial of regional versus systemic continuous 5-fluorodeoxyuridine chemotherapy in the treatment of colorectal liver metastases. *Ann Surg*

■应用要点

论证结直肠癌肝转移病灶不同治疗手段的同时重点阐述放射治疗作为局部治疗手段的独具优势,及PET/CT在精确放疗中的临床应用. 利用γ-SBRT治疗结直肠癌肝转移病灶, 可在高局控的同时改善患者生存, 其中剂量分割模式的选择尤为重要, 国内外对于结直肠癌肝转移病灶SBRT时分次剂量及总剂量仍存较大争议, 可见剂量学参数的优化仍需循证医学证据支持.

■同行评价
本文分析合理，条理分明，有临床意义，科学性及可读性较强.

1987; 206: 685-693 [PMID: 2961314]

25 Cunningham D, Pyrhönen S, James RD, Punt CJ, Hickish TF, Heikkila R, Johannesen TB, Starkhammar H, Topham CA, Awad L, Jacques C, Herait P. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 1998; 352: 1413-1418 [PMID: 9807987 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)02309-5]

26 Kim MS, Kang JK, Cho CK, Choi CW, Seo YS, Hwang DY, Moon SM, Kang HJ, Kim YH, Kim MS, Oh N. Three-fraction stereotactic body radiation therapy for isolated liver recurrence from colorectal cancer. *Tumori* 2009; 95: 449-454 [PMID: 19856655]

27 王俊杰. 放射性粒子组织间永久植入治疗肝转移癌. 癌症进展 2009; 7: 286-290

28 Cianni R, Urigo C, Notarianni E, Saltarelli A, Salvatori R, Pasqualini V, Dornbusch T, Cortesi E. Selective internal radiation therapy with SIR-spheres for the treatment of unresectable colorectal hepatic metastases. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2009; 32: 1179-1186 [PMID: 19680720 DOI: 10.1007/s00270-009-9658-8]

29 Ringash J, Lockwood G, Lee M, Kim J, Dinniwell R, Brierley J, Dawson LA. Stereotactic Body Radiotherapy for Liver Malignancies: Prospective QOL Results. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 2008; 72: S499-S500 [DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.06.1460]

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

31 De Ruysscher D, Faivre-Finn C, Nestle U, Hurkmans CW, Le Péchoux C, Price A, Senan S. European Organisation for Research and Treatment of Cancer recommendations for planning and delivery of high-dose, high-precision radiotherapy for lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5301-5310 [PMID: 21079134]

32 Wang H, Garden AS, Zhang L, Wei X, Ahamad A, Kuban DA, Komaki R, O'Daniel J, Zhang Y, Mohan R, Dong L. Performance evaluation of automatic anatomy segmentation algorithm on repeat or four-dimensional computed tomography images using deformable image registration method. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 210-219 [PMID: 18722272 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.05.008]

33 Guckenberger M, Sweeney RA. Reduced Normal Tissue Doses Through Advanced Technology. Re-irradiation: New Frontiers, Springer Berlin Heidelberg, 2011: 59-84 [DOI: 10.1007/174_2010_78]

34 黄定九. 内科疾病影像学与内镜图谱. 上海: 上海科学技术出版社, 2011: 221-224

35 王荣福. PET/CT肿瘤诊断学. 北京: 北京大学出版社, 2008: 233-251

36 李承军, 徐利明. 肺癌放疗中活动靶区常规CT定位和PET/CT定位的模体研究比较. 中国医学物理学杂志 2011; 28: 2743-2749

37 李建国, 聂青, 康静波, 张丽萍, 齐文杰. PET/CT在体部γ刀定位中应用体会. 医疗卫生装备 2009; 30: 86-86

38 吕晓彦, 汪延明, 田军, 赵修义, 贡海, 袁光辉, 屈伟强. PET-CT在三维适形放射治疗晚期胰腺癌中的应用. 现代肿瘤医学 2011; 19: 1610-1614

39 任宝志, 钟立松, 袁建军, 张仟仕, 陶星. 18FDG PET/CT定位三维适形放疗结合介入治疗原发性肝癌的疗效和预后分析. 现代肿瘤医学 2011; 19: 504-507

40 王学涛, 于金明, 杨国仁, 等. PET−CT同机融合精度验证及在放疗靶区勾画中的应用. 中华放射肿瘤学杂志 2005; 14: 204−207

41 Møller DS, Khalil AA, Knap MM, Muren LP, Hoffmann L. A planning study of radiotherapy dose escalation of PET-active tumour volumes in non-small cell lung cancer patients. *Acta Oncol* 2011; 50: 883-888 [PMID: 21767188 DOI: 10.3109/0284186X.2011.581694]

42 王冬青, 李宝生, 陈进琥, 孙洪福, 卢洁, 郑劲松. PET/CT融合图像对Ⅲ期非小细胞肺癌精确放疗靶区和计划的影响. 中华临床医师杂志•电子版 2011; 5: 221-226

43 蔡亮, 张伟, 陈跃, 黄占文. 18F-FDG PET/CT与MRI在评价鼻咽癌颅底骨转移中的价值, 重庆医学 2011; 40: 771-773

44 胡学锋, 黄国森, 张良运, 冯彦林, 谭春明. PET/CT确定非小细胞肺癌三维适形放疗靶区的临床研究. 实用肿瘤学杂志 2011; 25: 29-32

45 任宝志, 钟立松, 袁建军, 张仟仕, 周玉霞, 陶星. 18FDG PET/CT定位三维适形放疗联合化疗对复发性直肠癌的疗效和预后分析. 西部医学 2010; 22: 2236-2238

46 Zaidi H, El Naqa I. PET-guided delineation of radiation therapy treatment volumes: a survey of image segmentation techniques. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37: 2165-2187 [PMID: 20336455 DOI: 10.1007/s00259-010-1423-3]

47 Chang JY, Dong L, Liu H, Starkschall G, Balter P, Mohan R, Liao Z, Cox JD, Komaki R. Image-guided radiation therapy for non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 177-186 [PMID: 18303441 DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181622bdd]

48 Yen TC, See LC, Chang TC, Huang KG, Ng KK, Tang SG, Chang YC, Hsueh S, Tsai CS, Hong JH, Lin CT, Chao A, Ma SY, Lin WJ, Fu YK, Fan CC, Lai CH. Defining the priority of using 18F-FDG PET for recurrent cervical cancer. *J Nucl Med* 2004; 45: 1632-1639 [PMID: 15471826]

49 Wang X, Xu F, Wei Y. [Advances of precise radiotherapy for lung cancer]. *Zhongguo Feiai Zazhi* 2011; 14: 894-899 [PMID: 22104227 DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2011.11.12]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 951-955
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

针刺治疗慢性肛门直肠痛

陆 铤, 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江

陆铤, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029
薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科 江苏省南京市 210001
陆铤, 南京中医药大学在读硕士研究生, 主要从事肛肠疾病方面的学习和研究.
2012南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK12142
作者贡献分布: 文献查阅、分析及论文写作由陆铤、薛雅红及丁曙晴完成; 丁义江审校.
通讯作者: 丁义江, 教授, 主任医师, 博士生导师, 210001, 江苏省南京市秦淮区金陵路1号, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科. tzxhlt@sina.com
电话: 025-52276742
收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2014-01-12
接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-08

Treatment of chronic anorectal pain by acupuncture

Ting Lu, Ya-Hong Xue, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding

Ting Lu, Department of TCM Surgery, the First School of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Ya-Hong Xue, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, National Medical Center for Colorectal Disease, the Third Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Supported by: the 2011 Nanjing Medical Science and Technology Development Fund, No. YKK12142
Correspondence to: Yi-Jiang Ding, Professor, Chief Physician, Department of Anorectal Surgery, Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Qinhuai District, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. tzxhlt@sina.com
Received: 2013-11-26 Revised: 2014-01-12
Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-08

Abstract
Chronic anorectal pain is a common functional anorectal disease. Currently, there are still some difficulties in diagnosing and treating this disease. Acupuncture has advantages in treating chronic anorectal pain. This article will summarize the progress in treatment of chronic anorectal pain by acupuncture.

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

Key Words: Acupuncture; Analgesia; Chronic anorectal pain

Lu T, Xue YH, Ding SQ, Ding YJ. Treatment of chronic anorectal pain by acupuncture. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 951-955 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/951.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.951

摘要
慢性肛门直肠痛是临床常见的功能性疾病, 目前对该功能性疾病的诊断和治疗仍然存在困难. 其中针刺治疗具有一定的优势, 本文就针刺治疗慢性肛门直肠痛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: 针刺; 镇痛; 慢性肛门直肠痛

核心提示: 功能性肛门直肠痛患病率逐渐增多, 且严重影响患者的生活质量. 本文在文献研究的基础上总结目前治疗慢性肛门直肠痛的方法, 同时提出针刺治疗慢性肛门直肠痛的优势, 为针刺治疗慢性肛门直肠痛提供更多的依据.

陆铤, 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江. 针刺治疗慢性肛门直肠痛. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 951-955 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/951.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.951

■背景资料
慢性肛门直肠痛是临床常见的功能性疾病, 目前对该功能性疾病的诊断和治疗仍然存在困难. 目前临床发现, 针刺治疗具有一定优势.

0 引言
疼痛是一种不愉快的主观感觉, 至今尚无特异性的生理指标反映疼痛程度. 鉴于疼痛给患者造成的多方面损害, 国际疼痛协会已经将疼痛作为呼吸、脉搏、血压、体温之外的第5生命体征[1]. 对于疼痛的论述, 祖国医学很早就有记载, 《内经》中论述较多, 其中《举痛论》就是关于痛证的专题论著, 对疼痛的病因及产生的机制作了较详尽的探讨[2,3]. 临床上慢性肛门直肠痛是一种常见得疼痛性疾病. 功能性肛门直肠痛(functional anorectal pain, FARP)是发生在肛门和/或直肠的非器质性的特发性疼痛. 根据功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)罗马III诊断标准[4], FARP包括慢性肛门痛和痉挛性肛门痛, 前者又分为肛提肌综

■同行评议者
王富春, 教授, 长春中医药大学

■研发前沿
针刺治疗慢性肛门直肠痛，从现代医学角度来说，主要从基因、分子、神经解剖结构、心理调节等多方面发挥疗效，从中医角度来说，通过通调气血、移神宁心、舒筋活络等不同角度进行. 其治疗理论需要进一步的探讨，相关方法及选穴有待进一步规范.

合征和非特异性肛门直肠痛. 国外大样本流行病学研究显示, FARP患病率为7.7%, 以女性多见[5]. FARP严重影响患者的生活质量, 一项研究表明11.5%的患者因疼痛而不能工作或学习[6]. 本文主要讨论上述罗马III中所定义的慢性肛门直肠痛.

1 慢性肛门直肠痛病因

造成肛门直肠慢性疼痛原因有很多种, 在排除先天性缺陷, 局部的炎症以及各种肿瘤后, 目前主要认为的病因有盆底肌张力增高、边缘系统障碍、脑-肠轴调节异常以及神经系统疾病和术后疼痛, 功能性肛门直肠痛与心理因素也有很重要的联系, 很多报道表明肛门直肠痛和心理因素包括精神压力、紧张和焦虑有关有着很大的关系, 因此对肛门直肠痛患者进行心理评估很重要. 此外, 国外相关研究还指出, FARP与阴部神经病变[7]、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)[8]、严重盆底器官脱垂、血管痉挛、肛提肌肌腱炎症[9]等因素有关.

1.1 盆底肌张力增高 现代医学目前认为盆底肌功能异常、盆底肌张力增高是引起FARP的主要原因. FARP患者常表现为肛管压力增高, 肌电活动增强[10]. 随着对盆底的整体性认识, 肛门直肠痛属于盆底痛(泌尿生殖道、肛门直肠)的范畴, 盆底肌过度活动是引起慢性盆底痛的重要原因[11].

1.2 边缘系统障碍 Fenton[12]提出了边缘系统相关盆底痛假说: 边缘系统障碍会增加盆底器官疼痛感觉的传入, 引起盆底肌肉传出神经异常, 传出刺激又引起盆底肌持续收缩, 从而引起疼痛.

1.3 脑-肠轴调节异常 随着医学模式的改变、神经胃肠病学的发展及对脑-肠轴研究的不断深入, 社会心理因素在FGIDs发病过程中的作用已被不断重视. Drossman[13]提出了生物-心理-社会模式, 心理社会因素(生活压力、精神状态、社会支持等)可以直接导致疼痛, 也可以通过脑-肠轴引起胃肠生理学改变(动力、感觉等)而出现. 躯体化、行为冲动、焦虑等都是引起疼痛的潜在因素.

2 慢性肛门直肠痛的治疗

FARP的诊断主要基于特殊的临床症状, 缺乏肛门直肠和盆底的病理生理学检查. 临床首先通过一些检查, 如肛门直肠指诊、乙状结肠镜、排粪造影、超声、骨盆MRI, 排除引起疼痛的其他原因(克罗恩病、肛裂、肿瘤、慢性炎症、子宫内膜异位症等, 涉及妇科、泌尿等多学科). 诊断还必须符合功能性胃肠疾病罗马III标准. 目前可使用疼痛量表、盆底表面肌电评估等协助FARP的诊断.

对于FARP的治疗, 目前国内外主要治疗方法有物理治疗、口服及外用药物治疗、局部注射治疗、生物反馈治疗、骶神经刺激(sacral never stimulation, SNS)治疗、心理治疗, 以及中药、针灸治疗. 通过减轻盆底肌肉张力、减少血管炎性物质等, 从肌肉、血管、神经、心理等多方面减轻疼痛. 而中医多从调节情志、舒筋活络、活血化瘀等方面进行治疗, 具体如下.

2.1 物理治疗 (1)温水坐浴: 40 ℃的温水坐浴可以有效降低肛管静息压, 缓解疼痛[14]; (2)扩肛疗法: 采用手指扩肛模拟排便, 或插入栓剂的方法使肛门扩张, 括约肌松弛, 从而缓解疼痛; (3)局部按摩: 手指按摩肛提肌可以缓解疼痛[15], Riot等[16]对101例肛提肌综合征(levator ani syndrome, LAS)患者采用尾骨肌按摩结合伴随的盆底关节功能障碍物理治疗, 72% LAS患者经过1-2个疗程后症状缓解; (4)肌肉电刺激疗法(electro galvanic muscle stimulation, EGS): 多位学者对EGS治疗LAS作了相关研究, 但没有一个属于对照研究, EGS治疗有效率在40%-91%[17]之间.

2.2 口服及外用药物治疗 (1)口服药: 钙离子拮抗剂是临床上应用较为广泛的一类药, 硝苯地平、地尔硫卓[18]可以有效地降低内括约肌压力, 成功地缓解疼痛; 此外, 解痉药、止痛药、抗抑郁药也可治疗; (2)外用药: 局部涂抹0.3%硝酸甘油软膏的方法可以缓解疼痛, 且不会有严重的不良反应[19]; (3)吸入药: 曾有报导吸入沙丁胺醇是缓解患者剧烈疼痛的一种有效方法[20].

2.3 局部注射治疗 通过在肛门不同部位注射药物, 如肉毒菌素、利多卡因等, 阻滞局部神经, 使肛门肌肉放松, 从而缓解疼痛. Katsinelos等[21]使用肛门括约肌内注射肉毒菌素A的方法治疗, 患者在治疗2 mo后疼痛症状明显减轻, 而且没有出现肛门失禁等不良反应. Takano[7]采用2%利多卡因10 mL和1.25 mg乙酸倍他米松在阴部神经分布区域内的触痛点进行神经阻滞治疗68例PF患者, 进行短期(8 wk)和长期(平均10年零3 mo)临床疗效观察, 结果显示短期组总有效率为90%, 长期组总有效率为70%.

2.4 生物反馈治疗 生物反馈疗法是应用电子仪器将人们意识不到的肌电、脑电、皮温、心

率、血压等体内变化转变为可以被人察觉的视听信号, 通过医生指导和自我训练, 让患者根据这些信号, 学会控制自身不随意功能的治疗和训练方法, 患者通过这种“动作·反馈-学习-再动作”的过程, 逐步纠正自身的功能障碍. 生物反馈疗法(biofeedback, BF)已广泛的应用于功能性肛门直肠疾病的治疗. Ger等[22]采用电刺激、生物反馈及骶尾神经阻滞治疗肛门直肠痛, 治疗15 mo, 随访2-36 mo, BF治疗组43%患者症状缓解, 明显优于电刺激组(38%)和神经阻滞组(18%). 丁康[23]采用针灸结合生物反馈治疗功能性肛门直肠痛28例, 发现远期疗效明显, 而且提出生物反馈对神经和血管功能都有所改善.

2.5 骶神经刺激治疗 是利用介入技术将一种短脉冲刺激电流连续施加于特定的骶神经, 人为激活兴奋性或抑制性神经通路, 干扰异常的骶神经反射弧, 进而影响与调节膀胱、尿道括约肌及盆底等骶神经支配的效应器官的行为, 起到“神经调节”的作用. 骶神经刺激最早从20世纪40年代开始, 主要用于神经源性尿失禁治疗, 后逐步应用于便秘、大便失禁的治疗. 骶神经刺激治疗FAP的研究处于起步阶段, 一项多中心、前瞻性研究指出SNS是能改善患者疼痛, 提高生活质量[24].

2.6 心理治疗 FARP患者常伴随不同程度的心理问题, Carter[25]的研究发现, 500例慢性盆底痛患者中80%有心理问题, 抑郁是引起疼痛最主要的原因. 因此FARP的治疗应多学科合作, 介入心理治疗, 对于很大一部分轻度患者详细的解释和耐心的安慰可以充分有效地控制症状; 若语言开导不能明显地转变患者的思想, 适当使用抗抑郁、焦虑药物协助改善症状.

2.7 中医治疗 中医认为本病病因有情志失调、气滞血虚、中气不足等, 临床多采用中药, 从疏肝解郁、活血化瘀、补益中气等方面治疗. 滕友荣[26]以甘麦汤为基础加减来行气解郁化痰、清肝泻火治疗本病40例, 取得较好的疗效. 杨向东等[27]通过补益中气治疗临床主要表现为坠胀的慢性肛门直肠痛患者58例, 有效率较高. 有些学者采用中药结合针刺, 并配合心理疏导综合治疗慢性肛门直肠痛, 大部分患者症状减轻明显[28].

3 针刺治疗慢性肛门直肠痛

从丰富的针灸学文献和大量的临床实践总结资料来看, 针灸具有良好的镇痛效果. 如临床常见的头痛、胃痛、胁痛、腹痛、腰痛、三叉神经痛、坐骨神经痛、痛经、手术后疼痛等, 针灸都有良好的镇痛作用. 针刺麻醉就是在针灸具有良好的镇痛作用基础上发展起来的, 针刺并不是起到完全麻醉的作用, 而是提高痛阈, 即镇痛作用. 由于针刺具有提高痛阈的作用, 故增加了疼痛的耐受力, 降低了疼痛的敏感性. 针刺治疗慢性肛门直肠痛, 从现代医学角度来说, 主要基于针刺镇痛的机制, 从基因、分子、神经解剖结构、内分泌、心理调节等多方面发挥疗效[29-37]. 针刺不仅能使神经体液和免疫系统发生显著变化, 还可以使刺激部位的皮肤、肌肉、乃至内脏器官的血流量和血流速度明显增加[38], 通过促进局部微循环, 调节微血管的自律活动, 改善微循环形态与血流动力学状况, 使得针刺局部与远隔部位的血流量与血流速度发生良性变化, 使病灶组织的血氧供应量增加, 体液代谢加速, 消除局部致痛因子, 从而达到消除疼痛症状的目的. 此外, 针刺还可以调节交感神经的兴奋性, 从而达到促进血液循环与镇痛作用[39]. 从祖国医学角度来说, 中医称肛门为“魄门”、“篡”, 为“五脏使”, 与多条经络相关: “督脉者, ……其络循阴器, 合篡间, 绕篡后, 别绕臀, …….”; “足太阳之正, 别入于腘中, 其一道下尻五寸, 别入于肛….”; “肾足少阴之脉: ……, 出腘内廉, 上股内后廉, 贯脊, 属肾, 络膀胱…….”可见, 肛门部出现异常症状多与督脉、膀胱经、肾经有着密切的联系[40,41]. 临床上针刺治疗慢性肛门直肠痛, 常根据患者病情及整体情况遵循循经远道选穴、局部选穴、对症选穴等原则, 从通调气血、移神宁心、舒筋活络等不同角度进行.

3.1 通调气血 针刺镇痛的机理是疏通经络、调和气血、排除气血的运行障碍. 他主要是通过两种途径来实现, 一是纠正和消除产生疼痛的病理因素, 二是阻断痛觉的不良循环. 这两者相辅相成, 共同发挥作用[42]. 周志杰等[43]针刺治疗肛门直肠神经痛145例, 取穴: 长强、大肠俞、秩边、合谷、委中, 结果治愈90例, 总有效率93.1%. 曹建葆[44]通过针灸八髎穴治疗盆底疾病取得了良好的治疗效果. 薛雅红[45]针刺八髎穴、长强, 配合神庭、百会、神道、命门等督脉相关穴位以通督调神有较好的疗效. 此外, 长强作为治疗肛门疾病的要穴, 临床上有些学者采用长强穴注射封闭治疗肛门直肠痛, 可取得显著的疗效[46].

■相关报道
目前慢性肛门直肠痛的治疗中应用较多的是生物反馈和骶神经刺激, 对于针灸治疗的应用相关报道较少, 且偏于机制研究方面.

■**创新盘点**
在文献研究的基础上总结目前治疗慢性肛门直肠痛的方法, 进一步提出针刺治疗慢性肛门直肠痛的优势, 为针刺治疗慢性肛门直肠痛提供更多的依据.

3.2 *移神宁心* 一些患者对针灸存在畏惧心理或缺乏信任度, 对针灸疗效有一定影响, 应加强医患沟通, 在针灸治疗疼痛性疾病时应加内关、神门等穴以调心、宁心、移神, 从而达到有效的止痛目的[30]. 肖哲等[47]以局部取穴(长强、会阴)为主, 辨证分型治疗肛门直肠神经官能症, 指出肝经湿热症, 治宜清热利湿, 配以太冲、大敦; 肝郁燥火症, 治宜清热润燥、疏肝解郁, 配以期门、三阴交、昆仑、太冲[48]; 阴虚脏燥症, 治宜滋养阴液、安神定志, 配以太溪、三阴交、神门; 心脾两虚症, 治宜补养心脾、养心安神, 配合脾俞、心俞、神门; 心阴不足症, 治宜滋阴清热、养心安神, 配以心俞、三阴交、太溪.

3.3 *舒筋活络* 经筋的功能并不仅仅是“主束骨而利关节”, 更重要的作用应该是概括脏腑本身内外的被膜和内膜、附着于脏腑表面的神经、血管和淋巴管、脏腑与脏腑、脏腑与体腔相互联系的各种组织的功能和作用. 经筋的功能, 在外束筋骨而利关节、保护体腔内脏; 在内支撑脏腑保持一定位置、体积和容量. 正因为经筋的这种分布特点, 决定了他在针刺镇痛和针刺麻醉中具有重要的临床实践应用价值[49].

4 结论

针刺镇痛作为祖国传统医学的精华, 在中医理论的指导下, 结合现代医学的研究成果, 针刺治疗慢性肛门直肠痛的临床研究和应用有一定的前景, 但需要从不同的角度优化其治疗方案, 相信在不久的将来, 针刺镇痛治疗慢性肛门直肠痛会为改善疼痛患者的生活质量、提高疗效, 为治疗慢性肛门直肠痛提供新的途径.

5 参考文献

1 赵欣, 于布为. 疼痛机制研究进展. 上海医学 2007; 06: 462-465
2 南京中医学院医经教研组. 黄帝内经素问译释. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1981: 4
3 滕杨, 刘峻. 内经对疼痛机制的认识. 中国临床康复 2005; 24: 191
4 Bharucha AE, Wald A, Enck P, Rao S. Functional anorectal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1510-1518 [PMID: 16678564 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.064]
5 Boyce PM, Talley NJ, Burke C, Koloski NA. Epidemiology of the functional gastrointestinal disorders diagnosed according to Rome II criteria: an Australian population-based study. *Intern Med J* 2006; 36: 28-36 [PMID: 16409310 DOI: 10.1111/j.1445-5994.2006.01006.x]
6 Drossman DA, Li Z, Andruzzi E, Temple RD, Talley NJ, Thompson WG, Whitehead WE, Janssens J, Funch-Jensen P, Corazziari E. U.S. householder survey of functional gastrointestinal disorders. Prevalence, sociodemography, and health impact. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1569-1580 [PMID: 8359066 DOI: 10.1007/BF01303162]
7 Takano M. Proctalgia fugax: caused by pudendal neuropathy? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 114-120 [PMID: 15690667 DOI: 10.1007/s10350-004-0736-3]
8 Atkin GK, Suliman A, Vaizey CJ. Patient characteristics and treatment outcome in functional anorectal pain. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 870-875 [PMID: 21654255 DOI: 10.1007/DCR.0b013e318217586f]
9 陈少明, 于庆环. 肛肠病并发肛门直肠神经官能症. 圳中西医结合杂志 2002; 12: 366-367
10 Santoro GA, Wieczorek AP, Bartram CI. Pelvic Floor Disorders. 1 st ed. Italy: Springer Verlag, 2010
11 Baranowski AP, Abrams P, Fall M. Urogenital Pain in Clinical Practice. New York: Informa Healthcare USA, Inc, 2008
12 Fenton BW. Limbic associated pelvic pain: a hypothesis to explain the diagnostic relationships and features of patients with chronic pelvic pain. *Med Hypotheses* 2007; 69: 282-286 [PMID: 17292560 DOI: 10.1016/j.mehy.2006.12.025]
13 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1136/gut.45.2008.ii1]
14 Ng CL. Levator ani syndrome - a case study and literature review. *Aust Fam Physician* 2007; 36: 449-452 [PMID: 17565405]
15 Oyama IA, Rejba A, Lukban JC, Fletcher E, Kellogg-Spadt S, Holzberg AS, Whitmore KE. Modified Thiele massage as therapeutic intervention for female patients with interstitial cystitis and high-tone pelvic floor dysfunction. *Urology* 2004; 64: 862-865 [PMID: 15533464 DOI: 10.1016/j.urology.2004.06.065]
16 Riot FM, Goudet P, Mouraux JP, Cougard P. [Levator ani syndrome, functional intestinal disorders and articular abnormalities of the pelvis, the place of osteopathic treatment]. *Presse Med* 2004; 33: 852-857 [PMID: 15387381]
17 Hull TL, Milsom JW, Church J, Oakley J, Lavery I, Fazio V. Electrogalvanic stimulation for levator syndrome: how effective is it in the long-term? *Dis Colon Rectum* 1993; 36: 731-733 [PMID: 8348859 DOI: 10.1007/BF02048360]
18 Boquet J, Moore N, Lhuintre JP, Boismare F. Diltiazem for proctalgia fugax. *Lancet* 1986; 1: 1493 [PMID: 2873295 DOI: 10.1016/S0140-6736(86)91521-7]
19 Lowenstein B, Cataldo PA. Treatment of proctalgia fugax with topical nitroglycerin: report of a case. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 667-668 [PMID: 9593256 DOI: 10.1007/BF02235281]
20 Wright JE. Inhaled salbutamol for proctalgia fugax. *Lancet* 1985; 2: 659-660 [PMID: 2863643 DOI: 10.1016/S0140-6736(85)90018-2]
21 Katsinelos P, Kalomenopoulou M, Christodoulou K, Katsiba D, Tsolkas P, Pilpilidis I, Papagiannis A, Kapitsinis I, Vasiliadis I, Souparis T. Treatment of proctalgia fugax with botulinum A toxin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 1371-1373 [PMID: 11692065 DOI: 10.1097/00042737-200111000-00017]
22 Ger GC, Wexner SD, Jorge JM, Lee E, Amaranath LA, Heymen S, Nogueras JJ, Jagelman DG. Evaluation and treatment of chronic intractable rectal pain--a frustrating endeavor. *Dis Colon Rectum* 1993; 36:

139-145 [PMID: 8425417 DOI: 10.1007/BF02051169]
23 丁康. 针刺结合生物反馈治疗62例功能性肛门直肠痛疗效观察. 中医药信息 2013; 30: 294-297
24 江从舟. 肛门直肠痛辨治体会. 江西中医药 1999; 30: 30
25 Carter JE. Surgical treatment for chronic pelvic pain. *JSLS* 1998; 2: 129-139 [PMID: 9876726]
26 滕友荣. 半甘汤治疗肛门直肠神经官能症. 中国社区医师 2002; 18: 39
27 杨向东, 赵向东, 岳朝驰, 陈小朝. 玄参汤加减治疗以肛门坠胀为主症的肛门直肠神经官能症58例. 结直肠肛门外科 2008; 14: 413
28 贺瑞清, 黄五臣. 综合疗法治疗肛门直肠神经官能症18例. 现代中西医结合杂志 2006; 15: 1513-1514
29 韩建中. 针刺镇痛的分子生物学机理初探. 江苏中医药 2002; 23: 27-28
30 王跃秀. 针刺镇痛机制的研究进展. 北京中医 2004; 23: 52-55
31 童基均, 朱丹华, 陈裕泉, 陈华德. 基于边缘频谱分析的针灸镇痛效果研究. 浙江大学学报工学版 2009; 43: 1214-1217
32 王沉. 针刺镇痛与免疫机制关系的研究. 辽宁中医杂志 2001; 28: 171-172
33 米晓峰, 王维峰. 针刺镇痛的机理及取穴原则探讨. 山西中医 2005; 21: 42-43
34 张吉, 张宁. 针刺镇痛机制的探讨. 中国针灸 2007; 27: 72-75
35 Zhou M, wang X R.Advances of studies on mechanisms of electroacupuncture analgesia. *World Journal of Acupuncture-moxibustion* 2007; 17: 24-30
36 Wang SM, Kain ZN, White P. Acupuncture analgesia: I. The scientific basis. *Anesth Analg* 2008; 106: 602-610 [PMID: 18227322]
37 刘慧荣, 黄臻, 吴焕淦. 针刺治疗疼痛的现状. 现代康复 2001; 5: 10-13
38 Sandberg M, Lindberg LG, Gerdle B. Peripheral effects of needle stimulation (acupuncture) on skin and muscle blood flow in fibromyalgia. *Eur J Pain* 2004; 8: 163-171 [PMID: 14987626 DOI: 10.1016/S1090-3801(03)00090-9]
39 Sandberg M, Lundeberg T, Lindberg LG, Gerdle B. Effects of acupuncture on skin and muscle blood flow in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol* 2003; 90: 114-119 [PMID: 12827364 DOI: 10.1007/s00421-003-0825-3]
40 荣文舟. 现代中医肛肠病学. 第1版. 北京: 科学技术文献出版社, 2000: 301
41 黄仕荣. 针刺促微循环镇痛机制研究与思考. 中国中医药信息杂志 2006; 13: 97-99
42 李连洁. 针灸治疗疼痛病证的临床探索. 光明中医 2009; 24: 1738-1739
43 周志杰, 周勇, 张福会. 针刺治疗肛门直肠神经痛145例. 中国针灸 2002; 22: 768
44 曹建葆. 针灸八髎穴在盆底疾病中的应用举隅. 江苏中医药 2012; (5): 58-59
45 薛雅红. 针刺结合生物反馈治疗功能性肛门直肠痛机理的基础与临床研究. 南京中医药大学, 2010
46 张西平, 刘鑫. 长强穴封闭治疗肛门直肠神经官能症48例. 河南中医 2002; 22: 50
47 肖哲, 李灵晓. 针刺治疗肛门直肠神经官能症6例. 中国民间疗法 2007; 15: 10
48 周鹏, 赵仓焕, 马晓明. 从肝论治针刺镇痛. 辽宁中医杂志 2006; 33: 944-945
49 吴焕淦, 张仁, 口锁堂, 刘立公, 施征. 从经筋理论探讨针刺麻醉. 上海针灸杂志 2006; 25: 40-43

■同行评价
本文就针刺治疗慢性肛门直肠痛的研究进展进行了综述, 并全面总结了该病发生的病因病机及其他治疗方法, 国内外的文献选取范围较广, 并结合中医理论进行了论述. 具有一定的指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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3月8日; 22(7): 956-962
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

*H. pylori*对人肝正常细胞L-02的作用及其分子机制

刘 丽, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是一种世界范围内常见的慢性感染, 可导致不同的临床疾病, 我国是*H. pylori*感染较严重的国家之一, 亦是肝癌高发区, 研究表明*H. pylori*感染和肝病有相关性, 具体机制未明, 引起了部分学者的研究兴趣.

刘丽, 黄赞松, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021
黄赞松, 周喜汉, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
黄衍强, 右江民族医学院微生物免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000
刘丽, 在读硕士, 主要从事肝癌基础和临床研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542119
广西教育厅重点课题基金资助项目, No. 桂教研重201202ZD078
广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重200887
作者贡献分布: 课题由黄赞松与黄衍强设计; 研究过程、数据处理、文章撰写及文献查阅由刘丽完成; 初稿修改由黄衍强完成; 终稿修改与审校由黄赞松与周喜汉负责.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科. huangzansong@hotmail.com
电话: 0776-2846532
收稿日期: 2014-01-17 修回日期: 2014-02-02
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-08

Effect of *Helicobacter pylori* infection on growth of normal human liver cells (L-02)

Li Liu, Zan-Song Huang, Yan-Qiang Huang, Xi-Han Zhou

Li Liu, Zan-Song Huang, Graduate College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Yan-Qiang Huang, Department of Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542119; the Key Education Department Projects of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 201202ZD078; the Key Medical Scientific Research Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200887
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. huangzansong@hotmail.com
Received: 2014-01-17 Revised: 2014-02-02
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-08

■同行评议者
李瑜元, 教授, 主任医师, 广州市第一人民医院内科

Abstract

AIM: To investigate the effect of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection on the growth of human normal liver cell line-02 (L-02) and the possible mechanisms involved.

METHODS: L-02 cells and *H. pylori* strains were cultured in vitro. CagA$^+$ and CagA$^-$ *H. pylori* strains were identified by PCR. After L-02 cells were incubated with different densities of CagA$^+$ and CagA$^-$ *H. pylori* strains for 24 h, MTT assay was used to detect the inhibition rate of L-02 cells, and the expression of transforming growth factor-beta type Ⅰ (TβRⅠ) in L-02 cells was detected by real-time PCR. Cells without *H. pylori* infection were used as a negative control group.

RESULTS: Both CagA$^+$ and CagA$^-$ *H. pylori* strains significantly inhibited L-02 cell growth in a dose-dependent manner compared with the control group ($P < 0.05$). At the same concentration, CagA$^+$ *H. pylori* strain had a more significant inhibitory effect on L-02 cell growth than CagA$^+$ *H. pylori* strain (10^1 CFU/mL: 10.96 ± 0.231 *vs* 4.47 ± 0.289; 10^2 CFU/mL: 25.31 ± 0.398 *vs* 5.51 ± 0.168; 10^3 CFU/mL: 33.13 ± 0.312 *vs* 10.33 ± 0.213; 10^4 CFU/mL: 54.57 ± 0.245 *vs* 17.12 ± 0.309; 10^5 CFU/mL: 79.45 ± 0.402 *vs* 25.83 ± 0.337; 10^6 CFU/mL: 90.21 ± 0.271 *vs* 32.35 ± 0.178; $t < 0.05$ for all). Both CagA$^+$ and CagA$^-$ *H. pylori* strains significantly increased the expression of TβRⅠ in a dose-dependent manner compared with the control group. At the same concentration, CagA$^+$ *H. pylori* strain increased the expression of TβRⅠ more significantly than CagA$^-$ *H. pylori* strain (10^1 CFU/mL: 1.65 ± 0.101 *vs* 1.11 ± 0.110; 10^2 CFU/mL: 2.77 ± 0.198 *vs* 1.20 ± 0.203; 10^3 CFU/mL: 4.59 ± 0.112 *vs* 1.59 ± 0.134; 10^4 CFU/mL: 5.47 ± 0.145 *vs* 1.99 ± 0.331; 10^5 CFU/mL: 7.45 ± 0.102 *vs* 2.65 ± 0.268; 10^6 CFU/mL: 8.57 ± 0.221 *vs* 4.57 ± 0.161; $t < 0.05$ for all).

CONCLUSION: *H. pylori* infection inhibits the growth of L-02 cells in a dose-dependent manner, and the inhibitory effect of CagA$^+$ *H. pylori* strain was stronger than that of CagA$^-$ *H. pylori* strain. *H. pylori* infection increases the expression of TβRⅠ in L-02 cells in a dose-dependent manner, and CagA$^+$ *H. pylori* strain increases the expression of TβRⅠ more significantly. These findings suggest that *H. pylori* strain inhibits

L-02 cell proliferation possibly by altering the expression of TβR Ⅰ and disturbing the TGF-β1/Smad signal transduction pathway.

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

Key Words: *Helicobacter pylori*; CagA; L-02 cells; Transforming growth factor-beta type Ⅰ

Liu L, Huang ZS, Huang YQ, Zhou XH. Effect of *Helicobacter pylori* infection on growth of normal human liver cells (L-02). Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 956-962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/956.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.956

摘要

目的: 研究幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对人肝正常细胞L-02(human normal liver cell line-02)的作用及转化生长因子β受体Ⅰ(transforming growth factor-beta type Ⅰ, TβR Ⅰ)基因表达的影响.

方法: 体外培养L-02细胞、*H. pylori*; PCR法鉴定CagA$^+$ *H. pylori*和CagA$^-$ *H. pylori*, 采用不同浓度的CagA$^+$ *H. pylori*和CagA$^-$ *H. pylori*作用于L-02细胞24 h, 并设不加*H. pylori*的L-02细胞为阴性对照组; MTT法检测L-02细胞抑制率, 通过Real-time PCR法检测各组*TβR Ⅰ*基因的表达.

结果: MTT法结果显示, 随着CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*浓度升高, 对L-02细胞的抑制作用增强, 与阴性对照组相比, 差别均有统计学意义(P<0.05); 在同一浓度, CagA$^+$ *H. pylori*对细胞的抑制作用较CagA$^-$ *H. pylori*明显, 两组抑制率(%)分别为10^1 CFU/mL组10.960±0.231 *vs* 4.470±0.289; 10^2 CFU/mL组25.310±0.398 *vs* 5.510±0.168; 10^3 CFU/mL组33.130±0.312 *vs* 10.330±0.213; 10^4 CFU/mL组54.570±0.245 *vs* 17.120±0.309; 10^5 CFU/mL组79.450±0.402 *vs* 25.830±0.337; 10^6 CFU/mL组90.210±0.271 *vs* 32.350±0.178, 各组比较均t<0.05; Real-time PCR法检测中, 随着CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*浓度升高, TβR Ⅰ表达逐渐升高, 在同一浓度, CagA$^+$ *H. pylori*促TβR Ⅰ表达作用较CagA$^-$ *H. pylori*明显, 两组TβR Ⅰ相对表达量分别为10^1 CFU/mL组1.65±0.101 *vs* 1.110±0.110; 10^2 CFU/mL组2.770±0.198 *vs* 1.200±0.203; 10^3 CFU/mL组4.590±0.112 *vs* 1.590±0.134; 10^4 CFU/mL组5.470±0.145 *vs* 1.990±0.331; 10^5 CFU/mL组7.450±0.102 *vs* 2.650±0.268; 10^6 CFU/mL组8.570±0.221 *vs* 4.570±0.161, 各组比较均t<0.05.

结论: *H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞具有抑制作用并与浓度相关, 菌液浓度越高, 抑制细胞增殖作用明显, CagA$^+$ *H. pylori*的抑制作用比CagA$^-$ *H. pylori*强. *H. pylori*对L-02细胞作用后*TβR Ⅰ*基因表达增高并与浓度相关, CagA$^+$ *H. pylori*的影响比CagA$^-$ *H. pylori*大. *H. pylori*对L-02细胞抑制作用的可能机制是通过*TβR Ⅰ*基因表达改变干扰转化生长因子-β1/Smads信号通路传导而影响其生长.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; CagA; L-02细胞; 转化生长因子β受体Ⅰ

核心提示: 现代分子生物学研究发现转化生长因子β(transforming growth factor beta, TGF-β)/Smads信号通路在肝纤维化、肝炎、肝硬化、肝癌等过程中扮演着重要角色,是目前分子生物学研究的热点之一. 本文研究发现幽门螺杆菌可通过调节转化生长因子β受体Ⅰ(transforming growth factor-beta type Ⅰ, TβR Ⅰ)基因表达干扰TGF-β1/Smads信号通路传导可能是其抑制L-02细胞生长的分子机制之一.

刘丽, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. *H. pylori*对人肝正常细胞L-02的作用及其分子机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 956-962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/956.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.956

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)有多种致病因子, 其中特征性致病因子细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A, CagA)是其致病机制研究热点, 研究表明低浓度CagA$^+$ *H. pylori*可促进肿瘤细胞增殖, 高浓度时则起抑制作用[1], 新近的研究发现*H. pylori*与肝癌有相关性[2-6], 是目前研究热点之一, 但具体机制未明.

转化生长因子β(transforming growth factor beta, TGF-β)/Smads信号通路广泛参与哺乳动物的各种病理生理过程, 转化生长因子β受体Ⅰ(transforming growth factor-beta type Ⅰ, TβR Ⅰ)作为TGF-β信号通路所必须的受体, 在TGF-β信号传导、生物学效应等方面起重要作用.

我们的实验研究(另文报道)发现低浓度CagA$^+$ *H. pylori*具有促进肝癌细胞HepG2生长的作用, 高浓度CagA$^+$ *H. pylori*细胞毒明显, 对HepG2细胞则具有较强的细胞杀伤作用. 目前关

■研发前沿
CagA作为*H. pylori*致病毒力因子的研究热点, 能干扰多种信号通路, 破坏细胞增殖与凋亡平衡, 与肝病的发生发展是否有相关性, 仍需要综合多方面研究来评价.

■相关报道
陈仁等研究发现CagA$^+$ *H. pylori*对人肝癌细胞HepG2细胞具有细胞毒作用, CagA$^-$ *H. pylori*对HepG2细胞生长无影响; 而Boonyanuqomol等研究发现低浓度CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*可以促进肿瘤细胞增殖, 高浓度CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*抑制肿瘤细胞生长, CagA$^+$ *H. pylori*作用均比CagA$^-$ *H. pylori*强.

于*H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞的作用及作用分子机制研究较少, 本实验采用不同浓度CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*感染人肝正常细胞L-02细胞后观察两者对细胞增殖的影响, 并采用RT-PCR技术检测TβRⅠ mRNA表达水平, 探讨*H. pylori*对正常肝细胞的作用及其作用的可能分子机制, 为进一步研究*H. pylori*与TGF-β/Smads信号通路对肝细胞的作用提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 人正常肝细胞株L-02细胞购自中科院上海细胞库, 并由本实验中心传代、保存[7]. 选择2012-02/2012-06在右江民族医学院附属医院胃镜室行胃镜检查并经病理诊断为胃癌、胃溃疡、胃炎患者共45例, 用胃镜活检钳采集患者胃黏膜, 进行*H. pylori*培养, 菌株经*H. pylori*快速诊断实验、过氧化氢酶实验和尿素酶实验进行鉴定[8]. 改良型1640培养基(Hyclone公司), PBS缓冲液、胰酶(含0.25%EDTA)四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)(北京索莱宝科技有限公司), 胎牛血清(FBS, 美国GIBICO公司), *CagA*$^+$基因[8]、内参*β-actin*基因引物(Invitrogen公司合成), *TβR Ⅰ*基因引物(宝生物工程有限公司设计合成)(表1), TRIzol试剂(Invitrogen公司), Prime Script RT reagent Kit With gDNA Eraser (Perfect Real Time)(RR047A)逆转录试剂盒(TaKaRa公司), Super Real PreMix Plus(SYBR Green)(FP205-02)荧光定量预混试剂增强版试剂盒(TianGen公司). CO_2恒温培养箱MCO-18AIC(日本SANYO), 倒置显微镜(德国Leica)普通PCR仪(BIO-RAD), Real-time PCR IQ5(BIO-RAD), 紫外分光光度仪(BIO-RAD).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: L-02细胞培养于含10%FBS的改良型1640培养基(以下简称培养液)中, 置于饱和湿度、37 ℃、5%CO_2培养箱中培养, 2-3 d更换培养液1次, 胰酶(含0.25%EDTA)消化, 常规传代, 取对数生长期细胞进行实验.

1.2.2 细菌鉴定、培养及菌液制备: 参照文献[8]鉴定CagA$^+$ *H. pylori*和CagA$^-$ *H. pylori*, 分别培养后收集细菌, 用PBS缓冲液洗下菌落, 紫外分光光度仪检测细菌浓度, 用培养液将菌液稀释为1.0×10^6 CFU/mL, 并做连续5次10倍稀释, 即1.0×10^5、1.0×10^4、1.0×10^3、1.0×10^2、1.0×10^1 CFU/mL.

1.2.3 MTT法检测细胞增殖抑制率: 取5×10^3个细胞接种于96孔板, 培养24 h后换无血清的培养液同步化处理24 h, 加入制备好的不同浓度菌液, 并设空白对照组(加等量培养液)及阴性对照组(有细胞、培养液、无菌液), 每组5个复孔, 培养24 h后, 加20 μL的5 mg/mL MTT, 继续培养4 h后弃含菌液, 加150 μL DMSO, 37 ℃恒温震荡10 min, 待结晶完全溶解, 在酶标仪上测定490 nm波长吸光度(absorbance, *A*)值, 取平均值. 计算细胞增殖抑制率. 公式: 细胞抑制率(inhibition rate, RI) = (对照组*A*值-实验组*A*值)/对照组*A*值×100%.

1.2.4 细菌与细胞共孵育: 调整L-02细胞浓度为1×10^6个/mL, 接种到50 mL的细胞培养瓶里, 使细胞分布均匀, 置于饱和湿度、37 ℃、5%CO_2培养箱中培养24 h后, 弃去原培养液, 各加入配备好的不同浓度上述菌液, 每个浓度重复3次, 作用时间为24 h. 阴性对照组不加细菌, 只加等量培养液.

1.2.5 细胞总RNA提取及逆转录反应: 采用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 取检验合格的RNA进行逆转录反应. 按PrimeScript RT reagent Kit With gDNA Eraser (Perfect Real Time)(RR047A)逆转录试剂盒说明制备cDNA.

1.2.6 Real-time PCR法扩增*TβR Ⅰ*基因: 以cDNA为模板, β-actin为内参对照进行Real-time PCR扩增. *TβR Ⅰ*基因、*β-actin*基因引物如表1. 反应体系如下: 2×SuperReal PreMix Plus 12.5 μL, 上、下游引物(浓度10 μmol/L)各0.75 μL, cDNA(稀释4倍)1 μL, 50×ROX Reference Dye 1 μL, RNase Free dH_2O 9 μL, 总体系25 μL. 反应条件: 预变性95 ℃ 15 min 1个反应循环, 95 ℃ 10 s, 53.9 ℃ 30 s共40个反应循环, 55 ℃-95 ℃ 30 s共81个反应循环, PCR扩增结束后, 分析仪即显示标准曲线、扩增曲线和熔解曲线. 按公式: 扩增倍数 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, 计算扩增倍数. 每次反应均设置空白对照.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对数据进行分析处理; 各组计量资料数据用mean±SD表示, 两组均数比较采用*t*检验, 多组均数间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)、两两比较采用SNK法, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细菌和细胞共孵育 正常情况下, L-02细胞在倒置显微镜下观察呈多边形, 贴壁生长, 轮廓清晰, 生长旺盛, 偶见漂浮细胞. 不同浓度的CagA$^+$ *H. pylori*菌液作用于L-02细胞24 h后, L-02细胞

表 1 *CagA*$^+$、*TβR I*、*β-actin*基因引物序列

基因	引物序列	扩增长度(bp)
CagA$^+$	上游5'-ATAATGCTAAATAGACAACTTGAGCGA-3'	297
	下游5'-TTAGAATAATCAACAAACATCACGCCAT-3'	
TβR I	上游5'-GCAGTAAGACATGATTCAGCCACAG-3'	190
	下游5'-CAATGGAACATCGTCGAGCAA-3'	
β-actin	上游5'-AAAAGCCACCCCACTTCTCT-3'	221
	下游5'-GACCAAAAGCCTTCATACATCTCA-3'	

■**创新盘点**
国内外未见有关于*H. pylori*对L-02细胞的作用及其分子机制这样的研究报道, 本研究发现*H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞具有抑制作用并与浓度相关, 菌液浓度越高, 抑制细胞增殖作用明显, CagA$^+$ *H. pylori*比CagA$^-$ *H. pylori*作用强. *H. pylori*对L-02细胞作用后*TβR Ⅰ*基因表达增高并与浓度相关, CagA$^+$ *H. pylori*比CagA$^-$ *H. pylori*影响大.

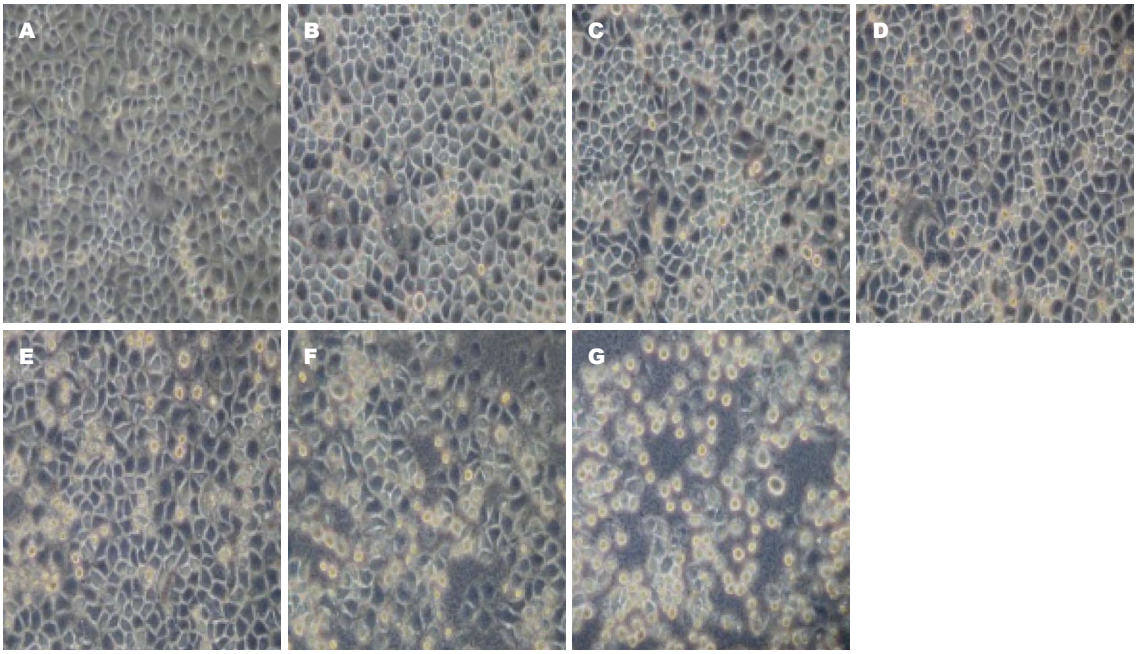


图 1 CagA$^+$ *H. pylori*作用24 h前后L-02细胞形态变化(×200). A: 阴性对照组; B: 1.0×10^1 CFU/mL组; C: 1.0×10^2 CFU/mL组; D: 1.0×10^3 CFU/mL 组; E: 1.0×10^4 CFU/mL组; F: 1.0×10^5 CFU/mL组; G: 1.0×10^6 CFU/mL组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

从贴壁的多边形逐渐变为圆形, 折光性减弱, 随着菌液浓度升高, 细胞从瓶壁上脱落, 贴壁细胞逐渐减少, 悬浮细胞增多, 并在细胞周围出现细胞碎片, 细胞形态学的改变与菌液浓度呈正相关(图1). CagA$^-$ *H. pylori*作用下的L-02细胞有类似形态改变, 在同一浓度, CagA$^-$ *H. pylori*的作用比CagA$^+$ *H. pylori*轻(图2).

2.2 *H. pylori*对L-02细胞增殖的抑制作用 *H. pylori*对L-02细胞增殖的抑制作用呈浓度依赖, 随着CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*浓度升高, 对L-02细胞的抑制作用增强, 各组与对照组相比, 差别均有统计学意义($P<0.05$); 在同一浓度, CagA$^+$ *H. pylori*对细胞的抑制作用较CagA$^-$ *H. pylori*强, 各组相比差别均有统计学意义($t<0.05$)(表2).

2.3 TβR Ⅰ mRNA在L-02细胞中表达水平 Real-time PCR结果显示: 随着CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*浓度升高, TβR Ⅰ表达逐渐升高, 在同一浓度, CagA$^+$ *H. pylori*促TβR Ⅰ表达作用较CagA$^-$ *H. pylori*明显, 两组TβR Ⅰ相对表达量比较差别有统计学意义($t<0.05$)(表2).

3 讨论

CagA蛋白是一种具有强抗原性的亲水性外膜蛋白, 是*H. pylori*重要的毒力因子之一[9], 被列为来自细菌的癌蛋白[10], 他由*H. pylori*致病岛CagPAI上的*CagA*基因编码, 经Ⅳ型分泌系统注入宿主细胞, 定位在质膜表面, 通过磷酸化与非磷酸化的方式与宿主细胞涉及调控细胞生长和运动的多种蛋白相互作用, 并且干扰多种信号通路[11-13], 破坏细胞增殖与凋亡平衡, 导致细胞功能异常, 刺激产生炎症因子, 引起黏膜免疫损伤[14], 相关研究表明该基因敲除可使*H. pylori*对细胞增殖的抑制作用消失[15,16], 此外还在介导细胞骨架重

■应用要点
近年来，人们就*H. pylori*致肝病机制开展的研究中取得了不少成果，本文就CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*对L-02细胞作用及TβR Ⅰ表达进行研究，为*H. pylori*与肝脏致病提供新实验依据.

表 2 *H. pylori*对L-02细胞的作用及TβR Ⅰ的相对表达量

菌液浓度(CFU/mL)	CagA$^+$ *H. pylori*		CagA$^-$ *H. pylori*	
	抑制率(%)	TβR Ⅰ相对表达量	抑制率(%)	TβR Ⅰ相对表达量
对照组	0.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
1.0×10^1	10.960 ± 0.231	1.650 ± 0.101	4.470 ± 0.289	1.110 ± 0.110
1.0×10^2	25.310 ± 0.398	2.770 ± 0.198	5.510 ± 0.168	1.200 ± 0.203
1.0×10^3	33.130 ± 0.312	4.590 ± 0.112	10.330 ± 0.213	1.590 ± 0.134
1.0×10^4	54.570 ± 0.245	5.470 ± 0.145	17.120 ± 0.309	1.990 ± 0.331
1.0×10^5	79.450 ± 0.402	7.450 ± 0.102	25.830 ± 0.337	2.650 ± 0.268
1.0×10^6	90.210 ± 0.271	8.570 ± 0.221	32.350 ± 0.178	4.570 ± 0.161

H. pylori: 幽门螺杆菌; TβR Ⅰ: 转化生长因子β受体Ⅰ.

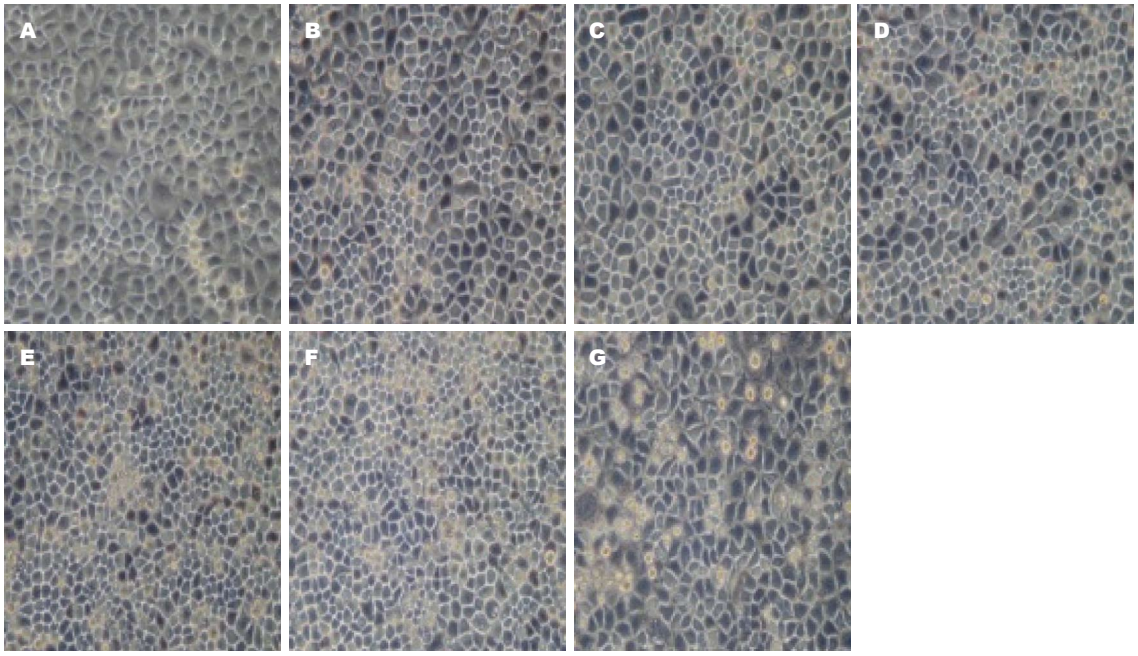


图 2 CagA$^-$ *H. pylori*作用24 h前后L-02细胞形态变化(×200). A: 阴性对照组; B: 1.0×10^1 CFU/mL组; C: 1.0×10^2 CFU/mL组; D: 1.0×10^3 CFU/mL 组; E: 1.0×10^4 CFU/mL组; F: 1.0×10^5 CFU/mL组; G: 1.0×10^6 CFU/mL组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

排、浸润和程序化/反程序化死亡中起关键作用[17,18].

TGF-β/Smads信号通路生物学效应的发挥要通过其受体及下游信号分子Smads，几乎所有的细胞表面都有TGF-β受体，目前与TGF-β/Smads信号通路相关的受体有TβR Ⅰ、TβR Ⅱ、TβRⅢ，TβR Ⅰ不能单独与TGF-β自由结合，TβR Ⅱ能够单独结合TGF-β，一般是活化的TGF-β首先和TβR Ⅱ结合后构象发生改变，才能被TβR Ⅰ识别并与之结合形成异四聚体，由TβR Ⅱ将TβR Ⅰ彻底活化，TβR Ⅰ活化是整个通路的起点. TβR Ⅰ表达异常，则会导致信号通路异常，生物学效应发生变化. 已有研究表明CagA$^+$ *H. pylori*可以激活NF-κB信号通路、Wnt/β-连环蛋白(β-catenin)信号通路等[11-13]，目前*H. pylori*与TGF-β/Smads信号通路之间有无关联，尚无相关报道，我们的研究旨在通过CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*感染L-02细胞后观察细胞增殖情况及检测TβR Ⅰ表达量的变化，以了解*H. pylori*对肝细胞的作用以及与TGF-β/Smads信号通路之间有无关系.

L-02细胞为人肝正常细胞株，其生物学特性和细胞状态相对稳定，细胞周期短、繁殖快、繁殖传代时间长(可达60多代)[19]，本实验采用体外培养L-02细胞，MTT法检测不同浓度的CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*对L-02细胞增殖作用的影响，发现*H. pylori*对L-02细胞增殖的抑制作用呈浓度依赖，随着*H. pylori*浓度升高，对L-02

细胞的抑制作用增强; 在同一浓度, CagA$^+$ *H. pylori*对细胞的抑制作用较CagA$^-$ *H. pylori*强, 此实验现象说明*H. pylori*感染可以诱导正常肝细胞增殖紊乱而引发细胞病变, 既往有研究表明, CagA是抑制细胞增殖所必须的因子[20], 陈仁等[21]研究发现CagA$^-$ *H. pylori*不影响肝癌细胞HepG2生长, 而CagA$^+$ *H. pylori*对HepG2细胞具有明显的体外细胞毒作用, 毒性与CagA$^+$ *H. pylori*浓度和作用时间呈正相关. 但多项实验与临床研究表明*H. pylori*感染致病不是一种因素作用的结果, 而是其多种致病因素整体作用及细菌与宿主细胞相互影响的综合结局[22-26].

CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*感染L-02细胞24 h后, 通过Real-time PCR法检测*TβR Ⅰ*基因的表达情况, 结果显示随着CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*浓度升高, TβR Ⅰ表达逐渐上调升高; 在同一浓度, 两组TβR Ⅰ相对表达量比较$t<0.05$. 说明CagA$^+$ *H. pylori*促TβR Ⅰ表达作用较CagA$^-$ *H. pylori*明显, 这提示*H. pylori*可能通过调节TβR Ⅰ的表达而影响TGF-β/Smads信号通路, CagA在其中有着举足轻重的作用, 张亚南等[27]研究提示*CagA*基因是诱导细胞表达IL-8 mRNA的重要因子, 但并非是唯一因素, 验证了*H. pylori*感染宿主致病机制的复杂性. 菌株之间毒力因子基因差异会影响*H. pylori*感染宿主导致的疾病[28], 至于CagA$^+$ *H. pylori*、CagA$^-$ *H. pylori*作用机制是否存在差别, 仍须进一步研究.

总之, *H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞具有抑制作用并与浓度相关, 菌液浓度越高, 抑制L-02细胞增殖作用明显. CagA$^+$ *H. pylori*抑制细胞的作用比CagA$^-$ *H. pylori*强. *H. pylori*对L-02细胞作用后*TβR Ⅰ*基因表达增高并与浓度相关, CagA$^+$ *H. pylori*的影响比CagA$^-$ *H. pylori*大. *H. pylori*对L-02细胞抑制作用的可能机制是通过*TβR Ⅰ*基因表达改变干扰TGF-β1/Smads信号通路传导而影响其生长. *H. pylori*处理前后对L-02细胞的作用, 涉及细胞增殖、凋亡; 基因表达调控; 信号传导等众多关键事件, 作用过程复杂, 其确切作用和分子机制仍需进一步实验和临床观察研究与证实.

4 参考文献

1 Boonyanugomol W, Chomvarin C, Baik SC, Song JY, Hahnvajanawong C, Kim KM, Cho MJ, Lee WK, Kang HL, Rhee KH, Sripa B. Role of cagA-positive Helicobacter pylori on cell proliferation, apoptosis, and inflammation in biliary cells. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1682-1692 [PMID: 21181444 DOI: 10.1007/s10620-010-1512-y]

2 孙东明, 崔群, 强新. 原发性肝癌组织中螺杆菌相关基因的检测. 齐鲁医学杂志 2009; 24: 391-396

3 覃月秋, 黄赞松. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌研究进展. 右江民族医学院学报 2011; 33: 514-515

4 张福星, 张思宇, 苏国强, 陈燕凌, 林旭. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌侵袭转移的关系. 临床肿瘤学杂志 2010; 15: 123-126

5 陈仁, 陈小苹, 林炳亮, 曹会娟, 林秋雄. 肝癌患者肝组织中螺杆菌感染研究. 南方医科大学学报 2010; 30: 1028-1030

6 覃月秋, 黄赞松. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌相关性研究. 中国医药科学 2011; 1: 47-49

7 向发良, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. 苦参素对人肝正常细胞L02影响的实验研究. 右江民族医学院学报 2013; 35: 6-9

8 黄衍强, 欧平, 周喜汗, 黄赞松, 李晓华, 岑朝. CagA及VacA幽门螺杆菌对克拉霉素的耐药性突变分析. 山东医药 2010; 50: 37-39

9 Al-Ghoul L, Wessler S, Hundertmark T, Krüger S, Fischer W, Wunder C, Haas R, Roessner A, Naumann M. Analysis of the type IV secretion system-dependent cell motility of Helicobacter pylori-infected epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 860-866 [PMID: 15336542 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.199]

10 管张燕. cagA转基因小鼠模型的建立及致病机制的初步研究. 中国人民解放军军事医学科学院, 2011

11 Tomimori K, Uema E, Teruya H, Ishikawa C, Okudaira T, Senba M, Yamamoto K, Matsuyama T, Kinjo F, Fujita J, Mori N. Helicobacter pylori induces CCL20 expression. *Infect Immun* 2007; 75: 5223-5232 [PMID: 17724069 DOI: 10.1128/IAI.00731-07]

12 Franco AT, Israel DA, Washington MK, Krishna U, Fox JG, Rogers AB, Neish AS, Collier-Hyams L, Perez-Perez GI, Hatakeyama M, Whitehead R, Gaus K, O'Brien DP, Romero-Gallo J, Peek RM. Activation of beta-catenin by carcinogenic Helicobacter pylori. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10646-10651 [PMID: 16027366 DOI: 10.1073/pnas.0504927102]

13 Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, Yamahashi Y, Saito Y, Higashi H, Aburatani H, Akiyama T, Peek RM, Azuma T, Hatakeyama M. Helicobacter pylori CagA interacts with E-cadherin and deregulates the beta-catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene* 2007; 26: 4617-4626 [PMID: 17237808 DOI: 10.1038/sj.onc.1210251]

14 潘小炎, 黄赞松, 王小谷, 覃志坚, 李壮, 陶箭. 幽门螺杆菌CagA相关胃炎与IL-8、IL-6及TNF-α关系的探讨. 广西医科大学学报 2003; 20: 39-41

15 黄志刚. 幽门螺杆菌细胞毒素相关基因A蛋白(CagA)致病的分子机制研究. 郑州大学, 2007

16 黄赞松, 唐国都, 王超. 幽门螺杆菌毒力因子基础与临床研究进展. 右江民族医学院学报 2003; 25: 122-124

17 Tatemichi M, Hamada GS, Nishimoto IN, Kowalski LP, Iriya K, Rodrigues JJ, Tsugane S. Ethnic difference in serology of Helicobacter pylori CagA between Japanese and non-Japanese Brazilians for non-cardia gastric cancer. *Cancer Sci* 2003; 94: 64-69 [PMID: 12708476]

18 Deguchi R, Mine T, Miwa T, Takagi A. [cag PAI and gastric carcinogenesis-association with p53 gene mutation]. *Nihon Rinsho* 2003; 61: 41-45 [PMID: 12607313 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01353.x]

■同行评价

本文内容新颖, 条理清晰, 研究目的明确, 研究设计科学, 方法先进, 结果可靠, 具有一定的可读性、科学性和临床应用的价值.

19 么崇正, 唐伟松, 高维生, 栗岩, Poston G. 正常肝细胞传代培养和生物学特性研究. 中华外科杂志 1992; 30: 475-477
20 黄志刚, 宋春花, 范清堂, 段广才. 幽门螺杆菌CagA基因对胃癌细胞影响. 中国公共卫生 2007; 22: 463-465
21 陈仁, 范学工, 黄燕, 李宁, 陈朝晖. 幽门螺杆菌对肝癌细胞HepG2的体外细胞毒作用. 癌症 2004; 23: 44-49
22 Schneider N, Krishna U, Romero-Gallo J, Israel DA, Piazuelo MB, Camargo MC, Sicinschi LA, Schneider BG, Correa P, Peek RM. Role of Helicobacter pylori CagA molecular variations in induction of host phenotypes with carcinogenic potential. *J Infect Dis* 2009; 199: 1218-1221 [PMID: 19278338 DOI: 10.1086/597416]
23 Kitadai Y. Cancer-stromal cell interaction and tumor angiogenesis in gastric cancer. *Cancer Microenviron* 2010; 3: 109-116 [PMID: 20020278 DOI: 10.1007/s12307-009-0032-9]
24 Li WQ, Zhang L, Ma JL, Zhang Y, Li JY, Pan KF, You WC. Association between genetic polymorphisms of DNA base excision repair genes and evolution of precancerous gastric lesions in a Chinese population. *Carcinogenesis* 2009; 30: 500-505 [PMID: 19147860 DOI: 10.1093/carcin/bgp018]
25 Peleteiro B, Lunet N, Barros R, La Vecchia C, Barros H. Factors contributing to the underestimation of Helicobacter pylori-associated gastric cancer risk in a high-prevalence population. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 1257-1264 [PMID: 20373011 DOI: 10.1007/s10552-010-9553-2]
26 Hsu PI, Hwang IR, Cittelly D, Lai KH, El-Zimaity HM, Gutierrez O, Kim JG, Osato MS, Graham DY, Yamaoka Y. Clinical presentation in relation to diversity within the Helicobacter pylori cag pathogenicity island. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2231-2238 [PMID: 12358238]
27 张亚南, 黄柳桓, 康熙雄. 幽门螺杆菌毒力蛋白CagA诱导AGS细胞IL-8 mRNA表达的研究. 中国实验诊断学 2012; 16: 571-574
28 黄赞松, 唐国都, 王超, 李素艳, 姜海行. 广西人上消化道疾病患者幽门螺杆菌cagA基因检测及其临床意义. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1831-1834

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 963-968
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化

熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈 雁

熊喜峰, 刘志河, 沈雁, 暨南大学医学院附属广州市红十字会医院 广东省广州市 510220
熊喜峰, 刘志河, 沈雁, 广州市创伤外科研究所 广东省广州市 510220
刘文丹, 广州医科大学附属第四医院肿瘤血液内科 广东省广州市 511440
马宁芳, 广州医科大学基础学院组织学与胚胎学教研室 广东省广州市 510182
熊喜峰, 硕士, 研究实习员, 主要从事消化系统疾病发生机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81272222
广东省科技计划基金资助项目, No. 2011B031300026
作者贡献分布: 熊喜峰与刘志河对此文所作贡献均等; 此课题由熊喜峰、刘志河、刘文丹、马宁芳及沈雁设计; 研究过程由熊喜峰、刘志河、刘文丹、马宁芳及沈雁操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由刘文丹提供; 数据分析由熊喜峰与沈雁完成; 本论文写作由熊喜峰、刘志河及马宁芳完成.
通讯作者: 刘志河, 研究员, 510220, 广州市海珠区同福中路396号, 广州市创伤外科研究所. zliu0731@163.com
电话: 020-34403732
收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-02
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis in mice

Xi-Feng Xiong , Zhi-He Liu, Wen-Dan Liu, Ning-Fang Ma, Yan Shen

Xi-Feng Xiong , Zhi-He Liu, Yan Shen, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Ji'nan University, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China
Xi-Feng Xiong , Zhi-He Liu, Yan Shen, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China
Wen-Dan Liu, Department of Hematological Oncology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 511440, Guangdong Province, China
Ning-Fang Ma, Department of Histology and Embryology, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272222; and Guangdong Province Science and Technology Plan Projects, No. 2011B031300026
Correspondence to: Zhi-He Liu, Researcher, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Jinan University, 396 Tongfu Middle Road, Haizhu District, Guangzhou510220, Guangdong Province, China. zliu0731@163.com
Received: 2013-11-25 Revised: 2014-01-02
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To assess the application of virtual touch tissue quantification (VTQ) in the diagnosis of liver fibrosis in mice.

METHODS: Forty male mice were randomly divided into control, CCl_4-1 wk, CCl_4-4 wk and CCl_4-8 wk groups. At different time points, VTQ value was calculated, and aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), collagen Ⅳ (Ⅳ-C), hyaluronic acid (HA) and laminin (LN) were measured. Liver tissues were taken for pathological analysis.

RESULTS: HE staining indicated that the 1-wk group showed a small amount of necrosis and inflammatory cell infiltration; the 4-wk group showed significant hepatocyte ballooning degeneration and some necrosis; the 8-wk group showed a large amount of inflammatory cell infiltration and abnormal lobular structure; and the control group had normal lobular architecture. Compared with the control group with a few collagen fibers in the vessel wall, the number of collagen fibers increased significantly in the 1-, 4- and 8-wk groups. The fibrous septa was obvious in the 4-wk group and pseudolobule formation with proliferated collagen fibers was present in the 8-wk group. Compared with the control group, AST, ALT, Ⅳ-C, LN and HA showed no significant differences in the 1-wk group ($P > 0.05$), but were significantly different in the 4- and 8-wk groups ($P < 0.01$, $P < 0.001$). VTQ value showed no significant difference between the control group and 1-wk group ($P > 0.05$), but differed significantly between the control group and 4- and 8-wk groups ($P < 0.01$, $P < 0.001$).

CONCLUSION: VTQ can be used as a new method for the diagnosis of liver fibrosis.

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

Key Words: Virtual touch tissue quantification; Liver fibrosis; CCl_4; Mouse

Xiong XF, Liu ZH, Liu WD, Ma NF, Shen Y. Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis

■背景资料
我国是肝病大国, 肝纤维化是肝硬化、肝癌发生发展的必经病理过程, 在肝纤维化阶段可以逆转, 要预防肝硬化、肝癌的发生, 就必须针对肝纤维化有正确的诊断, 而传统的检测方法肝活检, 因存在局限性, 因此亟需寻找一个有效的非创伤性诊断方法来评估肝纤维化程度.

■同行评议者
党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

■研发前沿
应用声触诊量化技术(virtual touch tissues quantifleation, VTQ)在小鼠肝纤维化成模过程中进行检测, 初步研究其是否能够作为诊断肝纤维化的有效手段, 寻求无创的诊断方法来评估肝纤维化程度. 在临床上建立诊断人肝纤维化分期相对应VTQ值的范围, 从而建立简便易行和准确性高的诊断体系, 使肝纤维化的无创性诊断迈上一个新的台阶.

in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 963-968
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/963.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.963

摘要

目的: 声触诊量化技术(virtual touch tissues quantifleation, VTQ)在小鼠肝纤维化诊断中的实验研究.

方法: 40只小鼠随机分成对照组、CCl_4 1 wk组、CCl_4 4 wk组和CCl_4 8 wk组. 于造模时间点测定VTQ测量值(Vs值); 检测门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、Ⅳ型胶原(Ⅳ collagen, Ⅳ-C)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)和层黏连蛋白(laminin, LN)的变化; 制作肝组织石蜡切片, 观察病理学变化.

结果: HE染色显示对照组肝小叶结构正常; 1 wk时可见肝细胞少量坏死, 炎症细胞少量浸润; 4 wk时肝细胞气球样变明显, 可见不同程度碎屑坏死; 8 wk时正常肝小叶结构消失, 大量炎症细胞浸润. Masson染色显示对照组仅在中央静脉壁上少量绿色胶原纤维; 1 wk时中央静脉及汇管区可见绿色胶原纤维; 4 wk时胶原纤维间隔较明显; 8 wk时大量增生的胶原纤维包绕、分割成大小不等的假小叶. 血清学AST、AST、Ⅳ-C、LN及HA检测比较: 1 wk组与对照组无差别(P>0.05), 4 wk组、8 wk组与对照组差别具有显著性意义(P<0.01, P<0.001). VTQ测量值(VTQ value, Vs)显示1 wk组与对照组无差别(P>0.05); 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义(P<0.001).

结论: 与组织病理学及血清学检测一样, 声触诊量化技术也可作为一种新手段在诊断肝纤维化动态变化中提供一定的参考价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 声触诊组织量化技术; 肝纤维化; 四氯化碳; 小鼠

核心提示: 本文通过小鼠肝纤维化模型的制模成功, 检测其在纤维化过程中的病理变化和血清学变化, 同时检查声触诊量化技术(virtual touch tissues quantifleation, VTQ)的变化, 结果提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现与上述两者的变化一致性, 因此VTQ的研究能够作为诊断小鼠肝纤维化的有效手段.

熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁. 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 963-968
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/963.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.963

0 引言

大部分的慢性肝脏损伤都会引起肝硬化, 而肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)作为肝硬化发展的必经阶段, 其机制较复杂, 目前认为他是由多种因素造成肝细胞外基质的异常增多和/或降解相对不足而形成[1]. 近年来人们日益重视肝纤维化, 已有研究证实肝纤维化尚可发生逆转, 而肝硬化则否[2-4], 故阻止或逆转肝纤维化的发生、发展是有效防止肝硬化、肝癌发生的重要途径.

传统的检测肝硬化方法主要依靠“金标准”-肝活检, 然而因其属有创性的检查, 有潜在的风险, 且受限于穿刺部位、样本大小, 以及不能作为一个动态观察肝纤维化变化及疗效判断的指标等, 故其运用明显存在局限性. 人们期望尽早诊断出肝纤维化, 为治疗提供时间, 然而肝病的合理治疗离不开对肝脏炎症和肝纤维化程度的正确评估. 近年来, 寻找一个有效的非创伤性诊断方法来替代肝活检评估肝纤维化程度是肝病学者致力研究的课题[5].

声触诊组织量化技术(virtual touch tissues quantifleation, VTQ)是一种通过使用超声声辐射压力脉冲(aeoustie radiation foree impulselinaging, ARFI)成像原理来量化组织弹性的新技术[6], 原理是其通过探头发射一个纵波, 产生一种在组织中传播的横向剪切波, 来获取组织硬度信息参数, 组织越硬, 剪切波速度越快, 其量化值间接评估组织硬性程度. 研究证实在肝纤维化进程中肝组织硬度逐渐增加[7], 已有研究显示该技术已被使用在区分乳腺[8,9]、肝[10]、肾功能[11]和甲状腺[12]等疾病的良、恶性病变中.本研究拟应用VTQ在小鼠肝纤维化成模过程中进行检测, 初步研究其是否能够作为诊断肝纤维化的有效手段.

1 材料与方法

1.1 材料 清洁级♂昆明小鼠40只, 体质量25-28 g, 购自南方医科大学实验动物中心(SCXK粤2008). 四氯化碳(CCl_4, 500 mL/瓶)为广州化学试剂厂产品, 粟米油市售, 将CCl_4溶于食用粟米油中, 按CCl_4∶粟米油 = 1∶1比例配成500 mL/L以备用. 丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,

表 1 小鼠肝脏病理模型病理学改变情况 (n = 10)

分组	死亡数(n)	存活动物肝脏病理分级
control	0	10(G0S0)
1 wk组	1	9(G1S0)
4 wk组	1	2(G2S1)、7(G3S2)
8 wk组	2	1(G3S3)、7(G4S4)

ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)检测试剂盒为深圳市康乃格生物技术有限公司产品. 透明质酸(hyaluronic acid, HA), Ⅳ型胶原(type Ⅳ collagen, Ⅳ-C)及层黏连蛋白(laminin, LN)放射免疫分析测定盒, 均购自上海海洋医学生物技术中心.

1.2 方法

1.2.1 动物造模: 昆明小鼠随机分成对照组、CCl_4 1 wk组、CCl_4 4 wk组和CCl_4 8 wk组, 每组10只. 所有小鼠饲养1 wk后, CCl_4模型组小鼠皮下注射CCl_4-粟米油混悬液, 首次注射CCl_4原液(6 mL/kg), 以后隔3 d后再次皮下注射CCl_4-粟米油混悬液(6 mL/kg), 2次/wk. 对照组仅皮下注射同等剂量的粟米油, 2次/wk[13].

1.2.2 标本处理: 分别于造模后1、4、8 wk后用1%戊巴比妥钠10 mL/kg腹腔注射麻醉后将其固定在固定板上, 检测部位均为右侧肝组织. 测定剪切波速度Vs值后, 眼球取血, 4 ℃ 2000 r/min离心20 min, 收集血清置-80 ℃保存待测. 取血后行开腹手术, 迅速剪取中叶肝组织, 置于40 g/L中性甲醛溶液固定, 常规方法制作石蜡切片, 作病理学观察.

1.2.3 测定Vs值: 德国Siemens ACUSON S2000彩色多普勒超声诊断仪, 高频探头9L4, 频率9 MHz. 测定VTQ的数值: 检测时探头向肝脏发射一个低频纵向波, 从而获得一个横向运动的剪切波速度, 可反映组织纵向受力后而横向产生的组织位移, 称为弹性参数, 即VTQ值(Vs值), 每只小鼠肝脏测量5次, 控制取样框深度测得各Vs值后取平均值.

1.2.4 血清肝功能及纤维化指标的测定: 采用日立7170A全自动生化分析仪测定AST、ALT; 采用放射免疫法, 严格按照说明书步骤测定Ⅳ-C、HA和LN.

1.2.5 肝组织病理学检测: 常规HE及Masson染色, 光学显微镜下观察及比较肝组织结构的变化.

1.2.6 肝纤维化结果判断标准: 诊断标准参照2000年全国第十次病毒性肝炎及肝病学术会议制订的《病毒性肝炎防治方案》[14]: (1)炎症活动分级(G): G0汇管区及周围无炎症, 肝小叶内无炎症; G1汇管区炎症, 小叶内有肝细胞变性及少数点灶状坏死; G2汇管区轻度碎屑状坏死, 小叶内肝细胞变性, 点状坏死灶或嗜酸性小体; G3汇管区中度碎屑状坏死, 小叶内肝细胞变性、融合坏死或见桥接坏死: G4汇管区重度碎屑状坏死, 小叶内桥接坏死范围广, 累及多个小叶; (2)纤维化程度分期标准(S): S0无; S1汇管区纤维化扩大, 局限窦周及小叶内纤维化; S2汇管区周围纤维化, 纤维间隔形成, 小叶结构保留; S3纤维间隔伴小叶结构紊乱, 无肝硬化; S4早期肝硬化, 肝实质广泛破坏, 弥漫性纤维增生, 被分隔的肝细胞团呈不同程度的再生及假小叶形成.

统计学处理 数据采用SPSS17.0软件分析, 数据采用mean±SD表示, 多组间均数比较采用方差分析, 组间均数比较采用LSD-t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HE染色 对照组肝小叶结构正常, 肝细胞无变性坏死, 汇管区无炎症细胞浸润(图1A); 1 wk组肝细胞少量坏死, 有少量纤维组织增生, 汇管区有少量炎症细胞浸润, 小叶内可见点、灶状坏死(图1B); 4 wk组可见肝细胞气球样变明显和不同程度碎屑坏死, 炎细胞形成桥样连接(图1C); 8 wk组正常肝小叶结构消失, 大量炎症细胞浸润(图1D).

2.2 Masson染色 对照组肝内仅在中央静脉壁上少量的绿色纤维(图1E); 1 wk时肝组织汇管区和中央静脉可见绿色胶原纤维(图1F); 4 wk时纤维间隔较明显(图1G), 胶原纤维沿肝板延伸呈纤维隔状, 但无完整分界形成; 8 wk时大量增生的胶原纤维包绕、分割成大小不等的假小叶(图1H).

2.3 肝纤维化结果判断 参照《病毒性肝炎防治方案》诊断标准, 结合HE和Masson染色结果, 判断本实验模型中不同组别各小鼠病理学改变情况(表1).

2.4 不同组别血清学肝纤维化指标变化情况 血清学各指标随给药时间延长依次升高, 在8 wk达到高峰(表2, 图2A, B). AST、ALT、Ⅳ-C、LN及HA检测比较: 1 wk组与对照组无差别(P>0.05), 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义(P<0.01, P<0.001).

2.5 不同组别Vs值测定情况 各组存活的小鼠每只进行5次测量, 取框深度约为0.9 cm, Vs值随着给药时间的延长而增大(图1I-L, 图2C), 分别为

■相关报道
Bai等将VTQ在乳腺癌上进行了应用, Zhang等证实VTQ技术在诊断良恶性甲状腺结节上有用的. 而在肝硬化及肝癌的必经阶段肝纤维化的诊断上却显有应用VTQ技术的报道. 本文应用了上述学者同样的VTQ诊疗手段, 在小鼠肝纤维化进程中对肝组织进行动态的硬度监测.

■**创新盘点**

以往研究主要单一应用肝活检或肝纤4项诊断肝纤维化，而本文舍弃有创肝活检，应用肝血清学检查与VTQ一致性，同时与普通弹性成像相比，VTQ避免了因操作者机械施压不同，和不受周边组织影响、重复性较高等特点，利用声波探测肝组织的力学形变特性，从而获得反映肝组织弹性硬度的参数，更加客观地评估肝纤维化程度.

表 2 不同组别血清学指标变化 (mean ± SD)

分组	AST(U/L)	ALT(U/L)	HA(ng/mL)	IV-C(ng/mL)	LN((ng/mL))
Control组	40.700 ± 3.230	41.500 ± 6.500	39.471 ± 2.124	15.634 ± 2.779	20.805 ± 5.087
1 wk组	63.470 ± 9.050	60.700 ± 9.030	56.243 ± 3.531	25.290 ± 5.514	37.166 ± 9.321
4 wk组	196.920 ± 43.490[b]	171.500 ± 35.060[b]	83.600 ± 6.008[b]	41.326 ± 6.148[b]	59.649 ± 4.608[b]
8 wk组	535.890 ± 127.140[d]	408.800 ± 148.530[d]	123.830 ± 6.339[d]	77.693 ± 3.359[d]	81.982 ± 12.629[d]

[b]P<0.01, [d]P<0.001 *vs* Control组. AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; IV-C: Ⅳ型胶原; HA: 透明质酸; LN: 层黏连蛋白.

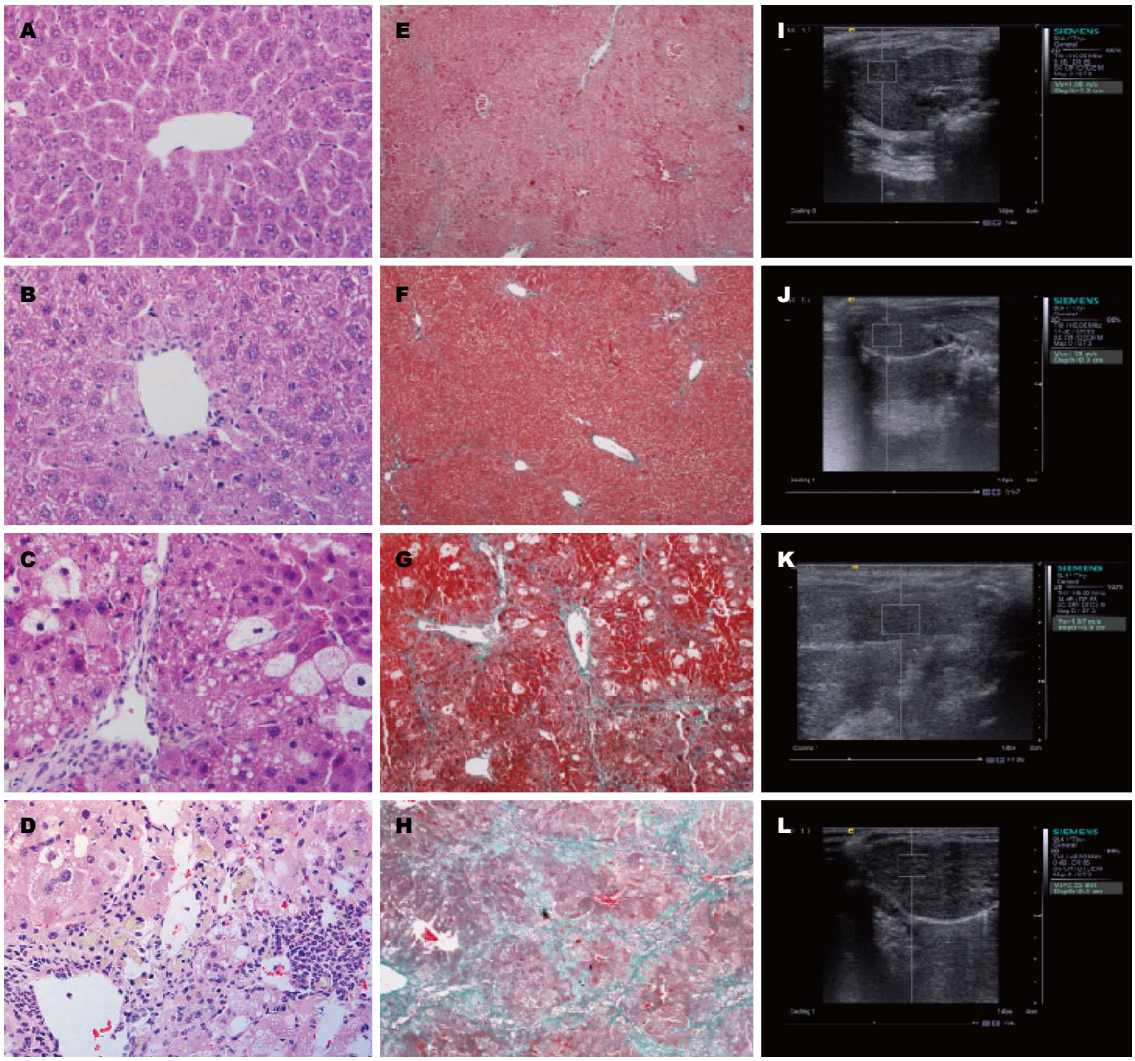
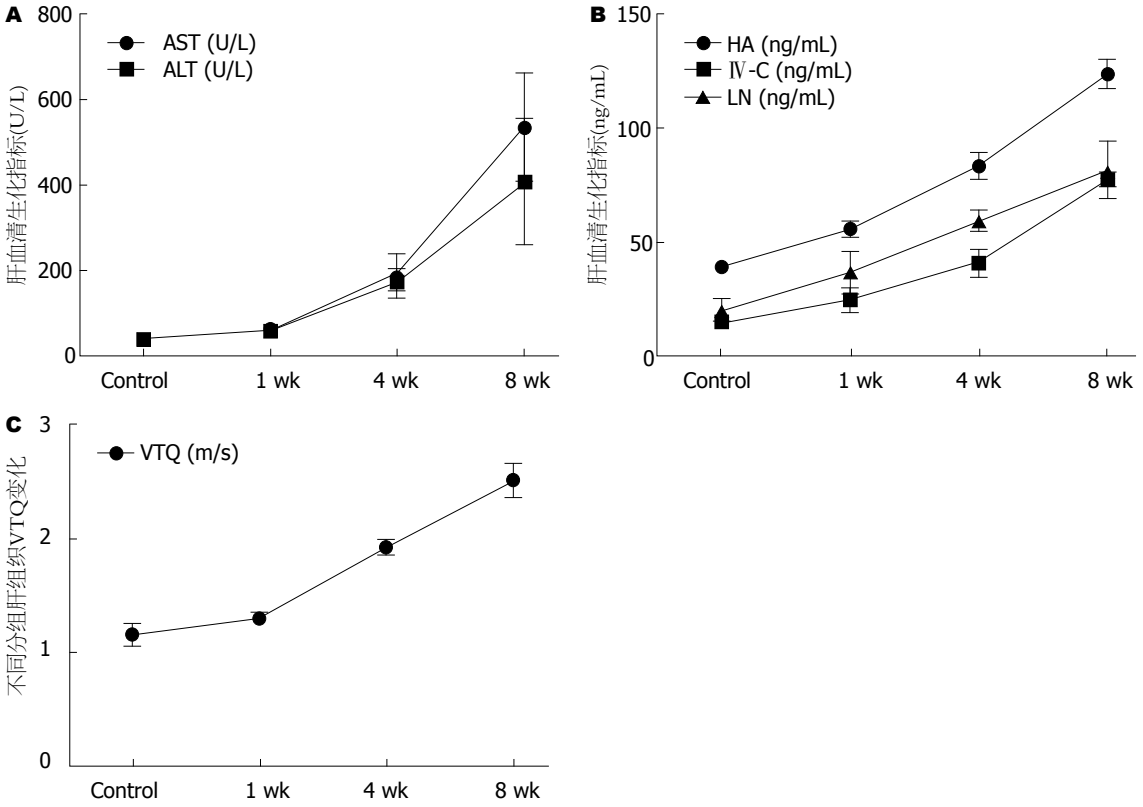


图 1 各组别的HE(×400)、Masson染色(×100)图及所测的Vs值. A: control组; B: 1 wk组; C: 4 wk组; D: 8 wk组; E: control组; F: 1 wk组; G: 4 wk组; H: 8 wk组; I: control组; J: 1 wk组; K: 4 wk组; L: 8 wk组. Vs: VTQ测量值.

对照组1.151±0.101, 1 wk组1.295±0.059, 4 wk组1.923±0.076, 8 wk组2.515±0.153, 其中1 wk组与对照组无差别(P>0.05), 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义(P<0.001).

3 讨论

我国是肝病高发地区，肝癌是常见的恶性肿瘤之一，其死亡率较高[15]. 肝纤维化是肝硬化及肝癌发生发展的必经病理过程，且肝纤维化阶段可以发生逆转，因此要预防肝硬化及肝癌的发生，就必须针对肝纤维化有正确的诊断. CCl_4诱导肝纤维化是公认的化学性肝毒模型[13]，本研究应用此模型动态观察了肝组织结构的病理变化. HE及Masson染色证实不同组别肝组织结构随



■应用要点

本文率先利用动物肝纤维化模型来研究无创的诊断方法, 填补了VTQ在动物模型上的空白, 同时希望能够在临床上建立诊断人肝纤维化分期相对应VTQ值的范围.

图 2 血清学指标及VTQ测值趋势图. A: AST及ALT测值趋势; B: HA、Ⅳ-C及LN测值趋势; C: VTQ测值趋势. AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; Ⅳ-C: Ⅳ型胶原; HA: 透明质酸; LN: 层黏连蛋白.

CCl_4损伤时间的延长而逐步发生相应的变化, 根据肝脏学会肝脏炎症活动分级(G)及肝纤维化的分期标准(S)综合判断, 其中S0表示无肝纤维化, S1表示肝纤维化程度最轻, S4表示肝纤维化程度最重, 已达到早期肝硬化的程度. 实验组1 wk小鼠肝脏(100%)处于G1S0, 4 wk小鼠肝脏(78%)为G3S2, 8 wk小鼠肝脏(87.5%)为G4S4, 即8 wk时已达早期肝硬化. 因此, 本文运用小鼠肝纤维化模型来模拟人类肝纤维化发展过程是造模成功的.

肝活检被认为是传统肝病检测的金标准, 但因其属有创检查且受穿刺部位的局限等, 病人不大愿意接受, 所以寻求一种无创简单快速的检测手段成为必然趋势.生化指标AST、ALT的变化反映肝脏受损的程度, 而HA、Ⅳ-C和LN作为肝纤维化血清检测的指标, 他们三者能够真实的反映肝纤维化的水平[16], 即AST、ALT、Ⅳ-C、LN及HA 5个指标越高, 反映出肝脏损伤及肝纤维化程度越强. 本实验中, 检测血清学上述各指标时, 发现随给药时间延长逐渐升高, 至第8 wk末达到高峰, AST、ALT、Ⅳ-C、LN、HA检测显示1 wk组与对照组无差别, 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义, 各项血清学指标检测结果基本呈线性升高关系, 提示小鼠肝脏肝纤维化逐渐加重. 而通过HE及Masson染色观察小鼠肝脏切片时, 病理学改变随着给药时间延长从对照组的S0期到8 wk末的早期肝硬化的S4期, 与肝纤维化血清学在时间点上变化相吻合, 提示上述血清学检测指标变化真实反映小鼠肝纤维化的分期.

VTQ是基于ARFI原理的技术, 与普通弹性成像采用操作者机械施压不同, 具有不受周边组织影响、重复性较高等, 利用声波探测肝组织的力学形变特性, 从而获得反映肝组织弹性硬度的参数, 更加客观地评估肝纤维化程度. 本实验中, 肝组织VTQ平均测值在不同组中剪切波速度不同, 随着肝纤维化程度的进展, VTQ的测值也逐渐变大, 1 wk组与对照组相比无差异, 4 wk组及8 wk组与对照组相比具有明显的统计学意义. 根据各组所测的Vs值与血清学各指标作图分析, 他们之间都呈线性升高趋势, 同样肝脏病理变化逐渐加重与VTQ测值增大相吻合, 即VTQ测值变化与血清学指标及病理检查相一致, 提示VTQ测值的变化也能够反映小鼠肝纤维化的分期.

因此, 本研究应用的VTQ新技术与传统检

■同行评价
本研究应用的VTQ新技术与传统检测指标一致的结果，提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现出较好的相关性，同时具有不受周边组织影响、重复性较高等优点，具有较好的临床应用价值.

测指标一致的结果，提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现出较好的相关性，具有较好的参考价值，但是临床上暂无该检测技术应用在肝纤维化的诊断，随着研究的不断深入以及新技术的开发，未来在临床上VTQ技术有望取代肝脏组织活检术，作为一种无创、快速、价廉、可动态评价肝脏纤维化程度的常规检查手段，可在此基础上进一步建立肝纤维化分期相对应VTQ值的范围，从而建立简便易行和准确性高的诊断体系，使肝纤维化的无创性诊断迈上一个新的台阶.

4 参考文献

1 Montalto G, Cervello M, Giannitrapani L, Dantona F, Terranova A, Castagnetta LA. Epidemiology, risk factors, and natural history of hepatocellular carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 963: 13-20 [PMID: 12095924 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04090.x]

2 Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, Niioka M, Arai M, Maruyama K. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery. *Keio J Med* 2001; 50: 58-65 [PMID: 11450593 DOI: 10.2302/kjm.50.58]

3 Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27 [PMID: 12466770]

4 Ismail MH, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis. *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15: 72-79 [PMID: 19568569 DOI: 10.4103/1319-3767.45072]

5 陆伦根, 曾民德. 肝纤维化的非创伤性诊断和评估. 中华肝脏病杂志 2008; 16: 165-168

6 Shi J, Yang G, Tao Y. Value of high-frequency ultrasonography with virtual touch tissue quantification in diagnosis of breast pure mucinous carcinomas. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2012; 11: 445-448[DOI: 10.4172/1948-5956.1000108]

7 Rockey DC. Noninvasive assessment of liver fibrosis and portal hypertension with transient elastography. *Gastroenterology* 2008; 134: 8-14 [PMID: 18166342 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.053]

8 Saleem S. Elastography and its role in breast cancer screening. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009; 19: 203-204 [PMID: 19268027]

9 Meng W, Du W, Zhang G, Wu G, Wu C, Lu Z. WITHDRAWN: Acoustic radiation force impulse (ARFI) ultrasound imaging of breast lesions. *Eur J Radiol* 2011 Jul 1. *[Epub ahead of print]* [PMID: 21723683 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.06.039]

10 Shuang-Ming T, Ping Z, Ying Q, Li-Rong C, Ping Z, Rui-Zhen L. Usefulness of acoustic radiation force impulse imaging in the differential diagnosis of benign and malignant liver lesions. *Acad Radiol* 2011; 18: 810-815 [PMID: 21419668 DOI: 10.1016/j.acra.2011.01.026]

11 Clevert DA, Stock K, Klein B, Slotta-Huspenina J, Prantl L, Heemann U, Reiser M. Evaluation of Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) imaging and contrast-enhanced ultrasound in renal tumors of unknown etiology in comparison to histological findings. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009; 43: 95-107 [PMID: 19713604]

12 Gu J, Du L, Bai M, Chen H, Jia X, Zhao J, Zhang X. Preliminary study on the diagnostic value of acoustic radiation force impulse technology for differentiating between benign and malignant thyroid nodules. *J Ultrasound Med* 2012; 31: 763-771 [PMID: 22535724]

13 Milani S, Herbst H, Schuppan D, Hahn EG, Stein H. In situ hybridization for procollagen types I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in nonparenchymal liver cells. *Hepatology* 1989; 10: 84-92 [PMID: 2737606 DOI: 10.1002/hep.1840100117]

14 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329

15 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-156 [PMID: 11668491 DOI: 10.1002/ijc.1440]

16 Tangkijvanich P, Kongtawelert P, Pothacharoen P, Mahachai V, Suwangool P, Poovorawan Y. Serum hyaluronan: a marker of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2003; 21: 115-120 [PMID: 14629129]

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3月8日; 22(7): 969-974
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对水通道蛋白AQP3和AQP8的影响

吴 霜, 程滢瑞, 周锦勇, 吴本升, 陈玉根, 杨柏霖

吴霜, 程滢瑞, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029
周锦勇, 陈玉根, 杨柏霖, 南京中医药大学附属第一医院 江苏省中医院肛肠科 江苏省南京市 210029
吴本升, 苏州市中医院 江苏省苏州市 215000
吴霜, 硕士, 主要从事中医外科治疗肛肠病的研究.
江苏省六大人才高峰重点课题基金资助项目, No. 2011-WS40
国家自然科学基金资助项目, No. 81373645
江苏省中医药管理局课题基金资助项目, No. LZ11042
作者贡献分布: 此课题由杨柏霖与陈玉根设计; 动物模型制作与PCR检测分析由吴霜、吴本升及程滢瑞操作完成; 病理分析及数据统计分析由周锦勇完成; 论文写作由吴霜与程滢瑞完成.
通讯作者: 杨柏霖, 副主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 南京中医药大学附属第一医院, 江苏省中医院肛肠科. blyang1971@163.com
收稿日期: 2013-11-01 修回日期: 2014-01-05
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

Expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats

Shuang Wu, Ying-Rui Cheng, Jin-Yong Zhou, Ben-Sheng Wu, Yu-Gen Chen, Bo-Lin Yang

Shuang Wu, Ying-Rui Cheng, the First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Jin-Yong Zhou, Yu-Gen Chen, Bo-Lin Yang, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nangjing 210029, Jiangsu Province, China
Ben-Sheng Wu, Department of Colorectal Surgery, Suzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China
Supported by: the Great Topic Foundation of Jiangsu Province, China, No. 2011-WS40; the Foundation of Jiangsu Province Administration of Traditional Chinese Medicine, No. LZ11042; and the National Natural Science Foundation of China, No. 81373645
Correspondence to: Bo-Lin Yang, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nangjing 210029, Jiangsu Province, China. blyang1971@163.com
Received: 2013-11-01 Revised: 2014-01-05
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To observe the differential expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats, and to explore the role of these two proteins in constipation.

METHODS: Thirty male SD rats were randomly divided into five groups. One group was killed at the beginning to measure intestinal transit function and the expression of AQP3 and 8 in human colonic epithelial cells as basic references. Loperamide [1.5 mg/(kg•d)] was given by intragastric administration in the remaining four groups of rats to induce constipation. Two groups of rats were killed on days 3 and 7 after initial loperamide administration, respectively, while the other two groups were killed 3 and 7 d after last loperamide administration, respectively. Intestinal transmission function was determined, and the expression of AQP3 and 8 was detected.

RESULTS: Intestinal transit function kept stable (67.72% *vs* 58.64%, $P > 0.05$) throughout the experimental process, while fecal water content decreased. The fecal water content could not return to normal 7 d after stopping loperamide (2.29 g ± 1.17 g *vs* 0.80 g ± 0.27 g, $P = 0.01$). AQP8 expression in the proximal colon had an upward trend 3 to 7 d after the initial loperamide administration, greatly higher than that in the normal control group ($P = 0.00$). Seven days after stopping loperamide, AQP8 had a rising trend in both the proximal and distal colons (0.43 ± 0.31 *vs* 2.66 ± 0.87, $P = 0.008$), while AQP3 expression declined (6.37 ± 0.23 *vs* 0.79 ± 0.13, $P = 0.015$).

CONCLUSION: Loperamide enhances the expression of AQP8 in the intestine of rats, which facilitates water movement across the membrane. Deficient water absorption may play a role in the pathogenesis of loperamide induced constipation.

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

Key Words: Loperamide; AQP3; AQP8; Intestinal transit function

Wu S, Cheng YR, Zhou JY, Wu BS, Chen YG, Yang

■背景资料
动物实验和临床研究均发现蒽醌类药物可以损伤肠神经系统, 从而导致便秘, 检测结果发现此模型的肠道传输功能和结肠神经病理变化与慢传输型便秘的病理特征基本相同. 但蒽醌类药物大黄中药成分复杂, 对水通道蛋白及Cajal等多种细胞均有影响.

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■研发前沿
已有研究发现，养阴润肠方的通便机制可能为通过促进Cajal间质细胞的再生及修复而达到促进肠动力，从而实现通便的作用. 但在观察养阴润肠方对水通道蛋白的表达影响实验中发现纯中药大黄造模对水通道蛋白产生不可预知的影响，干扰后期中药表达. 洛哌丁胺构建大鼠便秘模型用以观察水通道蛋白表达变化的科学性尚需进一步研究.

BL. Expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 969-974 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/969.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.969

摘要

目的: 观察洛哌丁胺构建的大鼠便秘模型中水通道蛋白家族中AQP3和AQP8蛋白及其mRNA定量表达，探讨洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对AQP3和AQP8的影响.

方法: SD♂大鼠30只，随机分为5组，造模开始时处死1组大鼠，检测结肠传输功能及结肠组织的AQP3，8表达水平，作为基准参考线. 剩余4组予以洛哌丁胺1.5 mg/(kg·d)灌胃，诱导造模. 分别于造模的第3、7天和造模成功后第3、7天各处死一组模型大鼠，检测结肠传输及AQP3，AQP8蛋白及其mRNA定量表达.

结果: 大鼠粪便含水量在诱导便秘模型的过程中明显减少，停药后7 d，粪便内的水分并不能自发恢复至正常(2.29 g±1.17 g *vs* 0.80 g±0.27 g，P = 0.01<0.05). 试验过程中，大鼠结肠传输功能未发生改变(67.72% *vs* 58.64%，P = 0.971>0.05). AQP8远端表达停药7 d上升，与造模7 d时相比，差异有统计学意义(0.43±0.31 *vs* 2.66±0.87，P = 0.008). AQP8近端表达给药后迅速上升至较高水平，与正常组对照具有统计学意义(15.96±2.13，P = 0.00)，停药7 d后其表达再次上升，与给药7 d相比，差异有统计学意义(6.37±0.23 *vs* 0.79±0.13，P = 0.015). 停药后，AQP3在结肠近端持续表达下降，与正常对照组相比，差异有统计学意义(0.20±0.06，P = 0.04).

结论: 洛哌丁胺能够提高模型大鼠结肠AQP8表达，促进肠道跨膜水运输，减少粪便含水量而导致便秘.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 洛哌丁胺; AQP3; AQP8; 肠道传输功能

核心提示: 本研究以构建实验模型为基础，研究洛哌丁胺对水通道蛋白的影响，探讨其可能的机制，为动物造模研究便秘提供新的理论基础.

吴霜，程滢瑞，周锦勇，吴本升，陈玉根，杨柏霖. 洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对水通道蛋白AQP3和AQP8的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 969-974 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/969.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.969

0 引言

结肠上皮细胞分布紧密，限制了细胞旁路吸收，跨细胞转运成为结肠水分吸收的主要途径. 水通道是存在于哺乳动物和植物细胞膜上转运水的特异性孔道，该孔道是由一系列具有同源性的内在膜蛋白家族成员所组成，快速转运水分子及小分子溶质通过细胞膜，从而维持结肠水平衡[1]. 洛哌丁胺是常见止泻药物，研究认为其主要通过阻断外周阿片受体[2]、抑制钙调蛋白的功能[3]和电压依赖性钙离子通道[4]这3大机制抑制肠道蠕动及肠液分泌，是常用来制作便秘模型的药物[5,6]. 目前没有研究对洛哌丁胺抑制肠液分泌与水通道蛋白的相关性的报道. 本文通过研究洛哌丁胺诱导大鼠便秘模型中AQP3、AQP8的表达变化，探索洛哌丁胺是否通过调节水通道蛋白表达而发挥抑制肠液分泌的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠30只，清洁级，体质量145-165 g，购自中国人民解放军南京军区医学动物实验中心[SCXK(军)2007-012)]. 清洁级，均放入代谢笼中独立饲养，室内温度20 ℃-25 ℃，湿度45%-55%，人工光照，明暗各12、24 h自由饮水. 洛哌丁胺(批号: 11101952，江苏恒瑞医药股份有限公司)，10%活性炭. 将实验用药洛哌丁胺按照动物与人用药量比换算成相应的剂量[5](分别为20.5、1.575 mg/kg)，生理盐水调配. RNA稳定剂RNAlater(德国QIAGEN); RNA提取试剂TRIzol(美国Invitrogen公司); DEPC(南京凯基生物技术有限公司); 酚氯仿(Sigma公司); 逆转录试剂盒DDR047A(TaKaRa公司); Real-time PCR试剂盒SYBR Green PCR Master Mix(美国ABI公司)，其他试剂均为国产分析纯. 低温高速离心机5804R、各种规格微量加样器、紫外分光光度计(德国EPPENDORF公司); 7900HT型荧光定量PCR仪(美国ABI公司).

1.2 方法

1.2.1 引物设计: 检索NCBI GenBank数据库，以*GAPDH*作为内参基因. 应用Primer Premier3.0软件分别设计其PCR引物. 引物由Invitrogen公司合成(表1).

1.2.2 实验分组、造模及给药: 参照文献[5]报道的方法进行造模. ♂SD大鼠30只，随机分为5组，造模开始时处死一组大鼠，观察正常大鼠结肠内存留粪便粒数、实时定量QPCR检测大鼠结肠组

表 1 引物序列

基因	上游引物	下游引物	产物大小(bp)
AQP3	GCCATTGTTGACCCTTATAACAAC	AGTGAAAAGGCGAGGTCCAA	150
AQP8	CTGTGTGTATGGGT GCCGTCAA	AGATCCCACCACCTGCCAGGA	102
GAPDH	TGGGTGTGAACCACGAGAA	GGCATGGACTGTGGTCATGA	102

表 2 各组大鼠一般情况比较 (mean ± SD)

分组	正常组	模型组(3 d)	模型组(7 d)	模型组(10 d)	模型组(14 d)
体质量	175.42 ± 8.38	176.56 ± 12.08	195.52 ± 18.74[a]	215.75 ± 17.04	250.31 ± 13.35
进食量	27.50 ± 8.45	22.34 ± 6.22	23.89 ± 8.12	26.88 ± 5.20	28.75 ± 7.42
进水量	28.50 ± 11.01	34.14 ± 12.62	32.84 ± 10.58	44.79 ± 16.95	47.08 ± 17.38
粪便干质量	4.14 ± 0.69	4.02 ± 0.88	3.32 ± 0.84	1.78 ± 0.62[a]	1.74 ± 0.33
粪便湿质量	7.43 ± 0.96	7.56 ± 1.45	5.70 ± 1.64	2.58 ± 0.83[a]	3.16 ± 0.72
粪便含水量	2.29 ± 1.17	3.54 ± 0.64	2.48 ± 1.34	0.80 ± 0.27[a]	1.39 ± 0.42
结肠粪便粒数	42.14 ± 5.70	37.00 ± 5.37	32.69 ± 6.89	39.10 ± 12.27	43.73 ± 6.89
肠道传输功能(%)	67.72	63.10	58.64	58.92	61.35

[a]$P<0.05$ *vs* 正常组. 进食量、进水量、粪便干湿质量、结肠粪便粒数取平均值 ± 标准差, 肠道传输功能取平均值.

■**相关报道**
目前研究表明洛哌丁胺可以在转录水平上调腹泻大鼠结肠黏膜AQP4表达, 使结肠对肠腔内水分的吸收增加.

织AQP3, AQP8 mRNA表达, 并作为基准参考线. 剩余四组作为实验组予以洛哌丁胺1.5 mg/(kg·d)加生理盐水配成混悬液灌胃, 灌胃2 d, 共7 d.

1.2.3 观察指标: (1)一般情况观察: 分别在洛哌丁胺干预的第3、7天和停药后第3、7天观察模型动物的一般情况(体质量、进食量、进水量、粪便干湿质量等); (2)碳末推进试验和结肠存留粪便粒数: 在洛哌丁胺干预的第3、7天和停药后第3、7天处死一组大鼠. 大鼠处死前, 均禁食不禁水12 h, 用10%的活性炭悬液2 mL灌胃, 40 min后颈椎脱臼处死. 大鼠处死后, 迅速剖腹, 记录从直肠到回盲部存留的粪便粒数. 摘除从幽门到直肠末端的全部肠道, 置于托盘中, 将肠管拉直后测量肠管的长度, 即幽门至肛门处长度, 在松弛状态下测量肠道的全长及活性碳混悬液在肠道内推进的长度, 并计算活性碳混悬液推进长度与肠道全长的百分比. 按下列公式计算: 碳末推进百分率(%) = [碳末前端与幽门的距离(cm)/肠道总长度(cm)]×100%; (3)实时定量PCR检测AQP3, 8检测: 模型动物处死后立即在距盲肠2 cm近端结肠及距直肠2 cm远端结肠取新鲜肠壁组织150 mg, 放入PBS中清洗后, 迅速浸入5倍于组织体积的RNA稳定剂RNAlater中, 4 ℃冰箱中保存. 将剪取的结肠组织150 mg从RNAlater液体中捞出后用TRIzol法提取总RNA. 取2 μL RNA加入98 μL DEPC水中, 紫外分光光度仪测定RNA样品在260 nm和280 nm处的吸光度(A)值. RNA纯度用$A_{260/280}$比值反映. 按照Real-time PCR试剂盒说明书进行实时荧光PCR定量检测, 反应总体系为20 μL(SYBR mix、样品cDNA、水、上游引物、下游引物分别为10.0、2.0、6.8、0.4、0.4 μL), 反应条件为95 ℃预变性30 s、95 ℃ 5 s、60 ℃ 30 s、循环40次, 最后加溶解曲线(95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min、95 ℃ 15 s). 在ABI公司7900PCR仪上反应. 每份样品均进行3个复孔测定, 设阴性对照. 通过分析软件得到样品阈值循环数(threshold cycle, Ct)和相对的拷贝定量, 再进行样本之间的比较. 采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法对QPCR结果进行数据分析, 计算ΔCt = 目的基因Ct-内参基因Ct; ΔΔCt = ΔCt (造模组)-ΔCt (正常组); 相差倍数 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, 其中正常对照组的数值设定为1.

统计学处理 统计分析采用SPSS17.0软件包进行数据处理, 所有数据均用mean±SD表示. 采用单因素方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义. $P<0.01$为差异有显著统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较 造模共历时7 d, 造模过程中未有大鼠死亡. 造模7 d后, 模型大鼠较正常组及给药3 d时的体质量有明显上升, 与此同时, 排便量减少, 说明大鼠体重增多与肠腔内积留的粪团相关. 粪便含水量在诱导便秘模型的

■创新盘点

目前构建大鼠便秘模型多用大黄，大黄为中药制剂，成分复杂，且大黄造模的周期较长，很有可能不同成分对Cajal细胞及水通道蛋白或是其他目前临床尚未发现的离子通道、神经细胞均产生影响，为了更清晰观测到水通道蛋白的变化，本研究采用洛哌丁胺构建便秘模型，验证在水通道蛋白研究中的科学性与合理性.

表 3 AQP3和AQP8免疫组织化学及HE染色结果

	近/远端	正常组	给药3 d	给药7 d	停药3 d	停药7 d
AQP3	远端	+++	+++[D]	++	++	+[E]
	近端	++	+++	+++	+	++
AQP8	远端	++	++	+	++	+
	近端	+[A]	+++[B]	++[C]	++	++

+++: 深度着色; ++中度着色; +轻度着色. A、B、C、D、E见图2对应免疫组织化学.

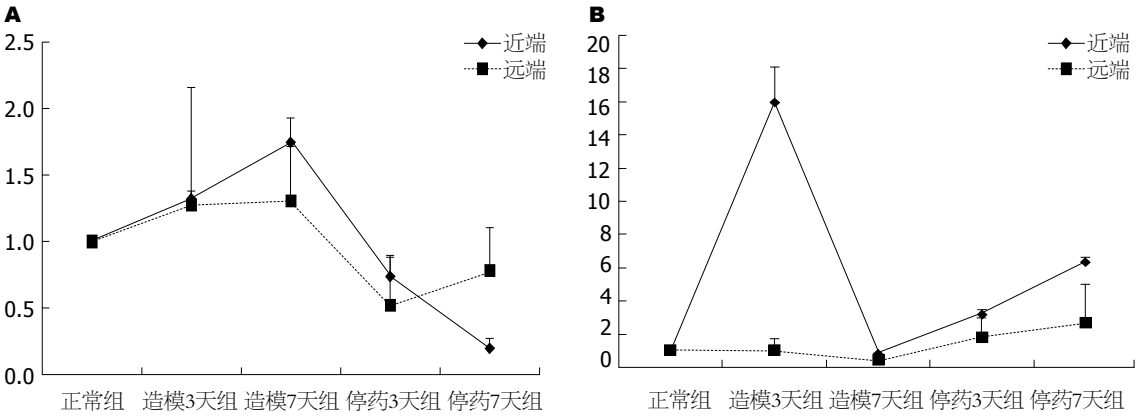


图 1 AQP3, 8 mRNA的表达. A: AQP3; B: AQP8.

过程中明显减少($P = 0.022$), 停药后14 d, 粪便内的水分并不能自发恢复至正常. 试验过程中, 大鼠结肠传输功能未发生改变($P = 0.971$). 各组动物在结肠取材时均未见黏膜色素沉着(表2).

2.2 大鼠AQP3表达 造模过程中, 结肠AQP3蛋白定量逐渐上升, 但与正常对照组比较差异无统计学意义(给药3 d, $P = 0.998$; 给药7 d, $P = 0.994$); 停药后, AQP3在结肠近端持续表达下降, 与正常对照组相比, 差异有统计学意义($P = 0.04$); 结肠远端表达在停药3 d下降后, 停药7 d逐渐增加, 与正常对照组相比, 差异无统计学意义($P = 0.88$)(图1A).

2.3 大鼠AQP8表达 AQP8远端表达在造模后有所下降, 与正常组比较无统计学意义($P = 0.537$), 停药后表达上升, 停药7 d较造模7 d相比, 差异有统计学意义($P = 0.008$). 近端表达给药后迅速上升至较高水平, 差异有统计学意义($P = 0.00$), 造模7 d后发生跌降, 与正常组相比, 差异有统计学意义($P = 0.00$), 停药7 d后其表达再次上升, 差异有统计学意义($P = 0.015$)(图1B).

2.4 免疫组织化学 在免疫组织化学研究中, 可见正常肠腔表面上皮细胞胞浆及胞膜着色. AQP8轻度着色于正常大鼠结肠黏膜, 主要位于上皮细胞顶点, 给药后AQP8重度着色, 持续给药着色程度较前下降, AQP8表达下降, 停药后AQP8在结肠黏膜上皮内的表达进一步下降, 染色着色程度类似于正常黏膜, 研究结果与其PCR检测蛋白表达的变动曲线具有一致性. AQP3在绒毛上皮细胞染色, 隐窝细胞杯状细胞内未见染色. 高分辨放大后可见AQP3主要着色于远端结肠黏膜, 近端结肠表达不明显, 停药后AQP3着色程度下降(表3, 图2).

3 讨论

正常人体粪便含水量为65%-85%, 罗马III便秘诊断将“持续或累计至少12 wk存在硬块或颗粒状大便”作为诊断标准之一. 过去人们认为粪便内水分吸收是继发于渗透压改变, 但结肠上皮细胞分布紧密, 限制了细胞旁路吸收, 跨细胞转运成为结肠水分吸收的主要途径. 水通道蛋白是快速转运水分子及小分子溶质通过细胞膜的特殊通道, 具有0-13种不同亚型[7], 消化上皮细胞内至少存在6种AQPs表达, 其中AQP3、AQP4、AQP8、AQP9在结肠有表达. 本研究主要探讨AQP3及AQP8在大鼠结肠内受洛哌丁胺造模影响下的表达变化. AQP3, 8分布于肠上皮细胞内, 可将肠腔内水分快速吸收入血, 改变肠腔内分泌环境. AQP3在远端结肠及直肠大量表

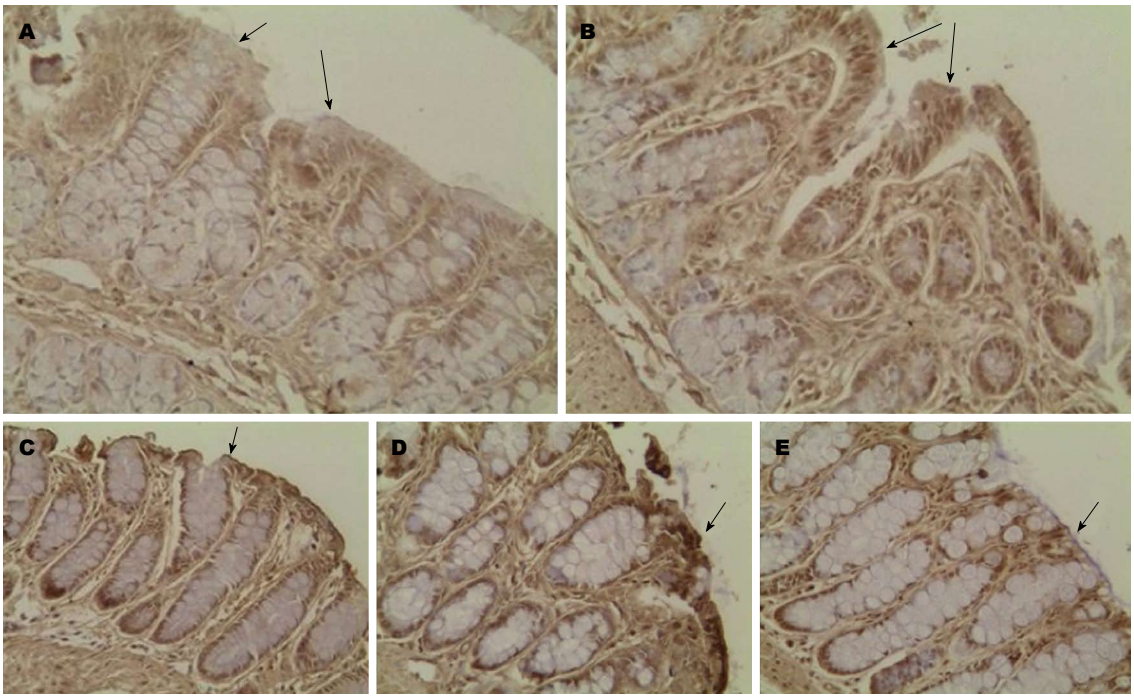


图 2 AQP3和AQP8蛋白在模型大鼠结肠黏膜内免疫组织化学表现(HE复染×400). A: 正常组AQP8着色程度浅, 轻度表达; B: 给药3 d AQP8着色程度较深, 高度表达, 胞内染色明显, 且杯状细胞无染色; C: 给药7 d AQP8着色程度中等, 中等度表达; D: 给药3 d AQP3在远端结肠强染色, 高度表达; E: 停药7 d AQP3在远端结肠近无表达.

■同行评价
本文对传统造模方式研究水通道蛋白提出质疑, 探寻新的造模方式, 并深入挖掘作用机制, 具有创新性及科学性.

达, 在结肠内上皮基底部或顶端无定论, 而结肠水分吸收主要位于近端, 本实验中AQP3在远端表达存在变化, 但对肠腔内水分吸收改变影响较小. AQP8特异性表达于上皮细胞顶端[8], Hardin[9]在上皮细胞囊泡中也发现了AQP8表达, 对肠腔内水分吸收与分泌的表动具有敏感性, 能针对肠腔内环境改变作出迅速调整, 在活动期炎性肠病患者结肠的溃疡黏膜表面, AQP8免疫染色呈斑片状且不连续着色. Fischer等[10]运用原位杂交技术检测正常人及结直肠肿瘤上皮细胞内水通道蛋白表达, 发现AQP8表达于正常结肠内复层纤毛柱状上皮细胞, 肿瘤结肠上皮内基本无表达.

大鼠造模成功后, 大鼠表现为明显的便秘体征: 毛发失去光泽, 体质量增加, 食欲下降, 与正常组相比, 精神状态萎靡, 而不同时间段检测大鼠肠道传输功能未发生明显改变, 肠道内水分明显减少导致粪块积存在肠腔, 表明洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对肠道传输功能无明显影响, 主要改变肠腔内分泌状态, 进一步对水通道蛋白AQP3和AQP8检测发现, 负责结肠水分吸收的近端肠腔内AQP8大量表达, 在不同造模时期与正常组相比, 存在统计学意义, AQP3和AQP8的表达变化可能是洛哌丁胺造成大鼠便秘的原因.

查阅相关文献后, 发现调控水通道蛋白的主要因素主要包括: 丝氨酸或部分苏氨酸磷酸化机制、组氨酸质化作用或与二价阳离子结合(如Ca^{2+})[11]. 根据亚型不同, PH对AQPs影响也不同, AQP3已被证实在由中性至酸性环境(pH 7.4-5.6)下[12], 水分子通过减少. 二价阳离子Ca^{2+}对动物或植物AQPs均有影响, 对AQPs某些亚型具有抑制作用, 这种Ca^{2+}抑制作用主要由钙调蛋白介导. Ca^{2+}增加4倍后拟南芥属植物的透水性明显下降, 钙离子抑制位点及pH抑制位点不同, 这两种机制完全独立[13,14]. 分子动力学及晶体学研究发现, 水通道蛋白的关闭及开放由D环决定[15], 二价阳离子作用于D环特定氨基酸及蛋白氨基端的离子间相互作用及氢键, 使通道小孔处于稳定的关闭状态. 目前研究认为洛哌丁胺的止泻机制包括: 阻断外周阿片受体、抑制钙调蛋白的功能以及电压依赖性钙离子通道. 洛哌丁胺具有非阿片样作用, 可抑制钙调蛋白和阻滞钙离子通道, 达到止泻目的. 由此推测洛哌丁胺能够提高模型大鼠结肠AQP8表达, 促进肠道跨膜水运输, 减少粪便含水量而导致便秘. 其主要机制可能是抑制钙调蛋白及阻滞钙离子通道.

4 参考文献

1 Benga G. Water channel proteins (later called aquaporins) and relatives: past, present, and future.

IUBMB Life 2009; 61: 112-133 [PMID: 19165894 DOI: 10.1002/iub.156]
2 Awouters F, Niemegeers CJ, Janssen PA. Pharmacology of antidiarrheal drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1983; 23: 279-301 [PMID: 6307123 DOI: 10.1146/annurev.pa.23.040183.001431]
3 Zavecz JH, Jackson TE, Limp GL, Yellin TO. Relationship between anti-diarrheal activity and binding to calmodulin. *Eur J Pharmacol* 1982; 78: 375-377 [PMID: 6121713]
4 Reynolds IJ, Gould RJ, Snyder SH. Loperamide: blockade of calcium channels as a mechanism for antidiarrheal effects. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 231: 628-632 [PMID: 6502516]
5 Zhou M, Jia P, Chen J, Xiu A, Zhao Y, Zhan Y, Chen P, Zhang J. Laxative effects of Salecan on normal and two models of experimental constipated mice. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 52 [PMID: 23514598 DOI: 10.1186/1471-230X-13-52]
6 钱伯初, 史红, 郑晓亮. 正常和便秘模型动物排便实验研究进展. 中国临床药理学与治疗学 2007; 12: 1339-1343
7 Harries WE, Akhavan D, Miercke LJ, Khademi S, Stroud RM. The channel architecture of aquaporin 0 at a 2.2-A resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 14045-14050 [PMID: 15377788 DOI: 10.1073/pnas.0405274101]
8 Koyama Y, Yamamoto T, Tani T, Nihei K, Kondo D, Funaki H, Yaoita E, Kawasaki K, Sato N, Hatakeyama K, Kihara I. Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1999; 276: C621-C627 [PMID: 10069989]
9 Hardin JA, Wallace LE, Wong JF, O'Loughlin EV, Urbanski SJ, Gall DG, MacNaughton WK, Beck PL. Aquaporin expression is downregulated in a murine model of colitis and in patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and infectious colitis. *Cell Tissue Res* 2004; 318: 313-323 [PMID: 15338270 DOI: 10.1007/s00441-004-0932-4]
10 Fischer H, Stenling R, Rubio C, Lindblom A. Differential expression of aquaporin 8 in human colonic epithelial cells and colorectal tumors. *BMC Physiol* 2001; 1: 1 [PMID: 11231887 DOI: 10.1186/1472-6793-1-1]
11 Santoni V, Vinh J, Pflieger D, Sommerer N, Maurel C. A proteomic study reveals novel insights into the diversity of aquaporin forms expressed in the plasma membrane of plant roots. *Biochem J* 2003; 373: 289-296 [PMID: 12678916 DOI: 10.1042/BJ20030159]
12 Zeuthen T, Klaerke DA. Transport of water and glycerol in aquaporin 3 is gated by H(+). *J Biol Chem* 1999; 274: 21631-21636 [PMID: 10419471 DOI: 10.1074/jbc.274.31.21631]
13 Németh-Cahalan KL, Kalman K, Hall JE. Molecular basis of pH and Ca2+ regulation of aquaporin water permeability. *J Gen Physiol* 2004; 123: 573-580 [PMID: 15078916 DOI: 10.1085/jgp.200308990]
14 Kalman K, Németh-Cahalan KL, Froger A, Hall JE. Phosphorylation determines the calmodulin-mediated Ca2+ response and water permeability of AQP0. *J Biol Chem* 2008; 283: 21278-21283 [PMID: 18508773 DOI: 10.1074/jbc.M801740200]
15 Törnroth-Horsefield S, Wang Y, Hedfalk K, Johanson U, Karlsson M, Tajkhorshid E, Neutze R, Kjellbom P. Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature* 2006; 439: 688-694 [PMID: 16340961 DOI: 10.1038/nature04316]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 975-981
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用

吴 琳, 汪芳裕, 路又可, 刘 炯, 陆 恒, 刘 畅, 陈春燕, 李 楠, 陶 慧

吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科 江苏省南京市 210002
吴琳, 主治医师, 主要从事胃肠道黏膜免疫微生态的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81270453
作者贡献分布: 此课题由吴琳与汪芳裕设计; 动物模型制作与分子生物学实验检测由吴琳、路又可、刘炯、陆恒、刘畅及陈春燕操作完成; 病理分析由李楠与陶慧完成; 论文写作由吴琳与汪芳裕完成.
通讯作者: 汪芳裕, 教授, 主任医师, 210002, 江苏省南京市玄武区中山东路305号, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科. wangf65@yahoo.com
电话: 025-80863384 传真: 025-80863384
收稿日期: 2013-12-24 修回日期: 2013-12-29
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

17-DMAG protects mice from dextran sulphate sodium induced acute ulcerative colitis

Lin Wu, Fang-Yu Wang, You-Ke Lu, Jiong Liu, Heng Lu, Chang Liu, Chun-Yan Chen, Nan Li, Hui Tao

Lin Wu, Fang-Yu Wang, You-Ke Lu, Jiong Liu, Heng Lu, Chang Liu, Chun-Yan Chen, Nan Li, Hui Tao, Department of Gastroenterology, Jinling Hospital, Nanjing 210002, Jiangsui Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81270453
Correspondence to: Fang-Yu Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jinling Hospital, 305 Zhongshan East Road, Xuanwu District, Nanjing 210002, Jiangsui Province, China. wangf65@yahoo.com
Received: 2013-12-24 Revised: 2013-12-29
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To investigate the potential effect of alvespimycin [17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG)], a novel water soluble heat shock protein 90 (HSP90) inhibitor, in the treatment of dextran sulphate sodium (DSS) induced murine ulcerative colitis.

METHODS: C57BL/6 mice were randomly assigned to a normal control group, a colitis model group, a PBS treatment group and a 17-DMAG treatment group. Phosphate buffered solution (PBS) or 17-DMAG was given daily by intraperitoneal injection. Acute ulcerative colitis was induced by administering ad libitum 3%DSS in the drinking water for 5 days. Body weight, diarrhea and bleeding scores were determined daily to calculate the disease activity index. Five days later, the mice were sacrificed and colon tissues were collected. Colon length and weight, histological score of colon injury, and apoptotic index of colon epithelial cells were detected to assess the effects of 17-DMAG on the development of DSS induced colitis.

RESULTS: Mice receiving 3% DSS showed significantly reduced body weight, increased disease activity index, colon weight/length ratio, histological score and apoptotic index of colon epithelial cells, compared with controls. Compared with colitis mice treated with PBS, daily intraperitoneal injection of 17-DMAG for 5 d significantly ameliorated body weight loss (90.9 ± 7.78 *vs* 81 ± 5.44, $P < 0.05$), significantly decreased disease activity index (1.8 ± 0.84 *vs* 4.7 ± 1.21, $P < 0.05$), colon length and weight (4.43 mg/mL ± 0.16 mg/mL *vs* 5.71 mg/mL ± 0.56 mg/mL, $P < 0.01$), and histological score (4.6 ± 1.30 *vs* 7.4 ± 0.30, $P < 0.01$). Most importantly, 17-DMAG treated mice showed obviously decreased apoptotic index of colon epithelial cells (33.2 ± 5.50 *vs* 62.6 ± 9.81, $P < 0.01$) than PBS treated mice.

CONCLUSION: Daily intraperitoneal injection of 17-DMAG attenuated DSS induced acute murine ulcerative colitis possibly by inhibiting apoptosis of colon epithelial cells.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Heat shock protein 90; 17-DMAG

Wu L, Wang FY, Lu YK, Liu J, Lu H, Liu C, Chen CY, Li N, Tao H. 17-DMAG protects mice from dextran sulphate sodium induced acute ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 975-981 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/975.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.975

■背景资料
溃疡性结肠炎是一种常见的炎症性肠病. 随着生活方式的西方化, 亚洲人群中该病的发病率近年来逐渐升高. 目前以氨基水杨酸及激素为主的治疗方案, 其疗效尚不让人满意.

■同行评议者
杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

■研发前沿
已知热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)通过其分子伴侣作用, 在溃疡性结肠炎的发病过程具有促炎症作用. 新型水溶性HSP90抑制剂17-DMAG是否对溃疡性结肠炎发生、发展具有治疗作用, 目前尚未见报道.

摘要

目的: 研究阿螺旋霉素[17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG]在葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎治疗中的作用.

方法: C57BL/6小鼠随机分为正常对照组、DSS模型组、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PBS)治疗组以及17-DMAG治疗组. 采用3%DSS连续饮入以复制溃疡性结肠炎小鼠模型. 对结肠炎模型小鼠每日腹腔注射17-DMAG[10 mg/(kg•d)]或同体积PBS. 观察小鼠体质量、疾病活动度、单位长度结肠质量、结肠病理损伤程度及结肠上皮细胞凋亡情况, 以评价17-DMAG对小鼠溃疡性结肠炎病程发展的影响.

结果: 3%DSS连续饮入5 d后, 模型组小鼠较正常对照组小鼠体质量减轻, 疾病活动度、单位肠道结肠重量、结肠病理评分及结肠上皮细胞凋亡增加. 与PBS治疗组相比, 17-DMAG治疗5 d后, 结肠炎小鼠体质量降低程度(90.9%±7.78% *vs* 81%±5.44%, $P<0.05$)及疾病活动度显著改善(1.8±0.84 *vs* 4.7±1.21, $P<0.05$), 单位长度结肠质量(4.43 mg/mm±0.16 mg/mm *vs* 5.71 mg/mm±0.56 mg/mm, $P<0.01$)及结肠病理评分降低(4.6±1.30 *vs* 7.4±0.30, $P<0.01$), 结肠上皮细胞凋亡数目(33.2±5.50 *vs* 62.6±9.81, $P<0.01$)显著减少.

结论: 17-DMAG可减轻DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎, 其可能通过抑制结肠上皮细胞的凋亡而发挥作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 热休克蛋白90; 阿螺旋霉素

核心提示: 热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)参与了溃疡性结肠炎的发病过程. 本研究采用经腹腔给予水溶性HSP90分子抑制剂阿螺旋霉素[17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG]的方法, 观察到溃疡性结肠炎小鼠结肠组织损伤显著减轻. 证实17-DMAG可抑制DSS诱导的结肠炎, 其可能通过抑制结肠上皮细胞的凋亡而发挥作用.

吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧. 阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 975-981 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/975.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.975

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种常见的肠道慢性病, 包括克罗恩病和溃疡性结肠炎. 临床上常表现为腹痛、腹泻、便血等症状[1]. 结肠上皮细胞作为与肠道微生物接触的第一道屏障, 其异常凋亡可能是IBD发病的关键因素[2]. 热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)是一种定位于胞浆的分子伴侣蛋白[3], 其在炎症[4]、肿瘤细胞凋亡[5]等病理生理过程中具有重要作用. 在IBD患者[6]及结肠炎小鼠[7]的肠黏膜中, HSP90表达显著升高, 且在治疗后相应降低, 提示该蛋白可能参与了IBD的发病过程, 但具体机制尚不明确. 阿螺旋霉素[17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG]是一种新型的水溶性HSP90抑制剂, 体内外研究显示其可有效抑制HSP90功能[8], 从而在急性肺损伤[9]、肝损伤[10]及肿瘤[11]等疾病中发挥治疗作用. 其对IBD病程发生、发展的影响目前尚不明确.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂10-12周龄C57BL/6小鼠, 体质量20 g ± 2 g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司; 葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS), 分子量36000-50000 Da购自Millipore公司; 17-DMAG购自Selleck公司; 粪便隐血检测试剂盒购自珠海贝索生物技术有限公司; TUNEL试剂盒购自Roche公司.

1.2 方法

1.2.1 DSS诱导的结肠炎小鼠模型复制: 小鼠称质量及标记后, 随机分为: 正常对照组、DSS组、DSS+PBS治疗组、DSS+17-DMAG治疗组, 每组5只. 按照文献[12]的方法, 将15 g DSS粉末溶于500 mL饮用水, 配制成3%DSS溶液, 4 ℃保存, 每3 d更换1次. 正常对照组饮入饮用水, 模型组小鼠自由饮入3%DSS溶液. 将25 mg 17-DMAG粉末溶于25 mL PBS中配制成1 mg/mL溶液, 分装后-20 ℃保存. 造模后次日作为第1天, 治疗组造模后当天至第5天每天腹腔注射1次17-DMAG溶液(10 mg/kg), DSS+PBS组予以腹腔注射同等体积PBS.

1.2.2 模型评价: 每天记录小鼠体质量. 采集小鼠

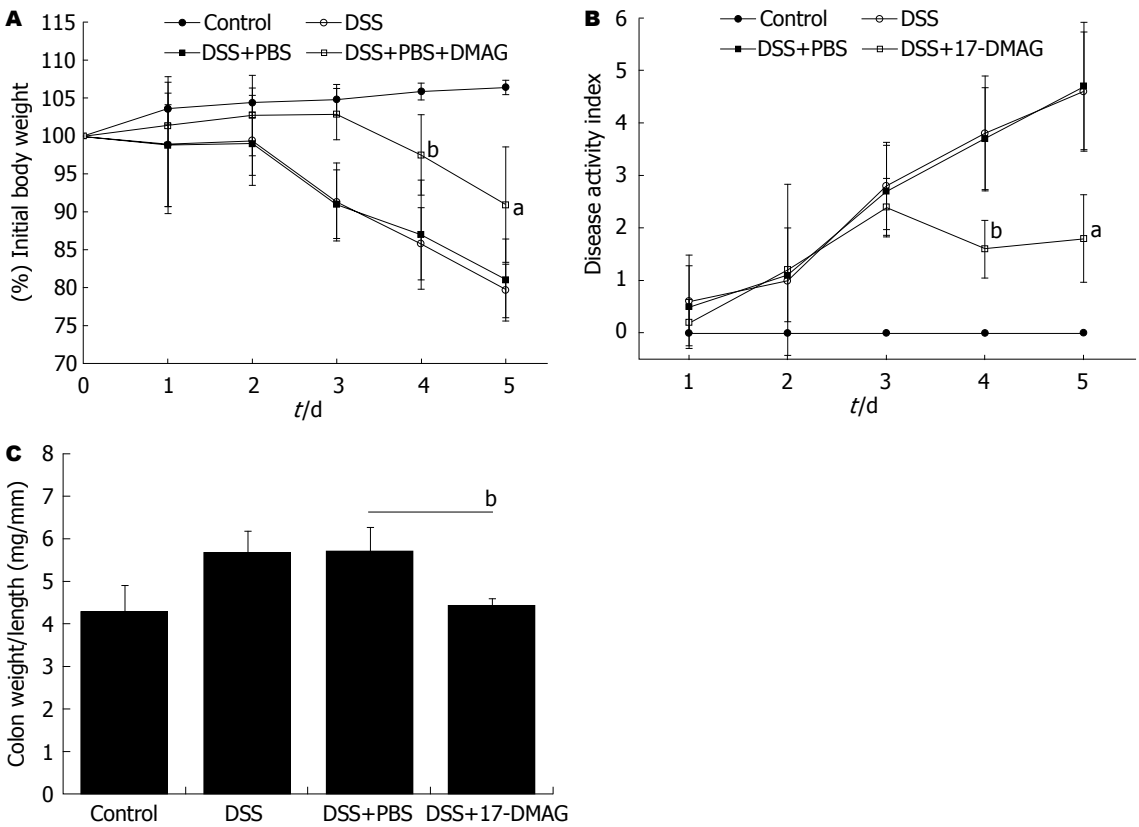


图 1 DSS诱导C57BL/6小鼠产生结肠炎及17-DMAG的治疗作用. A: 体质量变化; B: 疾病活动度; C: 单位长度结肠重量. $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ *vs* DSS+PBS组. 17-DMAG: 阿螺旋霉素.

■相关报道

HSP90抑制剂17-AAG在溃疡性结肠炎发挥了保护作用, 但该化合物不溶于水, 从而限制了其临床应用前景. 17-DMAG与17-AAG同为格尔德霉素衍生物, 尽管两者均可有效抑制HSP90的生物学活性, 但具有完全不同的物理特性及药代动力学特征.

新鲜粪便, 按照文献[12]的方法对粪便进行评分. 具体评分标准由粪便黏稠度及便血组成, 每项最高3分, 总分范围在0-6分之间. 造模后第5天, 将小鼠颈椎脱臼处死. 取结肠组织, 用PBS将肠内容物冲洗干净后吸干水分. 记录结肠重量及总长度. 取结肠中段长约0.5 cm组织, 浸泡于4%多聚甲醛中固定24 h.

1.2.3 *苏木精-伊红(HE)染色及病理评分*: 固定好的组织精脱水、包埋、切片后, 对切片进行HE染色. 在高倍镜下(×400), 对切片随机挑选5个视野进行拍照. 按照文献[13]的方法进行病理评分. 其具体评分由黏膜破坏和炎症细胞浸润两部分组成, 每项最高4分, 总分范围在0-8分之间.

1.2.4 *结肠上皮细胞凋亡检测*: 采用末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记测定法(TUNEL法)评价结肠上皮细胞凋亡情况. 将石蜡包埋的结肠组织经切片、脱蜡、浸水. 将切片置入孵育液中(0.1%Triton X-100, 0.1%sodium citrate)25 ℃ 8 min. 然后将切片进入TUNEL反应混合液中孵育, 37 ℃ 60 min. 40倍光镜下, 随机选择5个视野并计数隐窝中100个结肠上皮细胞, 记录凋亡细胞数. 计算细胞凋亡指数 = (凋亡细胞数/100)×100%

统计学处理 应用SPSS13.0软件进行数据处理, 数据均以mean±SD表示, 多组间均数的比较采用One-way ANOVA检验, 再用Bonferroni检验进行组间比较. $P<0.05$为差异有统计学意义. $P<0.01$为差异具有显著统计学意义.

2 结果

2.1 *疾病活动指数及结肠长度* 小鼠饮入3%DSS 2 d后出现大便变稀, 第3天开始出现体质量减轻, 大便隐血阳性, 第5天出现便血. 17-DMAG组结肠炎小鼠体质量减轻程度轻于PBS治疗组(图1A), 治疗后第3天起, 疾病活动指数显著低于PBS治疗组(图1B). 造模后第5天, 处死小鼠并收集结肠组织测量后发现, 17-DMAG组小鼠单位长度结肠组织重量显著低于PBS治疗组(图1C).

2.2 *结肠病理评分* 小鼠结肠组织HE染色结果发现, 正常对照组小鼠结肠黏膜完好, 隐窝结构存在, 黏膜下层无水肿(图2A); DSS组小鼠可见结肠大部分黏膜全层被炎症细胞浸润, 导致隐窝结构消失, 黏膜下明显水肿伴大量炎症细胞浸润. 部分切片可见炎症细胞浸润至肌层

■创新盘点
本文证实17-DMAG可抑制DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎，其可能通过抑制结肠上皮细胞凋亡而发挥作用.

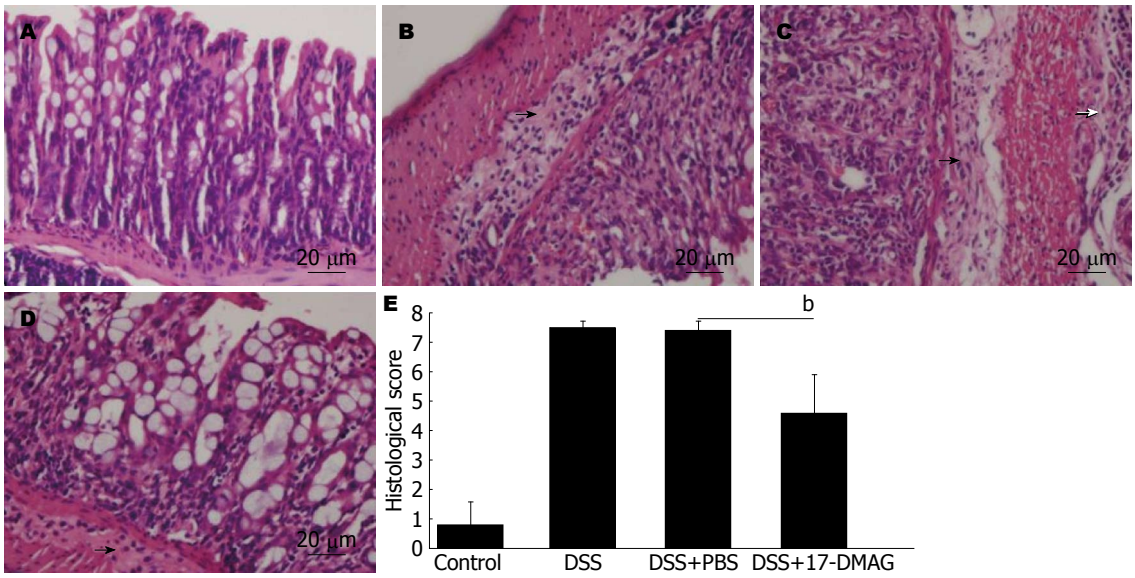


图 2 小鼠结肠组织HE染色结果. A: 正常对照组; B: DSS处理组; C: DSS及PBS处理组; D: DSS及17-DMAG处理组, 黑色箭号示黏膜下水肿, 白色箭号示浆膜下炎症细胞浸润. E: 结肠病理学评分结果. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$ *vs* DSS+PBS组. 17-DMAG: 阿螺旋霉素.

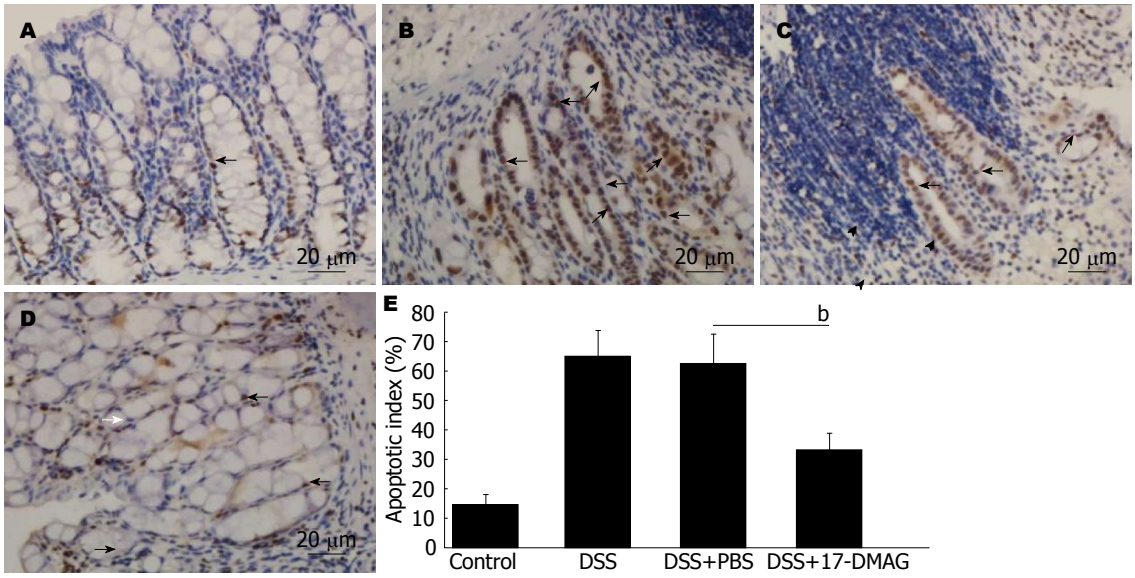


图 3 小鼠结肠组织TUNEL染色结果. A: 正常对照组; B: DSS处理组; C: DSS及PBS处理组; D: DSS及17-DMAG处理组. 箭头示凋亡结肠上皮细胞, 白色箭头示正常结肠上皮细胞; E: 高倍镜下计数每100个结肠上皮细胞中凋亡的上皮细胞数目. $^{b}P<0.01$ *vs* DSS+PBS组. 17-DMAG: 阿螺旋霉素.

甚至浆膜下层(图2B). 每日腹腔注入PBS对结肠炎症无明显改善(图2C). 而每日腹腔注入10 mg/mL 17-DMAG治疗的结肠炎小鼠, 结肠黏膜尚可见残存的隐窝及其上的结肠上皮细胞(图2D). 病理评分结果显示, DSS组小鼠结肠病理评分(7.5±0.2)显著高于正常对照组(0.80±0.78), 17-DMAG治疗5 d(4.6±1.3)可较PBS治疗组(7.4±0.3)显著降低结肠病理评分(图2E).

2.3 结肠上皮细胞凋亡 结肠上皮细胞凋亡是IBD病理生理过程的关键环节. 为明确17-DMAG对结肠上皮细胞凋亡的影响, 我们采用TUNEL染色的方法观察各组小鼠结肠上皮细胞凋亡发生情况. 结果显示, 正常对照组小鼠结肠隐窝基底部存在少量细胞凋亡(图3A), DSS饮入后5 d, 正常隐窝结构大部分消失, 在少量残存的隐窝结构中, 可见结肠上皮细胞大量凋亡(图3B). 17-DMAG治疗组结肠黏膜上皮细胞凋亡数目(33.20%±5.50%)较PBS治疗组(62.60%±9.81%)

减少(图3C, D), 两者有统计学差异(图3E).

3 讨论

HSP90是一种定位于胞浆的分子伴侣蛋白, 已知其可与激素受体、蛋白激酶及转录因子等200余种蛋白相结合, 在蛋白的转运、成熟等过程中发挥作用[3]. 17-DMAG是格尔德霉素(geldanamycin, GA)的小分子衍生化合物, 是一种新型HSP90抑制剂. 其通过竞争性结合HSP90蛋白N端的ATP结合位点而抑制HSP90的分子伴侣功能[3]. 与GA、17-AAG等需溶于有机溶剂并仅能经静脉输注的HSP90抑制剂相比, 17-DMAG不仅具有水溶性的特点, 而且其经口服生物利用度为50%, 经腹腔注射生物利用度达100%. 静脉注入17-DMAG后, 药物可迅速分布至各个器官中, 半衰期长达24 h. 药物主要通过胆道及尿路以原形排泄, 少量在肝脏中被分解为代谢产物后通过胆道排泄[14]. 这些特点决定了17-DMAG不仅使用方便, 而且药效维持长久. 动物研究中, 小鼠短期使用剂量达75 mg/kg而无明显不良反应, 而大鼠长期使用推荐剂量为12 mg/m^2[15]. Ⅰ期临床研究推荐人类长期使用日剂量可达25 mg/m^2[16]. 参考现有剂量应用资料[17], 我们采用了10 mg/kg(约4.6 mg/m^2)这一剂量. 同时, 参考关于17-DMAG药代学研究结果, 我们采用了经腹腔给药这一安全、方便且能维持预定血药浓度的给药方式.

既往研究显示, 17-AAG[40 mg/(kg•d), 腹腔注射]对DSS诱导的结肠炎具有保护作用[7]. 由于17-AAG必须使用DMSO等有机溶剂溶解, 且不能经胃肠道吸收, 因此极大限制了其可能的临床应用前景. 本研究中, 我们证实水溶性的17-DMAG可抑制DSS诱导的小鼠体质量减轻, 疾病活动度增加、单位长度结肠质量的增加及结肠病理损伤程度, 提示17-DMAG在DSS诱导的小鼠结肠炎的发生、发展过程中发挥了保护性作用. HSP90在肿瘤和炎症性疾病中似乎具有不同的生物学功能. 在肿瘤的发生过程中, 由于高代谢状态的肿瘤细胞合成大量的蛋白, HSP90表达相应上调, 有助于异常表达蛋白的成熟及转运. HSP90抑制剂抑制通过抑制HSP90功能, 使得肿瘤细胞的增殖受限且凋亡增加, 从而起到抗肿瘤作用[18]. 而在炎症性疾病中, 上调的HSP90表达, 可结合热休克因子1等炎症相关的转录因子, 使得炎症因子表达增加[19], 而抑制HSP90功能后, 其靶蛋白如HSF等由于失去HSP90的保护, 转而与泛素酶结合并进而降解, 从而可降低促炎症因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、干扰素-γ等的表达[20]. 结肠上皮细胞不仅是结肠吸收水和营养物质的主要细胞, 而且是肠道与肠腔中大量微生物及有毒物质接触的第一道屏障[21]. 越来越多的研究证实, IBD的发生与结肠上皮细胞有着密切关系[22]. 例如, 内质网应激关键调控基因*XBP1*敲除的结肠上皮细胞, 在应激条件下更易于凋亡. 同时, *XBP1*基因敲除小鼠可出现自发性肠炎, 且其在DSS诱导后, 结肠病理损伤程度显著高于野生型小鼠, 提示结肠上皮细胞凋亡可促进IBD的发生、发展[23]. 本研究显示17-DMAG治疗组小鼠结肠上皮细胞凋亡水平显著低于PBS对照组, 提示该药物可能是通过抑制上皮细胞的凋亡而在DSS诱导的结肠炎中发挥其保护性作用. 推测一方面, 17-DMAG可通过抑制HSP90, 进而降低TNF-α等死亡受体配体的分泌, 而直接减少结肠黏膜上皮细胞的凋亡[19,24]; 另一方面, 由于HSP90功能的抑制, 其后续的基因转录及蛋白翻译、加工过程可能相应得以抑制, 从而减轻了内质网中由未折叠蛋白反应导致的内质网应激水平升高甚至内质网应激途径诱导的细胞凋亡水平[25], 这还需要进一步研究证实.

由于多项研究均已证实17-DMAG可特异性的抑制HSP90的活性, 故本研究未对此进一步重复. 但是, 鉴于DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎发病过程的复杂性, 众多其他亚型的热休克蛋白及其他炎症蛋白均参与这一过程, 17-DMAG是否也能通过影响这些蛋白分子的功能而发挥在结肠炎中的保护性作用, 值得进一步深入研究.

总之, 本研究发现, 新型的水溶性HSP90分子抑制剂17-DMAG可抑制DSS诱导的结肠炎, 其可能通过抑制结肠上皮细胞的凋亡而发挥作用.

■应用要点

本文证实HSP90抑制剂17-DMAG在溃疡性结肠炎中的治疗作用, 并初步探索了该药物对结肠上皮细胞凋亡的影响, 为溃疡性结肠炎的治疗策略的制定及深入了解疾病机制提供了新的参考.

4 参考文献

1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMc1113995]

2 Qiu W, Wu B, Wang X, Buchanan ME, Regueiro MD, Hartman DJ, Schoen RE, Yu J, Zhang L. PUMA-mediated intestinal epithelial apoptosis contributes to ulcerative colitis in humans and mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 1722-1732 [PMID: 21490394 DOI: 10.1172/JCI42917]

3 Li J, Buchner J. Structure, function and regulation of the hsp90 machinery. *Biomed J* 2013; 36: 106-117 [PMID: 23806880 DOI: 10.4103/2319-4170.113230]

■同行评价
本文探讨17-DMAG在溃疡性结肠炎中的治疗作用. 创新性较好, 研究设计严谨, 科学性较强.

4 Rice JW, Veal JM, Fadden RP, Barabasz AF, Partridge JM, Barta TE, Dubois LG, Huang KH, Mabbett SR, Silinski MA, Steed PM, Hall SE. Small molecule inhibitors of Hsp90 potently affect inflammatory disease pathways and exhibit activity in models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3765-3775 [PMID: 19035474 DOI: 10.1002/art.24047]

5 Ayrault O, Godeny MD, Dillon C, Zindy F, Fitzgerald P, Roussel MF, Beere HM. Inhibition of Hsp90 via 17-DMAG induces apoptosis in a p53-dependent manner to prevent medulloblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 17037-17042 [PMID: 19805107 DOI: 10.1073/pnas.0902880106]

6 Tomasello G, Sciumé C, Rappa F, Rodolico V, Zerilli M, Martorana A, Cicero G, De Luca R, Damiani P, Accardo FM, Romeo M, Farina F, Bonaventura G, Modica G, Zummo G, Conway de Macario E, Macario AJ, Cappello F. Hsp10, Hsp70, and Hsp90 immunohistochemical levels change in ulcerative colitis after therapy. *Eur J Histochem* 2011; 55: e38 [PMID: 22297444 DOI: 10.4081/ejh.2011.e38]

7 Collins CB, Aherne CM, Yeckes A, Pound K, Eltzschig HK, Jedlicka P, de Zoeten EF. Inhibition of N-terminal ATPase on HSP90 attenuates colitis through enhanced Treg function. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 960-971 [PMID: 23321985 DOI: 10.1038/mi.2012.134]

8 Solit DB, Chiosis G. Development and application of Hsp90 inhibitors. *Drug Discov Today* 2008; 13: 38-43 [PMID: 18190862 DOI: 10.1016/j.drudis.2007.10.007]

9 Chatterjee A, Snead C, Yetik-Anacak G, Antonova G, Zeng J, Catravas JD. Heat shock protein 90 inhibitors attenuate LPS-induced endothelial hyperpermeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 294: L755-L763 [PMID: 18245267 DOI: 10.1152/ajplung.00350.2007]

10 Ambade A, Catalano D, Lim A, Mandrekar P. Inhibition of heat shock protein (molecular weight 90 kDa) attenuates proinflammatory cytokines and prevents lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. *Hepatology* 2012; 55: 1585-1595 [PMID: 22105779 DOI: 10.1002/hep.24802]

11 Jhaveri K, Taldone T, Modi S, Chiosis G. Advances in the clinical development of heat shock protein 90 (Hsp90) inhibitors in cancers. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823: 742-755 [PMID: 22062686 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2011.10.008]

12 Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, Neurath MF. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc* 2007; 2: 541-546 [PMID: 17406617]

13 刘震泽, 严惠敏, 王维刚. 三硝基苯磺酸诱导的C57/BL6小鼠结肠炎模型的建立方法. 中国细胞生物学学报 2011; 33: 237-243

14 Egorin MJ, Lagattuta TF, Hamburger DR, Covey JM, White KD, Musser SM, Eiseman JL. Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolism of 17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin (NSC 707545) in CD2F1 mice and Fischer 344 rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 7-19 [PMID: 11855755]

15 Glaze ER, Lambert AL, Smith AC, Page JG, Johnson WD, McCormick DL, Brown AP, Levine BS, Covey JM, Egorin MJ, Eiseman JL, Holleran JL, Sausville EA, Tomaszewski JE. Preclinical toxicity of a geldanamycin analog, 17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin (17-DMAG), in rats and dogs: potential clinical relevance. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 637-647 [PMID: 15986212]

16 Ramanathan RK, Egorin MJ, Erlichman C, Remick SC, Ramalingam SS, Naret C, Holleran JL, TenEyck CJ, Ivy SP, Belani CP. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of 17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat-shock protein 90, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1520-1526 [PMID: 20177028]

17 Hertlein E, Wagner AJ, Jones J, Lin TS, Maddocks KJ, Towns WH, Goettl VM, Zhang X, Jarjoura D, Raymond CA, West DA, Croce CM, Byrd JC, Johnson AJ. 17-DMAG targets the nuclear factor-kappaB family of proteins to induce apoptosis in chronic lymphocytic leukemia: clinical implications of HSP90 inhibition. *Blood* 2010; 116: 45-53 [PMID: 20351313 DOI: 10.1182/blood-2010-01-263756]

18 Zitzmann K, Ailer G, Vlotides G, Spoettl G, Maurer J, Göke B, Beuschlein F, Auernhammer CJ. Potent antitumor activity of the novel HSP90 inhibitors AUY922 and HSP990 in neuroendocrine carcinoid cells. *Int J Oncol* 2013; 43: 1824-1832 [PMID: 24100469 DOI: 10.3892/ijo.2013.2130]

19 Bagatell R, Paine-Murrieta GD, Taylor CW, Pulcini EJ, Akinaga S, Benjamin IJ, Whitesell L. Induction of a heat shock factor 1-dependent stress response alters the cytotoxic activity of hsp90-binding agents. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3312-3318 [PMID: 10955818]

20 Chatterjee A, Dimitropoulou C, Drakopanayiotakis F, Antonova G, Snead C, Cannon J, Venema RC, Catravas JD. Heat shock protein 90 inhibitors prolong survival, attenuate inflammation, and reduce lung injury in murine sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 667-675

21 Cucchiara S, Stronati L, Aloi M. Interactions between intestinal microbiota and innate immune system in pediatric inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46 Suppl: S64-S66 [PMID: 22955361 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31826a857f]

22 Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, Lee JC, Schumm LP, Sharma Y, Anderson CA, Essers J, Mitrovic M, Ning K, Cleynen I, Theatre E, Spain SL, Raychaudhuri S, Goyette P, Wei Z, Abraham C, Achkar JP, Ahmad T, Amininejad L,Ananthakrishnan AN, Andersen V, Andrews JM, Baidoo L, Balschun T, Bampton PA, Bitton A, Boucher G, Brand S, Büning C, Cohain A,Cichon S, D'Amato M, De Jong D, Devaney KL, Dubinsky M, Edwards C, Ellinghaus D, Ferguson LR, Franchimont D, Fransen K,Gearry R, Georges M, Gieger C, Glas J, Haritunians T, Hart A, Hawkey C, Hedl M, Hu X, Karlsen TH, Kupcinskas L, Kugathasan S,Latiano A, Laukens D, Lawrance IC, Lees CW, Louis E, Mahy G, Mansfield J, Morgan AR, Mowat C, Newman W, Palmieri O, Ponsioen CY, Potocnik U, Prescott NJ, Regueiro M, Rotter JI, Russell RK, Sanderson JD, Sans M, Satsangi J, Schreiber S, Simms LA,Sventoraityte J, Targan SR, Taylor KD, Tremelling M, Verspaget HW, De Vos M, Wijmenga C, Wilson DC, Winkelmann J, Xavier RJ,Zeissig S, Zhang B, Zhang CK, Zhao H; International IBD Genetics Consortium (IIBDGC), Silverberg MS, Annese V, Hakonarson H,Brant SR, Radford-Smith G, Mathew CG, Rioux JD, Schadt EE, Daly MJ, Franke A, Parkes M, Vermeire S, Barrett JC, Cho JH. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of in-

flammatory bowel disease. *Nature* 2012; 491: 119-124 [PMID: 23128233 DOI: 10.1038/nature11582]
23 Kaser A, Lee AH, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, Nieuwenhuis EE, Higgins DE, Schreiber S, Glimcher LH, Blumberg RS. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell* 2008; 134: 743-756 [PMID: 18775308 DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.021]
24 Edelblum KL, Yan F, Yamaoka T, Polk DB. Regulation of apoptosis during homeostasis and disease in the intestinal epithelium. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 413-424 [PMID: 16670531]
25 Kaser A, Blumberg RS. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1738-1747 [PMID: 21530740 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.048]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 982-987
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

MK886对人结肠癌细胞SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响

周娟燕, 唐采白, 陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 费素娟

■背景资料
随着饮食结构及生活习惯的变化, 国内大肠癌的发病率呈明显上升趋势, 其逐年递增率超过国际平均水平. 调查显示, 男性大肠癌死亡率居全部恶性肿瘤第五位, 而肠癌的发病率年均增幅已达4.71%. 由于大肠癌早期症状通常不明显, 多数患者确诊时已进入晚期, 故大肠癌的早发现、早诊治是国际公认的肿瘤防治手段. 近年来, 感染、炎症、炎症因子和大肠癌发生及恶化的关系逐渐引起人们的重视, 其中白三烯和前列腺素的作用受到特别的注意. 已有研究表明在结肠癌组织中, 白三烯类物质的表达与正常组织相比有统计学差异. 而5-脂氧合酶是白三烯生成的主要限速酶, MK886是5-脂氧合酶激活蛋白抑制剂, 本课题就其与结肠癌细胞之间的关系进行初步研究.

■同行评议者
卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

周娟燕, 费素娟, 徐州医学院附属医院消化内科 江苏省徐州市 221002
唐采白, 徐州医学院第三附属医院消化内科 江苏省徐州市 221003
陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 中国人民解放军第九七医院实验科 江苏省徐州市 221004
周娟燕, 2011级徐州医学院硕士, 主要从事消化系肿瘤的基础及临床研究.
徐州市科技基金资助项目, No. XM12B044
作者贡献分布: 周娟燕主要从事课题的研究过程、数据分析及论文写作部分; 费素娟与唐采白主要从事课题的设计、指导、试剂的提供及论文的修改; 陈复兴、刘军权及吕小婷对研究过程给予很大帮助, 给予技术指导.
通讯作者: 费素娟, 教授, 221002, 江苏省徐州市淮海西路84号, 徐州医学院附属医院消化内科. feisj99@163.com
电话: 0516-85806239
收稿日期: 2013-11-04 修回日期: 2013-12-26
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

MK886 inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2

Juan-Yan Zhou, Cai-Bai Tang, Fu-Xing Chen, Jun-Qun Liu, Xiao-Ting Lv, Su-Juan Fei

Juan-Yan Zhou, Su-Juan Fei, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Cai-Bai Tang, Department of Gastroenterology, Third affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221003, Jiangsu Province, China
Fu-Xing Chen, Jun-Qun Liu, Xiao-Ting Lv, Department of Central Laboratory, 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Su-Juan Fei, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 West Huaihai Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. feisj99@163.com
Received: 2013-11-04 Revised: 2013-12-26
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To observe the effects of 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) MK886 on cell proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2.

METHODS: MTT assay was used to detect the effects of treatment with MK886 at different concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 μmol/L) for different durations (24, 48, 72 h) on the proliferation of SW480 and Caco-2 cells. The apoptosis of cells treated with MK886 at concentrations of 12.5, 25, 50, and 100 μmol/L for 72 h was assessed by flow cytometry with annexin V-FITC/PI. The cell cycle of cells treated with MK886 at concentrations of 12.5, 25, and 50 μmol/L for 72 h was assessed by flow cytometry.

RESULTS: MK886 at concentrations between 50 and 200 μmol/L inhibited the proliferation of SW480 cells in a dose- and time-dependent manner. Treatment with MK886 at concentrations from 12.5 to 25 μmol/L for 24 h did not significantly inhibit the proliferation of SW480 cells, but treatment for 48 h or 72 h significantly inhibit cell proliferation in a dose- and time-dependent manner. MK886 at a concentration of 6.25 μmol/L had no significant effects on the proliferation of SW480 cells. In Caco-2 cells, MK886 at concentrations from 25 to 200 μmol/L inhibited cell proliferation in a dose- and time-dependent manner, but MK886 at concentrations between 6.25 and 12.5 μmol/L MK886 had no significant inhibitory effect on the proliferation of Caco-2 cells. Treatment with MK886 at a concentration of 200 μmol/L for 24 h significantly inhibited the growth of SW480 and Caco-2 cells, and the reduced rate of cell growth was 90%. MK886 at concentrations from 12.5 to 100 μmol/L increased the apoptosis rate of the two cell lines in a dose- and time-dependent manner. Treatment with MK886 at concentrations from 12.5 to 50 μmol/L for 72 h increased the percentage of cells in G_0/G_1 phase but decreased that in S phase.

CONCLUSION: MK886 significantly inhibits the growth of SW480 and Caco-2 cells possibly by blocking cells in G_0/G_1 phase and inducing cell apoptosis.

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

Key Words: MK886; SW480; Caco-2; Apoptosis; Cell cycle

Zhou JY, Tang CB, Chen FX, Liu JQ, Lv XT, Fei SJ. MK886

inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 982-987 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/982.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.982

摘要

目的: 观察5-脂氧合酶活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂MK886对人结肠癌细胞株SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响.

方法: 噻唑蓝(MTT)比色法检测6.25、12.5、25、50、100、200 μmol/L MK886作用24、48、72 h对SW480和Caco-2细胞的抑制率; Annexin V-FITC/PI双染流式细胞术检测12.5、25、50、100 μmol/L MK886作用72 h的结肠癌细胞凋亡率; 流式细胞仪检测12.5、25、50 μmol/L MK886作用72 h的结肠癌细胞周期.

结果: 50 μmol/L到200 μmol/L的MK886对结肠癌SW480细胞有抑制作用, 且存在时效和量效依赖性; 而12.5 μmol/L到25 μmol/L浓度的MK886处理24 h后, 对SW480细胞无明显作用, 延长时间至48、72 h后, 作用有统计学意义, 且同样存在时效和量效依赖性; 6.25 μmol/L的MK886对SW480细胞无抑制作用. 25 μmol/L到200 μmol/L的MK886对结肠癌Caco-2细胞有抑制作用, 且存在时效和量效依赖性; 而6.25 μmol/L到12.5 μmol/L浓度的MK886对Caco-2细胞无抑制作用. 200 μmol/L MK886作用24 h即可明显抑制SW480、Caco-2两种结肠癌细胞株的增殖, 抑制率接近90%. 12.5 μmol/L到100 μmol/L浓度的MK886对两种结肠癌SW480和Caco-2细胞有凋亡作用, 且存在时效和量效依赖性; 12.5 μmol/L到50 μmol/L浓度的MK886可以增加两种结肠癌SW480和Caco-2细胞G_0/G_1期比例, 降低S期比例.

结论: MK886具有显著的抑制人结肠癌SW480、Caco-2细胞株增殖的作用, 该作用可能是通过阻滞细胞于G_0/G_1期, 并诱导肿瘤细胞凋亡所致.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MK886; SW480细胞; Caco-2细胞; 凋亡; 细胞周期

核心提示: MK886具有显著的抗肿瘤细胞的效应, MK886对结肠癌细胞抑制率在一定范围内具有时间、浓度依赖性. 主要通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期而抑制肿瘤细胞增殖. 本工作为临床应用MK886治疗结肠癌提供了体外实验的依据, 很可能为结肠癌治疗提供一种全新的思路, 但其抗肿瘤机制及其临床观察, 有待进一步更深入的研究.

周娟燕, 唐采白, 陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 费素娟. MK886对人结肠癌细胞SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 982-987 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/982.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.982

0 引言

结直肠癌(colitis associated carcinoma, CRC)是一种常见的恶性肿瘤, 在西欧国家, 发病率居第3位. 在我国, 随着饮食结构和生活习惯的变化, 结直肠癌的发病率和病死率也逐年升高, 其逐年递增率超过国际平均水平, 且呈现出年轻化趋势. 近年来, 感染、炎症、炎症因子和结直肠癌发生及恶化的关系逐渐引起人们的重视. 统计学研究表明, 慢性炎症和肿瘤发生相关程度最高的就是患有炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的结肠癌患者, 与正常组相比, IBD患者结肠癌发生的风险要高30倍[1]. 此外, 在没有IBD发病基础的原发性结直肠癌患者中, Ning等[2]研究发现, 肿瘤组织中也伴有大量炎性细胞的浸润, 以及炎性因子表达的上升. 目前, 炎性因子半胱氨酰白三烯(cysteinylleukotrienes, CysLTs)在结直肠癌发生中的作用研究在国外尚处于开始阶段, 但国内鲜有报道. 5-脂氧合酶在催化花生四烯酸代谢生成半胱氨酰白三烯的过程中需5-脂氧合酶活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)传送底物来协助, MK886是FLAP抑制剂, 能特异性与FLAP结合而抑制5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)的活性, 从而阻止花生四烯酸的5-LOX代谢途径, 减少半胱氨酰白三烯的生成. 本文研究MK886对结肠癌SW480和Caco-2细胞的增殖抑制作用, 为进一步明确结肠癌的具体发病机制提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌SW480细胞由徐州九七医院实验室保存; 人结肠腺癌Caco-2细胞购自中科院上海细胞库; 细胞培养液RPMI 1640、DMEM高糖培养基购自碧云天生物技术研究所; MK886购自美国Enzo公司; MTT购自美国Sigma公司;

■研发前沿

在多年的临床实践和科研过程中, 我们观察和注意到慢性炎症与结肠癌的发生有一定的相关性. 本研究以结肠癌上皮细胞系为模型, 以MTT和流式细胞术为主要手段, 研究5-脂氧合酶激活蛋白抑制剂MK886对结肠癌细胞的增殖和凋亡的变化情况, 以期发现5-LOX通路在结肠癌发生发展过程中的作用.

■相关报道
Tong等在胰腺癌的研究中发现5-LOX的代谢产物LTB4可以通过诱导EPK1/2磷酸化, 从而促进胰腺癌细胞增殖. Ding等进一步报道, 5-LOX抑制剂可引起胰腺癌细胞的凋亡和形态学变化. Zhi等运用DNA芯片技术发现, 5-LOX在人食管鳞状细胞癌中过度表达. Hoque等研究发现在79%食管癌患者的组织中表达5-LOX, 应用5-LOX抑制剂AA861和REV5901能够诱导食管癌细胞发生凋亡, 抑制细胞活力, 并且这种作用具有剂量依赖性. 不仅是消化系肿瘤, 在肺癌、前列腺癌、肾细胞癌等其他肿瘤中也出现类似结果. 这些研究结果表明5-LOX与消化系肿瘤, 甚至其他系统的相关肿瘤均有着密切关系.

Annexin V-FITC检测试剂盒购自美国BD公司; 细胞周期试剂盒购自碧云天生物技术研究所; CO_2恒温细胞培养箱购自美国Thermo公司; IX71型倒置相差显微镜购自日本Olympus公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物准备: 人结肠癌SW480及Caco-2细胞分别培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640及DMEM培养基中, 所有培养基分别加有55 μg/mL链霉素及55 IU/mL青霉素. 细胞单层贴壁生长在37 ℃, 5%CO_2培养箱中, 平均2-3 d换液, 待细胞长至80%-90%融合, 用0.25%的胰蛋白酶消化后按2×10^5-3×10^5/mL细胞的密度传代, 开始实验. 5 mg MK886用DMSO配成20 mmol/L的母液, 4 ℃储存备用. 实验浓度MK886用培养液稀释. 所有实验均重复3次以上.

1.2.2 MTT法检测MK886对SW480和Caco-2细胞的增殖抑制率: 取对数生长期的SW480和Caco-2结肠癌细胞按1×10^3/孔的密度分别接种于96孔培养板, 设实验组和空白对照组, MK886浓度设200、100、50、25、12.5、6.25 μmol/L共6个浓度组, 每个浓度组设5个复孔, 两种细胞分别在含不同浓度的相应培养基中培养24、48和72 h. 酶标仪490 nm处测各孔吸光度(A)值. 计算不同MK886浓度组作用不同时间对结肠癌细胞的抑制率, 细胞抑制率(%) = (1-实验组平均A值/空白对照平均A值) ×100%. 实验重复3次. 根据对肿瘤细胞的增殖抑制效果选择进一步实验的MK886浓度.

1.2.3 流式细胞仪检测实验浓度MK886对SW480和Caco-2细胞凋亡率的影响: 将SW480和Caco-2细胞按2×10^5/mL的密度接种于6孔板, 常规培养. 设空白对照组及100、50、25、12.5 μmol/L MK886作用72 h实验组. 各组细胞用0.25%胰蛋白酶消化, 制成单细胞悬液, PBS漂洗, 重悬在1×annexin V结合缓冲液中, 调细胞密度为10^6个/mL. 用5 μL Annexin V-FITC和1×annexin-binding buffer室温孵育15 min, 然后加入300 μL 1×annexin V结合缓冲液和5 μL PI工作液, 置于冰上, 尽快对染色细胞于流式细胞仪检测分析.

1.2.4 流式细胞仪检测实验浓度MK886对SW480和Caco-2细胞周期的影响: 将SW480和Caco-2细胞按2×10^5个/mL的密度接种于6孔板, 常规培养. 设空白对照组及50、25、12.5 μmol/LMK886作用72 h实验组. 各组细胞用0.25%胰蛋白酶消化, 制成单细胞悬液, 1000 g离心3-5 min, 去上清, 1 mL PBS重悬, 再次离心, 残留50 μL PBS重悬, 1 mL预冷700 mL/L乙醇, 4 ℃固定2 h, 1000 g离心3-5 min, 弃上清, 1 mL PBS重悬, 再次离心弃上清, 加入0.5 mL碘化丙啶染色液, 37 ℃避光温浴30 min, 用流式细胞仪在激发波长488 nm处检测红色荧光, 同时检测光散射情况. 相应分析软件进行细胞DNA含量分析和光散射分析.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示. 应用SPSS13.0统计软件分析, 进行样本正态分布和方差齐性检验. 两独立样本均数比较用t检验. 多组均数间比较用单因素方差分析(SNK检验, 均数两两比较用Bonfferoni法); 方差不齐用近似F检验, 均数两两比较用Dunnett T3, 2-sided检验.

2 结果

2.1 不同浓度(时间)MK886对SW480和Caco-2细胞增殖抑制作用 对SW480细胞增殖抑制作用(表1): 单因素方差分析显示: 200、100、50 μmol/L MK886处理24 h后, SW480细胞的增殖受到明显抑制(P<0.05); 200、100、50、25、12.5 μmo/L MK886处理48、72 h后, SW480细胞的增殖受到明显抑制(P<0.05), 且随药物浓度增加, 细胞的增殖抑制更明显. 200 μmo/L MK886处理72 h对SW480细胞抑制率与24、48 h比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 100、50、25、12.5、6.25 μmol/L处理72 h对SW480细胞抑制率与24 h比较, 对细胞的抑制作用随时间延长而升高(P<0.05). 提示: 在一定浓度范围内, 随浓度增加和时间延长, MK886对SW480细胞增殖抑制率逐渐增高. 200 μmo/L作用24、48、72 h, 细胞增殖抑制率达90%以上, 抑制率已不再随时间延长而增高.

对Caco-2细胞增殖抑制作用(表2): 200、100、50、25 μmo/L MK886处理24、48、72 h后, Caco-2细胞的增殖受到明显抑制(P<0.05), 且随药物浓度增加, 细胞的增殖抑制更明显. 200 μmo/L MK886处理72 h对Caco-2细胞抑制率与24、48 h比较, 对细胞的增殖抑制作用无明显差别(P>0.05); 100、50、25、12.5、6.25 μmol/L处理72 h对Caco-2细胞抑制率与24 h比较, 对细胞的抑制作用随时间延长而升高(P<0.05). 提示: 在一定浓度范围内, 随浓度增加和时间延长, MK886对Caco-2细胞增殖抑制率逐渐增高. 200 μmo/L作用24、48、72 h, 细胞增殖抑制率达90%左右, 抑制率已不再随时间延长而增高.

2.2 MK886诱导肿瘤细胞SW480、Caco-2凋亡的

表 1 MK886不同浓度(时间)对SW480细胞的增殖抑制率 (%, mean ± SD)

MK886(μmol/L)	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0	0	0
6.25	3.40 ± 0.89	5.00 ± 1.19	9.00 ± 2.10[de]
12.5	6.00 ± 1.64	8.51 ± 1.30[a]	10.99 ± 1.81[ad]
25	9.99 ± 1.99	24.00 ± 3.07[ad]	32.97 ± 3.03[adf]
50	38.00 ± 3.26[a]	43.01 ± 3.30[b]	67.01 ± 3.97[bdf]
100	77.00 ± 4.38[b]	92.69 ± 6.39[bc]	92.79 ± 6.08[bc]
200	93.45 ± 6.96[b]	92.40 ± 6.23[b]	91.04 ± 5.62[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 空白对照组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 24 h; [e]P<0.05, [f]P<0.01 *vs* 48 h.

表 2 MK886不同浓度(时间)对Caco-2细胞的增殖抑制率 (%, mean ± SD)

MK886(μmol/L)	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0	0	0
6.25	2.05 ± 0.68	3.01 ± 0.86	5.15 ± 0.94[de]
12.5	6.99 ± 1.28	12.01 ± 2.49[c]	14.06 ± 2.55[d]
25	9.03 ± 1.26[a]	29.23 ± 2.80[ad]	47.00 ± 3.09[bdf]
50	15.01 ± 2.61[a]	43.51 ± 3.33[ad]	64.01 ± 3.89[bdf]
100	34.98 ± 2.90[a]	81.99 ± 4.02[bd]	88.02 ± 4.48[bd]
200	84.99 ± 4.22[b]	89.94 ± 4.59[b]	90.72 ± 5.79[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 空白对照组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 24 h; [e]P<0.05, [f]P<0.01 *vs* 48 h.

表 3 MK886对SW480、Caco-2细胞凋亡的影响 (%, mean ± SD)

MK886(μmol/L)	SW480细胞凋亡率	Caco-2细胞凋亡率
空白对照组	4.61 ± 1.27	4.21 ± 1.19
12.5	9.21 ± 2.47[b]	10.37 ± 1.70[b]
25	8.12 ± 2.39[a]	17.15 ± 2.30[b]
50	18.29 ± 2.97[b]	22.38 ± 3.13[b]
100	24.36 ± 3.09[b]	26.20 ± 3.28[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 空白对照组.

作用 与空白对照组相比, 12.5 μmol/L到50 μmol/L浓度的MK886对两种结肠癌SW480和Caco-2细胞的凋亡率升高(P<0.05), 在12.5 μmol/L到50 μmol/L范围内随着浓度的增加其诱导细胞凋亡的作用也逐渐增强(表3).

2.3 不同浓度MK886对结肠癌细胞细胞周期的影响 与空白对照组相比, 处理72 h后, 12.5 μmol/L到50 μmol/L浓度的MK886增加两种结肠癌SW480和Caco-2细胞G_0/G_1期的比例(P<0.05), 降低S期比例(P<0.05), 降低G_2/M期比例(P<0.05), 且随着药物浓度增高, 这种变化趋势更加明显. 提示MK886可将细胞阻滞于G_0/G_1期, 并在一定范围内呈浓度依赖性(表4).

3 讨论

5-LOX是脂氧合酶(LOX)的一个重要亚型, 花生四烯酸代谢酶是刺激上皮细胞生长的重要介质, Hong等[3]研究表明大多数肿瘤细胞中均表达花生四烯酸代谢酶, 其中5-LOX在所有上皮肿瘤中表达均明显增加. 研究认为, 5-LOX的主要作用机制是在Ca^{2+}的刺激下由细胞质转移到核膜上, 细胞膜磷脂在磷脂酶A2的作用下释放的花生四烯酸(arachidonic acid, AA), 与FLAP特异性结合, 后者将AA呈递给5-LOX并激活5-LOX, 5-LOX通过加氧酶作用, 催化促使氧分子与AA合并, 从而生成5-过氧化氢二十碳四烯酸(5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid, 5-HPETE), 继而形成不稳定的环氧物白三烯(leukotriene A4, LTA4), LTA4在LTA4水解酶的作用下生成二羟酸白三烯(leukotriene B4, LTB4), 在LTC4合成酶的作用下生成白细胞三烯C4(leukotrienes C4, LTC4), 并进一步生成白细胞三烯D4(leukotrienes D4, LTD4)及白细胞三烯E4(leukotrienes E4, LTE4),

■创新盘点
国内外研究已就消化系肿瘤与5-LOX的关系有了很多报道, 但对于结肠癌的研究, 国内主要侧重于临床组织标本, 尚未开展关于结肠癌细胞系与MK886关系的研究. 而且国外也只有少量零星报道. 由于国内外人种基因的差异和饮食环境的不同, 因此在国内进行该项研究具有重要的意义, 属国内领先水平并填补国内这方面的空白.

■应用要点
众所周知，目前肿瘤患者的治疗仍是困扰医学界的一大难题，结肠癌由于其早期症状不明显，难以早期发现、诊断，部分患者发现时已属于晚期，丧失了手术机会. 本研究表明5-脂氧合酶激活蛋白抑制剂可以明显抑制结肠癌细胞的增殖、促进其凋亡，为临床应用MK886治疗结肠癌提供了体外实验的依据，很可能为结肠癌治疗提供一种全新的思路.

表 4 MK886对SW480、Caco-2细胞周期的影响 (%, mean ± SD)

MK886(μmol/L)	SW480			Caco-2		
	G_1期	G_2期	S期	G_1期	G_2期	S期
空白对照组	42.55 ± 2.20	12.78 ± 1.43	44.68 ± 3.54	39.64 ± 2.29	13.03 ± 1.90	47.32 ± 4.11
12.5	54.99 ± 2.41[b]	10.17 ± 1.31[a]	34.84 ± 2.21[b]	50.84 ± 2.81[b]	11.57 ± 1.60	37.60 ± 3.93[b]
25	60.05 ± 2.88[b]	9.77 ± 1.24[b]	30.17 ± 4.07[b]	55.77 ± 3.34[b]	9.14 ± 1.99[b]	35.09 ± 5.30[b]
50	70.57 ± 3.24[b]	8.64 ± 1.70[b]	20.78 ± 4.90[b]	61.60 ± 3.59[b]	8.63 ± 1.60[b]	29.78 ± 5.17[b]

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 空白对照组.

其中LTC4、LTD4、LTE4统称半胱氨酰白三烯. 5-LOX是此过程的关键酶. Tong等[4,5]在胰腺癌的研究中发现5-LOX的代谢产物LTB4可以通过诱导EPK1/2磷酸化，从而促进胰腺癌细胞增殖. Ding等[6]进一步报道，5-LOX抑制剂可引起胰腺癌细胞的凋亡和形态学变化. Zhi等[7]运用DNA芯片技术发现，5-LOX在人食管鳞状细胞癌中过度表达. Hoque等[8]研究发现在79%食管癌患者的组织中表达5-LOX，应用5-LOX抑制剂AA861和REV5901能够诱导食管癌细胞发生凋亡，抑制细胞活力，并且这种作用具有剂量依赖性. 不仅是消化系肿瘤，在肺癌、前列腺癌、肾细胞癌等其他肿瘤中也出现类似结果[9].

结肠癌是常见的消化系肿瘤. 近年来，随着生活水平的提高，饮食中脂肪含量增高等原因，使结肠癌在我国有上升趋势，而且结肠癌发病年龄逐渐年轻化，早期容易发生转移. 对于结肠癌的治疗，除手术切除外，化疗和放疗也是重要的治疗方法. 传统的化疗药物效果差，不良反应较多，患者的耐受性较差. 因此，积极寻找一种新的治疗结肠癌的有效途径，已经受到越来越多学者的普遍重视.

近年来，感染、炎症、炎症因子和结肠癌发生及恶化的关系逐渐引起人们的重视. 统计学研究表明，慢性炎症和肿瘤发生相关程度最高的就是患有IBD的结肠癌患者. Jupp等[10]发现IBD炎症组织中5-LOX表达明显高于正常，差异有统计学意义. 研究表明，IBD相关CRC约占1%-2%[11]. 尽管IBD相关CRC在CRC中所占比率不高，但却占IBD死因的10%-15%[12]，因此，控制IBD的发生有利于减少结肠癌的发病率及死亡率.

MK886是FLAP抑制剂，可以直接抑制花生四烯酸代谢的5-LOX途径，减少5-LOX的表达. 大量的体内外实验证明他对胰腺癌[13]、乳腺癌[14]、胃癌[15]、前列腺癌[16]等肿瘤细胞有生长抑制作用. 本实验通过研究MK886对结肠癌细胞SW480和Caco-2的增殖结果显示，随着MK886作用时间的延长，作用浓度的增加，均使肿瘤细胞的抑制率增高. MK886对SW480和Caco-2细胞的增殖抑制作用呈一定的量效和时效依赖性. 在低浓度时，MK886对肿瘤细胞的增殖无明显作用，当浓度增加至200 μmol/L时，MK886作用24 h即可达到很高的抑制率，但此时的抑制率不再随时间延长而增高.

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序的死亡，肿瘤无限制增生的恶性生物学特征与肿瘤细胞凋亡减少有关，随着对凋亡分子研究的深入，我们认识到诱导肿瘤细胞凋亡是一种有效治疗肿瘤的途径. 通过流式细胞术，我们发现MK886可诱导结肠癌SW480、Caco-2细胞凋亡，且随着MK886浓度的增加，结肠癌细胞的凋亡率明显增加，说明5-LOX抑制剂可诱导结肠癌细胞凋亡.

目前认为结肠癌是一种细胞周期失调控疾病，细胞周期靶向治疗是结肠癌化疗药物应用的一个重要策略[17,18]. 本实验研究发现：MK886对SW480和Caco-2两种结肠癌细胞有周期阻滞作用，可将细胞阻滞于G_0/G_1期，且随着药物浓度的增加，趋势更明显.

本研究表明，MK886具有显著的抗肿瘤细胞的效应，MK886对结肠癌细胞抑制率在一定范围内具有时间、浓度依赖性. 主要通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期而抑制肿瘤细胞增殖. 本工作为临床应用MK886治疗结肠癌提供了体外实验的依据，很可能为结肠癌治疗提供一种全新的思路，但其抗肿瘤机制及其临床观察，有待进一步更深入的研究.

4 参考文献

1 Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2101-2114. e5 [PMID: 20420949 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.058]

2 Ning Y, Manegold PC, Hong YK, Zhang W, Pohl A, Lurje G, Winder T, Yang D, LaBonte MJ, Wilson PM, Ladner RD, Lenz HJ. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models. *Int J Cancer* 2011; 128: 2038-2049 [PMID: 20648559 DOI: 10.1002/ijc.25562]

3 Hong SH, Avis I, Vos MD, Martínez A, Treston AM, Mulshine JL. Relationship of arachidonic acid metabolizing enzyme expression in epithelial cancer cell lines to the growth effect of selective biochemical inhibitors. *Cancer Res* 1999; 59: 2223-2228 [PMID: 10232612]

4 Tong WG, Ding XZ, Hennig R, Witt RC, Standop J, Pour PM, Adrian TE. Leukotriene B4 receptor antagonist LY293111 inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3232-3242 [PMID: 12374694]

5 Tong WG, Ding XZ, Talamonti MS, Bell RH, Adrian TE. Leukotriene B4 receptor antagonist LY293111 induces S-phase cell cycle arrest and apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Anticancer Drugs* 2007; 18: 535-541 [PMID: 17414622 DOI: 10.1097/01.cad.0000231477.22901.8a]

6 Ding XZ, Kuszynski CA, El-Metwally TH, Adrian TE. Lipoxygenase inhibition induced apoptosis, morphological changes, and carbonic anhydrase expression in human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 392-399 [PMID: 10600514 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1824]

7 Zhi H, Zhang J, Hu G, Lu J, Wang X, Zhou C, Wu M, Liu Z. The deregulation of arachidonic acid metabolism-related genes in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2003; 106: 327-333 [PMID: 12845669 DOI: 10.1002/ijc.11225]

8 Hoque A, Lippman SM, Wu TT, Xu Y, Liang ZD, Swisher S, Zhang H, Cao L, Ajani JA, Xu XC. Increased 5-lipoxygenase expression and induction of apoptosis by its inhibitors in esophageal cancer: a potential target for prevention. *Carcinogenesis* 2005; 26: 785-791 [PMID: 15661803 DOI: 10.1093/carcin/bgi026]

9 Steele VE, Holmes CA, Hawk ET, Kopelovich L, Lubet RA, Crowell JA, Sigman CC, Kelloff GJ. Lipoxygenase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 467-483 [PMID: 10350444]

10 Jupp J, Hillier K, Elliott DH, Fine DR, Bateman AC, Johnson PA, Cazaly AM, Penrose JF, Sampson AP. Colonic expression of leukotriene-pathway enzymes in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 537-546 [PMID: 17230539 DOI: 10.1002/ibd.20094]

11 Ouaïssi M, Maggiori L, Alves A, Giger U, Sielezneff I, Valleur P, Sastre B, Panis Y. Colorectal cancer complicating inflammatory bowel disease: a comparative study of Crohn's disease vs ulcerative colitis in 34 patients. *Colorectal Dis* 2011; 13: 684-688 [PMID: 20184639 DOI: 0.1111/j.1463-1318.2010.02241]

12 Herszenyi L, Miheller P, Tulassay Z. Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2007; 25: 267-269 [PMID: 17827953 DOI: 10.1159/000103898]

13 Schuller HM, Zhang L, Weddle DL, Castonguay A, Walker K, Miller MS. The cyclooxygenase inhibitor ibuprofen and the FLAP inhibitor MK886 inhibit pancreatic carcinogenesis induced in hamsters by transplacental exposure to ethanol and the tobacco carcinogen NNK. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 525-532 [PMID: 12384795 DOI: 10.1007/s00432-002-0365-y]

14 Avis I, Hong SH, Martinez A, Moody T, Choi YH, Trepel J, Das R, Jett M, Mulshine JL. Five-lipoxygenase inhibitors can mediate apoptosis in human breast cancer cell lines through complex eicosanoid interactions. *FASEB J* 2001; 15: 2007-2009 [PMID: 11511519]

15 Fan XM, Tu SP, Lam SK, Wang WP, Wu J, Wong WM, Yuen MF, Lin MC, Kung HF, Wong BC. Five-lipoxygenase-activating protein inhibitor MK-886 induces apoptosis in gastric cancer through upregulation of p27kip1 and bax. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 31-37 [PMID: 14675240 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03194.x]

16 Gugliucci A, Ranzato L, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Cusan C, Prato M, Mancini M, Pagano F, Bernardi P. Mitochondria are direct targets of the lipoxygenase inhibitor MK886. A strategy for cell killing by combined treatment with MK886 and cyclooxygenase inhibitors. *J Biol Chem* 2002; 277: 31789-31795 [PMID: 12080072 DOI: 10.1074/jbc.M204450200]

17 Freemantle SJ, Liu X, Feng Q, Galimberti F, Blumen S, Sekula D, Kitareewan S, Dragnev KH, Dmitrovsky E. Cyclin degradation for cancer therapy and chemoprevention. *J Cell Biochem* 2007; 102: 869-877 [PMID: 17868090 DOI: 10.1002/jcb.21519]

18 Dragnev KH, Pitha-Rowe I, Ma Y, Petty WJ, Sekula D, Murphy B, Rendi M, Suh N, Desai NB, Sporn MB, Freemantle SJ, Dmitrovsky E. Specific chemopreventive agents trigger proteasomal degradation of G1 cyclins: implications for combination therapy. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2570-2577 [PMID: 15073138 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0271]

■同行评价

本文观察FLAP抑制剂MK886对人结肠癌细胞株SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响. 结果表明MK886具有显著的抑制人结肠癌SW480、Caco-2细胞株增殖的作用, 其作用可能是通过阻滞细胞于G_0/G_1期, 并诱导肿瘤细胞凋亡所致. 内容客观, 实验方法成熟, 观点新颖, 具有一定的科学意义.

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3月8日; 22(7): 988-999
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

超声内镜对早期食管癌术前分期准确性的Meta分析

周思思, 严 苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付 婷

■背景资料
我国是食管癌高发国家之一, 提高食管癌患者生存率及生活质量关键在于早发现、早诊断、早治疗. 超声内镜(endoscopic ultrasonography)在评价食管肿瘤的可切除性、治疗方案的制定、术式的选择、预后评估等具有重要的意义.

周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷, 苏州大学附属第一医院消化内科 江苏省苏州市 215006
周思思, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤疾病发病机制及诊疗方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由周思思与付婷共同设计; 研究过程、数据提取及数据分析由周思思、史冬涛及付婷操作完成; 论文写作由周思思与付婷共同完成; 严苏与陈卫昌审校.
通讯作者: 严苏, 教授, 215006, 江苏省苏州市沧浪区十梓街188号, 苏州大学附属第一医院消化内科.
yansu1119888@sina.com
电话: 0512-67781318
收稿日期: 2013-11-27 修回日期: 2014-01-01
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

Accuracy of endoscopic ultrasound in preoperative staging of early esophageal cancer: A Meta-analysis

Si-Si Zhou, Su Yan, Wei-Chang Chen, Dong-Tao Shi, Ting Fu

Si-Si Zhou, Su Yan, Wei-Chang Chen, Dong-Tao Shi, Ting Fu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Medical Department of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Su Yan, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Street, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. yansu1119888@sina.com
Received: 2013-11-27 Revised: 2014-01-01
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To evaluate the accuracy of endoscopic ultrasound (EUS) in the preoperative staging of early esophageal cancer.

METHODS: We searched the Medline, PubMed, Web of Science, Embase, Cochrane Central Trials, Wanfang, CBM, CNKI and VIP databases for relevant studies published. Study selection, quality assessment and data extraction were performed by two reviewers independently. Meta-Disc (version1.4) software was used to perform the meta-analysis for sensitivity, specificity, positive likelihood ratio (LR), and negative LR. Pooling results were derived (by) using the fixed-effect model when significant heterogeneity was not present, and the random-effect model was applied otherwise. A summary receiver-operating characteristic (SROC) curve was constructed. Furthermore, to explore the potential sources of heterogeneity, we used meta-regression to estimate the effect of the characteristics of the studies on the diagnostic accuracy of EUS. In addition, the outliers were identified by the method described by Deville and a subgroup analysis was performed by excluding the outliers. We used Stata statistical software (version 10.0) to assess the publication bias using the Begg-Mazumdar indictor and Harbord-Egger indictor.

RESULTS: Twenty studies with a total of 1115 patients were included in this analysis. The pooled sensitivity, specificity, and positive and negative likelihood ratio of EUS for T1m staging were 0.85 (95%CI: 0.83-0.88), 0.86 (95%CI: 0.83-0.89), 5.34 (95%CI: 3.67-7.76), and 0.21 (95%CI: 0.15-0.29), respectively. For stage T1sm, these results were 0.87 (95%CI: 0.84-0.90), 0.85 (95%CI: 0.82-0.88), 4.64 (95%CI: 3.47-6.22), and 0.18 (95%CI: 0.13-0.25). For stage N, these results were 0.71 (95%CI: 0.61-0.80), 0.78 (95%CI: 0.71-0.84), 2.93 (95%CI: 1.49-5.79), and 0.46 (95%CI: 0.18-1.22). The percent of area under the curve was 92.1% for both stage T1m and stage T1sm, and 80% for stage N. No significant publication bias was found with either the Begg-Mazumdar indictor (P = 0.216) or the Harbord-Egger indictor (P = 0. 412).

CONCLUSION: EUS has excellent sensitivity and specificity in diagnosing the T1 stage of early esophageal cancer. However, the frequency of EUS probe and the experience of the endosonographers can affect the diagnostic accuracy of EUS. EUS plays an important role in clinical selection of surgical approaches and treatments.

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

Key Words: Endoscopic ultrasound; Early esophageal cancer; Preoperative T1 staging; Meta-analysis

Zhou SS, Yan S, Chen WC, Shi DT, Fu T. Accuracy of

■同行评议者
杨薇, 副主任医师, 副教授, 北京大学肿瘤医院超声科

endoscopic ultrasound in preoperative staging of early esophageal cancer: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 988-999 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/988.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.988

摘要

目的: 系统评价超声内镜对早期食管癌术前分期的准确性.

方法: 在计算机上检索Medline、PubMed、Web of Science、Ovid、Cochrane Central Trials databases、万方、CBM、CNKI及维普数据库收集相关文献, 检索年限均从建库到2013-05, 全面收集国内外有关超声内镜对早期食管癌分期的相关研究, 手工检索相关杂志、会议论文集、学位论文汇编等. 按照诊断试验的纳入标准筛选文献, 提取纳入文献的特征信息(研究背景、设计信息和诊断参数信息), 根据诊断性试验质量评价工具(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)质量评价标准纳入文献的质量. 采用Meta-Disc1.4软件进行Meta分析, 检验异质性, 并根据异质性结果选择相应的效应模型. 对纳入文献予以加权定量合并, 计算汇总敏感度、特异度、阳性似然比、阴性似然比和诊断优势比及其95%CI, 绘制汇总受试者工作特征(summary receiver-operating characteristic curve, SROC)曲线, 并计算曲线下面积(area under curve, AUC). 然后根据研究对象的特点进行Meta回归分析来寻找潜在引起异质性的因素, 同时按Deville介绍的方法筛选并剔除异质性明显的研究进行亚组分析, 最后使用Stata10.0软件计算Begg-Mazumdar和Harbord-Egger指数来判断发表偏移并绘制漏斗图.

结果: 纳入文献20篇涉及研究对象共1115例. Meta分析结果提示: 超声内镜判断食管黏膜内癌T1m期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.85(95%CI: 0.83-0.88), 0.86(95%CI: 0.83-0.89), 5.34(95%CI: 3.67-7.76), 0.21(95%CI: 0.15-0.29); 食管黏膜下癌T1sm期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.87(95%CI: 0.84-0.90), 0.85(95%CI: 0.82-0.88), 4.64(95%CI: 3.47-6.22), 0.18(95%CI: 0.13-0.25); 早期食管癌N期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.71(95%CI: 0.61-0.80), 0.78(95%CI: 0.71-0.84), 2.93(95%CI: 1.49-5.79), 0.46(95%CI: 0.18-1.22); T1m期和T1sm期拟合SROC曲线下面积AUC分别是0.921、0.915, N期拟合SROC曲线下面积AUC是0.80. Begg-Mazumdar法(P = 0.216)和Harbord-Egger法(P = 0.412)检验发表偏倚结果提示纳入Meta分析的文献结果之间无发表偏倚.

结论: 现有证据表明, 超声内镜能较准确鉴别食管早期癌病变的浸润深度, 食管黏膜内癌和食管黏膜下癌的准确性分期具有较高的敏感度和特异度, 但其结果受检查者的经验, 超声内镜选择及频率的种类等因素影响. 他对指导临床选择合理的手术方式和治疗手段具有重要意义.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 内窥镜超声检查; 早期食管癌; T1分期; Meta分析

核心提示: 本研究通过应用循证医学Meta分析的方法, 准确的评价了超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对早期食管癌的分期, 表明EUS具有较高的敏感度和特异度, 但其结果受检查者的经验, 超声内镜选择及频率的种类等因素影响.

周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷. 超声内镜对早期食管癌术前分期准确性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 988-999 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/988.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.988

■研发前沿
虽然超声内镜(endoscopic ultrasonography)有较高的诊断率, 但其结果存在一定的假阳性率和假阴性率, 使其在临床的诊断价值受到争议和广泛推广受到限制.

0 引言

食管癌是严重威胁人类健康的常见恶性肿瘤, 估计全球每年有20万例死于本病, 占男性恶性肿瘤发病率和病死率的第5位[1]. 我国是食管癌疾病高发国家之一, 近年来, 食管癌的治疗已经取得了长足进步, 文献显示, 早期食管癌治疗后5年生存率高达90%-100%, 而进展期癌5年生存率低于10%. 大量研究表明, 食管癌的浸润深度和淋巴结转移情况是影响食管癌预后的最重要因素[2]. 因此, 提高食管癌患者生存率及生活质量关键在于早期发现、早期诊断、早期治疗. 早期食管癌通常无症状, 临床表现缺乏特异性, 待出现吞咽困难等症状时, 往往已进入进展期, 故早期癌诊断比较困难. 早期食管癌是指病变仅局限于黏膜层和黏膜下层, 超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)为早期食管癌的诊断及确定相应治疗方案给予很大帮助. 日本食管疾病学会(Japan Esophagus Study Disease, JESD)又将早期食管癌分为m1(限于黏膜上皮层)、m2(侵及黏膜固有层)、m3(侵及黏

■相关报道
近年来国内外研究显示该技术能明显提高早期食管癌的诊断能力，但各家报道不一，并且样本量不大，故对早期食管癌的诊断价值尚不肯定.

膜肌层)、sm1(侵及黏膜下层上1/3)、sm2(侵及黏膜下层中1/3)、sm3(侵及黏膜下层下1/3)等类型[3]. EUS主要从淋巴结的大小、形态、边界、内部回声等方面判断有无淋巴结转移. 恶性淋巴结多>1 cm, 呈圆形, 边界较清, 内部回声不均匀. 食管癌手术可切除性的判定主要来源于纵隔脏器是否被浸润, EUS可以清晰显示胸主动脉、气管、心包、下腔静脉等. 食管癌的病死率高, 手术风险大, 因此术前分期很关键. 大量研究表明, 上皮内癌、黏膜内癌是内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)治疗绝对适应证, 并与传统外科手术治疗具有等同临床价值[4,5], 而黏膜下癌通常行外科手术治疗. 一项多中心观察报告指出在食管癌的手术治疗病死率为3%-13%, 复发率则高40%-50%[6-9], 而内镜下的EMR/ESD治疗有较低的复发率(1%-3%)和病死率(0%)并能保持组织结构的完整性, 提高患者的生活质量[10-12]. 因此EUS在鉴别早期食管癌的T1m期和T1sm期中起着关键性的作用, 在评价肿瘤的可切除性、治疗方案的制定、术式的选择、预后评估等具有重要的意义. 本研究通过应用循证医学Meta分析的方法, 全面收集国内外有关EUS对早期食管癌术前分期的准确性的相关研究, 评价EUS临床应用价值并为其临床早期诊治食管癌提供科学依据.

1 材料和方法

1.1 材料 数据库查找有关EUS诊断早期食管癌的文献, 按照诊断试验的纳入标准筛选文献, 提取纳入文献的特征信息(研究背景、设计信息和诊断参数信息), 进行系统性评价分析. 在计算机上检索Medline、PubMed、Web of Science、Ovid、Cochrane Central Trials databases、万方、CBM、CNKI及维普数据库收集相关文献, 检索年限均从建库到2013-05, 全面收集国内外有关超声内镜对早期食管癌术前分期诊断的相关研究, 手工检索相关杂志、会议论文集、学位论文汇编等. 对纳入研究的参考文献进行检索以获取补充资料. 文献检索策略采用主题词和自由词结合的原则, 检索词包括: early esophageal cancers; endoscopic ultrasound; endoscopic classification; diagnostic accuracy; 早期食管癌、癌前病变、超声内镜、T1分期等. 由两位研究者分别独立提取文献信息, 其中包括研究作者、发表年限、地区、样本量、性别、年龄、金标准、评价指标等. 如存在争议, 通过与第三方讨论解决分歧.

1.2 方法

1.2.1 文献纳入和排除标准: 同时符合以下条件的文献被纳入: (1)研究目的为评价EUS对早期食管癌术前分期诊断准确性的相关临床研究; (2)所有纳入的研究对象均进行EUS检查以评价癌肿的浸润程度及N分期; (3)以病理组织学或细胞学活检的结果为金标准; (4)若数据重复发表, 选择其中最详尽的数据或最近发表的文章; (5)文章能直接或间接提供数据, 可分别计算真阳性值(true Positive, TP)、假阳性值(false positive, FP)、真阴性值(true negative, TN)、假阴性值(false negative, FN). 文献排除标准: (1)数据不完整或数据有误; (2)病例未经“金标准”确诊; (3)文摘、综述、讲座和述评文献; (4)无法获得全文者.

1.2.2 文献资料提取及文献质量的评估: 主要包括作者、发表时间、患者的年龄、样本量及诊断试验的参数信息. 计算各文献的敏感度、特异度、阳性和阴性似然比. 用诊断性试验质量评价工具(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)评价文献质量[13], 每个项目按“是”、“否”、“不清楚”3个标准进行评价, 若14条质量评价标准均满足则研究存在偏倚的可能性极低(A级); 如果其中任何一条或多条质量评价标准仅部分满足即不清楚, 则该研究存在偏倚的可能性为中等(B级); 如果其中任何一条或多条质量评价标准完全不满足即未采用或不正确, 则该研究存在偏倚的可能性为高度(C级). 2名评价员独立完成文献质量评估及资料提取, 有分歧时通过讨论解决.

统计学处理 首先, 使用MetaDiSc1.4软件分析异质性, 采用卡方检验或产值进行异质性检验, $P<0.05$或, $I^2>50\%$时认为研究结果存在异质性. 接着, 根据异质性的有无采用随机效应模型(random effects models, REM)或固定效应模型(fixed effects model, FEM)计算合并灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比等指标, 同时绘制汇总受试者工作特征曲线(summary receiver-operating characteristic curve, SROC), 估计试验的总诊断精确度. 然后, 根据研究对象的特点进行Meta回归分析来寻找潜在引起异质性的因素, 同时按Deville等[14]介绍的方法筛选并剔除异质性明显的研究进行亚组分析. 最后, 使

表 1 纳入文献的研究特征

文献来源	年份	国家	超声内镜频率(MHz)	*n*	研究形式	确诊方式
Murata等[17]	1988	Japan	7.5,10	52	retrospective	surgery
Toh等[18]	1993	Japan	7.5,12	26	retrospective	surgery
Yoshikane等[19]	1994	Japan	7.5,12	26	prospective	surgery or EMR
Yanai等[20]	1996	Japan	20	17	prospective	surgery or EMR
Murata等[21]	1996	Japan	15,20	49	prospective	surgery or EMR
Shinkai等[22]	2000	Japan	7.5,12,15,20	50	prospective	surgery or EMR
Fukuda等[23]	2000	Japan	12, 20	25	prospective	surgery
陈俊辉等[24]	2000	China	12,15, 20	30	prospective	surgery or EMR
Scotiniotis等[25]	2001	USA	7.5,12	22	prospective	surgery
Kawano等[26]	2003	Japan	20	96	prospective	surgery or EMR
Yanai等[27]	2003	Japan	12, 20	26	prospective	surgery or EMR
Buskens等[28]	2004	Netherland	7.5,12, 20, 30	45	retrospective	surgery
May等[29]	2004	Germany	20	93	prospective	surgery or EMR
Larghi等[30]	2005	USA	7.5, 20	48	prospective	surgery or EMR
张月明等[31]	2008	China	7.5,12, 20	121	prospective	surgery or EMR
Rampado等[32]	2008	Italy	20	55	prospective	surgery or EMR
梁玮等[33]	2009	China	7.5,12, 20	36	prospective	surgery or EMR
武育卫等[34]	2011	China	12, 20	61	prospective	surgery or EMR
裴莉英等[35]	2012	China	20	102	prospective	surgery or EMR/ESD
尔丽绵等[36]	2013	China	15, 20	135	retrospective	surgery or EMR

EMR: 内镜下黏膜切除术; ESD: 内镜下黏膜剥离术.

■创新盘点
本研究通过应用循证医学Meta分析的方法, 汇集国内外有关超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对早期食管癌术前分期的准确性的相关研究, 减少了因各中心小样本的病例分析而出现的差异, 更准确的评价EUS的临床价值.

用Stata10.0软件计算Begg-Mazumdar和Harbord-Egger指数来判断发表偏移[15,16].

2 结果

2.1 纳入文献基本情况 最初检索到相关文献548篇, 经过阅读文题及摘要后, 排除综述类文章及信件, 筛选得到68篇文献, 仔细查阅全文后. 严格根据纳入排除标准筛选, 20篇文献符合纳入标准, 包括1115例早期食管癌患者. 纳入的20篇文献[17-36]发表年限在1988-2013年. 其中日本的研究9篇, 中国的研究6篇, 美国的研究2篇, 德国、荷兰、意大利的研究各1篇, 所有病例组患者均经术后病理组织学或细胞学证实为早期食管癌. 所有纳入研究均提供了完善的四格表资料. 纳入研究的基线特征如表1.

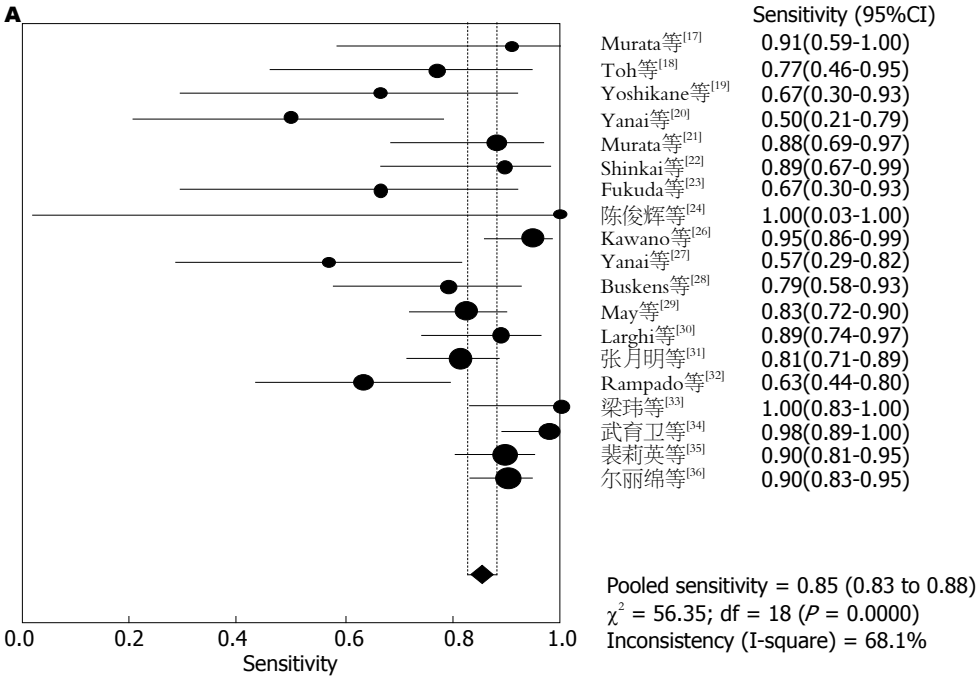
2.2 Meta分析

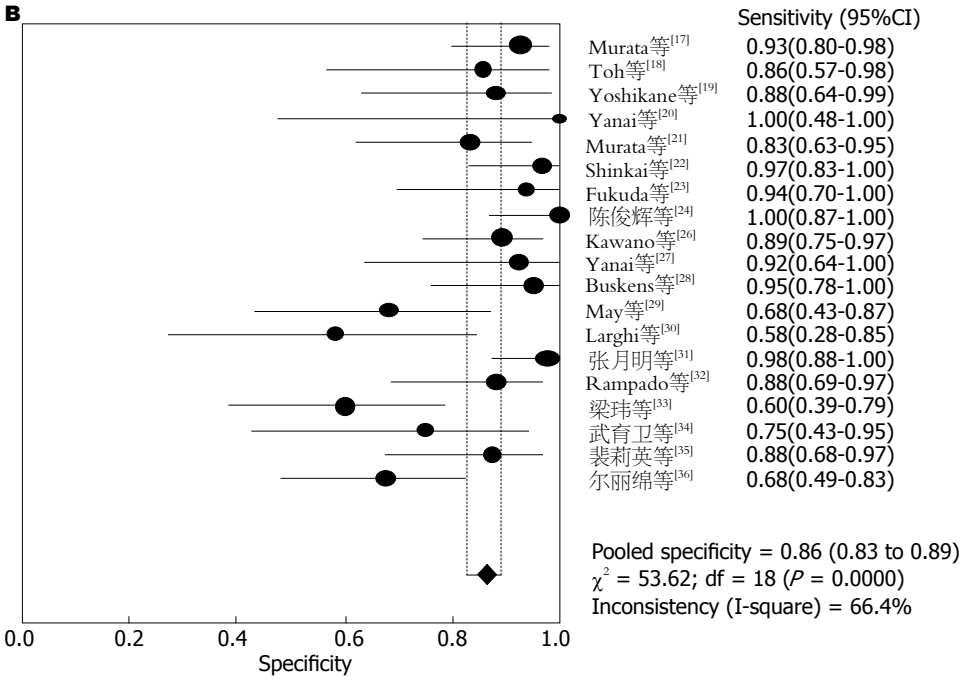
2.2.1 Meta分析: Meta分析异质性检验后发现研究之间存在异质性, 采用随机效应模型进行Meta分析. 结果显示: T1m期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.85(95%CI: 0.83-0.88)(图1A), 0.86(95%CI: 0.83-0.89(图1B), 5.34(95%CI: 3.67-7.76)(图1C), 0.21(95%CI: 0.15-0.29)(图1D); T1sm期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.87(95%CI: 0.84-0.90)(图2A), 0.85(95%CI: 0.82-0.88)(图2B), 4.64(95%CI: 3.47-6.22)(图2C), 0.18(95%CI: 0.13-0.25)(图2D); 早期食管癌N期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.71(95%CI:0.61-0.80)(图3A), 0.78(95%CI:0.71-0.84)(图3B), 2.93(95%CI: 1.49-5.79)(图3C), 0.46(95%CI:0.18-1.22)(图3D); T1m期和T1sm期拟合SROC曲线下面积AUC分别是0.921、Q = 0.855(图4A), 0.915、Q = 0.847(图4B), N期拟合SROC曲线下面积AUC分别是0.80、Q = 0.736(图4C).

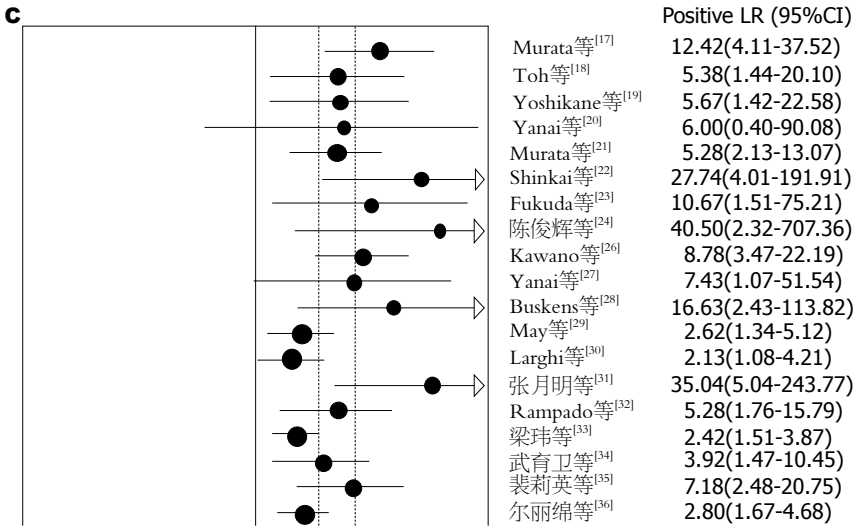
2.2.2 回归分析: 根据研究特点, 针对研究年限(1988-2000年对2001-2013年)、诊断设备[EUS对小探头超声内镜(mini-probe sonography, MPS)]和研究国家(日本、中国对其他)等进行逐一回归分析, 结果发现研究国家存在明显的异质性, 超声内镜的选择和研究年限在回归分析中没有明显的影响(表2). 根据上述结果再次进行亚组分析: (1)研究年限在1988-2000年; (2)研究年限2001-2013年; (3)EUS检查病变组; (4)联合使用20 MHz的EUS检查病变组; (5)日本的研究病例组; (6)中国的研究病例组(表3). 我

■应用要点

本研究显示超声内镜(endoscopic ultrasonography)能较准确鉴别食管早期癌病变的浸润深度, 对食管早期癌的准确性分期具有较高的敏感度和特异度, 但其结果受检查者的经验, 超声内镜选择及频率的种类等因素影响. 他对指导临床选择合理的手术方式和治疗手段具有重要意义.







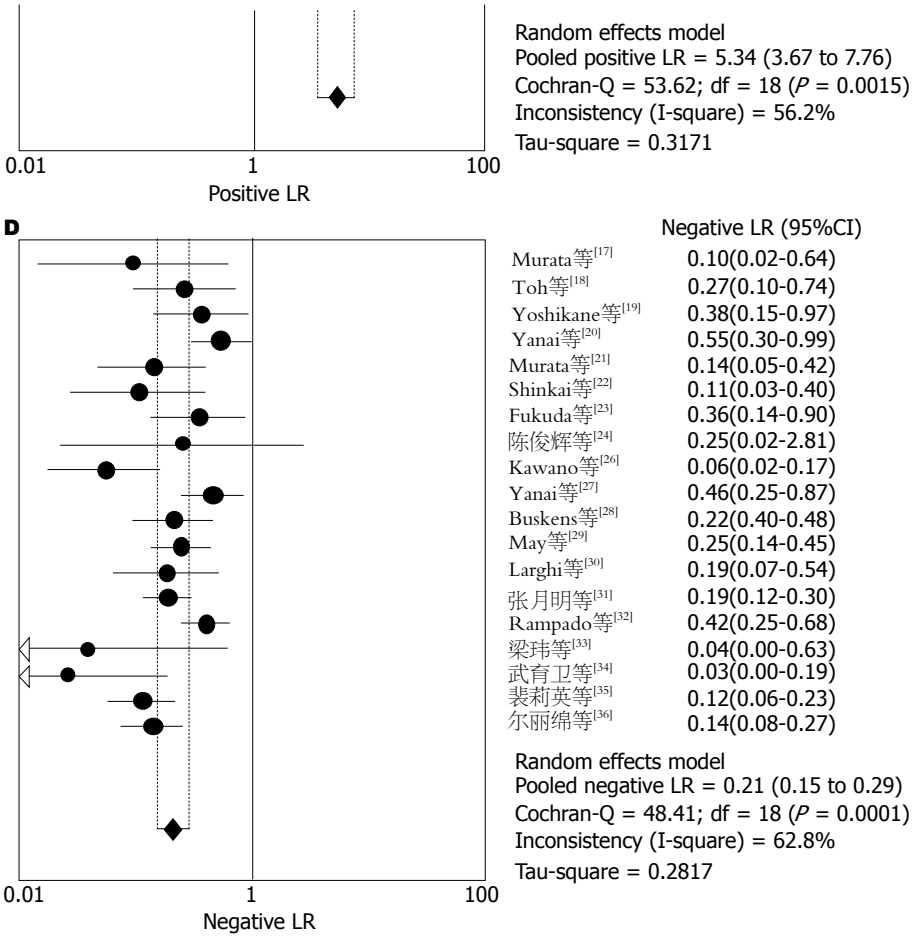


图 1 早期食管癌T1m期各指标的森林图. A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比.

■同行评价
本研究目的合理, 有可行性及临床意义, 收集的文献较全面, Meta分析步骤合理, 明确了EUS的诊断价值.

表 2 针对年限、诊断设备、和研究国家等研究特点进行的Meta回归分析结果

回归分析	回归系数	*P*值	OR值(95%CI)
年限(1988–2000年对2001–2013年)	0.240	0.726	1.27(0.30–5.42)
诊断设备(EUS对MPS)	–0.043	0.448	0.96(0.85–1.08)
国家(日本、中国对其他)	0.962	0.034	2.62(1.09–6.30)

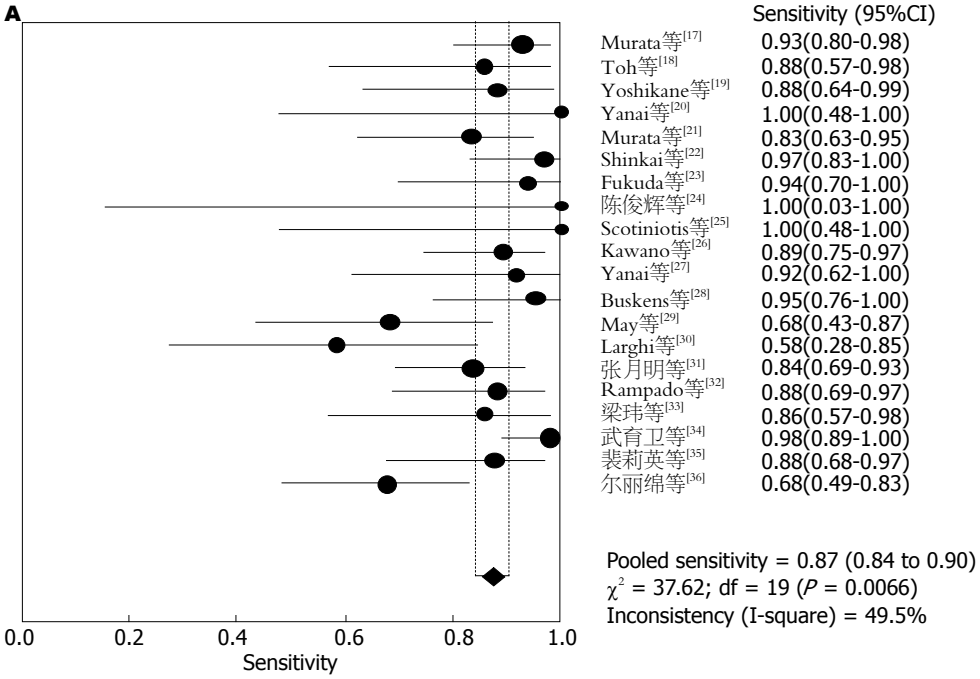
EUS: 超声内镜; MPS: 小探头超声内镜.

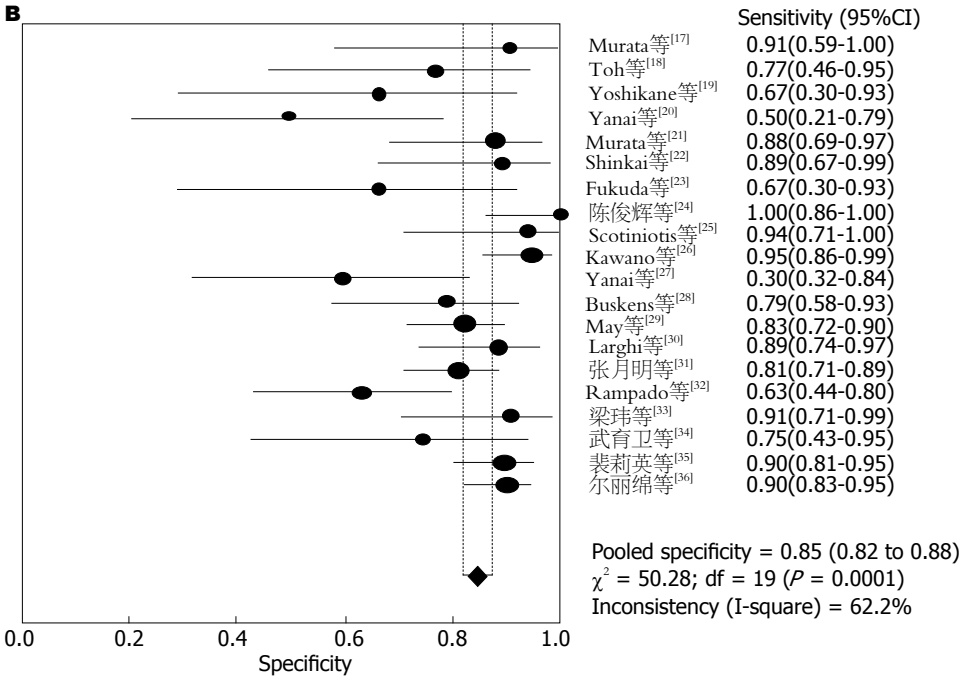
们发现研究年限在1988-2000年的T1m期、T1sm期诊断DOR(39.99、32.58)较2001-2013年DOR(28.99、28.89)增高, 提示诊断实验的判别效果较前好, 并发现同时联合应用高频微小探头检查的研究组的诊断DOR(37.01、34.28)较仅用低频超声探头组的诊断DOR(29.35、30.56)高, 更有趣的发现是来自日本和中国研究组的诊断DOR值明显高于其他国家的水平, SROC曲线下面积AUC分别为0. 95、0.95, 提示诊断试验的诊断准确性较高.

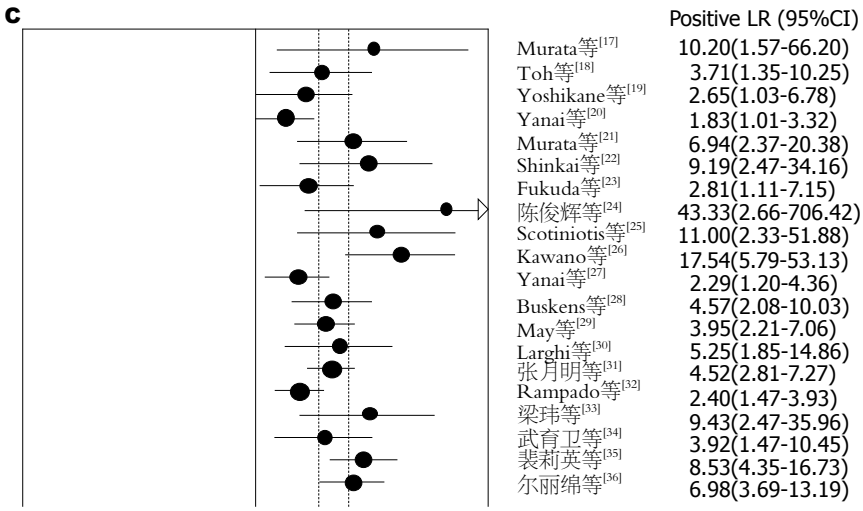
2.2.3 发表偏倚分析结果: Begg-Mazumdar法检验发表偏倚结果提示的Kendall's tau b值为16(P = 0.216), 其相应的漏斗图各散点分布均匀, 且都在可信区间内; Harbord-Egger检验结果为t = 0.350(95%CI: -0.2310-1.2781, P = 0.412), Egger回归图截距段横跨0点. 故纳入Meta分析的文献结果之间无发表偏倚.

3 讨论

食管癌是较常见的食管疾病, 恶性程度高, 晚期患者手术机会小, 生存率较低, 而早期食管癌的5年生存率高达90%-100%, 因此根治的关键是提高早期诊断率. 早期食管癌及癌前病变的内镜下表现轻微或无异常表现, 常规内镜发现率


A
Sensitivity (95%CI)
Murata等[17] 0.93(0.80-0.98)
Toh等[18] 0.88(0.57-0.98)
Yoshikane等[19] 0.88(0.64-0.99)
Yanai等[20] 1.00(0.48-1.00)
Murata等[21] 0.83(0.63-0.95)
Shinkai等[22] 0.97(0.83-1.00)
Fukuda等[23] 0.94(0.70-1.00)
陈俊辉等[24] 1.00(0.03-1.00)
Scotiniotis等[25] 1.00(0.48-1.00)
Kawano等[26] 0.89(0.75-0.97)
Yanai等[27] 0.92(0.62-1.00)
Buskens等[28] 0.95(0.76-1.00)
May等[29] 0.68(0.43-0.87)
Larghi等[30] 0.58(0.28-0.85)
张月明等[31] 0.84(0.69-0.93)
Rampado等[32] 0.88(0.69-0.97)
梁玮等[33] 0.86(0.57-0.98)
武育卫等[34] 0.98(0.89-1.00)
裴莉英等[35] 0.88(0.68-0.97)
尔丽绵等[36] 0.68(0.49-0.83)
Pooled sensitivity = 0.87 (0.84 to 0.90)
χ^2 = 37.62; df = 19 (P = 0.0066)
Inconsistency (I-square) = 49.5%
0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0
Sensitivity


B
Sensitivity (95%CI)
Murata等[17] 0.91(0.59-1.00)
Toh等[18] 0.77(0.46-0.95)
Yoshikane等[19] 0.67(0.30-0.93)
Yanai等[20] 0.50(0.21-0.79)
Murata等[21] 0.88(0.69-0.97)
Shinkai等[22] 0.89(0.67-0.99)
Fukuda等[23] 0.67(0.30-0.93)
陈俊辉等[24] 1.00(0.86-1.00)
Scotiniotis等[25] 0.94(0.71-1.00)
Kawano等[26] 0.95(0.86-0.99)
Yanai等[27] 0.30(0.32-0.84)
Buskens等[28] 0.79(0.58-0.93)
May等[29] 0.83(0.72-0.90)
Larghi等[30] 0.89(0.74-0.97)
张月明等[31] 0.81(0.71-0.89)
Rampado等[32] 0.63(0.44-0.80)
梁玮等[33] 0.91(0.71-0.99)
武育卫等[34] 0.75(0.43-0.95)
裴莉英等[35] 0.90(0.81-0.95)
尔丽绵等[36] 0.90(0.83-0.95)
Pooled specificity = 0.85 (0.82 to 0.88)
χ^2 = 50.28; df = 19 (P = 0.0001)
Inconsistency (I-square) = 62.2%
0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0
Specificity


C
Positive LR (95%CI)
Murata等[17] 10.20(1.57-66.20)
Toh等[18] 3.71(1.35-10.25)
Yoshikane等[19] 2.65(1.03-6.78)
Yanai等[20] 1.83(1.01-3.32)
Murata等[21] 6.94(2.37-20.38)
Shinkai等[22] 9.19(2.47-34.16)
Fukuda等[23] 2.81(1.11-7.15)
陈俊辉等[24] 43.33(2.66-706.42)
Scotiniotis等[25] 11.00(2.33-51.88)
Kawano等[26] 17.54(5.79-53.13)
Yanai等[27] 2.29(1.20-4.36)
Buskens等[28] 4.57(2.08-10.03)
May等[29] 3.95(2.21-7.06)
Larghi等[30] 5.25(1.85-14.86)
张月明等[31] 4.52(2.81-7.27)
Rampado等[32] 2.40(1.47-3.93)
梁玮等[33] 9.43(2.47-35.96)
武育卫等[34] 3.92(1.47-10.45)
裴莉英等[35] 8.53(4.35-16.73)
尔丽绵等[36] 6.98(3.69-13.19)

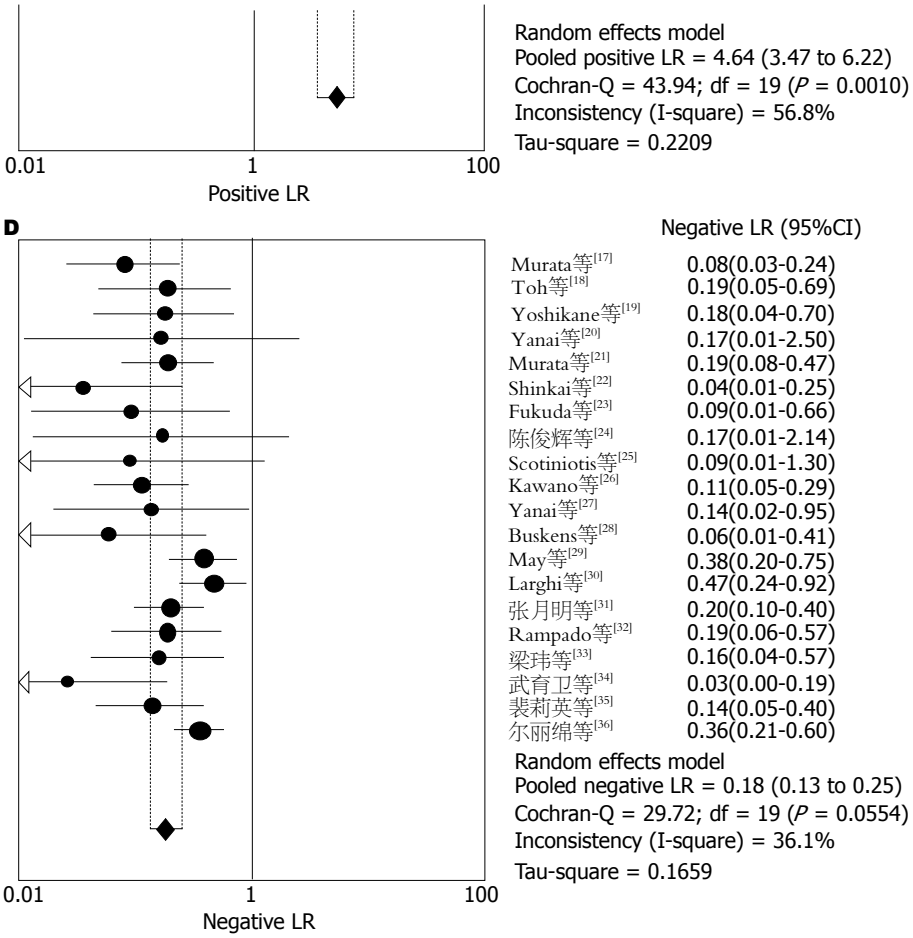


图 2 早期食管癌T1sm期各指标的森林图. A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比.

表 3 针对年限、诊断频率、和研究国家等研究特点进行的亚组分析结果

	n	敏感度(95%CI)	特异度(95%CI)	OR值 (95%CI)	AUC
T1m期					
总体研究	19	0.86(0.83–0.88)	0.86(0.82–0.89)	35.24(23.02–75.04)	0.92
研究时间1988–2000年	5	0.77(0.66–0.86)	0.89(0.81–0.94)	28.99(11.44–72.92)	0.93
研究时间2001–2013年	14	0.87(0.84–0.90)	0.85(0.81–0.89)	39.99(20.19–79.19)	0.93
EUS	3	0.79(0.61–0.91)	0.90(0.81–0.96)	29.35(8.63–99.85)	0.93
EUS+20 MHz	16	0.86(0.83–0.89)	0.85(0.81–0.89)	37.01(20.32–67.40)	0.96
日本EUS+20 MHz	9	0.83(0.76–0.89)	0.91(0.85–0.96)	53.95(21.42–135.71)	0.95
中国EUS+20 MHz	6	0.92(0.88–0.95)	0.82(0.74–0.88)	51.40(20.92–125.31)	0.95
其他国家EUS+20 MHz	4	0.80(0.73–0.86)	0.81(0.70–0.89)	13.71(6.62–28.8)	0.86
T1sm期					
总体研究	20	0.87(0.84–0.90)	0.85(0.82–0.88)	30.27(19.36–47.33)	0.91
研究时间1988–2000年	8	0.89(0.81–0.94)	0.77(0.66–0.86)	28.89(11.44–72.92)	0.93
研究时间2001–2013	12	0.87(0.82–0.90)	0.86(0.83–0.89)	32.58(18.54–52.27)	0.92
EUS	4	0.91(0.82–0.96)	0.84(0.71–0.93)	30.56(11.04–108.19)	0.91
EUS+20 MHz	16	0.86(0.82–0.90)	0.85(0.82–0.88)	34.28(18.15–50.51)	0.96
日本的研究	9	0.91(0.85–0.96)	0.83(0.76–0.89)	54.24(21.67–135.74)	0.95
中国的研究	6	0.85(0.78–0.91)	0.89(0.85–0.93)	33.17(16.89–65.17)	0.92
其他国家的研究	5	0.81(0.70–0.89)	0.80(0.73–0.86)	13.71(6.62–28.38)	0.86

EUS: 超声内镜; AUC: 曲线下面积.

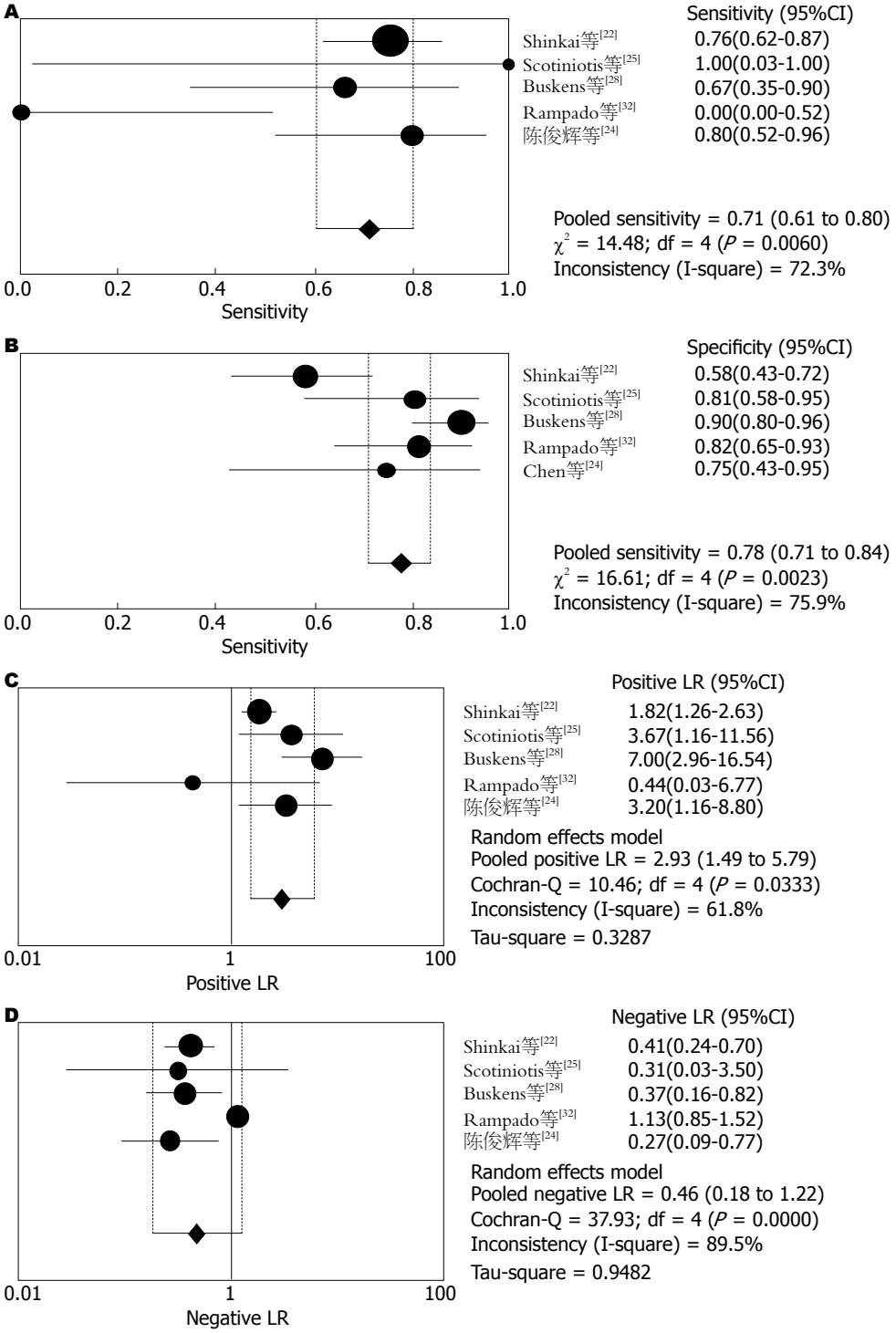


图 3 早期食管癌N期各指标的森林图. A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比.

不高[37,38], 超声内镜是近十几年来兴起的一种将内镜与超声结合为一体的新型检查技术, 一方面通过内镜直接观察消化系腔内的形态改变, 一方面又可以进行实时超声扫描, 以获得管道层次的组织学特征及周围邻近脏器的超声图像, 从而提高了内镜与超声的双重诊断水平. 而超声微探头的使用始于1992年, 与普通超声内镜相比, 其具有频率高、可直视下操作、用途广泛等特点, 尤其适用于早期癌的诊断及黏膜下微小病变的鉴别, 指导黏膜及黏膜下病变的内镜切除. 对于早期食管癌, 超声内镜检查的意义在于精确区分癌灶的大小、边缘、包膜、内部回声及其均匀性、有无周围淋巴结肿大和邻近脏器情况, 特别是准确评估病变的浸润深度, 在明确病变未超过黏膜肌层, 无淋巴结转移时, 采取EMR和ESD治疗将病变精确切除, 患者可以

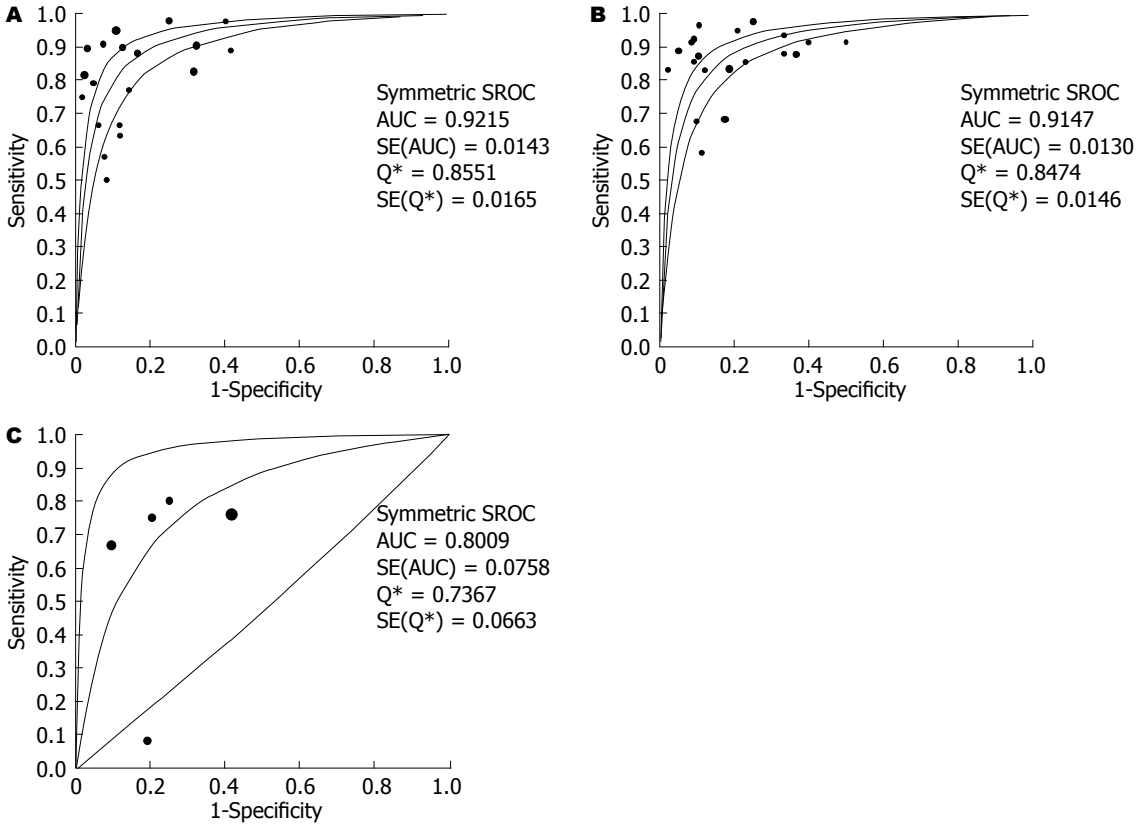


图 4 早期食管癌各期的SROC曲线图. A: T1m期的SROC曲线; B: T1sm期的SROC曲线; C: N期的SROC曲线.

治愈, 并较外科手术更安全, 创伤更小[39,40]. 在过去的20年中, 超声内镜对于早期食管癌分期的准确性有大量的研究报道, 部分研究表明EUS高估了病变浸润深度, 对可切除性的评估较为保守; 或EUS低估了病变浸润深度, 造成对内镜可切除性的评估不充分.

本研究通过采用诊断试验的系统评价方法对超声内镜在早期食管癌分期的诊断准确性价值进行分析并寻找影响异质性的因素. 本Meta分析总共纳入20篇文献, 共有1115例研究对象, 通过QUADAS方法对纳入文献的评价结果显示文献质量评分为A的16篇, 为B的2篇, 为C的1篇. 纳入研究间未发现发表偏移. Meta分析结果显示: EUS对T1m-T1sm期的诊断准确性均较高, 其合并敏感性(sensitivity, se)分别为85.0%、87.0%, 合并特异性(specificity, sp)分别为86.0%、85.0%, EUS对早期食管癌N分期的并se和sp分别为71%和78%, 但N期指标总体准确性均低于T1分期. T1m期、T1sm期及N期的汇总阳性似然比(positive likelihood ratio, PLR)分别为5.34、4.64、2.93, 提示EUS试验结果为阳性时, 疑似病例可基本确诊为恶性肿瘤; T1m期、T1sm期及N期的汇总阴性似然比(negative likelihood ratio, NLR)分别为0.21、0.18、0.46, 提示诊断试验结果为阴性时, 疑似病例可基本排除为恶性肿瘤; T1m期、T1sm期及N期的诊断汇总DOR分别为34.17、30.56、6.64, 提示诊断试验的判断效果较好, T1m期、T1sm期及N期的SROC AUC分别为0. 92、0.91、0.80, 提示诊断试验的诊断准确性较高. 以上结果表明, EUS对于早期食管癌的T1m、T1sm分期诊断具有较高的敏感度和特异度, 诊断准确性较好, 可以作为T1分期重要的检测手段, 同时EUS对N分期具有较低的敏感度和特异度, 诊断确性较差. 为探讨异质性来源, 我们进行了回归分析和亚组分析, 我们发现来自日本和中国的研究有较高的敏感性、特异性、阳性似然比、DOR和较低的阴性似然比, 这些结果与Thosani[41]于2012年新近发表的荟萃分析结果相似, 我们进一步的回归分析推测可能与不同的操作医生的经验有关, Tsuzuki[42]报道, 影响EUS对上消化道浅表癌内镜下可切除性判断能力的主要因素如下: (1)内镜操作医生的主观因素: 主要是操作经验的影响, 操作不熟练时, 对超声探头的探查位置控制不当, 超声波不能与病灶部位垂直而有倾斜、偏向扫描, 导致影像显示不佳; 经验不足时, 对超声图像的判读也

易有误; 另外, 当胃镜病理已确诊为癌, 而 EUS 下不能十分明确地区分浸润深度时, 由于担心患者潜在淋巴结转移的风险, 操作医生更倾向于出具黏膜下层受侵犯的报告而建议患者手术切除; (2)器械的影响: 当采用15 MHz以下的频率探查时, 对浅表病变显示的清晰度不够, 不易察觉局部的微小破坏; (3)病变本身的影响: 溃疡表面坏死组织及瘢痕纤维化和结缔组织增生, 周围的炎症误认为肿瘤浸润, 易造成分期过度; 病变面积过大时, 小探头不能全面探查, 可能漏诊黏膜下层浸润. 我们同时在对超声内镜的使用频率不同进行亚组分析中发现, 联合应用20 MHz的EUS组较EUS的研究组的敏感性、特异性及DOR值增高, Murata[21]报道高频微小探头超声其对黏膜层、黏膜下层、固有肌层的诊断准确率可分别达到100%、83%、100%. 20 MHz微探头穿透深度为1 cm, 可分辨相距仅0.2 mm的两个点,与频率为7.5 MHz和12 MHz的传统超声内镜相比, 频率为20 MHz的超声微探头对黏膜层和黏膜下层具有更高的分辨率.

由于本次纳入研究的文献仅为英文和中文, 可能遗漏使用其他语言撰写的研究, 而且文献结果间存在不同层面的偏倚. 纳入研究对早期食管癌淋巴结转移情况的评价方法存在一定差异, 多数研究仅评价是否存在淋巴结转移(即N-或N), 仅少数研究严格按照UICC, 故本研究纳入相关研究样本量较小, 该结论尚需大样本诊断试验研究加以证实.

总之, 我们系统评价的结果提示超声内镜对诊断早期食管癌T1m期和T1sm期的准确性分期具有较高的敏感度和特异度, 但其结果受检查者的经验, 超声内镜选择及频率的种类等因素影响. 在未来的研究中需进一步的探究相关的影响因素并且能使超声内镜的检查标准化, 从而全面提高早期食管癌诊断的准确性.

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 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]

2 张合林, 平育敏, 杜喜群. 应用COX模型分析影响食管癌切除术后预后因素. 中华肿瘤杂志 1999; 21: 32-34

3 Fujishiro M. Endoscopic submucosal dissection for stomach neoplasms. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5108-5112 [PMID: 16937520 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2006.00638.x]

4 Ishikawa S, Togashi A, Inoue M, Honda S, Nozawa F, Toyama E, Miyanari N, Tabira Y, Baba H. Indications for EMR/ESD in cases of early gastric cancer: relationship between histological type, depth of wall invasion, and lymph node metastasis. *Gastric Cancer* 2007; 10: 35-38 [PMID: 17334716 DOI: 10.1007/s10120-006-0407-2]

5 朱良松, 单红, 王美玲, 王秀侠, 陆军, 贾国法. 内镜黏膜切除术治疗早期食管癌及癌前病变. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 328-330

6 Stahl M, Budach W, Meyer HJ, Cervantes A. Esophageal cancer: Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 5: v46-v49 [PMID: 20555101 DOI: 10.1093/annonc/mdp121]

7 Millikan KW, Silverstein J, Hart V, Blair K, Bines S, Roberts J, Doolas A. A 15-year review of esophagectomy for carcinoma of the esophagus and cardia. *Arch Surg* 1995; 130: 617-624 [PMID: 7763170 DOI: 10.1001/archsurg.1995.01430060055011]

8 Svanes K, Stangeland L, Viste A, Varhaug JE, Grønbech JE, Søreide O. Morbidity, ability to swallow, and survival, after oesophagectomy for cancer of the oesophagus and cardia. *Eur J Surg* 1995; 161: 669-675 [PMID: 8541426]

9 Hünerbein M, Ulmer C, Handke T, Schlag PM. Endosonography of upper gastrointestinal tract cancer on demand using miniprobes or endoscopic ultrasound. *Surg Endosc* 2003; 17: 615-619 [PMID: 12582774 DOI: 10.1007/s00464-002-8622-3]

10 Crumley AB, Going JJ, McEwan K, McKernan M, Abela JE, Shearer CJ, Stanley AJ, Stuart RC. Endoscopic mucosal resection for gastroesophageal cancer in a U.K. population. Long-term follow-up of a consecutive series. *Surg Endosc* 2011; 25: 543-548 [PMID: 20623237 DOI: 10.1007/s00464-010-1213-9]

11 Pech O, Behrens A, May A, Nachbar L, Gossner L, Rabenstein T, Manner H, Guenter E, Huijsmans J, Vieth M, Stolte M, Ell C. Long-term results and risk factor analysis for recurrence after curative endoscopic therapy in 349 patients with high-grade intraepithelial neoplasia and mucosal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. *Gut* 2008; 57: 1200-1206 [PMID: 18460553 DOI: 10.1136/gut.2007.142539]

12 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 DOI: 10.1186/1471-2288-3-25]

13 Reed CE. Surgical management of esophageal carcinoma. *Oncologist* 1999; 4: 95-105 [PMID: 10337379]

14 Devillé WL, Buntinx F, Bouter LM, Montori VM, de Vet HC, van der Windt DA, Bezemer PD. Conducting systematic reviews of diagnostic studies: didactic guidelines. *BMC Med Res Methodol* 2002; 2: 9 [PMID: 12097142 DOI: 10.1186/1471-2288-2-9]

15 Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990 DOI: 10.2307/2533446]

16 Harbord RM, Egger M, Sterne JA. A modified test for small-study effects in meta-analyses of controlled trials with binary endpoints. *Stat Med* 2006; 25: 3443-3457 [PMID: 16345038 DOI: 10.1002/sim.2380]

17 Murata Y, Suzuki S, Hashimoto H. Endoscopic ultrasonography of the upper gastrointestinal tract. *Surg Endosc* 1988; 2: 180-183 [PMID: 3070801 DOI: 10.1007/BF02498796]

18 Toh Y, Baba K, Ikebe M, Adachi Y, Kuwano H,

Sugimachi K. Endoscopic ultrasonography in the diagnosis of an early esophageal carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1993; 40: 212-216 [PMID: 8325585]
19 Yoshikane H, Tsukamoto Y, Niwa Y, Goto H, Hase S, Shimodaira M, Maruta S, Miyata A, Yoshida M. Superficial esophageal carcinoma: evaluation by endoscopic ultrasonography. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 702-707 [PMID: 8172141]
20 Yanai H, Yoshida T, Harada T, Matsumoto Y, Nishiaki M, Shigemitsu T, Tada M, Okita K, Kawano T, Nagasaki S. Endoscopic ultrasonography of superficial esophageal cancers using a thin ultrasound probe system equipped with switchable radial and linear scanning modes. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 578-582 [PMID: 8934165 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70012-3]
21 Murata Y, Suzuki S, Ohta M, Mitsunaga A, Hayashi K, Yoshida K, Ide H. Small ultrasonic probes for determination of the depth of superficial esophageal cancer. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 23-28 [PMID: 8836712 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70224-9]
22 Shinkai M, Niwa Y, Arisawa T, Ohmiya N, Goto H, Hayakawa T. Evaluation of prognosis of squamous cell carcinoma of the oesophagus by endoscopic ultrasonography. *Gut* 2000; 47: 120-125 [PMID: 10861273 DOI: 10.1136/gut.47.1.120]
23 Fukuda M, Hirata K, Natori H. Endoscopic ultrasonography of the esophagus. *World J Surg* 2000; 24: 216-226 [PMID: 10633149 DOI: 10.1007/s002689910035]
24 陈俊辉, 曹伟华, 施广石, 陈传津, 王玉芝, 徐小华, 陈岳华. 微探头超声内镜对食管癌的诊断价值. 中国内镜杂志 2000; 6: 13-14
25 Scotiniotis IA, Kochman ML, Lewis JD, Furth EE, Rosato EF, Ginsberg GG. Accuracy of EUS in the evaluation of Barrett's esophagus and high-grade dysplasia or intramucosal carcinoma. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 689-696 [PMID: 11726843 DOI: 10.1067/mge.2001.119216]
26 Kawano T, Ohshima M, Iwai T. Early esophageal carcinoma: endoscopic ultrasonography using the Sonoprobe. *Abdom Imaging* 2003; 28: 477-485 [PMID: 14580090 DOI: 10.1007/s00261-002-0076-5]
27 Yanai H, Harada T, Okamoto T, Hirano A, Takeo N, Yoshida T, Okita K, Kawano T. Prognostic value and interobserver agreement of endoscopic ultrasonography for superficial squamous cell carcinoma of the esophagus: a prospective study. *Int J Gastrointest Cancer* 2003; 34: 1-8 [PMID: 15235130]
28 Buskens CJ, Westerterp M, Lagarde SM, Bergman JJ, ten Kate FJ, van Lanschot JJ. Prediction of appropriateness of local endoscopic treatment for high-grade dysplasia and early adenocarcinoma by EUS and histopathologic features. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 703-710 [PMID: 15557945 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)02017-6]
29 May A, Günter E, Roth F, Gossner L, Stolte M, Vieth M, Ell C. Accuracy of staging in early oesophageal cancer using high resolution endoscopy and high resolution endosonography: a comparative, prospective, and blinded trial. *Gut* 2004; 53: 634-640 [PMID: 15082579 DOI: 10.1136/gut.2003.029421]
30 Larghi A, Lightdale CJ, Memeo L, Bhagat G, Okpara N, Rotterdam H. EUS followed by EMR for staging of high-grade dysplasia and early cancer in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 16-23 [PMID: 15990814 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)00319-6]
31 张月明, 程贵余, 贺舜, 苏凯, 吕宁, 薛丽燕, 倪晓光, 张蕾, 赖少清, 李晓燕, 于桂香, 鞠凤环, 王贵齐. 联合应用超声内镜与超声小探头在早期食管癌术前分期中的作用. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 138-141
32 Rampado S, Bocus P, Battaglia G, Ruol A, Portale G, Ancona E. Endoscopic ultrasound: accuracy in staging superficial carcinomas of the esophagus. *Ann Thorac Surg* 2008; 85: 251-256 [PMID: 18154819 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2007.08.021]
33 梁玮, 邓万银, 王丽珍, 林德琴, 何利平. 超声内镜在早期食管癌和癌前病变治疗中的价值. 福建医科大学学报 2009; 43: 455-466
34 武育卫, 彭贵勇, 胡文华, 高春芳, 郭先科, 房殿春. 食管早期癌和癌前病变超声内镜诊断及内镜下食管黏膜切除术的临床研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 785-788
35 裴莉英, 邹晓平, 张晓琦. 高频小探头内镜超声对上消化道浅表癌浸润深度的判断价值. 中华全科医学 2012; 10: 1873-1874
36 尔丽绵, 张立玮, 徐志彬, 袁丽, 吴明利, 王顺平, 高扬, 曹颖. 超声小探头对高发区早期食管癌及癌前病变术前治疗的评估及其影响因素. 中国内镜杂志 2013; 19: 239-242
37 Lu Z, Huang XQ. Advanced in diagnosis of esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000; 8: 1017-1019
38 Zheng GL. Endoscopic sequence diagnosis of esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000; 8: 1019-1020
39 Kelly S, Harris KM, Berry E, Hutton J, Roderick P, Cullingworth J, Gathercole L, Smith MA. A systematic review of the staging performance of endoscopic ultrasound in gastro-oesophageal carcinoma. *Gut* 2001; 49: 534-539 [PMID: 11559651 DOI: 10.1136/gut.49.4.534]
40 Tajima Y, Nakanishi Y, Ochiai A, Tachimori Y, Kato H, Watanabe H, Yamaguchi H, Yoshimura K, Kusano M, Shimoda T. Histopathologic findings predicting lymph node metastasis and prognosis of patients with superficial esophageal carcinoma: analysis of 240 surgically resected tumors. *Cancer* 2000; 88: 1285-1293 [PMID: 10717608]
41 Thosani N, Singh H, Kapadia A, Ochi N, Lee JH, Ajani J, Swisher SG, Hofstetter WL, Guha S, Bhutani MS. Diagnostic accuracy of EUS in differentiating mucosal versus submucosal invasion of superficial esophageal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 242-253 [PMID: 22115605 DOI: 10.1016/j.gie.2011.09.016]
42 Tsuzuki T, Okada H, Kawahara Y, Nasu J, Takenaka R, Inoue M, Kawano S, Kita M, Hori K, Yamamoto K. Usefulness and problems of endoscopic ultrasonography in prediction of the depth of tumor invasion in early gastric cancer. *Acta Med Okayama* 2011; 65: 105-112 [PMID: 21519368 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.362]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1000-1004
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胃癌患者血清热休克蛋白27、90的检测

袁建明, 刘 涛, 沈建康, 王天翔

■背景资料
自1974年美国学者Tissiers等发现热休克蛋白, 其作为一种应激反应产物逐渐为人们所认识, 并发现其在多种肿瘤组织中高表达, 与肿瘤的发生、发展以及免疫逃逸存在联系.

袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔, 上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院普外科 上海市 200020
袁建明, 普外科主治医师, 主要从事胃癌的临床和基础研究.
上海市卫计委基金资助项目, No. 20134461
作者贡献分布: 袁建明与刘涛对此文所作贡献均等; 此课题由袁建明、刘涛及王天翔设计; 研究过程由袁建明、刘涛、沈建康及王天翔操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由沈建康提供; 数据分析由袁建明与沈建康完成; 本论文写作由袁建明、刘涛、沈建康及王天翔完成.
通讯作者: 刘涛, 主任医师, 200020, 上海市重庆南路149号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院普外科.
taoliu1215@163.com
电话: 021-63684050-510704
收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-01-07
接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

Detection of serum HSP27 and HSP90 in patients with gastric carcinoma

Jian-Ming Yuan, Tao Liu, Jian-Kang Shen, Tian-Xiang Wang

Jian-Ming Yuan, Tao Liu, Jian-Kang Shen, Tian-Xiang Wang, Department of Surgery, Luwan Branch of Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200020, China
Supported by: Health and Family Planning Commission Funded Projects of Shanghai, No. 20134461
Correspondence to: Tao Liu, Department of Surgery, Luwan Branch of Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 149 Chongqing South Road, Shanghai 200020, China. taoliu1215@163.com
Received: 2013-12-08 Revised: 2014-01-07
Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To detect the expression of heat shock protein (HSP) 27 and HSP90, and to investigate their correlations with clinical and pathological indexes of gastric carcinoma.

METHODS: HSP27 and HSP90 levels were determined by ELISA in sera from 42 patients with gastric carcinoma and 40 healthy controls. ANOVA and Pearson or Spearman correlation analysis were used to investigate the relationship between serum levels of HSP27 and HSP90 and pathological types, pathological stage and TNM stage, and survival.

RESULTS: Serum levels of HSP27 and HSP90 were significantly higher in patients with gastric carcinoma than in healthy controls. Serum levels of HSP27 differed significantly between patients with T4 disease and T1-3 disease (P = 0.036), but showed no significant correlation with pathological type, pathological stage or TNM stage. Pearson correlation analysis showed a significant relationship between serum levels of HSP27 and those of HSP90 (r = 0.321, P = 0.038). Spearman correlation analysis showed no significant relationship between serum levels of HSP27 or HSP90 and pathological type, pathological stage or TNM stage. Kaplan-Meier analysis did not show any significant relationship between serum levels of HSP27 or HSP90 and the survival rate of the patients.

CONCLUSION: Serum levels of HSP27 and HSP90 may be closely related to the development of gastric carcinoma. Serum levels of HSP27 significantly correlate with those of HSP90 in patients with gastric carcinoma.

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

Key Words: HSP27; HSP90; Gastric carcinoma

Yuan JM, Liu T, Shen JK, Wang TX. Detection of serum HSP27 and HSP90 in patients with gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1000-1004 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1000.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1000

摘要

目的: 检测胃癌患者血清热休克蛋白(heat shock protein, HSP)27、90的含量, 探讨其与胃癌临床及病理指标, 以及预后的关系.

方法: 应用ELISA方法测定42例胃癌患者血清标本中HSP27、90的含量, 并与40例同期正常对照组的血清标本作对比分析. 同时采用单因素方差分析和相关分析探寻HSP27、90的浓度与胃癌病理类型、病理分期及TNM分期的关系, 并通过生存分析探寻其与胃癌预后的关系.

结果: 胃癌患者血清HSP27、90的表达显著高

■同行评议者
张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

于正常对照者(P = 0.000). 在胃癌患者中, 血清HSP27、90在不同病理类型、病理分期及TNM分期中均无显著差异, 仅HSP27在T4组显著高于其他组(P = 0.036). Pearson相关分析显示, 血清HSP27和HSP90之间呈显著相关(r = 0.321, P = 0.038), Spearman相关分析显示, 血清HSP27、90的表达与病理类型、病理分期及TNM分期无显著相关关系. Kaplan-Meier生存分析未得出血清HSP27、90和胃癌预后的相关关系.

结论: 血清HSP27、90表达与胃癌的发病密切相关, 可作为协同判断胃癌发病的指标, 且两者表达呈正相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 热休克蛋白27; 热休克蛋白90; 胃癌

核心提示: 胃癌患者血清热休克蛋白(heat shock protein, HSP)27、90的表达显著高于正常对照者. 提示血清HSP27、90表达与胃癌的发病密切相关, 可作为协同判断胃癌发病的指标. 在胃癌患者中, 血清HSP27、90两者的表达显著相关, 提示两者存在某种内在联系.

袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔. 胃癌患者血清热休克蛋白27、90的检测. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1000-1004 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1000.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1000

0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 因其早期症状的隐匿性, 诊断多为中晚期. 热休克蛋白(heat shock protein, HSP)又称应激蛋白, 广泛存在于真核生物细胞中, 由一系列高度保守蛋白组成, 他们在机体理化环境受到侵扰时表达, 使细胞在致命条件下得以存活[1]. HSP按其相对分子质量大小和同源程度可分为不同类型, 显示特定的表达部位和生理功能. HSP家族的几个主要亚型有HSP27、HSP60、HSP70、HSP90. 本研究拟采用ELISA方法对42例胃癌患者血清中HSP27和HSP90的含量进行检测, 探讨HSP27和HSP90的表达与胃癌临床及病理指标, 以及预后的相关性, 并对其临床意义作一研究.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌患者的血清标本取自2008-03/2008-07在我院手术的胃癌患者, 对照组血清取自同期健康体检人群. 所有患者术前均未进行过放化疗及抗肿瘤药物等治疗, 均有完整的临床及病理资料. 纳入的胃癌患者共42例, 女16例, 男26例, 平均年龄60.0岁±12.8岁. 病理组织学类型: 低分化腺癌24例, 中分化腺癌10例, 高分化腺癌8例. TNM分期使用2010年美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第七版: Ⅰ期5例, Ⅱ期12例, Ⅲ期20例, Ⅳ期5例. 浸润深度(T): T1 2例, T2 4例, T3 29例, T4 7例. 淋巴结转移者26例(其中N1 16例, N2 7例, N3 3例), 无淋巴结转移者(N0)16例; 远处转移者(M1)1例. 另外, 纳入同期正常对照组血清标本40例, 女17例, 男23例, 平均年龄59.7岁±13.1岁. 病例组与对照组间在年龄和性别构成方面无统计学差异. 随访中有1例患者于术后36 mo失访, 其余患者随访47 mo以上. ELISA试剂盒为ADL公司产品, 其中包括底物、检测抗体、结合抗体、稀释液及终止剂.

1.2 方法 采用ELISA方法, 按照试剂盒说明严格执行. 具体步骤包括: (1)加样: 分别设空白孔、标准孔、待测样品孔. 空白孔加样品稀释液100 μL, 余孔分别加标准品或待测样品100 μL, 37 ℃反应120 min; (2)弃去液体, 甩干, 每孔加检测溶液A工作液100 μL(在使用前1 h内配制), 酶标板加上覆膜, 37 ℃反应60 min; (3)温育60 min后, 弃去孔内液体, 甩干, 洗板3次, 每次浸泡1-2 min, 大约400 μL/每孔, 甩干; (4)每孔加检测溶液B工作液100 μL, 酶标板加上覆膜37 ℃反应60 min; (5)温育60 min后, 弃去孔内液体, 甩干, 洗板5次, 每次浸泡1-2 min, 350 μL/每孔, 甩干; (6)依序每孔加底物溶液90 μL, 酶标板加上覆膜37 ℃避光显色; (7)依序每孔加终止溶液50 μL, 终止反应, 此时蓝色立转黄色; (8)用酶联仪在450 nm波长依序测量各孔的吸光度(A值), 在加终止液后立即进行检测. 测得其结果, 进行比较.

随访生存情况, 根据HSP27、90检测结果分为较高组(≥中位值)和较低组(<中位值), 比较其生存情况.

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学处理, 一般计量资料数据描述采用mean±SD表示, 满足正态和方差齐性的计量资料两组间比较采用t检验(t-test), 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 否则采用非参数统计中的秩和检验, 相关性分析采用Pearson相关分析和Spearman等级相关分析方法, 采用Kaplan-Meier生存分析绘制生存曲线. P<0.05为差异有统计学意义.

■**研发前沿**
热休克蛋白在多种肿瘤组织中高表达, 已较为明确. 然而其在血清中的表达, 即其对于肿瘤筛查和术前诊断的意义, 是目前研究的热点.

■相关报道
任宏等发现, 血清热休克蛋白27在胃癌术前高表达, 但在术后明显下调, 提示其作为肿瘤标志物的潜在意义.

表 1 血清HSP27和HSP90的表达 (mean ± SD, ng/mL)

分组	*n*	HSP27	*P*值	HSP90	*P*值
病例组	42	62.9 ± 4.1	0.000	73.0 ± 4.9	0.000
对照组	40	46.9 ± 6.3		59.5 ± 6.8	
病理类型			0.862		0.934
低分化腺癌	24	62.3 ± 4.5		72.9 ± 5.5	
中分化腺癌	10	62.0 ± 4.3		73.8 ± 5.4	
高分化腺癌	8	63.7 ± 4.2		72.9 ± 7.1	
病理分期			0.855		0.906
I	5	62.0 ± 4.2		71.8 ± 7.5	
II	12	62.5 ± 4.5		73.5 ± 5.1	
III	20	62.7 ± 4.3		72.8 ± 5.7	
IV	5	64.4 ± 4.3		74.0 ± 5.9	
T			0.080		0.866
T1	2	61.6 ± 0.0		72.5 ± 6.2	
T2	4	62.0 ± 4.9		71.0 ± 7.9	
T3	29	62.3 ± 3.7		73.1 ± 4.9	
T4	7	65.8 ± 5.4[1]		73.6 ± 4.4	
N			0.951		0.317
N0	16	62.3 ± 4.1		73.6 ± 5.8	
N1	16	63.0 ± 3.8		71.2 ± 3.7	
N2	7	63.2 ± 5.6		74.5 ± 5.5	
N3	3	62.2 ± 0.1		75.2 ± 5.3	

[1]仅T4与其他组存在显著差异(65.8 *vs* 62.1, *P* = 0.036). HSP: 热休克蛋白.

2 结果

2.1 血清HSP27和HSP90的表达 胃癌患者血清HSP27的平均表达浓度为62.9 ng/mL±4.1 ng/mL, HSP90的平均表达浓度为73.0 ng/mL±4.9 ng/mL; 正常对照组血清HSP27的平均表达浓度为46.9 ng/mL±6.3 ng/mL, HSP90的平均表达浓度为59.5 ng/mL±6.8 ng/mL(表1). *t*检验结果表明, 胃癌患者血清HSP27和HSP90的表达均显著高于正常对照组(P = 0.000). 在胃癌患者中, 对不同病理和临床指标间采用单因素方差分析, 结果表明在不同病理组织学类型中, 血清HSP27和HSP90的表达无统计学差异. 在不同病理分期中, 血清HSP27和HSP90的表达无统计学差异. 在不同浸润深度中, 血清HSP27的表达无统计学差异, 但T4组显著高于其他组(P = 0.036); 血清HSP90的表达无统计学差异. 在不同淋巴结转移中, 血清HSP27和HSP90的表达无统计学差异. 考虑到远处转移患者只有1例, 本研究中未进行HSP27和HSP90与远处转移间的统计学分析.

2.2 相关性分析结果 Spearman相关分析表明, 血清HSP27和HSP90分别与病理类型、病理分期及TNM分期无显著相关关系. Pearson相关分析显示, 血清HSP27和HSP90间呈正相关关系(r = 0.321, P = 0.038)(图1).

2.3 生存分析结果 Kaplan-Meier生存分析显示: HSP27较低组与较高组中位生存期分别为51 mo以上和42.0 mo(P = 0.536)(图2); HSP90较低组与较高组中位生存期分别为51 mo以上和25.0 mo(P = 0.169)(图3), 两者均未显示统计学意义.

3 讨论

HS是20世纪70年代由美国学者Tissieres等[2]发现的一类新的蛋白质. HSP具有多种生物学功能, 起着分子伴侣的作用, 具有维持蛋白稳定, 提高细胞生存等功能, 细胞生长、发育、分化以及基因转录中发挥重要作用[3]. 当机体理化环境受到侵扰时, *HSP*基因被激活, 表达HSP蛋白, 使细胞免于凋亡. Binder等[4]研究发现, 在正常细胞中HSP的表达受细胞周期调控, 但在肿瘤细胞中其表达无需应激. HSP抑制剂在肺腺癌[5]、乳癌[6]及前列腺癌[7]等癌症中参与调节肿瘤细胞的增殖、生存、侵袭、转移和血管生成等多种重要过程, 并可以提高肿瘤细胞的辐射敏感性[8].

HSP27是小分子HSP亚家族中重要的一员,

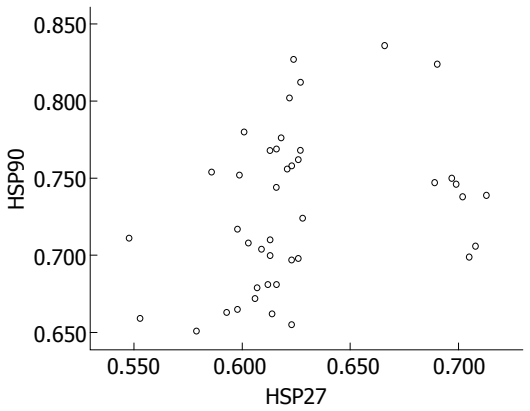


图 1 血清HSP27和HSP90分布散点图. HSP: 热休克蛋白.

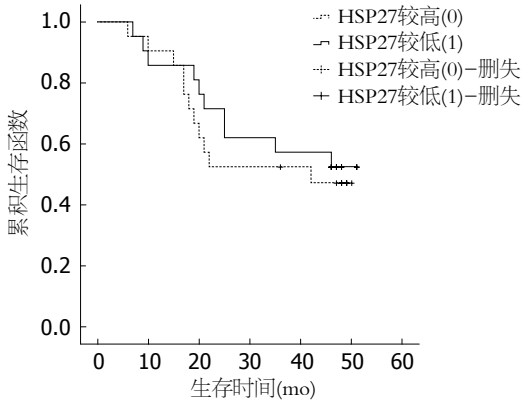


图 2 血清HSP27较低组和较高组胃癌患者生存函数图. HSP: 热休克蛋白.

参与了细胞的增殖、分化以及细胞凋亡的信号转导调节, 与肿瘤关系密切, 是一个涉及细胞生长、细胞凋亡、肿瘤的发生和转移等功能的重要蛋白, 在乳腺、肝、结肠、肺等多种肿瘤细胞中异常过表达, 并与肿瘤的恶性程度有关[9]. HSP90作为分子伴侣, 在蛋白质折叠、亚基组装以及调节细胞生长存活中具有重要作用[3]. 近年来研究发现, HSP90在多种实体肿瘤中高表达, 与肿瘤预后密切相关[10].

机体细胞在受到各种理化因素(如炎症、创伤、高温、病毒感染及肿瘤等)刺激时, 可发生应激反应, 产生分子量不同的蛋白质, 即HSP, 以维持细胞内环境稳定. 胃黏膜在受到各种刺激时, 会翻译和转录高水平HSP, 以发挥对胃黏膜细胞的保护作用[11]. 胃癌是胃黏膜长期受各种因素刺激和其他作用下逐渐发生癌变的, 此过程HSP合成不断增加. 在胃癌发展过程中, 癌细胞产生的HSP27和HSP90释放至血液, 引起外周血中含量升高, 提示检测外周血中HSP27和HSP90水平, 对发现胃癌有重要的意义.

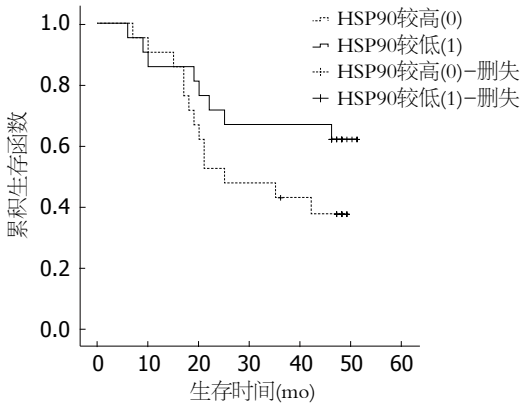


图 3 血清HSP90较低组和较高组胃癌患者生存函数图. HSP: 热休克蛋白.

■创新盘点

本研究从血清的层面分析胃癌患者和正常对照组血清热休克蛋白27、90的差异, 较组织层面的分析优势在于可以应用于临床, 对早期发现和诊断胃癌提供了新的思路. 另外本研究创新地发现了血清热休克蛋白27、90内在的相关性.

近年来, 有学者致力于研究HSP在胃癌组织中的表达, 而对HSP在胃癌患者血清中表达的报道较少. 孟庆松等[12]研究了血清HSP60在胃癌中的表达, 发现胃癌患者血清HSP60显著升高, 其检测可提高胃癌筛查的敏感度和准确性. 任宏等[13]应用质谱分析的方法, 研究了胃癌术前、术后以及正常对照组的血清蛋白质质谱, 结果发现, HSP27在胃癌术前表达上调, 但在术后下调. 本研究应用免疫组织化学的方法, 结果表明HSP27和HSP90在胃癌患者血清中亦显著高于正常对照组, 对胃癌的筛查和诊断具有一定的临床意义.

本研究结果显示, 血清HSP27和HSP90在不同的病理类型中并无统计学差异, 提示血清HSP27和HSP90的表达与病理类型无关. 在不同病理分期中, 血清HSP27和HSP90的表达并无升高的趋势, 结合Spearman相关分析, 无法得出HSP27和HSP90与病理分期之间有显著相关关系的结论. 但在浸润深度(T)分期中, 血清HSP27的表达T4组显著高于其他组, 提示血清HSP27的表达与不同肿瘤浸润程度之间存在一定的关联, 这与Giaginis等[14]在胃癌组织中得到的结果相仿. 这可能与随着肿瘤体积的增长, HSP27被不断释放入血有关. 但T1- T3分组分析并未得出显著性结论, 仍需更大样本的试验来进一步明确目前的结果.

本研究发现, 胃癌患者血清HSP27和HSP90两项指标之间存在显著正相关, 这或许提示在胃癌的发病中, 不同家族的HSP在激活时存在某种关联. 本研究中的相关分析尚未得出血清HSP27和HSP90与病理类型、病理分期及TNM分期之间的显著相关关系.

■同行评价
本文是一篇较实用的论文, 立题明确, 方法得当, 结论可靠: 血清热休克蛋白27、90表达与胃癌的发病密切相关, 可作为协同判断胃癌发病的指标. 临床重复性会很好, 有一定的临床意义.

本研究虽然在生存分析中未得出HSP27和HSP90与胃癌预后的阳性结果, 但从生存函数图, 尤其是HSP90与胃癌生存率的关系上, 已存在HSP90较高的患者预后较差的趋势, 这与Pick等[15]在乳癌中的研究相吻合. 若进一步扩大样本, 并结合免疫组织化学技术检测胃癌组织中HSP27和HSP90表达, 并在术后随访患者血清HSP27和HSP90的含量, 研究HSP27和HSP90与患者预后间的关系, 则可得出更加有意义的结论.

4 参考文献

1 Lanneau D, de Thonel A, Maurel S, Didelot C, Garrido C. Apoptosis versus cell differentiation: role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27. *Prion* 2007; 1: 53-60 [PMID: 19164900 DOI: 10.4161/pri.1.1.4059]

2 Tissières A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of Drosophila melanogaster: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol* 1974; 84: 389-398 [PMID: 4219221 DOI: 10.1016/0022-2836(74)90447-1]

3 Jego G, Hazoumé A, Seigneuric R, Garrido C. Targeting heat shock proteins in cancer. *Cancer Lett* 2013; 332: 275-285 [PMID: 21078542 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.014]

4 Binder RJ, Vatner R, Srivastava P. The heat-shock protein receptors: some answers and more questions. *Tissue Antigens* 2004; 64: 442-451 [PMID: 15361121 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2004.00299.x]

5 Sun J, Liu L, Jiang X, Chen D, Huang Y. Therapeutic effects of radiolabeled 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin on human H460 nonsmall-cell lung carcinoma xenografts in mice. *Cancer Biother Radiopharm* 2010; 25: 155-164 [PMID: 20423228 DOI: 10.1089/cbr.2009.0664]

6 Saxena V, Naguib Y, Hussain MD. Folate receptor targeted 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) loaded polymeric nanoparticles for breast cancer. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2012; 94: 274-280 [PMID: 22377218 DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.02.001]

7 Seaton A, Maxwell PJ, Hill A, Gallagher R, Pettigrew J, Wilson RH, Waugh DJ. Inhibition of constitutive and cxc-chemokine-induced NF-kappaB activity potentiates ansamycin-based HSP90-inhibitor cytotoxicity in castrate-resistant prostate cancer cells. *Br J Cancer* 2009; 101: 1620-1629 [PMID: 19809428 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605356]

8 Doubrovin M, Che JT, Serganova I, Moroz E, Solit DB, Ageyeva L, Kochetkova T, Pillarsetti N, Finn R, Rosen N, Blasberg RG. Monitoring the induction of heat shock factor 1/heat shock protein 70 expression following 17-allylamino-demethoxygeldanamycin treatment by positron emission tomography and optical reporter gene imaging. *Mol Imaging* 2012; 11: 67-76 [PMID: 22418029]

9 Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci* 2006; 31: 164-172 [PMID: 16483782]

10 Mahalingam D, Swords R, Carew JS, Nawrocki ST, Bhalla K, Giles FJ. Targeting HSP90 for cancer therapy. *Br J Cancer* 2009; 100: 1523-1529 [PMID: 19401686 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605066]

11 Yano M, Naito Z, Tanaka S, Asano G. Expression and roles of heat shock proteins in human breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87: 908-915 [PMID: 8878452 DOI: 10.1111/j.1349-7006.1996.tb02119.x]

12 孟庆松, 高佩增, 李向东, 陈自平, 徐昌青. 胃癌患者血清热休克蛋白60检测的临床意义. 医学检验与临床 2008; 19: 44-45

13 任宏, 杜宁, 张靖, 姚佳, 石景森. 胃癌手术治疗前后血清蛋白质普变异性研究. 世界华人消化杂志 2008; 16: 314-318

14 Giaginis C, Daskalopoulou SS, Vgenopoulou S, Sfiniadakis I, Kouraklis G, Theocharis SE. Heat Shock Protein-27, -60 and -90 expression in gastric cancer: association with clinicopathological variables and patient survival. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 14 [PMID: 19203381 DOI: 10.1186/1471-230X-9-14]

15 Pick E, Kluger Y, Giltnane JM, Moeder C, Camp RL, Rimm DL, Kluger HM. High HSP90 expression is associated with decreased survival in breast cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 2932-2937 [PMID: 17409397 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4511]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1005-1009
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

聚乙二醇干扰素α–2a联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价

张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗 雪

张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪, 贵州省六盘水市水城矿业控股集团总医院感染科 贵州省六盘水市 553000
张泽敏, 副主任医师, 主要从事病毒性肝炎的诊治、肺结核性胸膜炎、结核性脑膜炎等方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由于张泽敏设计; 研究过程由张泽敏与于兰芳完成; 数据分析由李一鸣、陈发明及罗雪完成; 写作由于张泽敏、于兰芳、李一鸣、陈发明及罗雪共同完成.
通讯作者: 张泽敏, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区龙塘街, 贵州省六盘水市水城矿业控股集团总医院感染科. zhangzeminguizhou@163.com
收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2013-12-30
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

Curative effects of peg-interferon α-2a plus ribavirin and ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C patients

Ze-Min Zhang, Lan-Fang Yu, Yi-Ming Li, Fa-Ming Chen, Xue Luo

Ze-Min Zhang, Lan-Fang Yu, Yi-Ming Li, Fa-Ming Chen, Xue Luo, Department of Infectious Diseases, Shuicheng Mining General Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China
Correspondence to: Ze-Min Zhang, Associate Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shuicheng Mining General Hospital, Longtang Street, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. zhangzeminguizhou@163.com
Received: 2013-12-02 Revised: 2013-12-30
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To explore the curative effects of peg-interferon α-2a plus ribavirin and ursodeoxycholic acid (UDCA) in chronic hepatitis C (CHC) patients.

METHODS: Eighty-four patients with HCV were randomly divided into two groups: an experimental group and a control group. The experiment group was treated by peg-interferon α-2a plus ribavirin and UDCA, and the control group was treated by peg-interferon α-2a plus ribavirin. The response rates in patients with HCV genotype 1 or other genotypes, the improvement of liver function during therapy, autoimmune conditions and interferon side effects were compared.

RESULTS: There was no statistically significant difference between the two groups in the response rates in patients with HCV genotype 1 (9.52% *vs* 9.52%, 64.29% *vs* 61.90%, 54.76% *vs* 54.76%, $P > 0.05$) or non-genotype 1 (14.29% *vs* 16.67%, 76.19% *vs* 73.81%, 76.19% *vs* 73.81%, $P > 0.05$). The rates of improvement of ALT at weeks 48 and 72 (80.95% *vs* 71.43%, 83.33% *vs* 73.81%, $P < 0.05$), AST (80.95% *vs* 64.29%, 85.71% *vs* 69.05%, 83.33% *vs* 73.81%, $P < 0.05$) and GGT at weeks 24, 48 and 72 (85.71% *vs* 76.19%, 100.00% *vs* 90.48%, 92.86% *vs* 80.95%, $P < 0.05$), and TBIL at weeks 4, 12, 24, 48 and 72 (59.52% *vs* 47.62%, 76.19% *vs* 59.52%, 92.86% *vs* 80.95%, 97.62% *vs* 83.33%, 92.86% *vs* 80.95%) were significantly better in the experimental group than in the control group. The positive rate of autoimmune antibody was significantly lower in the experimental group than in the control group (16.67% *vs* 33.33%, $P < 0.05$). There were no statistically significant differences in the incidence of hypothyroidism (2.38% *vs* 4.76%), diabetes (0.00% *vs* 2.38%), weakness (47.62% *vs* 47.62%), sore muscle (45.24% *vs* 47.62%), fever (26.19% *vs* 28.57%), myelosuppression (23.81% *vs* 30.95%), or thyroid abnormality (7.14% *vs* 11.90%).

CONCLUSION: Peg-interferon α-2a plus ribavirin and UDCA can improve the liver function and reduce the side effects of interferon and the occurrence of autoimmune disorder in chronic hepatitis C patients.

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

Key Words: Peg-interferon α-2a; Ribavirin; Ursodeoxycholic acid; Chronic hepatitis C

Zhang ZM, Yu LF, Li YM, Chen FM, Luo X. Curative effects of peg-interferon α-2a plus ribavirin and ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1005-1009 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1005.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1005

摘要

目的: 探讨聚乙二醇干扰素α-2a(PEG-interfer-

■背景资料
PEG-IFNα-2a联合RBV治疗慢性丙型肝炎是国内外公认的标准治疗方法, 在清除丙型肝炎病毒、控制病情进展以及提高患者生存质量上具有显著临床优势. 但用药后易产生骨髓抑制、甲状腺功能异常以及其他自身免疫性疾病, 易对肝功能造成一定损伤. UDCA为鹅去氧胆酸的7β-羟基差向异构体, 具有免疫调节、抗氧化、抗凋亡、利胆以及细胞保护等多重作用, 在肝病治疗中应用价值较高.

■同行评议者
刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

■研发前沿
干扰素(interferon, IFN)治疗患者性别、体质、HCV-RNA滴度以及肝纤维化程度等的影响且具有较多的禁忌症临床疗效不能令人满意.

on α-2a, PEG-IFN α-2a)联合利巴韦林(ribavirin, RBV)联合熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的临床疗效.

方法: 按照数字随机分组法将我院收治的84例慢性丙型肝炎患者均分为实验组和对照组, 实验组患者给予聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林及熊去氧胆酸治疗, 对照组患者给予聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗, 比较两组患者基因1型与非基因1型丙型肝炎病毒应答率、治疗期间肝功能改善情况、发生自身免疫情况以及干扰素不良反应发生情况.

结果: 两组患者基因1型(9.52% *vs* 9.52%)、(64.29% *vs* 61.90%)、(54.76% *vs* 54.76%)与非基因1型HCV应答率(14.29% *vs* 16.67%)、(76.19% *vs* 73.81%)、(76.19% *vs* 73.81%)比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 实验组患者第48周和第72周谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)恢复情况(80.95% *vs* 71.43%)、(83.33% *vs* 73.81%)明显优于对照组, 第24周、第48周和第72周谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)(80.95% *vs* 64.29%)、(85.71% *vs* 69.05%)、(83.33% *vs* 73.81%)和γ-谷氨酰转肽酶(γ-gluyam transpetidas, GGT)恢复情况(85.71% *vs* 76.19%)、(100.00% *vs* 90.48%)、(92.86% *vs* 80.95%)明显优于对照组, 第4、12、24、48和72周总胆红素(total bilirubin, TBIL)(59.52% *vs* 47.62%)、(76.19% *vs* 59.52%)、(92.86% *vs* 80.95%)、(97.62% *vs* 83.33%)、(92.86% *vs* 80.95%)恢复情况明显优于对照组, 差异均具有显著性(P<0.05); 实验组自身免疫抗体阳性率明显低于对照组(16.67% *vs* 33.33%), 差异具有显著性(P<0.05); 两组患者甲状腺功能减退(2.38% *vs* 4.76%)和糖尿病发生率(0.00% *vs* 2.38%)比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 治疗期间两组患者乏力(47.62% *vs* 47.62%)、肌肉酸痛(45.24% *vs* 47.62%)、发热(26.19% *vs* 28.57%)、骨髓抑制(23.81% *vs* 30.95%)、甲功异常(7.14% *vs* 11.90%)等干扰素不良反应发生情况比较, 差异无统计学意义(P>0.05).

结论: 在聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗基础上加用熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎, 可明显改善患者肝功能、降低干扰素用药不良反应、减少患者发生自身免疫, 临床疗效确切.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 聚乙二醇干扰素α-2a; 利巴韦林; 熊去氧胆酸; 慢性丙型肝炎

核心提示: 干扰素联合利巴韦林是治疗慢性丙型肝炎的标准方案, 疗效确切, 安全性高. 本研究在此基础上加用具有免疫调节等功能的熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎, 已经取得了良好的临床效果.

张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1005-1009 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1005.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1005

0 引言

慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)在临床上较为常见, 其进展为肝硬化后并发肝癌发生率较高, 肝硬化和肝癌是导致患者死亡的主要原因. 临床治疗慢性丙型肝炎主要以根除或长期抑制肝炎病毒、改善肝内炎症和纤维化为原则[1]. 干扰素联合利巴韦林是治疗慢性丙型肝炎的标准方案, 疗效确切, 安全性高[2]. 我院在此基础上加用具有免疫调节等功能的熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗慢性丙型肝炎, 已经取得了良好的临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-05/2012-05我院消化内科收治的84例慢性丙型肝炎患者作为研究对象. 所有患者均符合《丙型肝炎防治指南》[3]中慢性丙型肝炎的相关诊断标准, 且经血清生化学检查确诊. 所有患者丙型肝炎病毒核糖核酸(hepatitis C virus ribonucleic acid, HCV-RNA)均为阳性, 总胆红素(total bilirubin, TBIL)低于2倍正常上限值, 血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)低于10倍正常上限值, 病程超过6 mo. 排除有肝炎病史、其他类型肝炎病毒感染、其他肝部疾病以及入选前曾使用激素、免疫抑制剂及熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)(韩国大熊制药, 0.1 g/粒, 30粒/盒, 批准文号: H20080318)治疗的患者. 按照数字随机分组法将84例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、肝功能、Child-Pugh评分、基因型分布以及是否合并肝硬化等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性. 利巴韦林(ribavirin, RBV)湖北潜江制药股份有限公司生产, 100 mg×1 mL×10支, 国

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 42)

分组	性别		平均年龄(岁)	肝功能				Child-Pugh评分	基因1型	肝硬化
	男	女		ALT	AST	GGT	TBIL			
实验组	24	18	44.82 ± 7.13	114.77 ± 53.97	86.59 ± 41.66	87.30 ± 67.61	30.62 ± 6.29	4.51 ± 1.44	20	7
对照组	23	19	44.57 ± 7.76	108.79 ± 49.62	89.57 ± 40.22	89.66 ± 65.23	29.84 ± 4.62	4.33 ± 1.26	19	8

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT: γ-谷氨酰转肽酶; TBIL: 总胆红素.

表 2 两组患者基因1型与基因非1型HCV应答情况比较 [n = 42, n(%)]

分组	基因1型			基因非1型		
	RVR	EVR	SVR	RVR	EVR	SVR
实验组	4(9.52)	27(64.29)	23(54.76)	6(14.29)	32(76.19)	32(76.19)
对照组	4(9.52)	26(61.90)	23(54.76)	7(16.67)	31(73.81)	31(73.81)

RVR: 快速病毒学应答; EVR: 早期病毒学应答; SVR: 持续病毒学应答率.

■相关报道
临床研究表明, IFN疗法治疗慢性丙型肝炎部分患者(超过20%)不会产生应答效果, 且不同用药剂量和疗程患者停药后半年内复发率高达30%-50%.

药准字H19993455; 聚乙二醇干扰素α-2a(PEG-interferonα-2a, PEG-IFNα-2a)(派罗欣)上海罗氏制药有限公司, 180 μg/(0.5 mL·支), 国药准字J20070055.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者给予PEG-IFNα-2a联合RBV治疗, PEG-IFNα-2a皮下注射, 180 μg/次, 1次/wk, RBV口服, 800-1200 mg/d; 实验组患者在此基础上加用UDCA, 口服, 10 mg/(kg·d). 两组患者均连续治疗48 wk, 所有患者均获得自治疗首日起为期72 wk的随访.

1.2.2 观察指标: 记录治疗期间两组患者肝功能, 包括谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、γ-谷氨酰转肽酶(γ-gluyam transpetidas, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)改善情况[4]、发生自身免疫情况以及干扰素不良反应(乏力、肌肉酸痛、发热、骨髓抑制、甲功异常等)发生情况[5]. 比较两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率, 包括快速病毒学应答(rapid virologic response, RVR)、早期病毒学应答(early virologic response, EVR)、持续病毒应答率(sustained virologic response, SVR)[6].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 使用χ^2检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率比较 两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

2.2 两组患者肝功能改善情况比较 实验组患者第48周和第72周ALT恢复情况明显优于对照组, 第24、48和72周AST和GGT恢复情况明显优于对照组, 第4、12、24、48和72周TBIL恢复情况明显优于对照组, 差异均具有显著性(P<0.05)(表3).

2.3 两组患者发生自身免疫情况的比较 实验组自身免疫抗体阳性率明显低于对照组, 差异具有显著性(P<0.05); 两组患者甲状腺功能减退和糖尿病发生率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表4).

2.4 两组患者干扰素不良反应发生情况比较 治疗期间两组患者乏力、肌肉酸痛、发热、骨髓抑制、甲功异常等干扰素不良反应发生情况比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表5).

3 讨论

慢性丙型肝炎抗病毒治疗主要目的为清除或持续抑制患者体内HCV-RNA, 缓解肝功能损伤, 阻止病情向肝硬化或肝癌进展[7]. 临床研究表明, IFN疗法治疗慢性丙型肝炎部分患者(超过20%)不会产生应答效果, 且不同用药剂量和疗程患者停药后半年内复发率高达30%-50%[8]. IFN应用于慢性丙型肝炎抗病毒治疗能够有效降低病毒复制水平, 从而促使ALT基本恢复正常. 但停药后患者ALT往往再次升高从而引起病毒复发. 同时IFN用药后也易引起血小板减少、糖尿病

■同行评价
本研究设计合理，治疗方法实用，对临床医师有一定的参考价值.

表 3 两组患者肝功能改善情况比较 [n = 42, n(%)]

分组	时间	ALT恢复正常	AST恢复正常	GGT恢复正常	TBIL恢复正常
实验组	第4周				25(59.52)[a]
	第12周				32(76.19)[a]
	第24周		34(80.95)[a]	36(85.71)[a]	39(92.86)[a]
	第48周	34(80.95)[a]	36(85.71)[a]	42(100.00)[a]	41(97.62)[a]
	第72周	35(83.33)[a]	35(83.33)[a]	39(92.86)[a]	39(92.86)[a]
对照组	第4周				20(47.62)
	第12周				25(59.52)
	第24周		27(64.29)	32(76.19)	34(80.95)
	第48周	30(71.43)	29(69.05)	38(90.48)	35(83.33)
	第72周	31(73.81)	31(73.81)	34(80.95)	34(80.95)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 4 两组患者发生自身免疫情况比较 [n = 42, n(%)]

分组	自身免疫抗体阳性	甲状腺功能减退	糖尿病
实验组	7(16.67)[a]	1(2.38)	0(0.00)
对照组	14(33.33)	2(4.76)	1(2.38)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 5 两组患者干扰素不良反应发生情况比较 [n = 42, n(%)]

分组	乏力	肌肉酸痛	发热	骨髓抑制	甲功异常	其他
实验组	20(47.62)	19(45.24)	11(26.19)	10(23.81)	3(7.14)	11(26.19)
对照组	20(47.62)	20(47.62)	12(28.57)	13(30.95)	5(11.90)	11(26.19)

以及甲状腺功能减退等自身免疫损伤，导致患者必须停药而影响治疗效果[9]. 另外，IFN治疗患者性别、体质、HCV-RNA滴度以及肝纤维化程度等的影响且具有较多禁忌症临床疗效不能令人满意[10].

PEG-IFNα-2a联合RBV治疗慢性丙型肝炎是国内外公认的标准治疗方法，在清除丙型肝炎病毒、控制病情进展以及提高患者生存质量上具有显著临床优势[11]. 但用药后易产生骨髓抑制、甲状腺功能异常以及其他自身免疫性疾病，易对肝功能造成一定损伤[12]. UDCA为鹅去氧胆酸的7β-羟基差向异构体，具有免疫调节、抗氧化、抗凋亡、利胆以及细胞保护等多重作用，在肝病治疗中应用价值较高[13]. 因此，在患者发生自身免疫性血小板减少时使用UDCA对改善患者自身免疫损伤十分有利. UDCA能够促使病毒性或非病毒性慢性肝炎患者ALT水平下降，但其在清除HCV-RNA上没有明显效果[14]. 本研究中实验组患者ALT、AST、GGT及TBIL改善情况在治疗后期明显优于对照组. 表明停用干扰素后UDCA显示出了维持肝功能正常的效果. 而两组患者两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率比较，差异无统计学意义. 表明UDCA确实没有清除HCV-RNA的明显效果，与上述研究报道相符.

临床研究表明，UDCA能够通过控制人体肝细胞和胆管上皮细胞主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) Ⅰ类和Ⅱ类分子的表达抑制其与T淋巴细胞相互作用而激活免疫病理损伤的效果[15]. 同时也能够抑制糖皮质激素受体的激活和调节糖皮质激素受体功能，抑制抗原激活的免疫反应，从而大大改善患者自身免疫损伤情况[16]. 本研究结果显示，实验组自身免疫抗体阳性率明显低于对照组，差异具有显著性；但两组患者甲状腺功能减退和糖尿病发生率比较，差异无统计学意义，可能

是由于病例数较少, 数据不准确所致. 同时, 两组患者治疗期间乏力、肌肉酸痛、发热、骨髓抑制、甲功异常等干扰素不良反应发生情况比较, 差异无统计学意义, 表明UDCA无明显临床不良反应.

总体来看, 在自身免疫性血小板减少的情况下, 使用UDCA治疗慢性丙型肝炎是一个有利的选择, 且在治疗中UDCA对抗病毒治疗的耐受性更佳, 患者能够接受更长时间的抗病毒治疗. 但UDCA能否有效改善患者肝脏组织学表现仍需要进一步深入研究.

总之, UDCA能够减少患者自身免疫现象, 改善患者肝功能, 缓解干扰素在骨髓抑制方面的不良反应, 提高患者抗病毒治疗的耐受性, 与PEG-IFNα-2a和RBV联合使用治疗慢性丙型肝炎临床疗效显著, 具有较高临床应用价值.

4 参考文献

1 袁征, 邵铭, 何晶. 丙型肝炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3046-3052

2 王为, 周国华. 慢性丙型肝炎的治疗药物研究进展. 临床军医杂志 2012; 40: 249-251

3 中华医学会传染病与寄生虫学分会, 肝病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 194-198

4 Milan M, Boninsegna S, Scribano L, Lobello S, Fagiuoli S, Fabris P, Buda A, Martines D. Viral kinetics during the first weeks of pegylated interferon and ribavirin treatment can identify patients at risk of relapse after its discontinuation: new strategies for such patients? *Infection* 2012; 40: 173-179 [PMID: 22095532 DOI: 10.1007/s15010-011-0219-0]

5 姜雪强, 邹小静, 田德英. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的疗效及不良反应. 中西医结合肝病杂志 2010; 20: 335-337

6 姜雪强, 邹小静, 田德英. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎患者的病毒学应答. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 417-419

7 阿米娜•依明, 铁木尔•玉努斯, 丽娜. 聚乙二醇干扰素α-2a和利巴韦林联合治疗慢性丙型肝炎临床观察. 实用肝脏病杂志 2011; 14: 452-453

8 徐庆年, 杨宗国, 陆云飞, 陈晓蓉. 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗经治慢性丙型肝炎患者的回顾性分析. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1797-1802

9 张艳. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗慢性病毒性丙型肝炎的效果及护理. 现代临床护理 2011; 10: 45-47

10 贺红旗. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的不良反应及护理. 中国药师 2012; 15: 1013-1014

11 刘元元, 朴荣利, 叶春艳, 牛俊奇. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎效果评价. 吉林大学学报(医学版) 2010; 36: 563-567

12 李永春, 陈焰. 聚乙二醇干扰素α-2a联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎45例的疗效评价. 临床医学工程 2013; 20: 951-952

13 吴剑明, 刘蓉. 强肝胶囊联合熊去氧胆酸治疗慢性乙型肝炎的疗效观察. 临床和实验医学杂志 2009; 08: 35-36

14 Tseng KC, Ho YC, Hsieh YH, Lai NS, Wen ZH, Li C, Wu SF. Elevated frequency and function of regulatory T cells in patients with active chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2012; 47: 823-833 [PMID: 22367277 DOI: 10.1007/s00535-012-0544-9]

15 梁精, 莫晓平. 强肝胶囊联合熊去氧胆酸治疗慢性乙型肝炎疗效观察. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 970-971

16 王晓艳, 沈守荣, 李楠, 李予. 熊去氧胆酸治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效. 中南大学学报(医学版) 2010; 35: 171-175

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1010-1014
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

伴晚期肝硬化终末期肾脏病患者不同透析治疗的临床效果比较

李 娟, 程守斌, 周艳玲

■背景资料
终末期肾脏病, 指各种慢性肾脏疾病的终末阶段, 肾功能的进行性下降, 毒素在体内蓄积, 若于晚期肝硬化同时发生, 会使治疗相当棘手. 目前临床上主要以透析治疗和肾移植为主.

李娟, 程守斌, 周艳玲, 中南大学湘雅医学院附属海口医院 海口市人民医院肾内科 海南省海口市 570208
李娟, 副主任医师, 主要从事肾病的研究.
作者贡献分布: 课题的设计、研究过程及试剂的准备由李娟、程守斌及周艳玲完成; 数据分析及论文写作由李娟、程守斌及周艳玲共同完成.
通讯作者: 李娟, 主治医师, 570208, 海南省海口市海甸岛人民大道43号, 海口市人民医院肾内科. lijuanhaikou@163.com
电话: 0898-66189555
收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-01-21
接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-08

Clinical effects of hemodialysis versus peritoneal dialysis in end-stage renal disease patients with advanced cirrhosis

Juan Li, Shou-Bin Cheng, Yan-Ling Zhou

Juan Li, Shou-Bin Cheng, Yan-Ling Zhou, Department of Nephrology, the People's Hospital of Haikou City, Affiliated Haikou Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Haikou 570208, Hainan Province, China
Correspondence to: Juan Li, Attending Doctor, Department of Nephrology, the People's Hospital of Haikou City, Affiliated Haikou Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, 42 Renmin Road, Haikou 570208, Hainan Province, China. lijuanhaikou@163.com
Received: 2013-12-26 Revised: 2014-01-21
Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-08

Abstract
AIM: To compare the clinical effects of hemodialysis and peritoneal dialysis in end-stage renal disease (ESRD) patients with advanced cirrhosis.

METHODS: ESRD patients with cirrhosis who were treated at our hospital were randomly divided into either a control group or an observation group. The control group was treated by hemodialysis 2 to 3 times a week, while the observation group was treated by peritoneal dialysis 3 to 4 times daily.

RESULTS: After treatment, blood pressure, plasma total protein, albumin levels were significantly lower, and BUN and SCr were significantly higher in the observation group than in the control group ($P < 0.05$ for all), but serum calcium, ammonia and hemoglobin levels showed no significant difference between the two groups ($P > 0.05$ for all). The incidence of adverse reactions (51.6% *vs* 74.2%) was significantly lower and the survival rate (91.9% *vs* 74.2%) was significantly higher in the observation group than in the control group ($P < 0.05$ for both). The observation group had significantly lower average monthly cost than the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Hemodialysis and peritoneal dialysis are both effective in ESRD patients with advanced cirrhosis, with the latter being associated with a higher survival rate, fewer side effects, and less cost.

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

Key Words: End-stage renal disease; Advanced cirrhosis; Hemodialysis; Peritoneal dialysis

Li J, Cheng SB, Zhou YL. Clinical effects of hemodialysis versus peritoneal dialysis in end-stage renal disease patients with advanced cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1010-1014 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1010.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1010

摘要
目的: 探讨血液透析和腹膜透析在终末期肾病伴晚期肝硬化患者透析治疗中的临床效果.

方法: 选取我院收治的终末期肾病伴肝硬化患者作为研究对象, 并随机分为对照组和观察组. 对照组患者采用血液透析, 中心静脉插管, 流量500 mL/L, 每周透析2-3次, 每次持续4 h; 观察组患者接受腹膜透析, 每日透析3-4次.

结果: 治疗后, 观察组患者血压、血浆总蛋白、白蛋白水平显著低于对照组, 且尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(serum creatinine, SCr)高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 但两组患者血钙、血氨、血红蛋

■同行评议者
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

白水平差异无统计学意义(P>0.05); 观察组患者不良反应发生率(51.6%)明显低于对照组(74.2%), 生存率(91.9%)高于对照组(74.2%), 差异有统计学意义(P<0.05); 但两组患者死亡原因间差异无统计学意义(P>0.05); 观察组患者平均月透析费用低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05). 观察者患者身体疼痛度和情感职能评分显著高于对照组, 而社会功能评分则显著低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 血液透析和腹膜透析均能有效治疗终末期肾病伴晚期肝硬化, 但腹膜透析治疗生存率更高, 不良反应更少, 是既经济又有效的手段.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键字: 终末期肾病; 晚期肝硬化; 血液透析; 腹膜透析

核心提示: 本研究中分别使用血液透析和腹膜透析治疗终末期肾病合并晚期肝硬化患者, 研究结果显示: 观察组患者血压显著低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05), 这可能是因为血液透析是血液体外循环和超滤等造成血容量及血流动力学改变.

李娟, 程守斌, 周艳玲. 伴晚期肝硬化终末期肾脏病患者不同透析治疗的临床效果比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1010-1014 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1010.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1010

0 引言

终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD), 指各种慢性肾脏疾病的终末阶段, 肾功能的进行性下降, 毒素在体内蓄积, 可引起恶心、呕吐、皮肤瘙痒、水肿、贫血等并发症, 严重危及患者生命安全和生活质量[1]. 肝硬化是常见的慢性进行性肝病, 肝小叶结构破坏和假小叶形成是其特征性. 肝硬化可导致多系统受累, 出现上消化道出血、肝性脑病、继发感染、腹水、癌变等并发症[2]. 终末期肾病和晚期肝硬化同时发生, 会使治疗相当棘手. 透析是治疗两种疾病的有效手段, 临床常用的有血液透析和腹膜透析, 但由于患者病情复杂且多有严重并发症, 血液透析和腹膜透析的对患者的影响尚无定论[3,4]. 本研究对两种透析方法治疗终末期肾病并晚期肝硬化患者的临床效果进行探讨, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2011-05/2012-05收治的终末期肾病伴肝硬化患者124例作为研究对象. 患者原发疾病包括慢性肾小球肾炎, 糖尿病肾病, 慢性乙型肝炎, 高血压肾病等. 随机将124例患者分为对观察组和对照组, 每组各有患者62例. 其中对照组男性患者35例,女性患者27例, 年龄范围27-74岁, 平均年龄38.4岁±3.4岁; 观察组男性患者33例,女性患者29例, 年龄范围29-71岁, 平均年龄39.2岁±4.1岁. 两组患者间性别、年龄及病情等一般资料间差异无统计学意义(P<0.05), 组间具有可比性. 本研究中Tencho直管、Y型透析仪购于美国百特公司; 腹膜透析液购于上海长征富民金山制药有限公司(国药准字H31022959, 规格: 2000 mL: 含50 g葡萄糖); 血液透析采用购买欲瑞典金宝公司200K型透析仪透析.

表 1 治疗后两组患者血压比较 (n = 62, mmHg)

分组	收缩压	舒张压
观察组	131.1 ± 21.2	75.3 ± 9.6
对照组	152.6 ± 29.9	80.4 ± 11.7
t值	4.619	2.653
P值	0.0001 < 0.05	0.0090 < 0.05

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: 所有患者均签署知情同意书, 且符合以下条件: (1)所有患者均为确诊的终末期肾病伴晚期肝硬化患者, 符合终末期肾病和晚期肝硬化的诊断标准; (2)代偿期轻度异常, 失代偿期血清蛋白降低, 球蛋白升高, A/G倒置; (3)血肌酐(serum creatinine, SCr)每日升高>176.8 μmol/L, 或>442 μmol/L; (4)尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)每日升高>8.9 mmol/L, 或>21.4 mmol/L; (5)血钾浓度>6.5 mmol/L; (6)出现代谢性酸中毒或水中毒症状; (7)患者可有腹部水肿.

1.2.2 排除标准: 排除有以下情况的患者: (1)排除有精神疾病或有肝性脑部昏迷而无法配合治疗的患者; (2)排除近期内有左低蛋白血症、急性腹膜炎、脑血管疾病等其他系统严重疾病的患者; (3)排除身体状况极差, 不能耐受治疗的患者.

1.2.3 治疗: 观察组患者采用非卧床持续性腹膜透析, 采用Tencho直管、Y型透析仪和腹膜透析液行非卧床持续腹膜透析. 根据腹膜超滤量, 每日透析3-4次, 透析液中葡萄糖浓度为1.5%-4.25%. 对照组患者行血液透析, 采用反渗水及碳酸氢钠盐透析液, 采用中心静脉插管, 流量500 mL/L, 每周透析2-3次, 每次持续4 h. 两组

■研发前沿
各种病因造成的终末期肾病患者对于血液透析和腹膜透析的选择时机的研究, 以及个体化透析的研究即根据每个患者的具体情况来选择透析方式是研究临床需要注重的.

■相关报道
张正秀等对80例终末期肾病腹膜透析的临床分析，该研究肯定了腹膜透析技术在肾病终末期中的应用价值；余学清等的研究分别对腹膜透析和血液透析在糖尿病肾病终末期的应用价值，他们的结果有相似之处，但也有不同．目前，对血液透析和腹膜透析该如何选择，尚无确切定论．

表 2 治疗后两组患者、BUN、SCr、血钙、血氨、血浆总蛋白、血红蛋白、白蛋白比较 (n = 62)

分组	BUN(mmol/L)	SCr(μmol/L)	血钙(mmol/L)	血氨(g/L)	血浆总蛋白(g/L)	血红蛋白(g/L)	白蛋白(g/L)
观察组	16.7 ± 4.5	532 ± 159.3	2.11 ± 0.24	77.1 ± 27.9	50.0 ± 1.91	96.6 ± 5.02	28.4 ± 1.79
对照组	14.0 ± 3.7	429 ± 147.6	2.07 ± 0.22	84.3 ± 29.6	55.4 ± 2.33	97.6 ± 5.34	33.3 ± 1.99
t值	3.649	3.735	0.967	1.394	14.113	1.074	14.4148
P值	0.0004 < 0.05	0.0003 < 0.05	0.3353 > 0.05	0.1659 > 0.05	0.0001 < 0.05	0.2848 > 0.05	0.0001 < 0.05

BUN: 血清尿素氮; SCr: 血肌酐.

表 3 两组患者透析过程中主要并发症比较 [n = 62, n(%)]

分组	感染	心率失常	心脑血管疾病	低蛋白血症	出血	合计
观察组	5(8.1)	6(9.7)	12(19.4)	6(9.7)	3(4.8)	32(51.6)
对照组	6(9.7)	8(12.9)	17(27.4)	4(6.4)	11(17.7)	46(74.2)
χ^2值						6.774
P值						0.0092 < 0.05

表 4 透析1年后两组患者生存率比较 (n = 62)

分组	生存(n)	死亡(n)	生存率(%)	χ^2值	P值
观察组	57	5	91.9	5.035	0.0248 < 0.05
对照组	48	14	77.4		

表 5 两组患者死因比较

分组	n	透析所致感染	肝硬化并发症	其他
观察组	5	2	2	1
对照组	14	5	6	3
χ^2值		0.029	0.012	0.004
P值		0.8646	0.9116	0.9464

表 6 两组患者透析的费用比较 (n = 62, 元/月)

分组	透析费用	t值	P值
观察组	6280 ± 245	3.162	0.0020 < 0.05
对照组	6439 ± 311		

患者均给予相同的常规治疗，如补充钙剂、铁剂及叶酸等，控制血压、血糖等．

1.2.4 观察指标：严密观察患者生理指标，如：血压、BUN、SCr、血钙、血氨、血浆总蛋白，血红蛋白，白蛋白并注意患者不良反应．1年后对患者进行回访，调查患者生存率，同时了解患者用于透析治疗的经济负担，生活质量以及死亡原因．生活质量采用SF-36量表，在专门的研究人员指导下，由患者本人选择答案，如患者因疾病和文化方面的原因不能完成，则研究人员协助完成．SF-36量表包括8个方面，分别为生理功能(physical function, PF)、生理职能(role-physical, RP)、躯体疼痛(bodily pain, BP)、总体健康(general health, GH)、活力(vitality, VT)、社会功能(social function, SF)、情感职能(role-emotional, RE)和精神健康(mental health, MH)．调查并了解死亡患者的死因．

统计学处理 所有数据均采用SPSS17.0统计学软件处理，计量资料采用t检验，计数资料采用χ^2检验，以P<0.05为差异有统计学意义．

2 结果

2.1 两组患者治疗后血压比较 治疗后，观察组患者血压显著低于对照组，差异有统计学意义(P<0.05)(表1)．

2.2 治疗后两组患者、BUN、SCr、血钙、血氨、血浆总蛋白、血红蛋白、白蛋白比较 观察组患者BUN、SCr均高于对照组，血浆总蛋白、白蛋白水平低于对照组，差异有统计学意义(P<0.05)，但两组患者血钙、血氨、血红蛋白水

表 7 两组患者生活质量比较 (n = 62)

分组	PF	PR	BP	GH	VT	RE	SF	MH
观察者	62.5 ± 9.5	45.1 ± 11.0	75.9 ± 8.6	48.4 ± 13.3	54.5 ± 15.1	76.3 ± 20.5	81.2 ± 20.4	73.5 ± 10.3
对照组	59.7 ± 10.2	46.5 ± 10.8	61.7 ± 9.2	49.5 ± 14.5	69.5 ± 13.6	59.7 ± 18.1	76.6 ± 18.6	76.8 ± 9.8
t值	1.582	0.715	8.878	0.440	5.812	4.779	1.312	1.828
P值	0.1163	0.4762	0.0000	0.6606	0.0000	0.0000	0.1920	0.0700

PF: 生理功能; RP: 生理职能; BP: 躯体疼痛; GH: 总体健康; VT: 活力; SF: 社会功能; RE: 情感职能; MH: 精神健康.

平差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

2.3 透析过程中并发症比较 透析过程中两组患者均有感染、出血、心率失常、心脑血管疾病、低蛋白血症、出血等不良反应, 其中观察组患者不良反应发生率(51.6%)明显低于对照组(74.2%), 差异有统计学意义(P<0.05)(表3).

2.4 透析1年后回访两组患者生存率比较 透析1年后, 观察组有5例患者死亡, 其中2例患者为透析所致感染致死, 2例患者为肝硬化并发症死亡, 1例患者死于其他原因; 对照组有14例患者死亡, 其中5里患者死于透析所致感染, 其余6例患者死于肝硬化并发症, 3例患者死于其他原因. 观察组患者生存率(91.9%)显著高于对照组(77.4%), 差异有统计学意义(P<0.05)(表4). 两组患者死因间差别无统计学意义(P>0.05)(表5).

2.5 两组患者经济负担比较 观察组患者平均月透析费用低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表6).

2.6 两组患者生活质量比较 观察者患者身体疼痛度和情感职能评分显著高于对照组, 而社会功能评分则显著低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表7).

3 讨论

近年来, 随着人们生活方式的改变, 慢性非传染性疾病已成为危害人们生命安全和影响生活质量的主要因素[5]. 终末期肾病和晚期肝硬化是其中代表, 且发病率呈上升趋势. 终末期肾病患者肾单位破坏严重, 残存的有效肾单位不能满足机体需要, 体内毒素和代谢废物潴留, 破坏内环境稳定性和酸碱平衡, 导致各种并发症出现并最终形成尿毒症, 严重危及患者生活质量和生命安全[6,7]. 晚期肝硬化患者可有消化道出血、肝性脑病、继发感染、腹水、癌变等并发症. 当终末期肾病合并晚期肝硬化时, 肾脏有效清除率进一步降低, 体内毒素进一步潴留, 临床药物治疗效果极差, 患者死亡率高[8-10]. 透析是一种代替治疗手段, 临床分为血液透析和腹膜透析[11]. 血液透析是通过扩散、对流使体内废物和毒素演出体外, 而腹膜透析是利用腹膜作为半渗透膜, 导入透析液, 通过腹膜两侧溶质的浓度梯度差, 清除体内废物及毒素, 纠正电解质紊乱, 维持酸碱平衡[12,14]. 临床上根据患者病情选择合适的透析方法是治疗的关键.

本研究中分别使用血液透析和腹膜透析治疗终末期肾病合并晚期肝硬化患者, 研究结果显示: 观察组患者血压显著低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05), 这可能是因为血液透析是血液体外循环和超滤等造成血容量及血流动力学改变[15]. 研究还发现观察组患者BUN、SCr、高于对照组, 血浆总蛋白、白蛋白低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05), 而两组患者血钙、血氨、血红蛋白水平差异无统计学意义(P>0.05), 这表明非卧床持续性腹膜透析对于BUN和SCr等废物的排除效果不如血液透析, 对于血钙、血氨等的清除, 两组透析方法效果相当, 而腹膜透析对于血浆蛋白的保留不如血液透析, 易导致低蛋白血症的出现. 研究中发现观察组患者不良反应发生率(51.6%)明显低于对照组(74.2%), 差异有统计学意义(P<0.05), 血液透析因为血容量的增多、血压控制不良、需要使用肝素等原因, 在心脑血管疾病、出血、感染等并发症多余腹膜透析, 但低蛋白血症则少于腹膜透析. 两种透析方法均能提高患者1年后生存率, 但腹膜透析效果更明显, 生存率显著高于血液透析, 差异有统计学意义(P<0.05), 但死亡原因间差异无统计学意义(P>0.05). 研究中腹膜透析的花费低于血液透析, 差异有统计学意义(P<0.05). 观察者患者身体疼痛度和情感职能评分显著高于对照组, 而社会功能评分则显著低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05).

总之, 血液透析和腹膜透析均能有效治疗

■创新盘点

相较于其他报道, 研究更加全面, 对血压、血清尿素氮、血肌酐、血钙、血氨、血浆总蛋白, 血红蛋白, 白蛋白并注意患者不良反应, 患者生存率已经经济负担等多方面因素都进行了研究, 其他报道未能有如此全面. 本文最大创新之处, 在于对不同透析方式的患者的生活质量也进行了分析, 更具有实际价值.

■同行评价
比较了腹膜透析和血液透析对合并肝硬化和肾功能衰竭患者治疗的不同效果, 发现两者均能有效治疗终末期肾病伴晚期肝硬化, 腹膜透析治疗生存率更高, 不良反应更少, 有一定的临床意义. 比较了两组患者的经济负担和生活质量, 更具有现实意义.

终末期肾病伴晚期肝硬化, 但腹膜透析治疗生存率更高, 不良反应更少, 是既经济又有效的手段.

4 参考文献

1 张正秀, 何洪斌, 曾兴蓉, 刘高伦, 张家菊, 刘琳, 张颖娟. 80例终末期肾病腹膜透析的临床分析. 四川医学 2013; 34: 195-197

2 童桂芝, 李红仙. 尿毒症伴肝硬化大量腹水行腹膜透析治疗的护理. 全科护理 2011; 9: 512-513

3 华伟. 腹膜透析治疗尿毒症合并肝硬化大量腹水的临床效果观察. 中国现代医生 2013; 51: 104-105

4 孟小蓉, 包勇. 结核感染T细胞检测在结核病合并终末期肾病透析患者中的早期诊断价值. 中华肺部疾病杂志(电子版) 2013; 6: 71-74

5 London R, Solis A, Goldberg GA, Wade S, Ryu S. Health care resource utilization and the impact of anemia management in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 539-548 [PMID: 12200806 DOI: 10.1053/ajkd.2002.34912]

6 彭保康. 血液透析与腹膜透析治疗糖尿病肾病的疗效比较分析. 当代医学 2011; 17: 30

7 李强, 杨思尧. 终末期肾病腹膜透析患者生活质量的临床分析. 中国医药指南 2012; 10: 152-153

8 徐婷, 张燕松, 秦东春. 肾移植术后受者PBMC中TNF-α mRNA的表达. 中华检验医学杂志 2011; 34: 372-373

9 刘日光, 李剑义, 秦曙光. 腹膜透析治疗尿毒症合并肝硬化大量腹水的探讨. 广州医药 2008; 39: 26-28

10 孜比布拉•买买提. 不同透析方式治疗糖尿病肾病尿毒症临床分析. 中国当代医药 2012; 19: 33

11 Just PM, Riella MC, Tschosik EA, Noe LL, Bhattacharyya SK, de Charro F. Economic evaluations of dialysis treatment modalities. *Health Policy* 2008; 86: 163-180 [PMID: 18243397 DOI: 10.1016/j.healthpol.2007.12.004]

12 余学清, 钱家麒. 糖尿病终末期肾病血液透析和腹膜透析治疗. 中国处方药 2009; 4: 60-61

13 Yu XQ, Wei JL. Kidney disease in China: recent progress and prospects. *Chin Med J* (Engl) 2009; 122: 2048-2053 [PMID: 19781394 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2009.17.016]

14 李波. 血液透析联合腹膜透析治疗慢性肾功能衰竭84例. 陕西医学杂志 2013; 42: 727-729

15 马方兰. 血液透析联合腹膜透析治疗慢性肾功能衰竭的临床效果研. 临床合理用药 2012; 5: 98-99

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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3月8日; 22(7): 1015-1021
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

鳞状细胞癌抗原SCCA1在肝细胞癌中的表达及意义

李石磊, 高英堂, 单士岗, 梁增辉, 翟道宽, 景 丽, 刘 彤, 杜 智, 王毅军

李石磊, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300170
高英堂, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 天津市第三中心医院 天津市肝胆疾病研究所 天津市人工细胞重点实验室 天津市 300170
单士岗, 王毅军, 天津市第三中心医院肝胆外科 天津市 300170
李石磊, 硕士, 主要从事肝胆疾病的研究
天津市卫生局攻关基金资助项目, No. 11KG112
作者贡献分布: 本研究的设计由王毅军、高英堂、杜智及李石磊完成; 样本的收集、数据统计由李石磊、梁增辉、翟道宽、景丽及刘彤完成; 实验操作及文章的撰写由李石磊完成; 文章的修改由高英堂与王毅军完成.
通讯作者: 王毅军, 教授, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院肝胆外科. wangyj@medmail.com.cn
电话: 022-84112148 传真: 022-24315132
收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-12-23
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

Expression of SCCA1 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance

Shi-Lei Li, Ying-Tang Gao, Shi-Gang Shan, Zeng-Hui Liang, Dao-Kuan Zhai, Li Jing, Tong Liu, Zhi Du, Yi-Jun Wang

Shi-Lei Li, Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China
Ying-Tang Gao, Zeng-Hui Liang, Dao-Kuan Zhai, Zhi Du, Key Laboratory of Artificial Cell, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Shi-Gang Shan, Yi-Jun Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Supported by: the Key Research Project of Tianjin Health Bureau, No. 11KG112
Correspondence to: Yi-Jun Wang, Professor, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. wangyj@medmail.com.cn
Received: 2013-10-10 Revised: 2013-12-23
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To determine the expression of squamous cell carcinoma antigen 1 (SCCA1) in hepatocellular carcinoma (HCC) and to evaluate its clinical significance.

METHODS: The expression of SCCA1 was assessed in specimens of HCC, adjacent non-cancerous tissues, liver cirrhosis and normal liver tissue by immunohistochemistry, Western blot and qRT-PCR. The relationship between the expression of SCCA1 and the clinicopathological features of HCC was analyzed.

RESULTS: Immunohistochemistry showed that SCCA1 was undetectable in 62 HCCs, 43 adjacent non-cancerous tissues, 10 cirrhosis liver tissues and 5 normal liver tissues. Western blot analysis demonstrated that 5 out of 6 detected HCC tissues had higher SCCA1 expression than paired adjacent non-cancerous tissues, and that the remaining HCC tissue showed similar expression pattern to adjacent non-cancerous tissues. One out of 3 liver cirrhosis tissues was SCCA1 positive, while SCAA1 expression was not detected in normal liver tissues (0/3). Using qRT-PCR, the expression of SCCA1 was found in 29.5% of the HCC tissues (18/61), but SCAA1 expression was not detected in paired adjacent non-cancerous, liver cirrhosis and normal liver tissues (0/61, 0/16, and 0/6, respectively). There were significant differences in the positive rate of SCCA1 between HCC and paired adjacent non-cancerous, liver cirrhosis tissues (P = 0.000, 0.013). Amplification plot and melt curve plot showed that the CT and Tm values were 8.90 ± 1.40 and 87.9 ℃ for G3PDH and 34.37 ± 1.74 and 88 ℃ for SCCA1.

CONCLUSION: SCCA1 is weakly expressed in HCC and difficult to detect by immunohistochemistry. SCCA1 mRNA expression is specific in HCC, although its sensitivity is limited.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Squamous cell carcinoma antigen; Tumor marker

Li SL, Gao YT, Shan SG, Liang ZH, Zhai DK, Jing L, Liu T, Du Z, Wang YJ. Expression of SCCA1 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1015-1021 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1015.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1015

摘要

目的: 探讨鳞状细胞癌抗原SCCA1在原发性

■背景资料
原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)为临床常见的恶性肿瘤, 进展快, 预后差. 早诊断早治疗是改善患者预后的关键. AFP是当前应用最广泛的肝癌血清标志物, 但其应用一直受到争议, 因此, 发现新的肝癌诊断标志物一直是研究的热点.

■同行评议者
戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

■研发前沿
近年研究表明，原发性肝细胞癌中鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)表达升高，并且其表达与肿瘤有一定的临床相关性. 然而国内尚无此方面报道.

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的表达情况及其临床意义.

方法: 采用免疫组织化学、Western blot、qRT-PCR检测SCCA1在肝细胞癌、癌旁非肿瘤组织、肝硬化及正常肝组织中的表达, 并分析SCCA1 mRNA与肝癌患者临床病理特征的相关性.

结果: 免疫组织化学显示62例HCC、43例癌旁肝组织、10例肝硬化、5例正常肝脏中均未发现SCCA1的表达; Western blot显示所检测的6例肝细胞癌均有SCCA1表达, 其中5例高表达于癌旁, 1例表达与癌旁相当, 3例肝硬化中1例阳性, 3例正常肝脏中均不表达; qRT-PCR分析显示SCCA1 mRNA在HCC组阳性率为29.5%(18/61), 癌旁组、肝硬化组、正常组均未发现阳性表达(0/61、0/16、0/6). 其中肝癌组与癌旁及肝硬化组差异有统计学意义(P = 0.000、0.013). 分析扩增曲线和溶解曲线, 内参基因G3PDH的CT值为18.90±1.40, 其单一峰Tm值87.9 ℃; 目的基因SCCA1的CT值为34.37±1.74, 其Tm值为88 ℃.

结论: SCCA1蛋白在HCC中微量表达, 免疫组织化学不易检测. SCCA1 mRNA用于HCC诊断特异度高、灵敏度有限.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌细胞; 鳞状细胞癌抗原; 肿瘤标志物

核心提示: 鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)1蛋白在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中微量表达, 免疫组织化学不易检测. SCCA1 mRNA用于肝癌诊断特异度高, 但灵敏度有限, 因此可与其他肿瘤标志物联合以提高HCC诊断的准确率.

李石磊, 高英堂, 单士岗, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 王毅军. 鳞状细胞癌抗原SCCA1在肝细胞癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1015–1021 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1015.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1015

0 引言

鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)是Kato等最先在宫颈癌中分离出来的、分子量为45 kDa的糖蛋白, 属于丝氨酸蛋白酶抑制物超家族成员[1], 其基因位于染色体18q21.3, 由紧密相连的*scca1*和*scca2*基因组成, 分别编码中性SCCA1和酸性SCCA2糖蛋白[2,3]. 两蛋白氨基酸序列92%一致, 但功能有较大差异. SCCA1又被称为SerpinB3, 主要抑制木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白激酶如组织蛋白酶S、K、L等[4], 体外实验表明其有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡和通过诱导上皮间质转化促进肿瘤细胞侵袭转移的作用[5-7]. SCCA2又被称为SerpinB4, 是糜蛋白酶样蛋白激酶抑制物, 可通过影响p38 MAPK通路抑制肿瘤细胞凋亡[8].

近年来的研究显示, SCCA高表达于多种上皮起源的肿瘤, 如头颈部肿瘤[9]、食管癌[10]、肺癌[11]、乳腺癌[12], 与肿瘤的发生密切相关. 目前其在肝细胞癌中的研究尚少, Pontisso等[13]最早报道了SCCA在HCC中有表达, 其免疫组织化学结果显示SCCA(包括SCCA1、SCCA2)在85%(55/65)的肿瘤组织标本中有表达, 但在20例正常肝脏组织中不表达. Beneduce、Giannelli、Guido等[14-16]用免疫组织化学得到了类似的结果. 血清中SCCA的表达目前仍存在争议, Hussein等[17]发现血清SCCA在HCC组中高于其他肝病组, 并且在AFP阴性的HCC患者中也可持续性增高, 认为其可用于HCC诊断, 而Soyemi、Beale等[18,19]发现血清SCCA在HCC和正常对照组之间表达无差别. 鉴于以往研究方法未明确区分SCCA1和SCCA2两个亚型, 更难以准确分析哪个亚型在HCC发生演化中的作用, 因此, 本实验采用免疫组织化学、Western blot及qRT-PCR的方法对SCCA1这一亚型在原发性肝癌中的表达情况进行探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-07/2011-10天津市第三中心医院肝胆外科的129例组织标本, 包括62例HCC组织、43例癌旁肝组织(距肿瘤边缘2 cm)、10例肝硬化、6例胰腺癌、3例胆管细胞癌、5例正常肝组织. 62例肝细胞癌中, 男51例, 女11例, 年龄(55.9岁±10.7岁). 4例阳性对照取自宫颈鳞状细胞癌手术标本. 上述标本中6例HCC及相邻的癌旁组织、3例肝硬化、3例正常肝脏组织用Western blot检测蛋白表达. qRT-PCR标本收集自2004-01/2009-12共144例组织标本, 包括61例肝细胞癌及配对的癌旁组织、16例肝硬化、6例正常肝组织. 患者术前均未行放疗、化疗、生物治疗等抗肿瘤治疗. 参照2002年国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control,

UICC)第六次修定的HCC的TNM临床分期标准和世界卫生组织(2000)消化系统肿瘤分类进行临床和病理学诊断. 取材的癌组织排除液化坏死区, 正常肝组织取自没有基础肝病的肝血管瘤患者, 所有标本均经病理检查确诊. 留取的组织标本分别采用-80 ℃冻存和4%甲醛固定后石蜡包埋保存. 本研究经天津市第三中心医院伦理委员批准并得到患者知情同意. 鼠抗人SCCA1单抗(8H11, Santa Cruz)、通用型免疫组织化学试剂盒、DAB显色试剂盒(北京中杉金桥). Western blot二抗(Abmart)、鼠抗人β-actin单抗(北京中杉金桥)、ECL发光试剂盒(北京艾德莱). TRIzol(invitrogen)、逆转录试剂盒(Promega)、Real time RT-PCR试剂盒(TaKaRa), SCCA1引物及内参G3PDH引物由Invitrogen公司设计和合成, SCCA1上游引物: 5'-ATTCCT-GAAGGTAATATTGGCAGCA-3', 下游引物: 5'-GTTGAAGTAGGTGATGATCCGAATC-3'; G3PDH上游引物: 5'-GGGCATCCTGGGCTA-CACTGA-3', 下游引物: 5'-CAAATTCGTTGT-CATACCAGGAAATG-3', 扩增片段大小分别为590、143 bp.

1.2 *方法*

1.2.1 *免疫组织化学*: 采用免疫组织化学PV二步染色法. 组织标本经4%甲醛溶液固定后石蜡包埋, 切片厚约3 μm; 经64.5 ℃温箱烤片后, 二甲苯酒乙醇度脱蜡水化, 高温高压修复抗原, 3%去离子H_2O_2封闭内源性过氧化物酶, 滴加1∶100稀释的鼠抗人单克隆SCCA1抗体, 4 ℃冰箱过夜; 滴加二抗, 光学显微镜下DAB显色, 自来水终止, 苏木素复染, 脱水透明、封片. 实验中以宫颈鳞状细胞癌标本做阳性对照, PBS代替SCCA1抗体作为阴性对照. 细胞质中出现棕黄色颗粒为阳性表达. 随机选取10个高倍镜(400×)视野, 阳性细胞<25%为阴性, 25%-75%为微弱阳性, 75%以上为强阳性.

1.2.2 Western blot: 提取组织总蛋白, Bradford比色法测定蛋白浓度, 取40 μg变性蛋白质加入十二烷基硫酸钠一聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE) 80 V进行电泳, 30 min后指示剂进入分离胶, 电压调制120 V继续电泳1 h. 电转膜仪转移到PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭2 h后滴加1∶200稀释的鼠抗人SCCA1单克隆抗体, 4 ℃过夜孵育, TTBS洗涤后加入羊抗小鼠二抗, 室温孵育1 h, 洗涤后采用ECL化学发光显色试剂盒反应, 在暗室中压片, 然后显影、定影. 扫描仪扫描显色带.

1.2.3 qRT-PCR: TRIzol法提取组织总RNA, 逆转录参照Promega公司的ImProm-II™使用说明书, 反应体系为3 μg RNA、3 μL随机引物, 补DEPC水至24 μL; 70 ℃热变性10 min, 迅速冰浴3 min; 再依次加入4.8 μL 25 mmol/L $MgCl_2$、8 μL 5×逆转录缓冲液、2 μL 10 mmol/L dNTP Mix、1.5 μL逆转录酶, 至终体积为40 μL; 后置于PCR仪中37 ℃, 99 min. 荧光定量PCR反应在ViiATM7 384孔板上进行, 扩增体系为15 μL, 包含RT产物1.5 μL、上下游引物各0.35 μL (10 mmol/L)、Taq E (5 U/μL)0.125 μL、dNTP Mixture 0.96 μL、PCR Buffer 10×(内含Mg^{2+})1.5 μL, 灭菌蒸馏水补足至15 μL, 反应条件为: 94 ℃ 5 min预变性; 94 ℃ 30 s、62 ℃ 1 min, 共45个循环. 反应结束后生成溶解曲线, 记录每个标本的CT值. 随机选取5例溶解曲线有特异峰的标本由上海Invitrogen公司对PCR产物测序, 测序结果与GenBank中报道序列进行比对以确定引物对SCCA1的特异性扩增.

1.2.4 *随访*: 最后随访时间2012-07-01, 中位随访时间为27.3 mo, 术后每隔3 mo复查血清甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、肝功能、CT以及腹部超声1次, 观察患者有无转移和恢复情况.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行数据处理, 率的比较采用χ^2检验或Fisher's确切概率法, 生存分析采用Kaplan-Meier、Log-rank检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *免疫组织化学分析* 4例宫颈鳞状细胞癌阳性对照结果显示SCCA1阳性染色为棕褐色, 主要定位于细胞浆, 而本实验在62例肝细胞HCC、6例胰腺癌、3例胆管细胞癌、43例癌旁、10例肝硬化及5例正常肝脏中均未发现SCCA1阳性表达(图1).

2.2 Western blot*检测* 鉴于免疫组织化学检测结果阴性, 进一步采用Western blot的方法检测部分标本中SCCA1蛋白的表达. 在6例HCC中5例癌表达高于癌旁, 1例癌与癌旁组织表达量相当; 3例肝硬化中1例表达; 3例正常肝脏均不表达(图2).

2.3 qRT-PCR*检测* 为验证上述蛋白水平的表达, 从转录层次分析SCCA1 mRNA的表达. 首先对内参基因G3PDH的扩增曲线和溶解曲线综合分析显示, 所有标本均能够特异性扩增，其CT值为18.90±1.40, 特异峰Tm值为87.9 ℃(图3C, D), 说明总RNA的提取、逆转录和PCR过程均良好,

■**相关报道**
Pontisso等研究发现SCCA在85%(55/65)的HCC组织中表达，而20例正常肝脏中无表达，Beneduce、Giannelli、Guido等用免疫组织化学得到类似结果.

■创新盘点
SCCA有两个亚型SCCA1、SCCA2, 两者的生物学功能有明显差异. 以往研究方法未明确区分SCCA1和SCCA2, 更难以准确分析哪个亚型在HCC发生演化中的作用. 本实验主要从基因和蛋白层次对SCCA1这一亚型在原发性肝癌中的表达情况进行探讨.

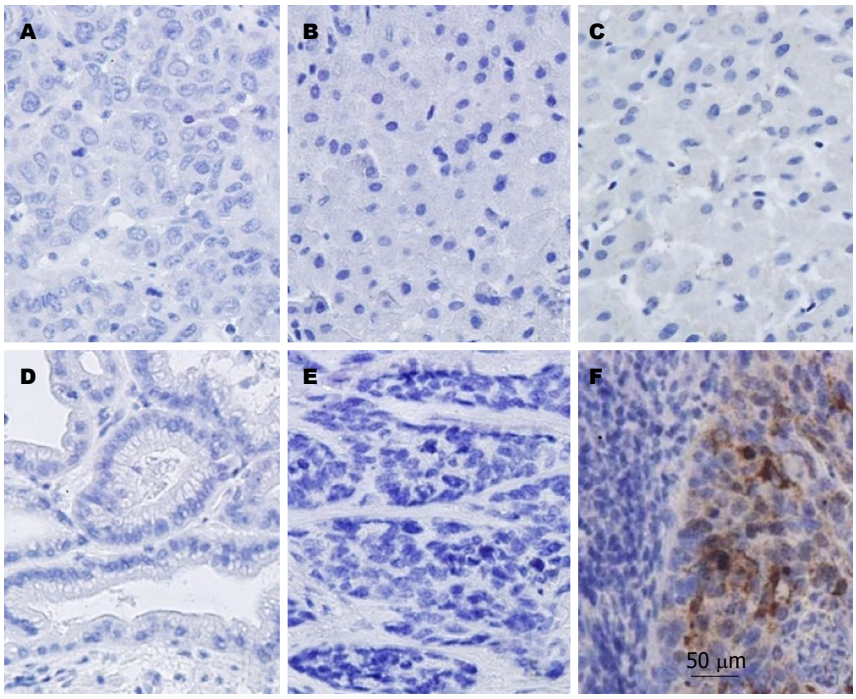


图 1 SCCA1在不同组织中的表达(免疫组织化学×200). A: SCCA1在肝细胞癌中不表达; B: SCCA1在癌旁组织中不表达; C: SCCA1在正常肝脏中不表达; D: SCCA1在胰腺癌中不表达; E: SCCA1在胆管细胞癌中不表达; F: SCCA1在宫颈癌癌巢中表达明显. SCCA1: 鳞状细胞癌抗原1.

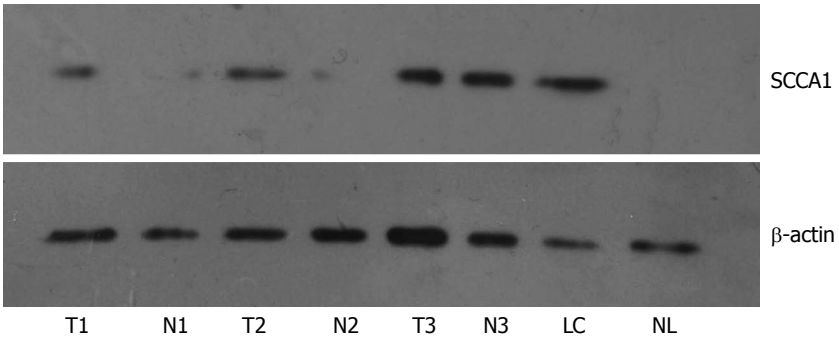


图 2 SCCA1在肝细胞癌、癌旁、肝硬化及正常肝脏中的表达. T: 肝细胞癌; N: 癌旁; LC: 正常肝脏. SCCA1: 鳞状细胞癌抗原1.

可用于对目的基因的扩增分析; 然后对SCCA1的扩增和溶解曲线分析发现, 18例HCC标本特异性扩增, 其CT值为34.37±1.74, 特异单峰的Tm值是88 ℃(图3A, B). 61例癌旁组织、16例肝硬化及6例正常肝组织均无扩增, 从上述阳性标本中随机挑选5例测序, 与Genbank中报道的SCCA1序列进行比对, 结果显示序列一致, 说明SCCA1被特异扩增. SCCA1 mRNA在HCC组阳性率为29.5% (18/61), 与癌旁及肝硬化组差异有统计学意义(P = 0.000、0.013). 正常肝组织例数偏少, 未进行统计学比较.

2.4 SCCA1 mRNA表达与HCC临床病理特征之间的关系 SCCA1 mRNA与HCC临床病理特征的相关性分析结果见表1, SCCA1的表达与性别、年龄、HBV感染、HCV感染、肝硬化、Child分级、血清AFP水平、γGT-Ⅱ、肿瘤大小、肿瘤数目、病理分级、TNM分期、门静脉侵犯等均无显著相关性(P>0.05).

2.5 SCCA1 mRNA表达与HCC患者预后的关系 本组61例, 57例获得随访, 其中24例至2012-07仍存活(截尾资料), 33例在随访期内死亡(完整资料), 平均随访时间为25.2 mo(9 d-72 mo). SCCA1阳性组术后中位生存期为18 mo, SCCA1阴性组术后中位生存期为31 mo. SCCA1阳性组的术后中位生存时间短于阴性组, 但是Log-rank检验显示生存率差异不显著(P = 0.380, 图4).

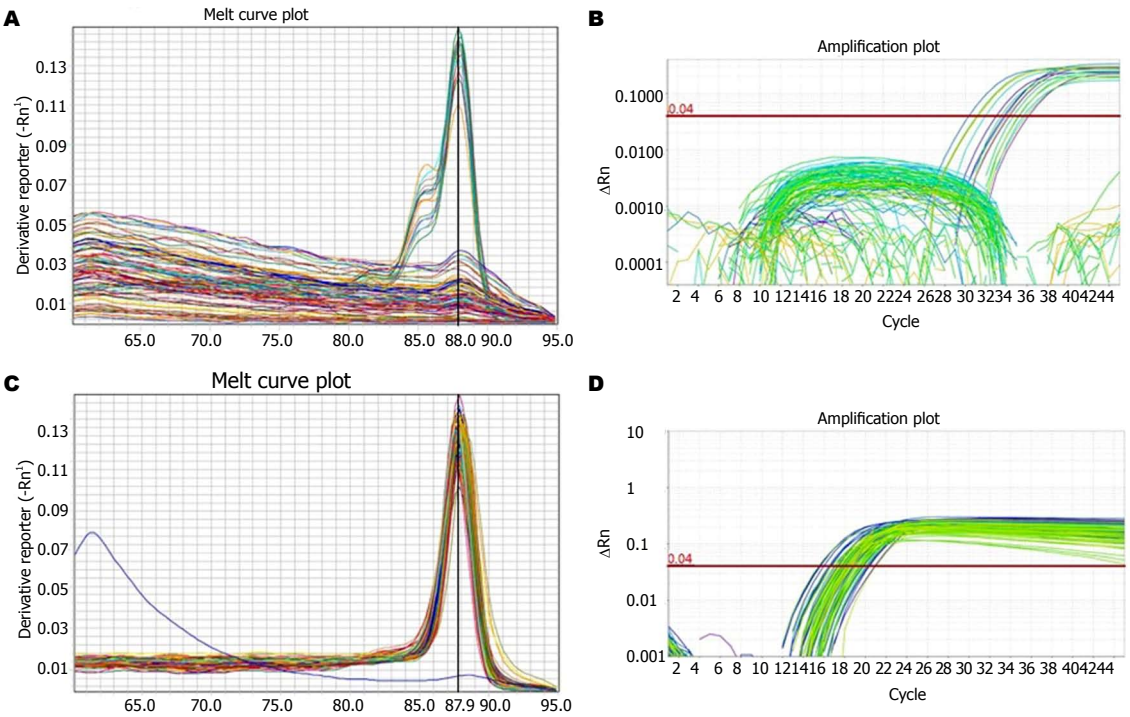


图 3 SCCA1 mRNA在不同组织中的表达(qRT-PCR). A: SCCA1的溶解曲线(Tm = 88.0 ℃); B: SCCA1的扩增曲线; C: 内参G3PDH的溶解曲线(Tm = 87.9 ℃); D: 内参G3PDH的扩增曲线.

■应用要点

分子靶向治疗是目前肿瘤治疗的研究热点. SCCA1 mRNA在部分肝细胞癌中特异表达, 研究其表达升高的原因及机制可为肝细胞癌的分子靶向治疗提供新的思路.

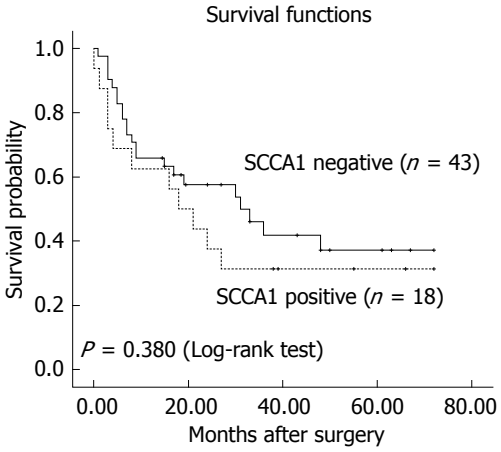


图 4 HCC中SCCA1 mRNA阴阳组患者累计生存率的比较.

3 讨论

SCCA是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂, 因其首次在宫颈癌鳞状上皮中分离而被命名鳞状细胞癌抗原. 以往认为SCCA只表达于宫颈癌、食管癌等上皮起源的肿瘤, Pontisso最早报道了SCCA在85%的HCC中有表达, 而正常肝脏中不表达, Beneduce等[14]又指出SCCA在肝硬化及肝炎组织中也有表达, 但其各组表达量均小于HCC组. 另有学者对血清SCCA在肝癌诊断中的应用价值进行了研究, 但结果存在较大争议[17-19]. 鉴于以往研究未考虑SCCA1和SCCA2两者在HCC中的表达差异, 本实验针对SCCA1这一亚型在原发性肝癌中的表达情况从蛋白和mRNA层次分别进行了探讨.

免疫组织化学结果显示SCCA1在宫颈癌阳性对照中高表达, 而在HCC、癌旁、肝硬化及正常肝脏中均未发现阳性表达, 随后Western blot检测部分免疫组织化学阴性的标本发现癌、癌旁肝硬化中有表达, 正常肝脏中仍不表达. 免疫组织化学与前人及Western blot的结果不一致, 此结果可能有以下两种原因: (1)抗体不同: 本研究用的是Santa Cruz公司的针对SCCA1的单克隆抗体(8H11), 特异性较高, 目前仅有的4篇研究SCCA在肝癌组织中表达的报道[13-16]均使用Xeptagen公司抗体(Hepa-Ab Kit), 该抗体不能区分SCCA1、SCCA2, 因此抗体特异性的差异可能是这种结果不一致的重要原因; (2)SCCA1微量表达: qRT-PCR结果显示HCC中SCCA1 mRNA阳性组的CT值为34.37, 而内参CT值为18.90, 说明SCCA1 mRNA在HCC组织中含量极低, 转录水平低下可能造成翻译蛋白的低表达, 加之免疫组织化学仅是对单层细胞内蛋白的检测, 微量的表达超过试剂盒的检测下限可造成结果阴性, 而Western blot上样蛋白量为40 μg加之ECL发光剂可使灵敏度提高1000-10000倍以至能检测到pmol甚至fmol级的HRP, Western blot的这种放大作用可以使微量SCCA1得以检测,

■同行评价
本文对了解SCCA1在肝细胞癌的表达情况及其临床病理意义有一定的参考意义.

表 1 肝癌组织中SCCA1 mRNA的表达与临床病理特征的关系

临床病理因素	n	SCCA1		χ^2	P值
		阳性	阴性		
性别				1.132	0.287
男	52	14	38		
女	9	4	5		
年龄(岁)				0.229	0.632
≤55	30	8	22		
>55	31	10	21		
HBV				0.008	0.930
+	47	14	33		
–	14	4	10		
HCV					1.000
+	3	1	2		
–	58	17	41		
肝硬化					0.411
有	54	15	39		
无	7	3	4		
Child–Pugh分级				0.001	0.970
A	51	15	36		
B	10	3	7		
AFP(ng/mL)				0.002	0.962
≤400	37	11	26		
>400	24	7	17		
γGT–II				0.766	0.381
+	32	11	21		
–	29	7	22		
肿瘤大小(cm)				0.949	0.622
≤5	19	4	15		
5–10	24	8	16		
≥10	18	6	12		
肿瘤数目				0.761	0.383
1	39	13	26		
≥2	22	5	17		
分化程度				2.68	0.262
高	15	2	13		
中	24	9	15		
低	22	7	15		
TNM分期				0.208	0.649
I–II	38	12	26		
III–IV	23	6	17		
血管侵犯				2.497	0.114
有	42	15	27		
无	19	3	16		

HBV: 乙型肝炎病毒; HCV: 丙型肝炎病毒; AFP: 甲胎蛋白; SCCA1: 鳞状细胞癌抗原1.

所以组织中SCCA1的微量表达也可造成这种结果不一致.

实时荧光定量PCR有高的灵敏度和特异度, 可定量检测微量的靶分子. 本研究发现SCCA1 mRNA在HCC中特异表达, 而癌旁、肝硬化及正常肝中均不表达. 因此SCCA1 mRNA用于肝癌诊断特异度高, 但由于灵敏度有限(29.5%), 故可与其他肿瘤标记物联合用以提高HCC诊断的准确率. Turato等[20]在对肝母细胞瘤的研究中发现, SCCA1高表达于未成熟组织可调节未成熟肝组织的生长, 促进肝母细胞瘤的形成. Catanzaro等[12]也发现SCCA1在低分化的乳腺癌中高表达. 又有研究表明SCCA1可以通过诱导上皮间质转化增加肿瘤的侵袭性促进肿瘤的复发和转移, 因此低分化肿瘤中SCCA1的高表达可能是其易复发、预后差的原因之一. 本研究显示低分化HCC中SCCA1的表达率高于高分化HCC(31.8% *vs* 13.3%), 但可能受限于样本例数少, 两者差异无统计学意义.

总之, 本研究结果提示, SCCA1蛋白在HCC中微量表达, 免疫组织化学不易检测. SCCA1 mRNA用于肝癌诊断特异度高, 但灵敏度有限, 因此可与其他肿瘤标志物联合以提高HCC诊断的准确率. 目前SCCA1在部分肝癌患者中表达升高的原因及机制、其表达是否可促进肝癌的发生与发展、阻断其表达是否可治疗HCC等均需深入研究.

4 参考文献

1 Kato H. Expression and function of squamous cell carcinoma antigen. *Anticancer Res* 1996; 16: 2149-2153 [PMID: 8694535]

2 Schneider SS, Schick C, Fish KE, Miller E, Pena JC, Treter SD, Hui SM, Silverman GA. A serine proteinase inhibitor locus at 18q21.3 contains a tandem duplication of the human squamous cell carcinoma antigen gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 3147-3151 [PMID: 7724531 DOI: 10.1073/pnas.92.8.3147]

3 Yasumatsu R, Nakashima T, Azuma K, Hirakawa N, Kuratomi Y, Tomita K, Cataltepe S, Silverman GA, Clayman GL, Komiyama S. SCCA1 expression in T-lymphocytes peripheral to cancer cells is associated with the elevation of serum SCC antigen in squamous cell carcinoma of the tongue. *Cancer Lett* 2001; 167: 205-213 [PMID: 11369142 DOI: 10.1016/S0304-3835(01)00445-1]

4 Schick C, Pemberton PA, Shi GP, Kamachi Y, Cataltepe S, Bartuski AJ, Gornstein ER, Brömme D, Chapman HA, Silverman GA. Cross-class inhibition of the cysteine proteinases cathepsins K, L, and S by the serpin squamous cell carcinoma antigen 1: a kinetic analysis. *Biochemistry* 1998; 37: 5258-5266 [PMID: 9548757 DOI: 10.1021/bi972521d]

5 Villano G, Quarta S, Ruvoletto MG, Turato C, Vidalino L, Biasiolo A, Tono N, Lunardi F, Calabrese F, Dall'olmo L, Dedja A, Fassina G, Gatta A, Pontisso P. Role of squamous cell carcinoma antigen-1 on liver

cells after partial hepatectomy in transgenic mice. *Int J Mol Med* 2010; 25: 137-143 [PMID: 19956912]
6 Vidalino L, Doria A, Quarta S, Zen M, Gatta A, Pontisso P. SERPINB3, apoptosis and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2009; 9: 108-112 [PMID: 19332150 DOI: 10.1016/j.autrev.2009.03.011]
7 Quarta S, Vidalino L, Turato C, Ruvoletto M, Calabrese F, Valente M, Cannito S, Fassina G, Parola M, Gatta A, Pontisso P. SERPINB3 induces epithelial-mesenchymal transition. *J Pathol* 2010; 221: 343-356 [PMID: 20527027 DOI: 10.1002/path.2708]
8 Schick C, Kamachi Y, Bartuski AJ, Cataltepe S, Schechter NM, Pemberton PA, Silverman GA. Squamous cell carcinoma antigen 2 is a novel serpin that inhibits the chymotrypsin-like proteinases cathepsin G and mast cell chymase. *J Biol Chem* 1997; 272: 1849-1855 [PMID: 8999871 DOI: 10.1074/jbc.272.3.1849]
9 Kimura Y, Fujieda S, Takabayashi T, Tanaka T, Sugimoto C, Saito H. Conventional tumor markers are prognostic indicators in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2000; 155: 163-168 [PMID: 10822131 DOI: 10.1016/S0304-3835(00)00423-7]
10 Shimada H, Nabeya Y, Okazumi S, Matsubara H, Shiratori T, Gunji Y, Kobayashi S, Hayashi H, Ochiai T. Prediction of survival with squamous cell carcinoma antigen in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Surgery* 2003; 133: 486-494 [PMID: 12773976 DOI: 10.1067/msy.2003.139]
11 Kashiwabara K, Nakamura H, Yagyu H, Kishi K, Matsuoka T, Esaki T. Changes in squamous cell carcinoma-related antigen levels before and after hemodialysis in relation to the model of dialyzer employed. *Intern Med* 2000; 39: 291-295 [PMID: 10801142 DOI: 10.2169/internalmedicine.39.291]
12 Catanzaro JM, Guerriero JL, Liu J, Ullman E, Sheshadri N, Chen JJ, Zong WX. Elevated expression of squamous cell carcinoma antigen (SCCA) is associated with human breast carcinoma. *PLoS One* 2011; 6: e19096 [PMID: 21526154 DOI: 10.1371/journal.pone.0019096]
13 Pontisso P, Calabrese F, Benvegnù L, Lise M, Belluco C, Ruvoletto MG, Marino M, Valente M, Nitti D, Gatta A, Fassina G. Overexpression of squamous cell carcinoma antigen variants in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2004; 90: 833-837 [PMID: 14970861 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601543]
14 Beneduce L, Castaldi F, Marino M, Quarta S, Ruvoletto M, Benvegnù L, Calabrese F, Gatta A, Pontisso P, Fassina G. Squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complexes as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 2558-2565 [PMID: 15887222 DOI: 10.1002/cncr.21106]
15 Giannelli G, Marinosci F, Sgarra C, Lupo L, Dentico P, Antonaci S. Clinical role of tissue and serum levels of SCCA antigen in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2005; 116: 579-583 [PMID: 15825162 DOI: 10.1002/ijc.20847]
16 Guido M, Roskams T, Pontisso P, Fassan M, Thung SN, Giacomelli L, Sergio A, Farinati F, Cillo U, Rugge M. Squamous cell carcinoma antigen in human liver carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2008; 61: 445-447 [PMID: 17893121 DOI: 10.1136/jcp.2007.051383]
17 Hussein MM, Ibrahim AA, Abdella HM, Montasser IF, Hassan MI. Evaluation of serum squamous cell carcinoma antigen as a novel biomarker for diagnosis of hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Indian J Cancer* 2008; 45: 167-172 [PMID: 19112206 DOI: 10.4103/0019-509X.44666]
18 Soyemi OM, Otegbayo JA, Ola SO, Akere A, Soyemi T. Comparative diagnostic efficacy of serum squamous cell carcinoma antigen in hepatocellular carcinoma. *BMC Res Notes* 2012; 5: 403 [PMID: 22856336 DOI: 10.1186/1756-0500-5-403]
19 Beale G, Chattopadhyay D, Gray J, Stewart S, Hudson M, Day C, Trerotoli P, Giannelli G, Manas D, Reeves H. AFP, PIVKAII, GP3, SCCA-1 and follisatin as surveillance biomarkers for hepatocellular cancer in non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *BMC Cancer* 2008; 8: 200 [PMID: 18638391 DOI: 10.1186/1471-2407-8-200]
20 Turato C, Buendia MA, Fabre M, Redon MJ, Branchereau S, Quarta S, Ruvoletto M, Perilongo G, Grotzer MA, Gatta A, Pontisso P. Over-expression of SERPINB3 in hepatoblastoma: a possible insight into the genesis of this tumour? *Eur J Cancer* 2012; 48: 1219-1226 [PMID: 21737255 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.06.004]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1022-1026
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

难治性肠易激综合征–腹泻型的相关危险因素

洪霞, 古赛

■背景资料
肠易激综合征(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS)是常见的功能性肠病, 其中以肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)最为常见, 无特异的体格检查及生化指标, 部分患者常规治疗3 mo效果差, 多同时伴有心理精神障碍, 形成了难治性IBS, 大大地降低了患者的生活质量, 故寻找其危险因素, 为早期防治难治性IBS寻找理论依据至关重要.

洪霞, 古赛, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016
洪霞, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由洪霞与古赛设计; 洪霞与古赛收集病例; 数据分析由洪霞完成; 本论文写作由洪霞与古赛完成; 古赛审校.
通讯作者: 古赛, 副教授, 主任医师, 400016, 重庆市渝中区袁家岗友谊路1号, 重庆医科大学附属第一医院消化内科.
1601792466@qq.com
电话: 023-89011836
收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2014-01-13
接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

Risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea

Xia Hong, Sai Gu

Xia Hong, Sai Gu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China
Correspondence to: Sai Gu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 1 Youyi Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, China. 1601792466@qq.com
Received: 2013-11-18 Revised: 2014-01-13
Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

Abstract
AIM: To investigate the risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea (IBS-D) to provide evidence for early prevention and treatment of IBS-D.

METHODS: One hundred and twenty-one outpatients with IBS-D were divided into a refractory group (n = 56) and a non-refractory group (n = 65). The clinical data in both groups, including sex, age, body mass index (BMI), family history, smoking status, alcohol consumption, clinical symptoms, and anxiety and depression status were assessed statistically by univariate logistic regression analysis and receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, with an attempt to find the predictors of refractory IBS-D.

RESULTS: There were no statistically significant differences in sex, age, BMI, family history, smoking status or alcohol consumption between the two groups. The univariate logistic regression analysis showed that clinical symptoms (OR = 1.010, 95%CI: 1.005-1.015), anxiety (OR = 2.810, 95%CI: 1.888-4.180) and depression (OR = 1.637, 95%CI: 1.338-2.004) status were risk factors. Their areas under the ROC curve (AUC) were 0.757, 0.919 and 0.796, respectively, and the cut-off values were 183, 9 and 6 points, respectively.

CONCLUSION: IBS is significantly associated with clinical symptoms, anxiety and depression status, which may be used as predictors of IBS-D.

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

Key Words: Irritable bowel syndrome; Refractory irritable bowel syndrome; Refractory irritable bowel syndrome-diarrhea; Non-refractory irritable bowel syndrome-diarrhea; Related factor.

Hong X, Gu S. Risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1022-1026 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1022.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1022

摘要
目的: 探讨难治性肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)的相关危险因素, 为早期防治难治性IBS-D提供理论依据.

方法: 将IBS-D门诊患者121例分为两组, 难治性IBS-D56例和非难治性IBS-D65例, 对比分析两组患者的性别、年龄、体质量指数、家族史、吸烟史、饮酒史、症状积分、焦虑抑郁状况, 通过单因素logistic回归分析筛选出与难治性IBS-D的相关危险因素, 将这些相关危险因素纳入ROC曲线(receiver operating characteristic curve)分析, 以明确能够预测难治性IBS-D的危险因素的临界值.

结果: 难治性IBS-D组和非难治性IBS-D组在性别、年龄、体质量指数、家族史、吸烟史

■同行评议者
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

及饮酒史上比较无统计学意义. 单因素logistic回归分析显示症状积分(OR = 1.010, 95%CI: 1.005-1.015)、焦虑积分(OR = 2.810, 95%CI: 1.888-4.180)及抑郁积分(OR = 1.637, 95%CI: 1.338-2.004)为难治性IBS-D的危险因素, ROC曲线分析显示临床症状积分、焦虑积分、抑郁积分的ROC曲线下面积(area under ROC curve, AUC)分别为0.757、0.919、0.796, 其预测难治性IBS-D的临界点分别为183分、9分、6分. 故临床症状积分>183分、焦虑积分>9分、抑郁积分>6分对于预测难治性IBS-D具有重要意义.

结论: 症状积分、焦虑积分、抑郁积分为难治性IBS-D的危险因素, 可作为预测的重要参考指标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肠易激综合征; 难治性肠易激综合征; 难治性肠易激综合征-腹泻型; 非难治性肠易激综合征-腹泻型; 相关因素

核心提示: 难治性肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)为常见的功能性胃肠病, 目前缺乏有效治疗方案, 早期预防IBS-D形成难治性IBS-D尤其重要.

洪霞, 古赛. 难治性肠易激综合征-腹泻型的相关危险因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1022-1026 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1022.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1022

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛和/或腹部不适及排便习惯改变为特征的功能性疾病, 无可以解释症状的形态学和生化异常. 据报道, 全球IBS总患病率在5%-25%, 亚洲国家在5%-10%[1], 其中肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)是最常见的亚型[2], IBS以其高患病率引起各国医疗机构的高度重视, 也成为研究的热点. 部分患者经常规治疗即: 调整生活习惯、饮食习惯、常用药物治疗3 mo疗效不佳、症状反复、频繁就诊, 成为难治性IBS[3], 给患者的生活质量及经济造成严重影响. 本文对比分析难治性IBS-D与非难治性IBS-D的性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、家族史、临床症状、焦虑及抑郁状况等诸多因素, 以期发现难治性IBS-D的相关危险因素, 并预测其临界点, 为更好地预判难治性IBS-D奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-02/2013-06, 重庆医科大学附属第一医院、附属第二医院、重庆市第一人民医院、重庆市第二人民医院门诊的符合罗马III诊断标准IBS-D患者121例, 其中难治性肠易激综合征-腹泻型组56例, 非难治性肠易激综合征-腹泻型组65例.

1.2 方法

1.2.1 诊断及评估标准: IBS-D诊断标准: 符合罗马III诊断标准[2-4], 即: 在最近的3 mo内每月至少有3 d具有反复发作的腹痛或腹部不适, 并有下列症状中的2个或以上: (1)排便后症状改善; (2)排便频率的改变; (3)粪便性状的改变, 稀便(糊状便)或水样便占大便量≥25%, 硬便或块状便占大便量<25%. 在诊断前6 mo出现症状, 最近3 mo症状发作符合上述表现. 经过常规治疗超过3 mo而症状无明显改善, 纳入难治性IBS-D.

临床症状评估标准: 临床症状评分采用IBS症状严重程度量表(IBS symptom severity scale, IBS-SSS)评分系统[5], 包括腹痛程度、腹痛天数、腹胀程度、排便满意度、生活干扰5项. 每项积分为0-100分, 各项总积分为500分, 积分<75为正常, 75-175为轻度IBS, 176-300为中度IBS, 积分>300为重度IBS; 经常规治疗后症状积分下降程度小于50分为症状无明显改善, 下降程度≥50分为症状明显改善.

焦虑抑郁症状评分: 采用焦虑抑郁量表(hospital anxiety and depression scale, HADS)[6]对患者的情绪进行评分, 共14题, 包括焦虑及抑郁2个亚量表各7题. 0-7分代表正常; 8-10分表示轻度焦虑或抑郁; 11-14分表示中度焦虑或抑郁; 15-21分表示严重焦虑或抑郁. 采用8分作为界限值, 焦虑或抑郁量表得分≥8即认为患者可能存在抑郁或焦虑状况, 若患者的焦虑、抑郁分量表得分均≥8分则认为患者同时存在焦虑和抑郁状况, 即患有焦虑抑郁症.

吸烟定义为每天至少吸1支烟 , 连续吸烟1年以上. 饮酒定义为平均每天饮酒>100 mL, 持续1年以上. 戒烟或戒酒不足1年者仍定义为吸烟或饮酒[7].

1.2.2 纳入标准: (1)年龄为18-65周岁, 性别不限; (2)符合IBS-D诊断标准且治疗前IBS-SSS量表总积分≥75分[5]; (3)经病史、体格检查、实验室检查(如肝肾功、血常规、癌谱等)、放射学检查

■研发前沿
多项研究认为难治性IBS与精神心理障碍有关, 心理因素通过脑神经系统影响胃肠道功能, 相关研究表明早期予以心理干预、抗焦虑抑郁治疗及认知疗法对治疗IBS有明显效果.

■相关报道
段丽萍将精神心理在功能性胃肠病发病中的潜在机制做了一个系统性描述, 为难治性功能性疾病(如IBS-D)早期抗焦虑抑郁等治疗提供了理论依据.

表 1 难治性IBS-D组与非难治性IBS-D组的比较结果

相关因素	难治性IBS-D	非难治性IBS-D	统计量	*P*值
n	56	65		
性别[*n*(%)]			χ^2 = 2.345	0.126
男	15(26.79)	26(40.00)		
女	41(73.21)	39(60.00)		
家族史[*n*(%)]			χ^2 = 3.053	0.081
有	17(30.36)	11(17.92)		
无	39(69.64)	54(82.08)		
吸烟史[*n*(%)]			χ^2 = 0.139	0.709
有	13(23.21)	17(26.15)		
无	43(76.79)	48(73.85)		
饮酒史[*n*(%)]			χ^2 = 0.002	0.961
有	11(19.64)	13(20.00)		
无	45(80.36)	52(80.00)		
年龄(岁)	35.64 ± 10.44	36.84 ± 10.30	*t* = 0.422	0.674
BMI(kg/m^2)	21.88 ± 1.99	22.46 ± 2.03	*t* = −1.587	0.115
症状积分(分)	262.21 ± 88.88	188.65 ± 82.16	*t* = 4.664	<0.01
焦虑积分(分)	11.52 ± 3.25	6.66 ± 2.09	*t* = 9.603	<0.01
抑郁积分(分)	8.02 ± 3.01	4.97 ± 2.19	*t* = 6.284	<0.01

IBS-D: 肠易激综合征-腹泻型; BMI: 体质量指数.

(如全消化系吞钡X线检查、腹部CT等)、肠镜检查排除其他器质性疾病; (4)纳入观察前3 mo内未用抗抑郁及抗焦虑药物者; (5)有可靠且明确的诊疗过程记录; (6)自愿签署知情同意书者.

1.2.3 排除标准: (1)年龄为<18周岁或者>65周岁; (2)任何已知的吸收不良; (3)既往有胃肠道手术史(不包括阑尾切除术); (4)有器质性胃肠道疾病, 如: 炎症性肠病、癌症等; (5)有慢性疾病史, 如贫血(血红蛋白<90 g/L)、糖尿病、肺结核或心血管、肝、肾、脑和造血系统等严重疾病及精神病患者, 门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)>1.5倍、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)>1.2倍、血肌酐(creatinine, Cr)>1.0倍正常值(排除甲状腺功能亢进的患者); (6)乳糖不耐受、胆结石、子宫内膜异位等易与IBS症状混淆的疾病; (7)进行性体质量下降; (8)在试验中无法停用但又影响胃肠道运动和功能的伴随用药, 如抗生素等; (9)在试验中需连续使用1 wk以上但又影响胃肠道运动和功能的伴随用药, 如副交感神经抑制剂、肌松剂、止泄剂、阿片制剂等.

1.2.4 对比分析: 纳入观察的IBS-D患者为3类: (1)就诊时已常规治疗超过3 mo而症状无明显改善, 纳入难治性IBS-D; (2)就诊时已开始常规治疗但疗程<3 mo, 继续给予常规治疗至疗程满3 mo, 症状无明显改善者为难治性IBS-D, 症状明显改善者为非难治性IBS-D; (3)初诊患者, 给予常规治疗3 mo, 症状无明显改善者为难治性IBS-D, 症状明显改善者为非难治性IBS-D. 采用问卷形式, 调查患者一般情况: 性别、年龄、身高、体质量、病程、家族史、吸烟史及饮酒史, HADS量表评分, IBS-SSS量表评分, 对比分析两组间资料.

统计学处理 采用统计软件SAS17.00, 计量资料以mean±SD表示, 采用*t*检验, 计数资料采用χ^2检验, 同时两组间指标做单因素logistic回归分析, 并将有统计学意义的因素绘制ROC曲线(receiver operating characteristic curve, ROC), 分析ROC曲线下面积(area under ROC curve , AUC), 判定危险因素预测难治性IBS-D的临界点、灵敏度及特异度.

2 结果

2.1 难治性IBS-D组与非难治性IBS-D组的比较结果 两组患者在性别、年龄、身高、体质量、病程、家族史、吸烟史及饮酒史上比较无统计学意义, 在症状积分、焦虑积分及抑郁积分上比较有显著统计学差异(*P*<0.01)(表1).

2.2 难治性IBS-D的单因素logistic回归分析结果

表 2 难治性IBS-D单因素logistic分析结果

相关因素	β	S.E	Wals	*P*值	OR	95%CI
性别	−0.600	0.394	2.321	0.128	0.549	0.254−1.188
年龄(岁)	0.008	0.018	0.180	0.671	1.008	0.973−1.043
BMI	−0.146	0.093	2.465	0.116	0.861	0.720−1.037
家族史	−0.761	0.440	2.985	0.084	0.467	0.197−1.108
吸烟史	0.158	0.424	0.139	0.709	1.171	0.510−2.690
饮酒史	0.022	0.457	0.002	0.961	1.023	0.417−2.507
症状积分(分)	0.010	0.003	15.894	<0.01	1.010	1.005−1.015
焦虑积分(分)	1.033	0.203	25.975	<0.01	2.810	1.888−4.180
抑郁积分(分)	0.493	0.103	22.850	<0.01	1.637	1.338−2.004

IBS-D: 肠易激综合征-腹泻型; BMI: 体质量指数.

表 3 危险因素的临界值、敏感度及特异度

相关因素	AUC	临界值(分)	标准误	95%CI	敏感度	特异度
症状积分(分)	0.757	183	0.043	0.672−0.842	0.821	0.615
焦虑积分(分)	0.919	9	0.024	0.873−0.965	0.911	0.769
抑郁积分(分)	0.796	6	0.040	0.718−0.874	0.821	0.631

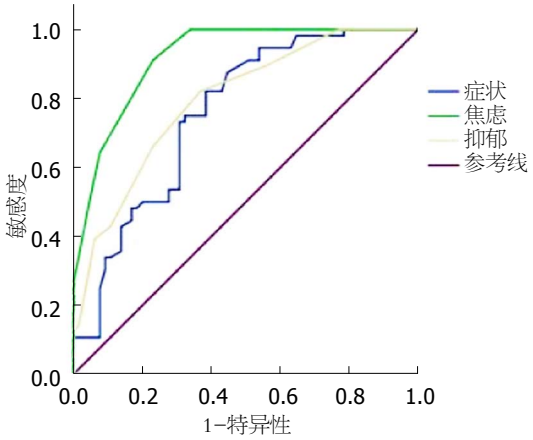


图 1 危险因素ROC曲线.

症状积分、焦虑积分、抑郁积分为难治性IBS-D的危险因素, 其OR值分别为1.010、2.810、1.637(表2).

2.3 ROC曲线分析结果 将单因素分析中筛选出的3个危险因素(症状积分、焦虑积分、抑郁积分)绘制ROC曲线, 计算AUC, 预测难治性IBS-D危险因素的临界点、灵敏度及特异度(表3, 图1). 结果显示症状积分、焦虑积分、抑郁积分在预测难治性IBS-D的AUC均>0.7, 其中焦虑积分的AUC>0.9, 有较高的诊断价值.

3 讨论

IBS发病率高[1], 随着生活节奏的加快、社会生活压力的加大, 一些IBS患者往往症状反复, 难以根除, 成为难治性IBS, 他们多辗转于众家医院就诊, 极大程度地降低了其生活质量, 浪费了有限的医疗资源. 本研究从难治性IBS-D相关因素分析着手, 意于寻找其相关危险因素, 为难治性IBS-D的早期干预寻求询证医学的依据.

本研究表明, 难治性IBS-D和非难治性IBS-D患者在性别、年龄、BMI、家族史、吸烟史及饮酒史方面均无统计学差异, 在临床症状、焦虑及抑郁积分方面则有显著差异. ROC曲线分析显示焦虑积分AUC>0.9, 对难治性IBS-D有较高的预判价值.

随着生理-心理-社会疾病模式被大多数人认可, 关于情绪障碍与功能性疾病被越来越多的学者重视. 众多的研究表明精神心理因素与IBS密切相关, 54%-100%的IBS患者存在精神心理异常, 50%的IBS患者有精神创伤史, 36%的IBS患者曾被诊断有创伤后应激综合征(post-traumatic stress disorder, PTSD)[8]. 心理因素往往影响着患者对症状的认知, IBS患者对内脏的感知存在着选择性关注倾向, 从而决定了患者频繁就诊的特征[9]. 情感中枢也常影响消化系统的动力、分泌及炎症活动情况[9], 且心理因素也通过植物神经系统、脑肠肽及脑肠轴影响着肠道功能, 脑功能显像技术证实了IBS患者脑功能的异常变化[10,11], 从而使IBS患者常出现一些功能

■创新盘点

近年来对肠易激综合征(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS)及难治性IBS抗焦虑抑郁治疗的文章日趋增多, 但关于难治性与非难治性IBS相关因素的对比分析较少, 本文将IBS-D及非难治性IBS-D相关因素做详尽对比分析, 旨在寻找导致IBS-D难治的危险因素.

■同行评价
本研究采用问卷调查方式，目标明确，纳入病例规范，观察指标可靠，结果真实，观点明确，对难治性肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea)的防治有实际指导意义.

性紊乱的症状. IBS患者焦虑及抑郁评分显著高于正常人，使其生活质量明显低下[12]. 研究表明，适当的心理干预、认知疗法、抗焦虑抑郁治疗能缩短病程，提高生活质量[13,14]. 本研究也发现焦虑及抑郁情绪是难治性IBS-D的重要危险因素之一，其中以焦虑情绪尤为突出，其预判难治性的敏感性(0.911)及特异性(0.769)均较高，故早期对患者进行心理评估，当焦虑评分>9分即可给予适当的心理干预治疗，加强随访，必要时给予抗焦虑抑郁药物治疗，对缩短病程，改善症状，避免IBS-D发展为难治性尤为重要. 本研究表明抑郁评分>6分为预测难治性IBS-D的临界点，但据HADS评估标准抑郁评分≥8分表明伴有抑郁情绪[6]，故当HADS抑郁评分为6分时是否需要早期干预尚需要进一步研究.

本研究还表明IBS症状严重程度对预测难治性IBS-D有重要意义，当IBS-SSS评分>183分(中度及以上)，应当予以高度重视. IBS患者的症状与焦虑、抑郁情绪之间存在相互影响，即抑郁、焦虑情绪往往能加重患者的症状，而症状的加重又反过来促进情绪的进一步恶化，二者之间相互作用、互为因果，形成恶性循环[15]，且IBS患者易有神经过敏，即相同的刺激可引起敏感者体神经和内脏神经的超强反射[16]. 本研究也证实临床症状的严重程度亦是难治性IBS-D的危险因素之一，IBS-SSS评分>183分更容易成为难治性IBS-D.

总之，影响IBS-D疗效而最终成为难治性IBS-D的因素众多，本研究表明了难治性IBS-D与临床症状、焦虑及抑郁因素密切相关，临床症状越重、焦虑及抑郁程度越重者更易成为难治性IBS-D，临床症状及情绪障碍两者之间相互影响，互为因果，共同作用于难治性IBS-D患者，其中以焦虑情绪影响最为显著. 故早期对难治性IBS-D的临床症状、心理状态评估，密切随访患者病情变化及早期干预焦虑抑郁情绪，对防止IBS-D的进展有一定指导价值.

4 参考文献

1 何宛蓉，张法灿，梁列新. 肠易激综合征流行病学研究现状与进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 83-88

2 姚欣，杨云生，赵卡冰，孙刚，刘英圣，王巍峰. 罗马Ⅲ标准研究肠易激综合征临床特点及亚型. 世界华人消化杂志 2008; 16: 563-566

3 王伟岸，钱家鸣，潘国宗. 小剂量抗抑郁药治疗难治性肠易激综合征. 中国医学科学院报 2003; 25: 74-78

4 Flik CE, van Rood YR, Laan W, Smout AJ, Weusten BL, Whorwell PJ, de Wit NJ. A randomised controlled trial on hypnotherapy for irritable bowel syndrome: design and methodological challenges (the IMAGINE study). *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 137 [PMID: 22185606 DOI: 10.1186/1471-230X-11-137]

5 Francis CY, Morris J, Whorwell PJ. The irritable bowel severity scoring system: a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 395-402 [PMID: 9146781 DOI: 10.1093/carcin/21.9.1691]

6 汪向东，王希林，马弘. 心理卫生评定量表手册(增订版). 中国心理卫生杂志社，1999: 223-226

7 王志军，周建芝，吴寿岭. 老年糖尿病患者合并高血压的危险因素及随访分析. 中华老年心脑血管病杂志 2013; 15: 151-154

8 段丽萍. 心理应激在功能性胃肠病发病中的潜在机制. 中华消化杂志 2011; 31: 361-363

9 张卫卫，李岩. 精神心理因素与功能性胃肠病. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1324-1328

10 Mayer EA, Naliboff BD, Chang L, Coutinho SV. V. Stress and irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G519-G524 [PMID: 11254476]

11 Fichna J, Storr MA. Brain-Gut Interactions in IBS. *Front Pharmacol* 2012; 3: 127 [PMID: 22783191 DOI: 10.3389/fphar.2012.00127]

12 王伟岸，何剑琴，胡品津，曾志荣，陈为. 心理社会因素对肠易激综合征患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1626-1630

13 Walker EA, Roy-Byrne PP, Katon WJ. Irritable bowel syndrome and psychiatric illness. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 565-572 [PMID: 2183631]

14 Lackner JM, Gudleski GD, Keefer L, Krasner SS, Powell C, Katz LA. Rapid response to cognitive behavior therapy predicts treatment outcome in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 426-432 [PMID: 20170751 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.02.007]

15 刘小彦，王敏，王嫱，李培凯，侯瑜，苏萍，元静，杨帆，Sung-Chen Pauline，杨建中. 肠易激综合征患者心理状态、家庭因素及患病危险因素分析. 中华行为医学与脑科学杂志 2013; 22: 137-139

16 王伟岸，潘国宗，钱家鸣. 精神因素对肠易激综合征患者内脏敏感性的影响. 中华医学杂志 2002; 82: 308-311

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1027-1032
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

炎症性肠病的临床病理学特点

古丽那尔•阿布拉江, 桑 伟, 师晓莉, 张 巍, 李新霞

古丽那尔•阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
古丽那尔•阿布拉江, 主管技师, 主要从事分子病理的研究.
新疆维吾尔族自治区科技支疆基金资助项目, No. 201291172
新疆维吾尔族自治区科技支撑计划基金资助项目, No. 2012 33142
作者贡献分布: 此课题由张巍与李新霞设计; 研究过程由古丽那尔•阿布拉江、桑伟、师晓莉及李新霞操作完成; 本论文写作古丽那尔•阿布拉江、桑伟及李新霞完成.
通讯作者: 李新霞, 副教授, 830054, 新疆维吾尔族自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院病理科. lxx-patho@163.com
收稿日期: 2013-04-15 修回日期: 2013-11-27
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-03-08

Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease

Abulajiang Gulinaer, Wei Sang, Xiao-Li Shi, Wei Zhang, Xin-Xia Li

Abulajiang Gulinaer, Wei Sang, Xiao-Li Shi, Wei Zhang, Xin-Xia Li, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830045, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: Science and Technology Supporting Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201233142; Science and Technology Funded Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201291172
Correspondence to: Xin-Xia Li, Associate Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830045, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. lxx-patho@163.com
Received: 2013-04-15 Revised: 2013-11-27
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical and pathological characteristics of inflammatory bowel disease to raise the early diagnosis of this disease.

METHODS: One hundred and twenty-two cases of inflammatory bowel disease including 101 cases of ulcerative colitis and 21 cases of Crohn's disease were analyzed.

RESULTS: Non-necrotizing granuloma, fissure ulcer and chronic inflammation were morphological features of Crohn's disease. Massive inflammatory cell infiltration in the lamina propria, destroyed glands and reduced secretion, and polyangitis were the hallmarks of ulcerative colitis.

CONCLUSION: The diagnosis of inflammatory bowel disease should be made based on endoscopic, macroscopic and clinical findings. Awareness of the clinical and pathologic features of inflammatory bowel disease can help make an early diagnosis of this disease.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn' disease; Pathological histology

Gulinaer Abulajiang, Sang W, Shi XL, Zhang W, Li XX. Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1027-1032
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027

摘要

目的: 炎症性肠病是肠道常见疾病, 探讨炎症性肠病的临床病理组织学特点, 旨在提高该类疾病的早期诊断.

方法: 分析122例炎症性肠病, 包括101例溃疡性结肠炎和21例克隆病的肉眼及病理组织学特点.

结果: 非坏死性肉芽肿, 裂隙溃疡, 肠壁全层慢性炎是Crohn病重要的镜下诊断标准, 固有膜内大量炎症细胞浸润, 黏膜腺体破坏, 腺体分泌减少和小血管炎是溃疡性结肠炎的镜下诊断标准, 应结合内镜检查及肉眼所见, 综合临床表现, 得出诊断.

结论: 研究炎症性肠病的临床病理特点, 规范临床诊断标准, 提高诊断准确率, 为使患者得到早期正确治疗、提高患者生存质量奠定基础.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括Crohn病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 是IBD连续病谱的不同部分. 从炎症的组织学分类来分析, CD属于慢性肉芽肿性炎, 而UC属于慢性溃疡性炎.从疾病的病因和发病机制分析, 两种疾病都是多因素性疾病. 由于其准确的病因发病机制没有明确, 因此将这两种疾病统称为特发性炎症性肠病.我国炎症性肠病呈逐年上升趋势, 有报道我国UC与CD入院误诊率分别为22.9%和56.7%, 尤其在病变早期或一些不典型患者, 往往可能与病因明确的其他结肠炎症性肠病的鉴别发生困难.

■同行评议者
李淳, 副教授, 汕头大学医学院病理学; 陈云昭, 副教授, 新疆石河子大学医学院/一附院病理科

■研发前沿
尽管CD和UC诊断目前需要结合临床、肠镜及病理学，但仍有5%的IBD不能准确诊断CD，还是UC，被称为未确定型结肠炎，该类疾病诊断仍需要进一步研究和探讨.

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; Crohn病; 病理组织学

核心提示: 非坏死性肉芽肿, 裂隙溃疡, 肠壁全层慢性炎是Crohn病重要的镜下诊断标准, 固有膜内大量炎症细胞浸润, 黏膜腺体破坏, 腺体分泌减少和小血管炎是溃疡性结肠炎的镜下诊断标准, 应结合内镜检查及肉眼所见, 综合临床表现, 得出诊断结果.

古丽那尔•阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞. 炎症性肠病的临床病理学特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1027-1032
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类由于免疫系统对于肠道内正常存在的某些抗原发生过度和持续反应而引起的慢性炎症[1,2]. Crohn病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是IBD连续病谱的不同部分. 从炎症的组织学分类来分析, CD属于慢性肉芽肿性炎, 而UC属于慢性溃疡性炎[3-6]. 从疾病的病因和发病机制分析, 两种疾病都是多因素性疾病[7-11]. 由于其准确的病因发病机制没有明确, 因此将这两种疾病统称为特发性炎症性肠病(idiopathic inflammatory bowel disease)[12-14]. 炎症性肠病在西方国家比较常见[15-17], 在亚洲国家一直认为比较少见, 但近20年来, 随着结肠镜结合内镜检查的普及, 亚洲国家发病率有逐年上升趋势, 提示炎症性肠病已经是肠道的主要疾病[18-20], 而亚洲国家IBD的病理特征不同于西方人IBD的病理特征[21,22]. 我国炎症性肠病也呈逐年上升趋势[23], 欧阳欣[24]报道我国UC与CD入院误诊率分别为22.9%和56.7%, 尤其在病变早期或一些不典型患者, 往往可能与病因明确的其他结肠炎症性肠病的鉴别发生困难[25-27]. 本研究拟对122例炎症性肠病的临床病理特点、肠黏膜损伤程度以及疾病的病程进行综合性评价, 为临床病理的早期及时诊断提供帮助.

1 材料和方法

1.1 材料 选择新疆医科大学第一附属医院2005-09/2012-12明确诊断CD的病例21例. 部位分布于回肠末端、升结肠、小肠、阑尾、直乙交界、回盲部、直肠和回肠. 同时选择新疆医科大学第一附属医院2003-09/2004-09明确诊断为溃疡性结肠炎的病例共101例. 部位分别分布于升结肠、直肠、横结肠、降结肠、乙状结肠、阑尾口、直乙交界、回盲瓣、降乙交界、盲肠及回肠末端. 其中114例为肠镜标本, 8例为手术标本.

1.2 方法 所有标本均经40 g/L中性甲醛固定, 常规组织处理, 石蜡包埋, 3 μm厚连续切片, 常规HE染色.

2 结果

2.1 临床资料 明确诊断为CD的病例21例. 男性14例, 女性7例, 男女之比2∶1. 年龄从19-71岁不等, 中位年龄36岁. 部位分布: 回肠末端8例, 升结肠2例, 小肠2例, 全结肠1例, 阑尾1例, 直乙交界1例, 回盲部3例, 直肠和回肠各1例, 1例部位不清. 明确诊断为溃疡性结肠炎的病例共101例. 男性49例, 女性52例, 男女之比为0.94∶1. 年龄从17-72岁, 中位年龄42岁. 部位分布: 升结肠5例, 阑尾口1例, 直肠50例, 直乙交界4例, 乙状结肠19例, 降结肠9例, 回盲瓣2例, 横结肠7例, 降乙交界1例, 盲肠2例, 回肠末端1例.

2.2 病理学特点

2.2.1 CD病理学特点: 约80%CD病变呈节段性分布, 即在受累肠管之间存在着无病变的节段, 呈跳跃式分布. 偶见弥漫性空回肠炎病变广泛累及小肠. 早期, 受累肠管黏膜充血、红肿, 仔细观察, 可见点状糜烂, 即所谓口疮样溃疡. 随着疾病进展, 黏膜溃疡增多、变大, 形成线状、条带状的匍行性溃疡, 与肠管长轴平行, 可见横行溃疡穿行于纵行溃疡之间. 纵横交错的溃疡间, 黏膜水肿、息肉样隆起, 呈现出卵石样外观. 受累肠管管壁增厚、变硬, 肠腔狭窄, 失去正常肠管柔软而富有韧性的状态, 像水龙管样. 肠系膜缩短, 由于纤维化而变硬, 肠攀皱褶. 肠系膜脂肪组织向肠浆膜面堆积. 肠系膜淋巴结中度肿大.

2.2.2 UC病理学特点: 早期表现为受累肠黏膜弥漫性充血水肿、正常血管影像消失、黏膜呈颗粒状、质地松脆、易出血. 进一步发展, 黏膜表面可见黏液脓性分泌物、 糜烂、 黏膜坏死脱落, 溃疡形成. 溃疡常较浅, 只累及黏膜下层. 溃疡大小、形状不一, 严重者, 溃疡弥漫而广泛, 使肠壁肌层广泛暴露于溃疡底部. 溃疡还可以将黏膜下层挖空, 残存黏膜形成黏膜桥. 应当指出, 形成广泛的与结肠长轴平行的匍行性溃疡, 尤其是与横行溃疡相连的纵行溃疡不是UC、而是CD的特点. 溃疡间的残存黏膜水肿隆起, 形成所谓“假息肉”.

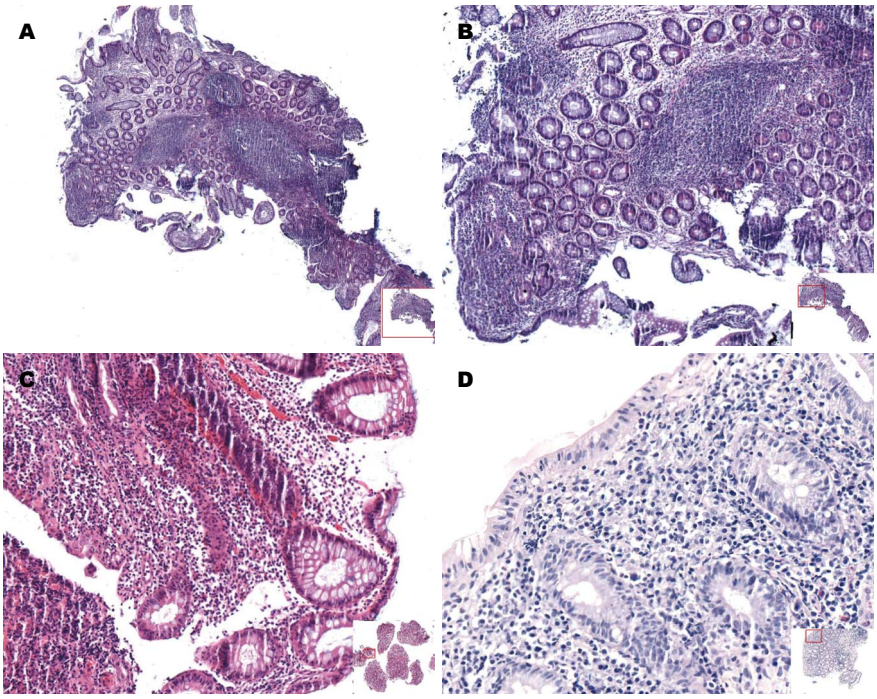


图 1 Crohn's病. A: 黏膜慢性炎, 伴淋巴小结形成(×4); B: 黏膜慢性炎, 伴淋巴小结形成(×10); C: 上皮样肉芽肿形成(×20); D: 上皮样肉芽肿形成(×40).

■相关报道
CD的镜下主要表现非坏死性肉芽肿, 肠壁全层慢性炎; 溃疡性结肠炎的镜下主要表现为固有膜内大量炎症细胞浸润, 黏膜腺体破坏和小血管炎.

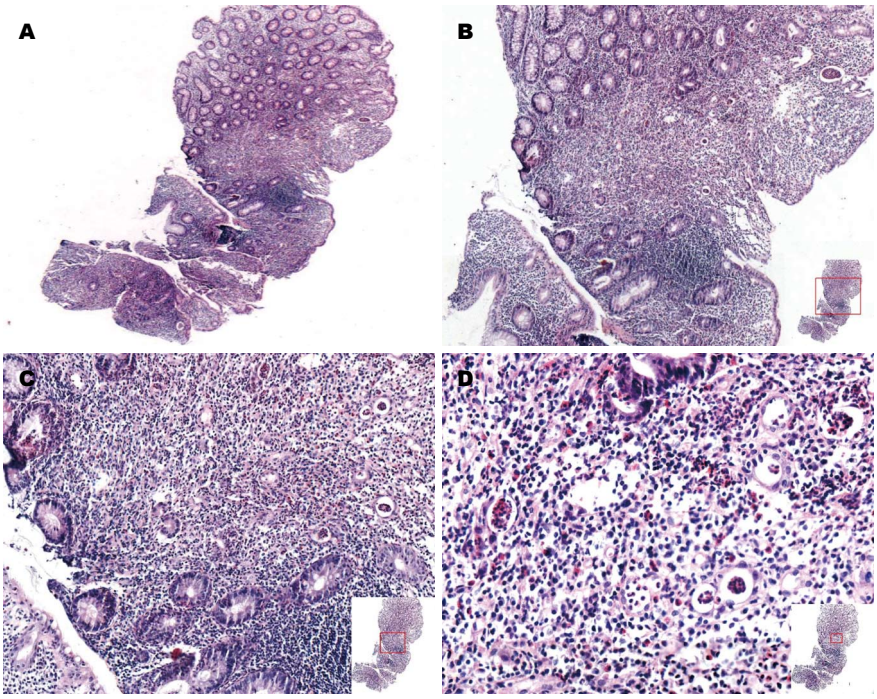


图 2 溃疡性结肠炎. A: 黏膜慢性炎(×4); B: 溃疡形成(×10); C: 隐窝脓肿形成(×20); D: 小血管炎(×40).

2.3 组织学特点

2.3.1 CD组织学特点: 组织学上诊断CD有3个具有诊断意义的病理学改变(图1). (1)非坏死性肉芽肿: 60%的CD病例有肉芽肿形成, 肉芽肿由上皮样细胞和多核巨细胞及一些炎细胞构成. 中央无干酪样坏死, 或仅有小灶状坏死[28]. 如明显干酪性坏死广泛则应诊断为结核. 肉芽肿可以出现于肠壁各层、淋巴结和CD累及的其他部位. 值得注意的是, 在一些病例中, 肉芽肿体积小, 位于腺体旁, 称为腺体旁微小肉芽肿; (2)裂隙溃疡: 约20%的CD病例有裂隙溃疡形成, 裂隙溃疡呈狭窄的缝隙状, 可深入黏膜下、肌层, 甚至周围脂肪组织内; (3)肠壁全层慢性炎: 部分CD既无肉芽肿形成, 又不见裂隙溃疡, 但可见肠壁全层慢性炎细胞浸润, 淋巴集结形成. 肠壁各层纤维组织增生. 黏膜肌层肥厚、黏膜下层水肿, 伴淋巴管、小血管扩张.

2.3.2 UC组织学特点: UC病理改变主要累及黏膜和黏膜下层(图2). (1)急性期: 固有膜间质内大量炎症细胞浸润、黏膜腺体病变和小血管病变,

■创新盘点
本研究拟对122例炎症性肠病的临床病理特点、肠黏膜损伤程度以及疾病的病程进行综合性评价, 为临床病理早期及时诊断提供帮助.

严重时可出现黏膜糜烂和溃疡形成、炎症性息肉; (2)静止期: 黏膜内的炎症细胞基本消退, 由于活动期黏膜结构破坏而未能修复的一些改变依然可见, UC静止期的腺体底部与黏膜肌之间距离增大, 形成宽窄不一的间隙. 可出现Paneth细胞化生和内分泌细胞增生的现象.

3 讨论

CD是一种病因不明的消化系非特异性炎症. 好发于20-30岁青壮年, 但是儿童和老年都可以发病[30,31], 男性常好发[32]. 本组发病中位年龄为36岁, 与文献报道相符. 临床上主要表现为腹泻、腹痛、肠梗阻、腹部包块等症状. 活检组织与手术标本检查不同, 肠镜活检组织受到取材广度和深度的限制, 获得上述三项具有确定CD诊断的标准, 具有相当多的困难. 非坏死性肉芽肿的发现固然对诊断的确立具有重要意义, 但是仅有60%的检出率, 因此, 对那些不能发现非坏死性肉芽肿病变的CD病例, 病理学诊断依然存在困难. 对于怀疑为累及大肠的CD病例, 需要参考一些非特异性形态学改变, 与临床密切结合, 进行诊断. 如下变化可以对CD的诊断提供帮助. (1)从同一区域和不同区域的黏膜活检组织, 炎症表现轻重不一致. 虽然CD和UC患者的固有膜内都可以出现以淋巴细胞、组织细胞、浆细胞为主的慢性炎细胞浸润, 并混有数量不等的嗜中性和嗜酸性粒细胞浸润, 但是前者分布不均, 后者分布一致; (2)淋巴滤泡表面糜烂和溃疡形成. CD的点状溃疡常表现为淋巴滤泡表面黏膜糜烂, 嗜中性粒细胞渗出; 或表现为累及淋巴滤泡的浅层溃疡形成.这种病变可能与血管病变有关; (3)淋巴组织增生明显, 淋巴细胞聚集、淋巴组织增生在CD病例中明显.在增生的淋巴组织中可见腺体, 原本有的淋巴滤泡中无腺体存在; (4)腺上皮黏液分泌无明显减少; (5)肠黏膜内出现幽门腺化生; (6)直肠黏膜无明显改变. 由于裂隙溃疡狭窄而深长, CD患者可以发生肠穿孔、肠壁内及腹腔内脓肿形成, 甚至瘘管形成, 出现小肠之间、小肠和大肠之间、小肠与腹壁或膀胱之间的瘘管. 25%的病例消化系外器官(皮肤、外阴、骨、关节、骨骼肌和脾等)亦可受累. 非特异性并发症包括关节炎、骨质疏松、坏疽性脓皮病、肾盂积水、淀粉样变和各种眼病.

鉴别诊断主要包括: (1)肠结核: 国内, 肠结核依然是常见病, 多累及回盲部, 如果肉芽肿内出现干酪样坏死, 应当诊断结核. 由于CD和结核的治疗方案不同, 即使肉芽肿内无干酪样坏死, 最好经过PCR检查除外结核; (2)耶尔森菌感染: 耶尔森菌肠道感染病理学上也属肉芽肿性炎, 肉芽肿内大量嗜中性粒细胞浸润是区别CD和结核的特点.

UC是一种累及结肠的慢性溃疡性炎症, 其发病率明显高于CD[33]. 第一个发病高峰为20-30岁[34,35], 第二个发病高峰为70-80岁. 但是UC可以发生在任何年龄[36]. 本组发病的中位年龄为42岁. 北美和欧洲的发病率约为20/100000人. 我国发病率低于西方, 在北京大学第三附属医院肠镜检查病例中约占5.4%. 穿孔并引起腹膜炎和腹腔脓肿、中毒性巨结肠、髂静脉血栓形成. UC发生癌变的比例原先统计高达5%-10%, 现在认为仅有2%左右. 全结肠受累、儿童发病、疾病长期活动在10年以上是UC发生癌变的危险因素[37,38]. UC通过结肠腺上皮非典型增生逐步发生癌变. 非典型增生的黏膜多为平坦性, 呈细小结节或绒毛状, 而不是息肉状; 常为多点发生. 非典型增生分为低度和高度两类. 高度非典型增生合并有高唾液酸黏蛋白分泌, CEA、p53、Ki-67高表达[39,40]. 传统认为, UC发生癌变的组织学类型偏向于低分化、多黏液分泌、高转移率、预后差. 但是新近对非UC大肠癌与UC合并大肠癌进行分期对照研究结果表明, 两者并没有显著差异. 消化系外表现: 包括关节炎、葡萄膜炎、坏疽性脓皮病, 限局性Wegener肉芽肿. 上述并发症多发生于广泛性UC患者, 很少发生于直肠型UC患者.

鉴别诊断包括: 在UC的鉴别诊断中, 主要是与非特异性细菌感染、CD相区别. 病原学检查常可以为细菌感染提供诊断依据. (1)非特异性细菌性结肠炎: 非特异性细菌性结肠炎一般都是自限性结肠炎, 可以由弯曲菌、沙门菌和志贺菌引起, 但是约50%的病例病原体还不明确. 组织学检查显示, 固有膜炎症细胞浸润、水肿、充血, 与早期UC不容易区别, 进一步病原学检查和随访常可以与UC鉴别. 一般的急性自限性结肠炎支持感染性结肠炎的诊断, 而在慢性结肠炎的病例中, 腺体排列紊乱、多量淋巴浆细胞浸润支持UC; (2)CD: CD主要累及回肠, 全消化系受累; UC主要累及直肠和乙状结肠, 严重者全结肠受累; CD病变呈节段性分布, UC病变呈弥漫连续性分布; CD可出现上皮样肉芽肿, 而UC无此病变; CD肠系膜淋巴结肿大, 并可出现肉芽肿性病变; UC肠系膜淋巴结反应性增生, 无

肉芽肿性病变. CD腺体黏液分泌大体正常, UC腺体黏液分泌减少. CD淋巴集结、淋巴组织增生明显, UC淋巴组织增生不明显. CD形成裂隙溃疡; UC无裂隙溃疡; CD累及肠壁全层, 肠壁全层因纤维组织增生而明显增厚; UC主要累及黏膜及黏膜下层, 晚期可以发生黏膜下层纤维化.

未确定型结肠炎约5%的IBD病例不能准确诊断CD, 还是UC, 被称为未确定型结肠炎(indeterminate colitis, IC). 实际上IC是一个过渡性诊断, 不是特异性诊断. 经过相当一段时间的随访和进一步检查, 总是可以得到确切诊断. 实际上, 经过随访, 大部分IC是UC, 约10%-40%IC最后确诊为CD. 常见的IC有如下情况: (1)暴发性结肠炎, 全结肠受累, 肠腔扩张, 广泛溃疡形成, 早期浅表裂隙溃疡形成, 广泛淋巴组织增生, 中毒症状明显; (2)肠黏膜活检组织不充分IBD; (3)其他支持UC诊断, 但是却出现如下情况: 直肠无病变, 浅表裂隙溃疡, 与破裂腺体密切相关的肉芽肿, 右半结肠炎伴左半结肠病变, 阑尾呈节段性病变而受累, 反冲性回肠炎, 治疗因素使肠道病变不典型; (4)黏膜弥漫性病变的CD; (5)临床符合CD, 而病理学改变缺乏诊断CD的主要病变(肉芽肿、裂隙溃疡、肠壁全层炎); (6)与伪膜性肠炎、缺血性肠炎、其他感染引起的肠炎相合并; (7)少数为病理学家们的诊断意见不一致.

■**应用要点**
炎症性肠病诊断必须结合临床、肠镜及病理学.

4 参考文献

1 Podolsky DK. The current future understanding of inflammatory bowel disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 933-943 [PMID: 12473299 DOI: 10.1053/bega.2002.0354]

2 Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 279-289 [PMID: 18340345 DOI: 10.1038/nri2215]

3 Smith LA, Gaya DR. Utility of faecal calprotectin analysis in adult inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6782-6789 [PMID: 23239916 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6782]

4 Graff LA, Walker JR, Bernstein CN: It's not just about the gut: managing depression and anxiety in inflammatory bowel disease. *Practical Gastroenterology* 2010; 34: 11-25

5 Maunder RG, Levenstein S. The role of stress in the development and clinical course of inflammatory bowel disease: epidemiological evidence. *Curr Mol Med* 2008; 8: 247-252 [PMID: 18537632 DOI: 10.2174/156652408784533832]

6 Sajadinejad MS, Asgari K, Molavi H, Kalantari M, Adibi P. Psychological issues in inflammatory bowel disease: an overview. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 106502 [PMID: 22778720]

7 Waśko-Czopnik D, Paradowski L. The influence of deficiencies of essential trace elements and vitamins on the course of Crohn's disease. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21: 5-11 [PMID: 23214293]

8 Ikeuchi H, Hori K, Nishigami T, Nakano H, Uchino M, Nakamura M, Kaibe N, Noda M, Yanagi H, Yamamura T. Diffuse gastroduodenitis and pouchitis associated with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5913-5915 [PMID: 17007066]

9 Yamamoto T. Nutrition and diet in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2013; 29: 216-221 [PMID: 23385526 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32835b9a40]

10 Kaiser L, Surawicz CM. Infectious causes of chronic diarrhoea. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 563-571 [PMID: 23384802 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.11.001]

11 Dimitroulia E, Pitiriga VC, Piperaki ET, Spanakis NE, Tsakris A. Inflammatory bowel disease exacerbation associated with Epstein-Barr virus infection. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 322-327 [PMID: 23392146 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31827cd02c]

12 Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 521-533 [PMID: 12876555 DOI: 10.1038/nri1132]

13 Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 331-341 [PMID: 12669023 DOI: 10.1038/nri1057]

14 Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603 [PMID: 11385576 DOI: 10.1038/35079107]

15 Al-Mofarreh MA, Al-Mofleh IA. Emerging inflammatory bowel disease in saudi outpatients: a report of 693 cases. *Saudi J Gastroenterol* 2013; 19: 16-22 [PMID: 23319033 DOI: 10.4103/1319-3767.105915]

16 Jakobsen C, Wewer V, Urne F, Andersen J, Faerk J, Kramer I, Stagegaard B, Pilgaard B, Weile B, Paerregaard A. Incidence of ulcerative colitis and Crohn's disease in Danish children: Still rising or levelling out? *J Crohns Colitis* 2008; 2: 152-157 [PMID: 21172205 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.01.006]

17 中国炎症性肠病协作组. 3100例溃疡性结肠炎住院病例回顾分析. 中华消化杂志 2006; 6: 368-372

18 Ouakaa-Kchaou A, Gargouri D, Bibani N, Elloumi H, Kochlef A, Kharrat J. Epidemiological evolution of epidemiology of the inflammatory bowel diseases in a hospital of Tunis. *Tunis Med* 2013; 91: 70-73 [PMID: 23404603]

19 Niriella MA, De Silva AP, Dayaratne AH, Ariyasinghe MH, Navarathne MM, Peiris RS, Samarasekara DN, Satharasinghe RL, Rajindrajith S, Dassanayake AS, Wickramasinghe AR, de Silva HJ. Prevalence of inflammatory bowel disease in two districts of Sri Lanka: a hospital based survey. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 32 [PMID: 20302651 DOI: 10.1186/1471-230X-10-32]

20 Ahuja V, Tandon RK. Inflammatory bowel disease in the Asia-Pacific area: a comparison with developed countries and regional differences. *J Dig Dis* 2010; 11: 134-147 [PMID: 20579217 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00429.x]

21 Kim ES, Kim WH. Inflammatory bowel disease in Korea: epidemiological, genomic, clinical, and therapeutic characteristics. *Gut Liver* 2010; 4: 1-14 [PMID: 20479907 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.1.1]

■同行评价
本文从临床实际工作总结出发，讨论了溃疡性结肠炎和克隆病的大体、肠镜及镜下特征，对提高该类疾病的早期诊断具有一定的意义.

22 Walker DG, Williams HR, Kane SP, Mawdsley JE, Arnold J, McNeil I, Thomas HJ, Teare JP, Hart AL, Pitcher MC, Walters JR, Marshall SE, Orchard TR. Differences in inflammatory bowel disease phenotype between South Asians and Northern Europeans living in North West London, UK. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1281-1289 [PMID: 21577243 DOI: 10.1038/ajg.2011.85]

23 Jiang L, Xia B, Li J, Ye M, Yan W, Deng C, Ding Y, Luo H, Hou W, Zhao Q, Liu N, Ren H, Hou X, Xu H. Retrospective survey of 452 patients with inflammatory bowel disease in Wuhan city, central China. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 212-217 [PMID: 16534423 DOI: 10.1097/01.MIB.0000201098.26450.ae]

24 欧阳钦. 我国炎症性肠病研究的概况和策略. 四川医学 2005; 4: 355-356

25 Carpenter HA, Talley NJ. The importance of clinicopathological correlation in the diagnosis of inflammatory conditions of the colon: histological patterns with clinical implications. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 878-896 [PMID: 10763932 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01924.x]

26 Hyphantis T, Antoniou K, Tomenson B, Tsianos E, Mavreas V, Creed F. Is the personality characteristic "impulsive sensation seeking" correlated to differences in current smoking between ulcerative colitis and Crohn's disease patients? *Gen Hosp Psychiatry* 2010; 32: 57-65 [PMID: 20114129 DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2009.09.002]

27 Blumberg RS, Strober W. Prospects for research in inflammatory bowel disease. *JAMA* 2001; 285: 643-647 [PMID: 11176874 DOI: 10.1001/jama.285.5.643]

28 Shepherd NA. Granulomas in the diagnosis of intestinal Crohn's disease: a myth exploded? *Histopathology* 2002; 41: 166-168 [PMID: 12147095 DOI: 10.1046/j.1365-2559.2002.01441.x]

29 Valdez R, Appelman HD, Bronner MP, Greenson JK. Diffuse duodenitis associated with ulcerative colitis. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 1407-1413 [PMID: 11023103 DOI: 10.1097/00000478-200010000-00011]

30 Canavan C, Abrams KR, Hawthorne B, Mayberry JF. Long-term prognosis in Crohn's disease: An epidemiological study of patients diagnosed more than 20 years ago in Cardiff. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 59-65 [PMID: 17229220]

31 Saadah OI. Childhood onset of Crohn disease: experience from a university teaching hospital in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2012; 32: 596-602 [PMID: 23396023]

32 Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, Dagli U, Ulker A, Hulagu S, Akpinar H, Tuncer C, Suleymanlar I, Ovunc O, Hilmioglu F, Aslan S, Turkdogan K, Bahcecioglu HI, Yurdaydin C. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 51-57 [PMID: 18724251 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181574636]

33 Jussila A, Virta LJ, Kautiainen H, Rekiaro M, Nieminen U, Färkkilä MA. Increasing incidence of inflammatory bowel diseases between 2000 and 2007: a nationwide register study in Finland. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 555-561 [PMID: 21425214 DOI: 10.1002/ibd.21695]

34 Bardhan KD, Simmonds N, Royston C, Dhar A, Edwards CM. A United Kingdom inflammatory bowel disease database: making the effort worthwhile. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 405-412 [PMID: 21122536 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.01.003]

35 Katsanos KH, Stamou P, Tatsioni A, Tsianos VE, Zoumbas S, Kavvadia S, Giga A, Vagias I, Christodoulou DK, Tsianos EV. Prevalence of inflammatory bowel disease related dysplasia and cancer in 1500 colonoscopies from a referral center in northwestern Greece. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 19-23 [PMID: 21272799 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.09.001]

36 Lukas M, Bortlik M, Maratka Z. What is the origin of ulcerative colitis? Still more questions than answers. *Postgrad Med J* 2006; 82: 620-625 [PMID: 17068271 DOI: 10.1136/pmj.2006.047035]

37 van Schaik FD, Mooiweer E, van der Have M, Belderbos TD, Ten Kate FJ, Offerhaus GJ, Schipper ME, Dijkstra G, Pierik M, Stokkers PC, Ponsioen C, de Jong DJ, Hommes DW, van Bodegraven AA, Siersema PD, van Oijen MG, Oldenburg B. Adenomas in patients with inflammatory bowel disease are associated with an increased risk of advanced neoplasia. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 342-349 [PMID: 23340679 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318286f771]

38 Svrcek M, Fontugne J, Duval A, Fléjou JF. Inflammatory bowel disease-associated colorectal cancers and microsatellite instability: an original relationship. *Am J Surg Pathol* 2013; 37: 460-462 [PMID: 23388128 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31827ae150]

39 Arai N, Mitomi H, Ohtani Y, Igarashi M, Kakita A, Okayasu I. Enhanced epithelial cell turnover associated with p53 accumulation and high p21WAF1/CIP1 expression in ulcerative colitis. *Mod Pathol* 1999; 12: 604-611 [PMID: 10392637]

40 Wong NA, Mayer NJ, MacKell S, Gilmour HM, Harrison DJ. Immunohistochemical assessment of Ki67 and p53 expression assists the diagnosis and grading of ulcerative colitis-related dysplasia. *Histopathology* 2000; 37: 108-114 [PMID: 10931232 DOI: 10.1046/j.1365-2559.2000.00934.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1033-1036
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

单气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值

朱 鸣, 张 静, 唐 杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞

朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142
朱鸣, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 朱鸣负责课题设计及统计; 张静负责资料的收集及整理; 唐杰、毛高平、金晓维、朱鸣、张静及李彦飞行小肠镜操作.
通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科. zm669922@sina.cn
电话:010-66928046
收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2014-01-06
接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

Diagnostic value of single balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding

Ming Zhu, Jing Zhang, Jie Tang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Xiao-Wei Jin, Yan-Fei Li

Ming Zhu, Jing Zhang, Jie Tang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Xiao-Wei Jin, Yan-Fei Li, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, Beijing 100142, China
Correspondence to: Ming Zhu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zm669922@sina.cn
Received: 2013-12-07 Revised: 2014-01-06
Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of single balloon endoscopy (SBE) in obscure gastrointestinal bleeding (OGIB).

METHODS: Clinical data for 115 patients with OGIB who underwent SBE from July 2009 to May 2013 were retrospectively analyzed. The causes of gastrointestinal bleeding were observed by SBE. Eleven patients underwent endoscopic therapy.

RESULTS: The detection rate of gastrointestinal bleeding was 73.91% (85/115). The most common reasons for OGIB were small intestinal ulcer, small intestinal diverticulum, mucosal inflammatory changes, interstitialoma, small intestine carcinoma, Crohn's disease, small intestinal polyps, vascular dilatation, and other rare diseases. Seventy-eight (67.83%) patients had overt bleeding, and 37 (32.17%) had occult bleeding. The detection rate of overt bleeding was significantly higher than that of occult bleeding ($P < 0.05$).

CONCLUSION: SBE has high diagnostic yield in OGIB, and is a safe and reliable method for diagnosis and treatment of OGIB. The most common reasons for OGIB are small intestinal ulcer, small intestinal diverticulum, and mucosal inflammatory changes.

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

Key Words: Single balloon endoscopy; Obscure gastrointestinal bleeding; Diagnosis

Zhu M, Zhang J, Tang J, Mao GP, Ning SB, Jin XW, Li YF. Diagnostic value of single balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1033-1036 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1033.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1033

摘要

目的: 探讨单气囊电子小肠镜(single balloon endoscopy, SBE)对不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)的诊断价值.

方法: 回顾性分析2009-07/2013-05因OGIB在我院进行SBE检查的115例患者(144例次). SBE下观察引起消化系出血的病因, 并对11例行SBE下治疗.

结果: 消化系出血检出阳性率为73.91%(85/115). OGBI常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变、小肠间质瘤、小肠癌、克罗恩病、小肠息肉、毛细血管扩张症及其他少见疾病. 显性出血78例(67.83%), 隐性出血37例(32.17%), 显性出血组(71例 *vs* 7例, 91.02%)较隐性出血组(14例 *vs* 23例, 37.84%)的检出阳性率高(P<0.05).

结论: SBE对OGIB有较高的诊断价值, 是一种

■背景资料
不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)是指通过胃镜、结肠镜及钡餐造影等检查提示阴性,但仍不明来源的消化系出血. 2007年Olympus公司在双气囊小肠镜的基础上研发出单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE), 操作更加简便. 本文总结了115例在我院接受SBE检查的OGIB患者的临床资料.

■同行评议者
姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

■研发前沿
单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)是Olympus公司在双气囊小肠镜的基础上研发, 操作更加简便. 本文总结了115例在我院接受SBE检查的不明原因消化系出血患者临床资料.

安全可靠的OGBI诊疗手段. OGBI常见的原因为小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 单气囊电子小肠镜; 不明原因消化系出血; 诊断

核心提示: 单气囊小肠镜对不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)有较高的诊断价值, 是一种安全可靠的OGBI诊疗手段. OGBI常见的原因为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变.

朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞. 单气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1033-1036 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1033.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1033

0 引言

不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)是指通过胃镜、结肠镜及钡餐造影等检查提示阴性, 但仍不明来源的消化系出血[1]. 2001年日本学者率先报道了双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)进行全小肠检查的研究[2], DBE图像清晰, 操作精确, 并且可以行镜下治疗, 是一种可靠的小肠疾病诊治手段[3]. 2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)与DBE相比, SBE只有外套管一个气囊, 其镜端的可曲度及视角范围明显增加, 操作更加简便[4]. 本文总结了115例在我院接受SBE检查的OGIB患者的临床资料, 探讨SBE对OGIB的诊断价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2009-07/2013-05期间因OGIB在我院进行相关检查的115例患者, 其中男性77例, 女性38例; 年龄10-75岁. 显性出血78例(67.83%), 包括主诉黑便者42例(36.52%), 主诉便血者36例(31.31%); 隐性出血37例(32.17%). SIF-Q260单气囊小肠镜购自Olympus公司.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 向患者交代检查的必要性, 并告知检查中可能发生的意外及并发症, 签署SBE检查知情同意书. 患者均无无内镜检查及静脉麻醉的禁忌症. 术前1 d进食流质饮食, 晚餐后口服蓖麻油40 mL, 第2天上午服复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水, 以丙泊酚静脉麻醉, 检查全程行心电监护及氧饱和度监测.

1.2.2 SBE检查: 采用Olympus SIF-Q260型单气囊小肠镜. 根据患者症状选择进镜途径, 估计病变在中上小肠肠段者选择经口腔进镜, 估计病变在远端小肠者选择经肛门进镜. 如一侧进镜未发现病灶者, 可以美兰或钛夹标记后再从另一侧进镜. 检查前先观察外套管头端的气囊有无漏气, 将外套管套在小肠镜镜身上, 注入润滑剂. 由2名内镜医师及一名麻醉医师配合检查. 通过调整镜身角度和外套管气囊反复充气、放气、钩拉等动作, 逐步把检查部位深入到远端小肠.

1.2.3 耐受性与安全性: 115例患者均完成检查, 进镜过程顺利, 未发生麻醉意外, 未出现出血、穿孔、麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症. 少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状, 均可自行缓解.

统计学处理 检查结果以检出阳性率进行评价(检出阳性率 = 检出病变例数/检查例数×100%). 显性出血组与隐性出血组检出阳性率的比较采用χ^2检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 检出阳性率 共有115例不明原因消化系出血患者接受了SBE检查. 85例发现了异常, 检出阳性率为73.91%(85/115). 经口侧检查74例次, 经肛侧检查70例次, 有29例患者进行双侧SBE检查, 但没有患者完成对接.

2.2 镜下治疗及OGBI最常见的原因 11例行镜下治疗, 息肉高频电流圈套摘除术3例, 另7例行镜下止血治疗(注射聚桂醇2例, 电凝5例), 另1例电凝止血后钛夹标记. 过程顺利, 均未发生术后并发症. OGBI最常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变、小肠间质瘤、小肠癌、克罗恩病、小肠息肉、毛细血管扩张症及其他少见疾病. 典型图片如图1, 具体检出病变如表1.

2.3 常见受检原因及阳性检出率分析结果 常见受检原因及阳性检出率如表2. 显性出血78例(67.83%), 隐性出血37例(32.17%), 统计结果表明, 显性出血组91.02% (71/78)较隐性出血组37.84%(14/37)的检出阳性率高($P<0.05$).

3 讨论

小肠的长度占全消化系的75%, 位于人体深处, 以小肠为主要发病部位的OGIB是消化系统疾病

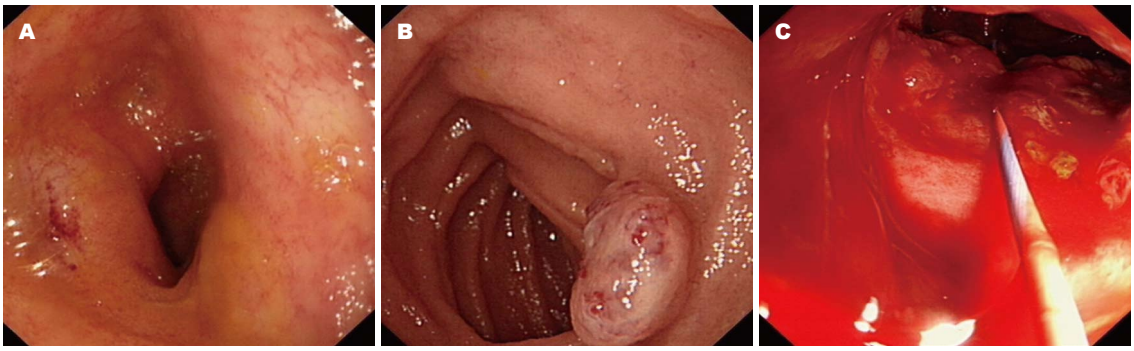


图 1 消化系出血典型病例. A: 小肠憩室壁糜烂伴出血; B: 小肠血管瘤; C: 小肠癌伴出血.

■相关报道
在较大样本量不明原因消化系出血研究中双气囊小肠镜诊断阳性率平均为68%, 与本研究的检出阳性率相似.

表 1 不明原因消化道出血患者的SBE检查结果 (n = 115)

病因	n	构成比(%)
小肠溃疡	18	15.65
小肠憩室	15	13.04
小肠黏膜炎性改变	13	11.30
小肠间质瘤	12	10.43
小肠癌	8	6.96
克罗恩病	7	6.09
小肠息肉	6	5.21
毛细血管扩张症	3	2.61
小肠血管畸形	1	0.87
胃溃疡	1	0.87
吻合口溃疡	1	0.87
阴性	30	26.09
合计	115	100.00

表 2 OGIB的常见受检原因及阳性检出率

受检原因	n	检出小肠病变(n)	检出阳性率(%)
黑便	42	37	88.10
便潜血阳性	37	14	37.84
便血	36	34	94.44
总计	115	300	73.91

的诊治难点, 长期以来缺乏有效的检查手段.

OGIB在消化科并非常见, 以往小肠出血的检查主要依赖于钡剂造影、血管造影技术、核素显像等, 但传统小肠检查技术的检出阳性率低或主要针对活动性出血[5-7]. 胶囊内镜是近年来发展的新技术, 使小肠检查不再有盲区. 在OGIB患者中的诊断率达58%-80%[8-10], 但对出血量比较大、或伴有肠梗阻者, 胶囊内镜并不适宜. 以上各种检查均为影像学检查, 不能做小肠黏膜活检, 不能做治疗, 有很大的局限性. 另外, OGIB可以手术探查, 并做术中内镜, 但是, 手术对机体的损伤及高风险不可避免[11].

气囊辅助内镜包括SBE和DBE, 是小肠疾病检查手段上的突破性进展, 原理上可以通过两侧对接对全小肠直视观察, 便于操作, 发现病变可以停留观察, 并取活检, 做标记, 可以行内镜下治疗, 如进行息肉切除和止血等治疗. SBE是在DBE的基础上改进而来的, 仅需1个气囊交替充放气, 镜端灵活、视角大, 具有操作上的优势. DBE因为有反复注气和放气的操作, 有操作者出错的可能[12], 而SBE因其操作更简便, 一般不会出错. 由于SBE无需安装内镜前端的充气囊, 因此准备时间平均约5 min, 明显短于DBE的准备时间[13].

本组资料中共115例患者(144例次)行SBE检查, 其中11例行镜下治疗, 检查治疗过程顺利, 均未发生术后并发症. 我们的结果表明, SBE对不明原因消化系出血有较高的检出阳性率, 为73.91%, 与其他SBE检查资料相似[14,15]. 在较大样本量OGIB研究中DBE诊断阳性率平均为68%[16], 与本研究的检出阳性率相似.

本组资料中共29例患者行双侧SBE检查, 但没有患者完成对接检查. SBE理论上可实现全小肠检查, 少数医师甚至可以实现经肛或经口的一次性全小肠检查, 但目前SBE完成全小肠检查的成功率为5%-25%, 低于DBE[12,17].

OGBI根据临床上有无明显的出血而分为不明原因显性出血和隐性出血, 本组资料中显性出血的检出阳性率高于隐形出血. OGBI常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变、小肠间质瘤、小肠癌、克罗恩病、小肠息肉、毛细血管扩张症及其他少见疾病. 对11例患者行镜下治疗, 为息肉摘除术和镜下止血治疗.

以上结果表明, SBE对不明原因消化系出血有较高的诊断价值, 还可进行必要的镜下治疗,

■同行评价
本研究对较大例数的此类患者进行研究，具有一定的临床参考价值.

临床实用性强，是继DBE后又一种安全可靠的小肠出血诊疗方法.

4 参考文献

1 Raju GS, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association (AGA) Institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; 133: 1694-1696 [PMID: 17983811 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008]

2 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]

3 May A, Nachbar L, Pohl J, Ell C. Endoscopic interventions in the small bowel using double balloon enteroscopy: feasibility and limitations. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 527-535 [PMID: 17222315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01063.x]

4 Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy* 2008; 40: 11-15 [PMID: 18058613]

5 Zuckerman GR, Prakash C, Askin MP, Lewis BS. AGA technical review on the evaluation and management of occult and obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2000; 118: 201-221 [PMID: 10611170 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70430-6]

6 李德胜, 杨玉莲, 柯多妹. 核素显像对不明原因消化道出血的诊断. 海南医学院学报 2002; 8: 101-102

7 李玉伟, 张富强, 李云辉, 袁亮, 斯光宴. 不明原因消化道出血的DSA诊断与介入治疗. 现代诊断与治疗 2009; 20: 13-15

8 Neu B, Ell C, May A, Schmid E, Riemann JF, Hagenmüller F, Keuchel M, Soehendra N, Seitz U, Meining A, Rösch T. Capsule endoscopy versus standard tests in influencing management of obscure digestive bleeding: results from a German multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1736-1742 [PMID: 16086709 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41649.x]

9 Hadithi M, Heine GD, Jacobs MA, van Bodegraven AA, Mulder CJ. A prospective study comparing video capsule endoscopy with double-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 52-57 [PMID: 16405533 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00346.x]

10 Sturniolo GC, Di Leo V, Vettorato MG, De Boni M, Lamboglia F, De Bona M, Bellumat A, Martines D, D'Inca R. Small bowel exploration by wireless capsule endoscopy: results from 314 procedures. *Am J Med* 2006; 119: 341-347 [PMID: 16564777 DOI: 10.1016/j.amjmed.2005.08.029]

11 夏兴洲, 杨蒽茹, 闫国亭. 不明原因消化道出血术中内镜检查26例分析. 中国误诊学杂志 2006; 6: 1771-1772

12 Kawamura T, Yasuda K, Tanaka K, Uno K, Ueda M, Sanada K, Nakajima M. Clinical evaluation of a newly developed single-balloon enteroscope. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1112-1116 [PMID: 18599052 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1063]

13 任玮, 王雷, 宁琳洪, 李宜辉, 赵晓晏. 单气囊及双气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用比较. 中国基层医药 2011; 18: 1653-1655

14 李运红, 吕瑛, 张晓琦, 刘明东, 姚玉玲, 于成功, 吴毓麟, 邹晓平. 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2012; 9: 510-512

15 Kushnir VM, Tang M, Goodwin J, Hollander TG, Hovis CE, Murad FM, Mullady DK, Azar RR, Jonnalagadda SS, Early DS, Edmundowiz SA, Chen CH. Long-term outcomes after single-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 2572-2579 [PMID: 23430372 DOI: 10.1007/s10620-013-2588-y]

16 宋志强, 丁士刚. 双气囊小肠镜在不明原因消化道出血中的诊断价值. 中国微创外科杂志 2009; 9: 76-78

17 May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönkemüller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1037-1041
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

无症状体检者结直肠息肉分布特征1990例

陶文武, 高 峰

陶文武, 高峰, 新疆维吾尔自治区人民医院消化科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830001
陶文武, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 陶文武与高峰对此文均有贡献; 此课题由高峰与陶文武设计; 研究过程由陶文武操作完成; 研究所用药剂及分析工具由高峰提供; 数据分析由陶文武完成; 本论文写作由陶文武完成.
通讯作者: 高峰, 教授, 主任医师, 医学博士, 硕士研究生导师, 800001, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市天山区天池路, 新疆维吾尔自治区人民医院消化科. gaofeng@sina.com
电话: 0991-8563342
收稿日期: 2013-12-04 修回日期: 2014-01-13
接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects

Wen-Wu Tao, Feng Gao

Wen-Wu Tao, Feng Gao, Department of Gastroenterology, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Feng Gao, Chief Physician, Professor, Department of Gastroenterology, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. gaofeng@sina.com
Received: 2013-12-04 Revised: 2014-01-13
Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of colorectal polyps in asymptomatic subjects to stress the importance of colonoscopy in physical examination and explore the effective means of screening for asymptomatic patients with early colorectal cancer.

METHODS: A retrospective analysis of colonoscopic findings was performed in 1990 subjects who underwent physical examination at the Department of Gastroenterology of Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital. The subjects voluntarily underwent colonoscopy from July 1, 2009 to June 30, 2013. The detection rate of colorectal polyps, pathological type, sex, age, site of lesion, and the positive rate of colorectal lesions were analyzed.

RESULTS: Colonoscopy revealed 376 (18.8%) cases of colorectal polyps, 10 (0.5%) cases of colorectal cancer, 410 (17.3%) cases of chronic colorectal inflammation, 38 (1.9%) cases of colon melanosis, 4 (0.2%) cases of colon melanosis with colon polyps, and 27 (1.3%) cases of colorectal diverticulum. A total of 571 polyps were detected in 376 patients with colorectal polyps. The detection rate of intestinal polyps was 24.1% in men and 11.2% in women. The detection rate of colorectal polyps in Chinese Han subjects was 17.8%. The detection rate of colorectal lesions was 39.1%.

CONCLUSION: The detection rate of colorectal polyps in the asymptomatic population was related to gender, age and race. The detection rate of colorectal polyps is higher in patients aged > 50 years. Sigmoid colon polyps and tubular adenoma are common. For people aged over 50 years, colonoscopy for screening early colorectal cancer is recommended.

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

Key Words: Physical examination; Colonoscopy; Colorectal adenomas; Colorectal neoplasms

Tao WW, Gao F. Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1037-1041 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1037.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1037

摘要

目的: 探讨健康体检人群进行结肠镜检查的必要性, 了解我国无症状人群结直肠疾病的发病情况, 探寻无症状人群筛查早期结直肠肿瘤的有效手段.

方法: 回顾性分析了新疆维吾尔自治区人民医院消化科内镜中心的1990例健康体检者的结肠镜检查结果, 患者均在2009-07-01/2013-06-30自愿接受结肠镜检查, 分别分析了1990例结直肠息肉的检出率、病理组织学类型、病变检出部位、性别、年龄、结直肠病变阳性检出

■背景资料
目前报道结肠有临床症状疾病的诊断与治疗相关研究不少, 而结肠无症状疾病或早期无症状疾病的检查方法及检出疾病分布特征的研究较少, 特别是大样本的研究, 本文旨在探讨无症状人群进行结肠镜检查的必要性, 了解中国不同民族无症状人群结直肠疾病的发病情况, 探寻无症状人群筛查早期结直肠疾病的有效手段.

■同行评议者
董蕾, 主任, 教授, 博士生导师, 西安交通大学第二附属医院消化内科

■研发前沿
寻找有效、简便可行、经济的、有针对性的早期结直肠癌检出方法是目前亟待研究的问题，结肠镜可否作为体检常规项目有待进一步调查研究.

率；分析了结肠息肉的检出率与病变部位、病理类型与受检者的年龄、性别、族别之间的关系.

结果：结直肠息肉376例(18.8%)，结直肠癌10例(0.5%)，结直肠慢性炎410例(17.3%)，结肠黑病变38例(1.9%)，结直肠憩室27例(1.3%). 376例结直肠息肉患者共检出息肉571枚；男性肠息肉检出率为24.1%，女性为11.2%；汉族人结直肠息肉检出率为17.8%；无症状人群结肠镜检查结直肠病变阳性检出率为39.1%.

结论：无症状人群大肠息肉的检出率具有性别、年龄、种族趋势. 50岁以上的中老年人群结直肠息肉检出率较高；检出的息肉部位及病理类型则以乙状结肠部的管状腺瘤居多. 50岁以上无症状人群进行结肠镜检查，对于筛查早期结直肠癌前病变及预防结直肠肿瘤具有重要意义.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：体检者；结肠镜；结直肠腺瘤；结直肠肿瘤

核心提示：本研究建议我国早期结直肠肿瘤筛查的起始年龄为50岁，中国结直肠息肉的检出率最高的是>50岁的中老年人群，且多发于左半结肠，尤其是乙状结肠；汉族较少数民族结直肠息肉检出率要高；检出的息肉部位及病理类型则以乙状结肠部的管状腺瘤居多.

陶文武，高峰. 无症状体检者结直肠息肉分布特征1990例. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1037-1041 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1037.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1037

0 引言

随着中国经济的快速发展，人们的健康意识逐渐增强. 许多单位或个人主动到医院参加健康体检，结肠镜已经成为部分医院的体检项目之一[1,2]. 结肠镜检查作为结直肠疾病重要的检查手段，已经在临床广泛使用，其诊断和治疗价值已经得到充分肯定. 现将2009-07-01/2013-06-30新疆维吾尔自治区人民医院消化科消化内镜中心的1990例健康体检者自愿到我院进行结肠镜检查的结果进行分析研究，以了解隐匿性结直肠疾病的发病情况.

1 材料和方法

1.1 材料 源自新疆维吾尔自治区人民医院消化科内镜中心2009-07-01/2013-06-30行结肠镜检查的1990例无症状体检者. 其中包括男性1183例，女性807例，汉族占1325例(66.5%)，少数民族占665例(33.5%). 年龄(18-78)岁，中位数年龄49.6岁±8.2岁. 其年龄分布如下：≤30岁58例(2.9%)、30-≤40岁组269例(13.5%)、40-≤50岁组823例(41.3%)、50-≤60岁组604例(30.3%)、>60岁组216例(10.8%)(图1).

1.2 方法

1.2.1 排除标准：虽无症状但有以下情况不入选：既往有结直肠疾病复查者；因血清肿瘤标志物升高而进行检查者；腹部手术术后复查者(包括结直肠疾病术后复查者)；有消化系遗传病家族史；有其他部位肿瘤者，无论原发或继发；通过其他检查(肛门指检、影像学检查等)疑诊结肠肛肠疾病行结肠镜检查为进一步明确病因者.

1.2.2 检查：结肠镜检查前3 d进无渣饮食，检查前一天进流质饮食，检查当日晨起口服舒泰清(复方聚乙二醇电解质)和2 L冷开水或20%甘露醇500 mL和5%葡萄糖盐水500 mL进行清肠，同时为了防止因腹泻脱水，鼓励患者多饮水，下午进行结肠镜检查，术前禁食6 h以上. 其中20例检查，因患者不能耐受，未能完成全结肠检查(即有20例因患者无法耐受或进镜反应剧烈，结肠镜未到达回盲瓣部，>50岁以上者13例，≤50岁以下者7例). 采用Olympus260型电子结肠镜检查.

统计学处理 资料均采用SPSS16.0软件进行相关数据处理. 患病部位组间、性别组间、年龄组间比较的统计学方法是χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 体检者结肠镜检查 在1990例中，60.9%(1213例)未见明显异常(未发现任何结直肠黏膜或结肠内病变者，不包括肛管及肛门疾病)，即结肠镜体检阳性率为39.1%. 如表1所示，结直肠异常表现包括：结直肠息肉376例(18.8%)，结直肠癌10例(0.5%)，结直肠慢性炎410例(17.3%)，结肠黑病变38例(1.9%)，结直肠憩室27例(1.3%).

376例结直肠息肉患者共检出息肉571枚，具体性别、部位、年龄分布情况如表2. 结直肠高级别上皮内瘤变腺瘤(包括局部高级别腺瘤)18例(0.91%)，在年龄方面差异具有统计学意义($P<0.01$). 571枚息肉中，病理类型如下：管状腺瘤310(60.1%)，绒毛状腺瘤67(1.3%)，管状-绒毛状腺瘤11(2.3%)，锯齿状腺瘤2(0.3%)，增生性息

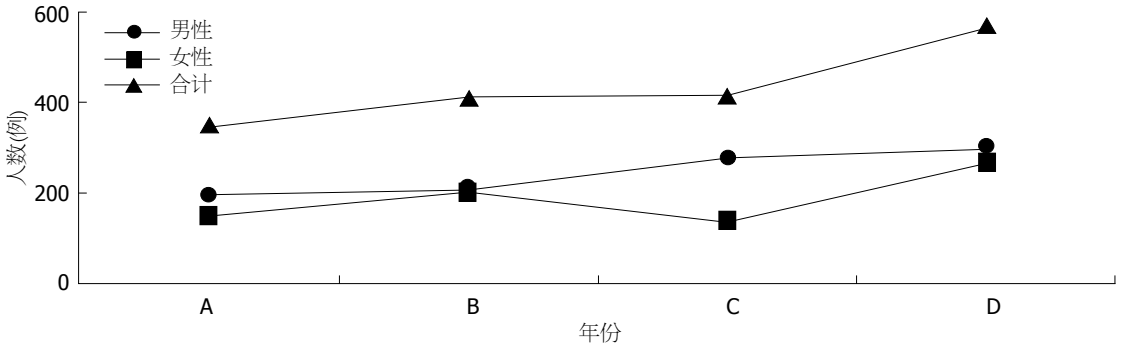


图 1 不同年份自愿进行结肠镜检查人数. A: 2009-07-01/2010-06-30; B: 2010-07-01/2011-06-30; C: 2011-07-01/2012-06-30; D: 2013-07-01/2012-06-30.

表 1 结直肠息肉检出率比较 *n*(%)

分组	*n*	结直肠息肉	χ^2	*P*值	结直肠高危腺瘤	χ^2	*P*值
性别			52.65	<0.001		0.455	>0.05
男	1183	286(24.1)			15(1.2)		
女	807	90(11.2)			7(1.0)		
族别			6.412	<0.05		0.607	>0.05
汉族	1325	236(17.8)			19(1.4)		
维吾尔族	267	37(13.8)			3(1.1)		
哈萨克族	46	5(6.0)			0(0)		
年龄(岁)			58.065	<0.001		11.509	<0.01
≤30	58	4(6.8)			0(0)		
30-40	279	25(8.9)			1(0.35)		
40-49	826	135(16.3)			3(0.36)		
50-59	608	152(25.0)			14(2.3)		
≥60	219	70(31.9)			4(2.1)		
检出部位息肉数(枚)	571		9.270	<0.002		0.052	>0.05
右半结肠	177	116(30.9)			7(3.9)		
左半结肠	257	260(69.1)			15(5.8)		

肉(14.2%), 炎性息肉(15.6%); 结直肠息肉检出部位如下: 升结肠119(23.1%), 58横结肠(1.3%), 降结肠122(23.6%), 乙状结肠及直肠217(42%). 由此可见: 分布于直肠、乙状结肠且病理类型以管状腺瘤者较多.

2.2 结肠息肉相关特点

2.2.1 年龄分布特点: 男性1183例, 女性807例, 中位年龄49.6岁±8.2岁(如图1). 年龄与结直肠息肉检出率的关系及年龄分布: 40-60岁之间中老年人群结直肠息肉检出率最高, 占总检出率67.8%, 4个年龄段结直肠息肉检出率差异具有统计学意义(P<0.001). 如表2所示, 结直肠息肉的检出率随年龄的增长而升高, 年龄≥50岁和年龄<50岁人群相比, 结直肠息肉的检出率明显升高(P<0.05). 50-59岁年龄组高危腺瘤检出率高于其余4个年龄组, 差异具有统计学意义(P<0.01).

2.2.2 性别特点: 1183例男性中共检出结直肠息肉286例(24.1%), 797例女性中检出结肠息肉90例(11.2%), 男性结肠息肉检出率高于女性, 差异具有统计学意义(P<0.001).

2.2.3 检出部位特点: 376例结直肠息肉患者中, 左半结肠检出257枚(69.1%), 右半结肠检出177枚(30.9%). 远端结肠息肉检出率要高于近端结肠部者(左半结肠定义为盲肠、升结肠、肝曲、横结肠、脾曲; 右半结肠定义为降结肠、乙状结肠、直肠), 差异具统计学意义(P<0.002).

2.2.4 种族间特点: 1990例体检者中, 汉族和维吾尔族分别检出结肠息肉236例(17.8%)、37例(13.8%), 哈萨克族检出结肠息肉5例(6%), 汉族结直肠息肉检出率高于少数民族, 差异有统计学意义(P<0.05).

■相关报道

研究亮点: (1)探讨无症状人群进行结肠镜体检的必要性; (2)无症状人群结肠镜体检起始年龄(50岁以上); (3)无症状人群疾病分布特征. 李景南的研究表明: 在我国开展全面大肠癌筛查尚有一定难度, 在健康体检人群中采用高危问卷调查, 有助指导选择结肠镜检查人群, 提高结肠镜检查的针对性, 高危问卷调查表+结肠镜是一种有效、可行的大肠癌筛查方法.

■创新盘点
研究样本量较大，真实性较好；本文研究显示汉族、维吾尔族、哈萨克族无症状人群大肠息肉的分布具有明显性别、年龄、种族趋势.

表 2 1990例无症状体检者检出病变分布基本特征

分组	男/女(例)	汉/维吾尔族(例)	年龄(岁)(mean ± SD)	≤40岁n(%)	40–60岁n(%)	≥60岁n(%)	合计n(%)
结直肠息肉	286/90	239/36	18–78(49.5 ± 5.2)	33(10.0)	287(20.0)	70(32.4)	376(18.9)
结直肠癌	7/3	6/4	43–79(62.1 ± 4.4)	0(0)	7(0.49)	3(0.21)	10(0.5)
结肠黑病变	6/32	24/11	39–64(52.6 ± 4.6)	1(0.30)	32(2.24)	5(2.30)	38(1.3)
结直肠慢炎	196/160	223/49	18–78(48.5 ± 5.8)	20(6.1)	234(16.3)	72(33.3)	326(17.3)
结直肠憩室	11/16	19/8	32–64(47.3 ± 6.2)	2(0.61)	21(1.47)	4(1.85)	27(1.3)
阴性	794/419						1213(60.9)

3 讨论

随着中国经济的发展，人们的健康意识增强，本次调查研究显示自愿接受结肠镜体检人数逐年增多，男性略多于女性(图1). 从本文结果来看，无症状>50岁中老年人群肠息肉检出率高于50岁以下人群(P<0.05)，这也进一步提示50岁以上中老年人结肠镜检查的重要性. 男性结肠息肉的检出率(24.1%)则远远高出女性(11.2%)；这也与相关文献相符[3-5]. 20例患者因无法耐受或进镜反应剧烈至结肠镜未到达回盲瓣部(>50岁以上者13位，≤50岁以下者7位)，可能提示对于老年患者进行结肠镜检查，应适当考虑年龄、体质能否耐受.

从所检出的结直肠息肉的病变部位来看，左半肠息肉多于右半结肠，且肿瘤性息肉多于非肿瘤性息肉，这与相关文献报道结果相近[6,7]. 结直肠腺瘤是结直肠癌最主要的癌前病变，因具有向结直肠癌转化的高风险性[8]，临床医师对此类息肉必须加以足够的重视，并建议此类非瘤性息肉结肠镜体检者需定期随访. 国内外相关报道，约有50%-70%的肠癌来自于腺瘤性息肉，而其癌变发生率大约在3.0%-9.5%左右[9]. 其中又以绒毛状腺瘤癌变率最高，可达30%-70%之间[10]. 因此，临床医师应对所发现的息肉进行仔细观察，并应尽量行息肉切除术，并全瘤送检，预防其癌变. Levin等[11]制定的结直肠癌及结直肠的筛选准则建议健康体检者结肠镜筛查的起始年龄为50岁. 韩英[12]研究提出，对于40岁以上人群，由于大肠癌和癌前病变发病率较高，进行结肠镜体检更好.

汉族人结直肠息肉的检出率要高于其他少数民族(P<0.05). 但与Bygone等[13]进行的亚洲多中心多国家(18.5%)及美国西雅图(20.7%)无症状人群的结肠镜检查结果比较，中国新疆地区结直肠息肉的检出率较低. 其原因可能与民族间的生活方式及饮食习惯、地域、种族因素有关，如汉族人对蛋白、精细食品、动物脂肪等摄取量偏多，工作压力大、不健康的生活方式等诸多因素有关.

检出结直肠癌10例(0.5%)，高分化腺癌2例，中分化腺癌7例，低分化腺癌1例，年龄在43-78岁之间. Lieberman等[14]研究表明健康无症状体检人群中，结直肠癌检出率为0.5%-1%，与我们此次研究数据相符. 左半结肠息肉检出率高于右半结肠(P<0.002). 但是，右半结肠的结直肠癌检出率(0.15%)，体现了全结肠镜检查在结直肠癌筛查中的重要性，非全结肠镜检查可能导致结肠癌漏诊.

总之，无症状人群大肠息肉的检出率具有性别、年龄、种族趋势. 结直肠癌是目前世界公认的可通过有效手段干预降低病死率的恶性肿瘤. 中国国家肿瘤登记中心报道[15]，1991-2005年结直肠癌是发病率上升速度最快的三中肿瘤之一. 人们体检的最主要目的之一就是肿瘤筛查，而体检检查的常规肿瘤标志物，如癌胎抗原(carcinogen-embryonic antigen, CEA)等无法有效的发现结直肠息肉和结直肠癌. 早期结直肠癌及肠息肉多无症状，体检人群中结合高危问卷调查[16]，有助提高结肠镜检查的针对性. 由于经济、地域等因素限制，无症状人群结肠镜体检的经济效益和社会效益需进一步调查研究，其能否作为常规体检项目尚需进一步探讨，但本组研究显示无症状人群结肠镜体检对早期结直肠肿瘤的发现及治疗有重要意义.

4 参考文献

1 雷涛，陈万青，张思维，雷通海，应倩，何兆毅，汪祥辉. 1988-2002年中国10个市县大肠癌的流行特征. 中华肿瘤杂志 2009; 31: 428-433
2 李世荣. 现阶段我国大肠癌筛查策略的思考. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 261-262
3 Oberwalder M, Zitt M, Wöntner C, Fiegl H, Goebel G, Zitt M, Köhle O, Mühlmann G, Ofner D, Margreiter R, Müller HM. SFRP2 methylation in fecal DNA--a marker for colorectal polyps. *Int J Colorectal*

Dis 2008; 23: 15-19 [PMID: 17639423 DOI: 10.1007/s00384-007-0355-2]
4 Wang DR, Tang D. Hypermethylated SFRP2 gene in fecal DNA is a high potential biomarker for colorectal cancer noninvasive screening. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 524-531 [PMID: 18203283]
5 Glöckner SC, Dhir M, Yi JM, McGarvey KE, Van Neste L, Louwagie J, Chan TA, Kleeberger W, de Bruïne AP, Smits KM, Khalid-de Bakker CA, Jonkers DM, Stockbrügger RW, Meijer GA, Oort FA, Iacobuzio-Donahue C, Bierau K, Herman JG, Baylin SB, Van Engeland M, Schuebel KE, Ahuja N. Methylation of TFPI2 in stool DNA: a potential novel biomarker for the detection of colorectal cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 4691-4699 [PMID: 19435926 DOI: 10.1158/0008-5472]
6 Kronborg O, Ugstad M, Fuglerud P, Johne B, Hardcastle J, Scholefield JH, Vellacott K, Moshakis V, Reynolds JR. Faecal calprotectin levels in a high risk population for colorectal neoplasia. *Gut* 2000; 46: 795-800 [PMID: 10807890 DOI: 10.1136/gut.46.6.795]
7 Limburg PJ, Devens ME, Harrington JJ, Diehl NN, Mahoney DW, Ahlquist DA. Prospective evaluation of fecal calprotectin as a screening biomarker for colorectal neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2299-2305 [PMID: 14572583 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07630.x]
8 Haug U, Hundt S, Brenner H. Sensitivity and specificity of faecal tumour M2 pyruvate kinase for detection of colorectal adenomas in a large screening study. *Br J Cancer* 2008; 99: 133-135 [PMID: 18542075]
9 Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, Somerfield MR, Hayes DF, Bast RC. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5313-5327 [PMID: 17060676 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.2644]
10 Habermann JK, Roblick UJ, Luke BT, Prieto DA, Finlay WJ, Podust VN, Roman JM, Oevermann E, Schiedeck T, Homann N, Duchrow M, Conrads TP, Veenstra TD, Burt SK, Bruch HP, Auer G, Ried T. Increased serum levels of complement C3a anaphylatoxin indicate the presence of colorectal tumors. *Gastroenterology* 2006; 131: 1020-1029; quiz 1284 [PMID: 17030172 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.07.011]
11 Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, Bond J, Dash C, Giardiello FM, Glick S, Johnson D, Johnson CD, Levin TR, Pickhardt PJ, Rex DK, Smith RA, Thorson A, Winawer SJ. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 2008; 134: 1570-1595 [PMID: 18384785 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.002]
12 韩英, 李世荣. 大肠癌, 筛查方法和模式及现阶段我国筛查策略的思考. 中华内科杂志 2010; 49: 731-732
13 Byeon JS, Yang SK, Kim TI, Kim WH, Lau JY, Leung WK, Fujita R, Makharia GK, Abdullah M, Hilmi I, Sollano J, Yeoh KG, Wu DC, Chen MH, Kongkam P, Sung JJ. Colorectal neoplasm in asymptomatic Asians: a prospective multinational multicenter colonoscopy survey. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 1015-1022 [PMID: 17531636 DOI: 10.1016/j.gie.2006.12.065]
14 Lieberman DA. Clinical practice. Screening for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 1179-1187 [PMID: 19759380]
15 陈竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 28-39
16 李景南. 重视健康体检人群中结直肠癌筛查. 中国肿瘤 2013; 22: 81-82

■同行评价

无症状体检人群结肠镜检查能否作为常规项目有待进一步调查研究, 中国无症状人群结肠镜体检起始年龄>50岁, 结合高危调查表, 可提高结肠镜检查针对性. 50岁以上无症状人群进行结肠镜检查, 对于筛查早期结直肠癌前病变及预防结直肠肿瘤具有一定意义.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年3月8日; 22(7): 1042-1046
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

III期直肠癌患者中临床预后的多因素Logistic回归分析

许进军, 甘 宁

■背景资料
直肠癌的分型中大体分型分为肿块型、浸润型及溃疡型3种. 肿块型因生长缓慢, 多以梗阻症状为主, 在III期直肠癌的预后效果最好. 浸润型的癌肿多沿常闭浸润, 使肠腔狭窄, 转移早而愈合差. 溃疡型为最多见的直肠癌, 其形状为圆形或椭圆形向肠腔深处生长并向周围浸润, 早期伴有溃疡, 容易出血, 分化程度低, 转移较早. 对于III期直肠癌患者中, 其肿瘤的大体分型已难以满足其预后的判断, 即便生长缓慢的肿块型亦有转移的病例, 出现预后较差, 导致死亡的病例亦不罕见.

■同行评议者
许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

许进军, 甘宁, 湖北省肿瘤医院中西医结合科 湖北省武汉市 430034
许进军, 主治医师, 主要从事晚期肿瘤的临床与基础研究.
作者贡献分布: 此课题由许进军设计; 研究过程由许进军与甘宁实施完成; 数据分析由甘宁完成; 本论文写作由许进军与甘宁共同完成.
通讯作者: 许进军, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市卓刀泉南路116号, 湖北省肿瘤医院中西医结合科.
penlink1975@sina.com
电话: 027-87670032
收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2014-01-05
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

Multivariate Logistic regression analysis of prognostic factors for stage III rectal cancer

Jin-Jun Xu, Ning Gan

Jin-Jun Xu, Ning Gan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430034, Hubei Province, China
Correspondence to: Jin-Jun Xu, Attending Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, 116 Zhuodaoquan South Road, Wuhan 430034, Hubei Province, China. penlink1975@sina.com
Received: 2013-12-07 Revised: 2014-01-05
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

Abstract
AIM: To analyze prognostic factors for stage III rectal cancer by multivariate Logistic regression analysis.

METHODS: Clinical data for 198 patients with stage III rectal cancer who underwent radical resection from June 2013 to June 2008 were analyzed retrospectively. Univariate and multivariate regression analyses were conducted to investigate the relationship of age, gender, gross type, TNM stage, lymph node metastasis, pathological type with prognosis. The patients were divided into two groups based on the extent of lymph node metastasis (33.9% as cutoff) to assess the relationship between lymph node metastasis and postoperative survival.

RESULTS: Univariate regression analysis indicated that age, TNM stage, pathological type and lymph node metastasis were factors significantly affecting prognosis of stage III rectal cancer. Multivariate regression analysis indicated that the extent of lymph node metastasis, not age, sex, TNM stage, and pathological type, was an independent predictor of survival of patients with stage III colorectal cancer.

CONCLUSION: Lymph node metastasis is an important predictor of prognosis of stage III rectal cancer.

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

Key Words: Rectal cancer; Lymph node ratio; Prognosis

Xu JJ, Gan N. Multivariate Logistic regression analysis of prognostic factors for stage III rectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1042-1046 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1042.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1042

摘要
目的: 多因素Logistic回归分析III期直肠癌患者的临床预后因素.

方法: 回顾性分析2008-06/2013-06随访的我院行直肠癌根治术的III期直肠癌患者198例, 对其年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病理分型等情况进行单因素及多因素的系统回归分析, 以检出的平均淋巴结转移度33.9%为界, 分为两组, 随访不同淋巴转移度术后的总生存率, 预测淋巴转移度的临床预后价值.

结果: 单因素回归分析提示年龄、TNM分期、术后病理分型、淋巴结转移度等为III期直肠癌患者预后生存率的重要因素. 而年龄、性别、TNM分期、术后病理分型等情况不能作为III期直肠癌预后的临床预测指标. 淋巴结转移度不同的两组分析提示淋巴转移度的大小与总生存率相关.

结论: III期直肠癌患者中淋巴结转移度有相当重要的临床预后预测价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 直肠癌; 淋巴结转移度; 预后

核心提示: 本研究选择2008-06/2013-06在我院行直肠癌根治手术患者198例, 进行回顾性分析, 对其年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病例分型等情况进行统计分析并纳入到回归分析, 达到分析临床预后价值的指标, 有助于进一步指导临床工作.

许进军, 甘宁. III期直肠癌患者中临床预后的多因素Logistic回归分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1042-1046 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1042.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1042

0 引言

直肠癌是目前较为常见的消化系恶性肿瘤, 病因尚不明确, 但此病淋巴结的转移为其最主要的转移途径. 早期发现、早期手术治疗仍为提高5年生存率的重要方法. 但如何评价III期直肠癌患者临床预后, 仍尚未明确. 选择2008-06/2013-06在我院行直肠癌根治手术患者198例, 进行回顾性分析, 对其年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病例分型等情况进行统计分析并纳入到回归分析, 达到分析临床预后价值的指标, 有助于进一步指导临床工作.

1 材料和方法

1.1 *材料* 选择2008-06/2013-06于我院随访完全的行直肠癌根治术的III期直肠癌患者198例, 进行回顾性分析. 男性98例, 女性100例, 男女比例为0.98∶1; 年龄24-89岁, 平均60岁±5岁, 肿块型52例, 浸润型53例, 溃疡型93例; 腺癌128例, 腺鳞癌51例, 未分化癌19例; TNM分期T1-T2患者28例, T3-T4患者170例, N1患者120例, N2患者78例. 淋巴结转移共清扫了2919个淋巴结, 其中转移淋巴结990个, 平均淋巴结转移度33.9%. 按LNR高于33.9%的131例为观察组, LNR低于33.9%的67例为对照组.

1.2 *方法* 通过出院后的电话随访、门诊复诊, 邮寄挂号信等方式对患者进行多个渠道的术后随访. 全部198例获得中, 其中18例随访丢失, 180例获得完全随访, 随访时间为6-60 mo, 平均30 mo. 统计末次随访时患者复发及转移等情况, 统计至随访终结时患者的生存率.

统计学处理 将患者年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病理分型等情况进行单因素系统回归分析. 同时对其多因素的系统进行建模赋值, 对其进行检验及OR值统计, 使用SPSS15.0软件进行分析. 数值采用mean±SD表示. 将单因素Logistic回归分析$P<0.05$的应变量带入多因素Logistic回归分析, 采用Wald检验, 检验水准$\alpha = 0.05$. 按平均淋巴结转移度33.9%为界限, 分为两组, 统计两组不同淋巴结转移度5年生存率, 进行统计学分析采用t检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *两组生存率情况* 观察组LNR高于33.9%的122例, 5年生存者为51例, 生存率为42%, 对照组LNR低于33.9%的58例, 5年生存者为48例, 生存率83%. 两组比较时$P<0.05$, 差异有统计学意义. 截止末次随访时, 随访丢失18例, 总生存率55%(图1).

2.2 *单因素回归分析* 大体分型、TNM分期、淋巴结转移度及病理分型与III期直肠癌患者的预后有线性相关($P<0.05$), 有统计学意义. 而年龄与性别III期直肠癌患者的预后无线性相关($P>0.05$)无明显统计学意义.

2.3 *多因素Logistic回归分析* 将年龄、性别、大体分型、TNM分期、病例分型、淋巴结转移度其相关因素带入多因素Logistic回归分析, 采用Wald χ^2检验, 检验水准$\alpha = 0.05$时, 我们发现淋巴结转移度的$P = 0.014$, 对建模有贡献, 有统计学意义, 因此我们认为淋巴结转移度在III期直肠癌的预后判断中有明确的统计学相关意义. 而年龄、性别、大体分型、TNM分期、病理分型等因素的回归分析中$P>0.05$, 无明显统计学意义, 对预后的判断暂无统计学意义(表1, 2).

2.4 *淋巴结转移度的卡方检验* 将总淋巴结阳性率/淋巴结总送检率的指标淋巴结转移度进行分组, 淋巴结转移度>0.339的观察组131例, 与对照组的淋巴结转移度<0.339的67例进行分析, 发现观察组与对照组的总生存率存在统计学意义($P<0.05$, 表2).

3 讨论

3.1 *肿瘤大体分型指标在III期直肠癌患者预后中意义* 直肠癌的分型中大体分型分为肿块型、浸润型及溃疡型3种. 肿块型因生长缓慢, 多以梗阻症状为主, 在III期直肠癌的预后效果最好. 浸润型的癌肿多沿常闭浸润, 使肠腔狭窄, 转移早而

■研发前沿

直肠癌是目前较为常见的消化系恶性肿瘤, 病因尚不明确, 但此病淋巴结的转移为其最主要的转移途径. 早期发现、早期手术治疗仍为提高五年生存率的重要方法. 但如何评价III期直肠癌患者临床预后, 仍尚未明确.

■相关报道
研究表明因黏膜层中无淋巴供应及分布，故当直肠癌位于黏膜层时难于发生淋巴转移，而癌细胞侵犯浆膜层后其下存在较多的血管神经、淋巴管、组织液等分布，故出现转移的几率大大增加.

表 1 III期直肠癌相关因素与赋值

因素	变量名	赋值
性别	X1	男 = 1, 女 = 2
年龄	X2	24–48 = 1, 48–60 = 2, >60 = 3
大体分型	X3	肿块型 = 1, 浸润型 = 2, 溃疡型 = 3
TNM分期	X4	T1–T2 = 1, T3–T4 = 2, N1 = 1, N2 = 2
淋巴结转移度	X5	<0.339 = 1, >0.339 = 2
病理分型	X6	腺癌 = 1, 腺鳞癌 = 2, 未分化癌 = 3
III期直肠癌	Y	

表 2 回归系数估计及检验和OR值

因素	b	SE(b)	Wald χ^2	*P*值	b^2	OR
常数项	10.984	3.955	9.784	0.000		
性别	0.269	0.134	3.987	0.098	0.478	1.300
年龄	0.079	0.036	2.072	0.194	0.454	1.901
大体分型	2.564	1.463	3.681	0.101	0.657	2.965
TNM分期	–1.679	0.863	2.177	0.173	–0.389	0.498
淋巴结转移度	3.861	1.946	6.762	0.014	0.899	6.945
病理分型	1.239	0.794	2.873	0.123	0.562	3.631

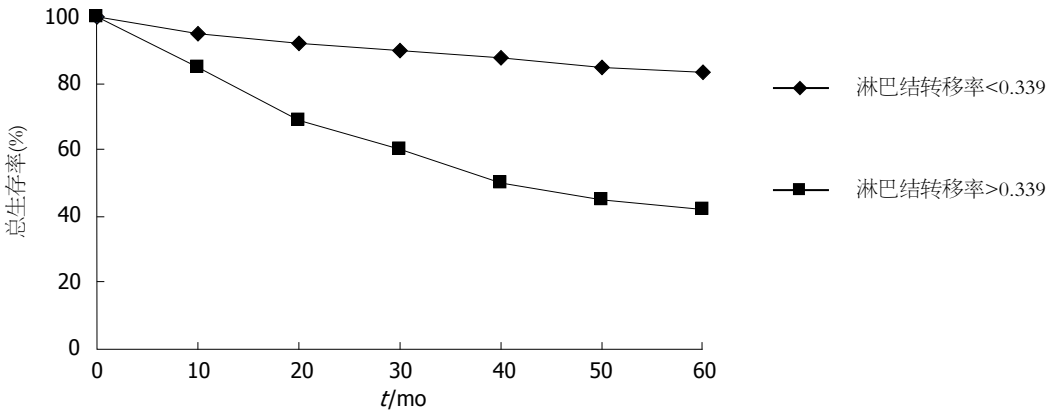


图 1 III期淋巴结转移度总生存率比较.

愈合差. 溃疡型为最多见的直肠癌，其形状为圆形或椭圆形向肠腔深处生长并向周围浸润，早期伴有溃疡，容易出血，分化程度低，转移较早. 对于III期直肠癌患者中，其肿瘤的大体分型已难以满足其预后的判断，即便生长缓慢的肿块型亦有转移的病例，出现预后较差，导致死亡的病例亦不罕见[1]. 故肿瘤的大体分型仅能在外形上对其进行简单的分类，对临床症状的发生，病情变化，及诊断病情有相对重要的意义. 对指导外科手术的切除范围，淋巴结浸润范围等情况有所指导，而对其预后的发展因素不起决定性作用，对其生存率及无病生存率无相关性影响.

3.2 术后病理分型对III期直肠癌患者预后中意义 显微镜下的术后病理分型大致分为腺癌、腺鳞癌、未分化癌3种类型. 腺癌细胞主要是管状腺癌及乳头状腺癌，占75%-85%，癌细胞排列呈腺管或腺泡状以及乳头状结构排列，其分为高、中、低3种分化程度；而黏液性腺癌占10%-20%，由分泌黏液的癌细胞构成，癌细胞内含有大量黏液恶性程度高. 仍有罕见的印戒细胞癌，恶性程度高，预后差. 而腺鳞癌主要由腺癌细胞及鳞癌细胞构成，分化多为中分化至低分化，较少见. 未分化癌的细胞排列无规律，癌细胞形态较一致，预后差. 在术后病理分型中牵

涉较多的均为分化程度, 而具体病理类型对直肠癌患者的预后有一定的影响, 而最后的判断渠道为其分化的高、中、低3种程度. 分化程度低的, 预后差. 癌细胞的分化程度是由癌基因及抑癌基因共同表达的产物, 而分化程度低的癌基因表达旺盛, 通常转移后造成的转移细胞的癌基因亦旺盛表达[2]. 有学者研究表明, 丢失基因、增殖细胞核抗原及表皮生长因子基因的异常表达直接影响着分化程度[3]. 而对于这三种病理分型在手术中我们亦可以发现分化程度高的肿瘤, 境界相对较为清楚, 在根治手术时, 切除范围境界较为明显, 较为简单; 而分化程度低的肿瘤, 境界难于分清, 癌肿黏连, 血供丰富, 组织易出血, 游离时风险较大, 甚至有的侵犯大血管及神经, 难于分离, 此类预后通常较差.

3.3 TNM肿瘤分型及CEA指标在III期直肠癌患者预后中意义 经典的TNM肿瘤分型本身就直接指导着III期直肠癌的分型及预后. 研究表明因黏膜层中无淋巴供应及分布, 故当直肠癌位于黏膜层时难于发生淋巴转移, 而癌细胞侵犯浆膜层后其下存在较多的血管神经、淋巴管、组织液等分布, 故出现转移的几率大大增加[4]. 多数III期直肠癌患者存在淋巴结的转移, 通过手术治疗后的放化疗, 却获得良好的预后[5]. 故目前TNM分型对患者预后的指导性依然存在, 但对于其独特性需要进一步探讨研究, 同时需要积极找寻其他因素予以辅助判断预后的情况. 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)为大肠癌组织可产生一种糖蛋白, 作为抗原引起患者的免疫反应. 此种抗原称为CEA, 可广泛存在于内胚叶起源的消化系统癌, 也存在于正常胚胎的消化管组织中, 在正常人血清中也可有微量存在. 癌胚抗原是一个广谱性肿瘤标志物, 他能向人们反映出多种肿瘤的存在, 对大肠癌、乳腺癌和肺癌的疗效判断、病情发展、监测和预后估计是一个较好的肿瘤标志物, 但其特异性不强, 灵敏度不高, 对肿瘤早期诊断作用不明显. 目前公认的在大肠癌诊断和术后检测有意义, 但主要用于预后及复发的监测.

3.4 淋巴转移度检测的意义优势及临床使用情况 以往经典的理论认为淋巴系统是抵抗肿瘤的第一道防线. 而淋巴结的转移通常直接导致直肠癌患者的复发和术后的死亡. 目前淋巴结转移已成为影响直肠癌的预后及生存的最关键因素, 而因为手术操作熟练程度, 技术水平及术后病理标本检查水平各个医院的淋巴结送检数量和检出阳性结果的多少结果相差较大. 虽然有学者研究表明有无淋巴结转移3-5年的生存率存在差异. 但出现多少个淋巴结转移的概念仍未情况. 有统计学研究[6]表明清理>12枚淋巴结才能界定; 也有相反的研究资料. 故淋巴结转移度(lymph node ratio, LNR)的概念应运而生, 其最早在胃癌中被发现, 即送检淋巴结中转移淋巴结的数量/全部被检查淋巴结的比值[7]. 此项研究在III期直肠癌的预后判断中有明显的效果, 其结果越低, III期直肠癌患者的预后越好; 其结果越高, III期直肠癌患者的预后越差. 合并TNM分期后检测的准确率达到90%以上, 应该被判定为强有力的预后因素之一[8]. 在我们医院的资料中, 一共统计了2919个淋巴结, 其中转移淋巴结990个, 总的平均淋巴结转移度为33.9%. 淋巴结转移度避开了患者单个个体因素, 不具有绝对的意义, 可以避免个体因素造成的差异, 在临床预测预后中起到指导意义.

3.5 淋巴结转移度高低对预后检测的意义 我们发现其淋巴结转移度的高低对III期直肠癌的预后有直接的关系. 5年的总生存率上存在明显的统计学差异. 但多少的淋巴结转移度为决定性因素目前尚在研究中[9-12], 我院随访的平均淋巴结转移度为0.339, 有学者研究数据为0.467, 当然各个医院的淋巴结转移度也各异, 其统计学意义表明, 淋巴结转移度的测定已成为III期直肠癌中预后判断的重要指标之一, 其相关性获得临床及统计学数据的支持. 淋巴结转移度越高, 其预后越差, 5年生存率低; 淋巴结转移度越低, 其预后越好, 5年生存率高[13-15]. 淋巴结清理数量的多少并不能直接导致淋巴结转移度的高低, 这同时表明, 淋巴结转移度的意义明显高于转移淋巴结的数量. 仅对III期直肠癌的预后其重要判断作用. 虽然现今的治疗肿瘤方法多种多样, 术后的辅助放化疗及生物物理治疗等层出不穷, 但淋巴结转移度的指标应逐渐推广, 并成为预后生存率的重要判断指标之一.

总之, LNR是评价III期直肠癌患者中临床预后的重要因素之一, 合并TNM分型后能更加准确的判断其预后情况. 但仍需要进一步的大样本的分析及多中心研究对照分析.

■同行评价
本研究选题实用, 结果可靠, 具有一定的学术价值.

4 参考文献

1 Priolli DG, Cardinalli IA, Pereira JA, Alfredo CH, Margarido NF, Martinez CA. Metastatic lymph

node ratio as an independent prognostic variable in colorectal cancer: study of 113 patients. *Tech Coloproctol* 2009; 13: 113-121 [PMID: 19484349 DOI: 10.1007/s10151-009-0467-5]
2 Choi PW, Yu CS, Jang SJ, Jung SH, Kim HC, Kim JC. Risk factors for lymph node metastasis in submucosal invasive colorectal cancer. *World J Surg* 2008; 32: 2089-2094 [PMID: 18553050 DOI: 10.1007/s00268-008-9628-3]
3 Yildirim E, Berberoglu U. Lymph node ratio is more valuable than level III involvement for prediction of outcome in node-positive breast carcinoma patients. *World J Surg* 2007; 31: 276-289 [PMID: 17219275]
4 Ricciardi R, Madoff RD, Rothenberger DA, Baxter NN. Population-based analyses of lymph node metastases in colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1522-1527 [PMID: 16979956]
5 Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, Taflin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol* 2010; 49: 57-62 [PMID: 20001500 DOI: 10.3109/02841860903334411]
6 Peeples C, Shellnut J, Wasvary H, Riggs T, Sacksner J. Predictive factors affecting survival in stage II colorectal cancer: is lymph node harvesting relevant? *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1517-1523 [PMID: 20940600 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f20116]
7 Ceelen W, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Prognostic value of the lymph node ratio in stage III colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2847-2855 [PMID: 20559741 DOI: 10.1245/s10434-010-1158-1]
8 潘志忠, 张华. 结直肠癌患者淋巴结检数和淋巴结转移度的临床意义. 循证医学 2009; 9: 155
9 Attaallah W, Gunal O, Manukyan M, Ozden G, Yegen C. Prognostic impact of the metastatic lymph node ratio on survival in rectal cancer. *Ann Coloproctol* 2013; 29: 100-105 [PMID: 23862127 DOI: 10.3393/ac.2013.29.3.100]
10 Noura S, Ohue M, Kano S, Shingai T, Yamada T, Miyashiro I, Ohigashi H, Yano M, Ishikawa O. Impact of metastatic lymph node ratio in node-positive colorectal cancer. *World J Gastrointest Surg* 2010; 2: 70-77 [PMID: 21160853 DOI: 10.4240/wjgs.v2.i3.70]
11 Persiani R, Rausei S, Biondi A, Boccia S, Cananzi F, D'Ugo D. Ratio of metastatic lymph nodes: impact on staging and survival of gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 519-524 [PMID: 17624713]
12 Berger AC, Watson JC, Ross EA, Hoffman JP. The metastatic/examined lymph node ratio is an important prognostic factor after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Am Surg* 2004; 70: 235-240; discussion 240 [PMID: 15055847]
13 董凌敏, 谭洪育, 雍铁山, 严太平, 张和林. 淋巴结转移度与直肠癌生存率关系研究. 江西医药 2011; 46: 892-894
14 邵小林, 韩洪秋, 何小玲, 付强, 吕永成, 刘刚. 淋巴结检出数和淋巴结转移度对Ⅱ－Ⅲ期结直肠癌患者预后的影响. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 249-253
15 梁国林, 周红见, 梁君林, 高枫, 陈利生. 结直肠癌淋巴结转移度相关因素分析. 微创医学 2010; 5: 220-222

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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 2014年3月8日; 22(7): 1047-1050
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

以特殊症状首发起病的克罗恩病2例

杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红

杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红, 中国人民解放军第89医院消化内科 山东省潍坊市 261021
杨正德, 主要从事炎症性肠病的研究.
作者贡献分布: 杨正德立题、执笔; 张丽艳审校; 王德宇对起初立题给予指导, 并查阅大量文献, 提供了部分参考文献; 姚大鹏与付国静分别为第1例、第2例患者经治医生, 负责详细病史的整体把握; 李心红为内镜操作医师, 对内镜下表现、特点及后来的诊断提供参考意见.
通讯作者: 杨正德, 主任医师, 261021, 山东省潍坊市潍城区北宫西街256号, 中国人民解放军第89医院消化内科.
zdyang@sina.com
收稿日期: 2013-12-13 修回日期: 2013-12-28
接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-08

Crohn's disease with special symptoms as initial manifestations: Report of two cases

Zheng-De Yang, Li-Yan Zhang, De-Yu Wang, Da-Peng Yao, Guo-Jing Fu, Xin-Hong Li

Zheng-De Yang, Li-Yan Zhang, De-Yu Wang, Da-Peng Yao, Guo-Jing Fu, Xin-Hong Li, Department of Gastroenterology, the 89th Hospital of PLA, Weifang 261021, Shandong Province, China
Correspondence to: Zheng-De Yang, Chief Physician, the 89th Hospital of PLA, 256 Beigong West Street, Weicheng District, Weifang 261021, Shandong Province, China. zdyang@sina.com
Received: 2013-12-13 Revised: 2013-12-28
Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-08

Abstract
Crohn's disease is a chronic granulomatous inflammatory disorder of unknown pathogenesis. It can affect the whole digestive tract from the mouth to the anus, but the lesion is mostly located in the terminal ileum and the adjacent colon. Typical symptoms are abdominal pain and diarrhea, but there exist some cases with special symptoms as initial manifestations. Here we report two such cases.

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

Key Words: Crohn's disease; Special symptoms

Yang ZD, Zhang LY, Wang DY, Yao DP, Fu GJ, Li XH. Crohn's disease with special symptoms as initial manifestations: Report of two cases. Shijie Huaren Xiaohua Zhazhi 2014; 22(7): 1047-1050 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1047.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1047

摘要
克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因不明的慢性肉芽肿性炎症, 从口腔到肛门各段消化道均可受累, 但病变多位于末端回肠及邻近结肠, 其他部位较少见, 主要表现为腹痛、腹泻, 症状一般较典型, 但临床上也可见以特殊症状起病的CD, 这就要求医生具有开阔的思维, 不能仅局限于出现症状的部位, 而要想到以特殊症状起病的其他疾病, 如以特殊症状起病的CD.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 克罗恩病; 特殊症状

核心提示: 克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因不明的慢性肉芽肿性炎症, 病变多位于末端回肠及邻近结肠, 其他部位较少见, 主要表现为腹痛、腹泻, 症状一般较典型, 但临床上也可见以特殊症状起病的CD, 这就要求医生具有开阔的思维, 不能仅局限于出现症状的部位, 而要想到以特殊症状起病的其他疾病, 如以特殊症状起病的CD.

杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红. 以特殊症状首发起病的克罗恩病2例. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1047-1050 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1047.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1047

0 引言
克罗恩病(Crohn's disease, CD)一种病因不明的消化道慢性炎症性疾病[1], 以腹痛、腹泻为主要表现, 可并发肠梗阻、肠瘘, 少数患者有关节、眼、皮肤等组织器官损害的表现. 我科收治2例分别以食道急性穿孔、急性胰腺炎起病的CD患者, 现报道如下.

■背景资料
克罗恩病(Crohn`s disease, CD)临床较常见, 但以特殊症状起病的CD临床较少见, 诊断有一定的困难.

■同行评议者
李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

■研发前沿
此文章报道了临床上罕见的以特殊症状起病的CD, 说明了CD在临床上发病的多样性, 对临床诊断有一定的帮助.

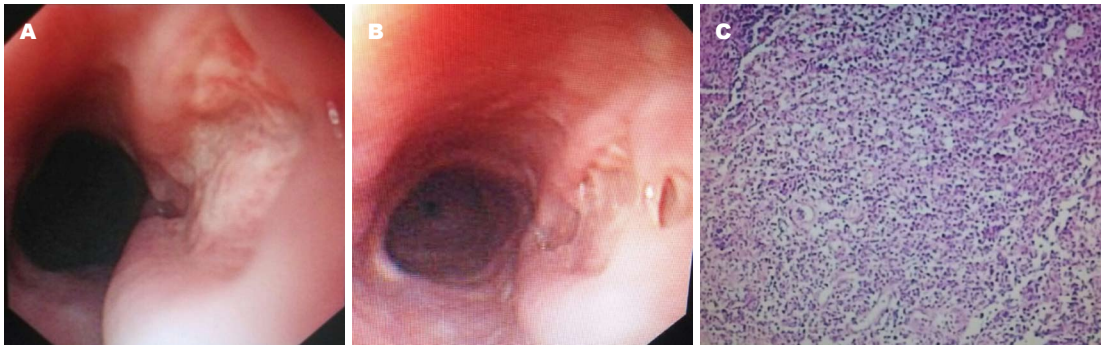


图 1 病例1. A, B: 内镜下食管黏膜损伤照片(可见黏膜桥); C: 病理照片(HE染色, ×100).

图 2 病例2. A: 胰腺CT; B: 术中小肠图片; C: 小肠病理照片(HE染色×100).

1 病例报告

病例1, 王某某, 女, 58岁, 因突发颈胸前疼痛、吞咽困难4 d于2012-09-27入院. 入院前4 d进食干饼时突然出现胸骨后持续性疼痛, 伴吞咽疼痛、吞咽困难, 2 d后出现颈前肿胀、发热, 体温38.2 ℃. 既往无胸骨疼痛、吞咽不适病史. 入科查体: T 38.8 ℃, 急性痛苦面容颈前及锁骨上红肿、触痛, 余未见异常. 外周血白细胞(WBC)12.3×10^9/L, 嗜中性粒细胞比(GR)92%; 胸部CT: 咽喉后间隙及胸5水平以上椎前间隙弥漫性水肿、增厚, 散在类圆形低密度区, 提示咽后壁、喉后壁及后纵隔炎症, 局部小脓肿形成. 入科后诊断急性纵隔炎, 给予静滴头孢噻肟钠、左氧氟沙星抗感染治疗, 3 d后吞咽疼痛、颈胸前肿痛减轻, 1 wk后疼痛基本消失. 全消化系钡透检查示食道上段长约3 cm狭窄、并有一长径约1 cm不规则龛影, 余未见异常; 胸部CT示食道上段壁增厚, 原渗出吸收; 胃镜检查距门齿18-21 cm处黏膜不规则肿胀, 见1.5 cm×0.8 cm不规则纵行深溃疡, 其下方有黏膜桥形成; 食道黏膜活检病理学检查: 大量淋巴细胞及少许中性粒细胞浸润, 并见一非干酪肉芽结节; 结肠镜检查回肠末段、直结肠未见异常; 裂隙灯检查角膜正常. 最后诊断: 食道CD急性穿孔并上纵隔炎, 给服柳氮磺胺吡啶及强的松, 2 mo后渐停强的松, 柳氮磺胺吡啶维持, 至今无不适(图1).

病例2: 袁某某, 男, 23岁, 因“上腹痛、黑便2 d”于2013-01-26入院. 入院后胃镜检查见十二指肠球部多发性直径0.3-0.5 cm浅小溃疡、附白苔, 降段见散在片状糜烂, 按十二指肠球部溃疡予抑酸、黏膜保护剂治疗, 腹痛无缓解. 2013-01-31腹痛加剧, 出现左上腹压痛、反跳痛. 外周血WBC 18.8×10^9/L、GR 85.4%, 血淀粉酶452 U/L, 尿淀粉酶1069 U/L; 腹部CT显示胰腺形态饱满, 胰周、双肾前间隙、腹膜后见液性密度影, 诊断急性胰腺炎. 给予禁食、胃肠减压, 静滴善宁、洛赛克、泰能等治疗, 病情仍渐加重. 2013-02-06起解暗红色黏 液血便. 复查腹部强化CT: 胰腺体尾部明显肿胀, 胰周片状低密度影, 边界模糊, 肠管紊乱, 管壁不均匀增厚, 周边及腹膜后见液性密度影. 2013-02-09出现全腹痛, 腹部膨隆、有压痛及反跳痛, 腹腔穿刺液有核细胞数820×10^6/L、红细胞21240×10^6/L、李凡他试验阳性. 外科剖腹探查, 术中见: 距屈氏韧带约2.3 m以下小肠弥漫性充血、肿胀肠壁节段性增厚, 肠系膜根部及腹膜后多发淋巴结肿大.

淋巴结病理学检查为反应性增生. 术后诊断为CD(小肠型、初发型、重度、活动期), 予强的松40 mg/d, 美沙拉嗪缓释颗粒4 g/d治疗, 患者腹痛渐减轻至消失, 现维持治疗中, 无明显不适(图2).

2 讨论

CD是一种诊断、治疗均较困难的全消化系透壁性慢性炎症性疾病, 可累及自口腔至肛门的全消化道的任一段或多段, 65%以上累及回肠末段及邻近的结肠, 侵及上消化道者占全部病例的0.5%-13.0%, 多是胃、食道同时受累, 而单累及食道者少见, 临床上称之为食道克罗恩病(esophageal Crohn disease, ECD), 占CD的0.3%-2.0%. 常被误诊为食管溃疡、食管白塞氏病, 临床诊断较困难. 儿童ECD患者稍多于成人, 可达6.5%. 80% ECD发生在食道下1/3段, 15%在中段, 侵犯全食道者占5%, 累及食道近段者只有个案报道[2]. ECD主要症状是吞咽困难、吞咽疼痛, 少数患者可有食道-气管瘘、食道-纵隔瘘. 病例1患者病变位于食道上段, 既往无胸骨后不适、吞咽疼痛、吞咽困难等食道损伤的表现, 而以急性食道穿孔引起纵隔脓肿就诊, 尚未见类似文献报道. 临床上易被误诊为食管溃疡而给予抑酸药物治疗, 但效果往往较差, 对于按食管溃疡治疗但效果不佳的患者, 要想到行肠镜检查, 虽然可能无腹痛、腹泻等不适, 往往肠镜检查可见结肠病变, 如病理检查提示克罗恩, 则给我们的临床治疗可带来很大帮助.

ECD的一线治疗药物仍是5-ASA制剂及糖皮质激素. D'Haens等[3]报道63%ECD用5-ASA及糖皮质激素治疗2-4 wk后痊癒. 质子泵抑制剂有助于改善症状, 但不能单独用于治疗ECD. 6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤及环孢素A等免疫调节剂可作为对糖皮质激素耐药或抵抗患者的二线治疗药物. 英夫利昔单抗及阿达木单抗均可快速减少炎性细胞浸润、促进溃疡愈合, 是中、重度患者及皮质激素抵抗或耐药者的理想选择. 约有30%患者可能有食道狭窄, 食道扩张及支架置入能显著改善症状[3,4].

急性胰腺炎是CD患者一个少见的肠外并发症, 已有多项流行学病研究表明CD患者急性胰腺炎的发病率显著高于普通人群. 在瑞士、北日德兰半岛及丹麦的对照研究中发现CD患者患急性胰腺炎的危险性较普通人群高出3-4倍[5]. CD患者并发急性胰腺炎的原因尚不明了, 可能是多方面的. Moolsintong等[6]观察分析了梅奥诊所1976-2001年收治的46例CD合并急性胰腺炎患者临床资料. CD诊断的年龄中位数是31岁(11-81岁), 急性胰腺炎诊断的年龄中位数是47岁(14-91岁), CD和急性胰腺炎确诊的时间间距中位数为7.7年(范围20-49年). 并发急性胰腺炎的可能病因分依次是胆结石(21%)、大量酒精摄入(15%)、摄入嘌呤类似物(13%)、克罗恩氏病累及十二指肠(12%)、外科手术后并发症(12%)、ERCP(10%)、使用其他药物(4%)和特发性(8%), 其他作者也有类似报道[7]. 本例患者既往身体健康, 无长期用药史, 而以急性胰腺炎突发起病, 临床罕见. 其发生胰腺炎的可能原因是十二指肠或临近胰腺的小肠受CD病变损害所致, 及可能之前即存在CD, 胰腺受CD变损害而发生炎症, 但该患者克罗恩的典型症状未表现, 而是以急性胰腺炎起病. 但该患者按急性胰腺炎治疗效果较差, 且出现暗红色黏液血便、全腹痛等症状加重现象, 外科剖腹探查发现克罗恩证据, 按CD治疗后患者症状逐渐缓解. 临床确属罕见. 临床上急性胰腺炎处理较简单, 但如果治疗效果差, 且出现外科手术指征需要剖腹探查时, 要想到CD的可能.

■同行评价
本文对临床有一定的提示和警示意义.

3 参考文献

1 Feagans J, Victor D, Joshi V. Crohn disease of the esophagus: a review of the literature. *South Med J* 2008; 101: 927-930 [PMID: 18708983 DOI: 10.1097/SMJ.0b013e31818047be]

2 Ebach DR, Vanderheyden AD, Ellison JM, Jensen CS. Lymphocytic esophagitis: a possible manifestation of pediatric upper gastrointestinal Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 45-49 [PMID: 20848529 DOI: 10.1002/ibd.21347]

3 D'Haens G, Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G. The natural history of esophageal Crohn's disease: three patterns of evolution. *Gastrointest Endosc* 1994; 40: 296-300 [PMID: 8056231]

4 Musto D, Martorelli L, Cirillo A, Selvaggi F, Esposito P, Russo MI, Riegler G. Distal esophageal involvement in Crohn disease: short treatment with adalimumab. *Endoscopy* 2010; 42 Suppl 2: E299 [PMID: 21113880 DOI: 10.1055/s-0030-1255788]

5 Trikudanathan G, Navaneethan U. Association of pancreatitis with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 83 [PMID: 20495468 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181d9f935]

6 Moolsintong P, Loftus EV, Chari ST, Egan LJ, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Acute pancreatitis in patients with Crohn's disease: clinical features and outcomes. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 1080-1084 [PMID: 16306770]

7 van Geenen EJ, de Boer NK, Stassen P, Linskens RK, Bruno MJ, Mulder CJ, Stegeman CA, van Bodegraven

AA. Azathioprine or mercaptopurine-induced acute pancreatitis is not a disease-specific phenomenon. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1322-1329 [PMID: 20222913 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04287.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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3月8日; 22(7): 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.

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.

《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.

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3月8日; 22(7): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014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3月8日; 22(7): 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

白浪 副教授
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈海龙 教授
大连医科大学附属第一医院院办

陈进宏 副主任医师
复旦大学附属华山医院普外科

陈贻胜 教授
福建省立医院

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

郝纯毅 主任医师
北京肿瘤医院肿瘤外科

李君文 研究员
中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

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

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李增山 副教授
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

林潮双 副教授
中山大学附属第三医院感染科

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学

禄韶英 博士
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

缪应雷 主任医师
昆明医科大学第一附属医院消化内科

潘阳林 副教授
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

宋新明 教授
中山大学附属第一医院胃肠外科

唐文富 副教授
四川大学华西医院中西医结合科

徐泱 副主任医师
上海复旦大学附属中山医院

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

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)

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

郑素军 副教授
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

周晓武 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普外科

邹小明 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

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

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